#### UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

# DIAGNOSE DA COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DE TECIDO FOLIAR E RADICULAR DO MILHO

TÁRIK CAZEIRO EL KADRI

DOURADOS MATO GROSSO DO SUL 2017

## DIAGNOSE DA COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DE TECIDO FOLIAR E RADICULAR DO MILHO

TÁRIK CAZEIRO EL KADRI Engenheiro Agrônomo

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Marlene Estevão Marchetti

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

DOURADOS MATO GROSSO DO SUL 2017

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

Kadri, Tárik Cazeiro El.
 Diagnose da composição nutricional de tecido foliar e radicular do milho. / Tárik Cazeiro El Kadri. – Dourados, MS: UFGD, 2017.
 38f.
Orientadora: Prof. Dra. Marlene Estevão Marchetti.
 Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados.
1. CND. 2. Diagnose nutricional. 3. Componentes nutricionais. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

## DIAGNOSE DA COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DE TECIDO FOLIAR E RADICULAR DO MILHO

por

#### TÁRIK CAZEIRO EL KADRI

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA

Aprovada em: 24 / 04 / 2017

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Marlene Éstevão Marchetti UFGD/FCA (Orientadora)

Prof. Dr. Luiz Carlos Ferreira de Souza

UFGD/FCA

Prof. Dr. Manoel Carlos Gonçalves

UFGD/FGA

Prof. Dr. Marcos Antonio Camacho da Silva

**UEMS** 

Prof. Dr. Ademar Pereira Serra

**EMBRAPA** 

#### **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela vida, sabedoria e força para superar as dificuldades e concluir este trabalho.

A Universidade Federal da Grande Dourados pela oportunidade de realização desta pesquisa.

A Profa. Dra. Eng.º Agrônoma Marlene Estevão Marchetti, pela orientação, ensinamentos, paciência, dedicação e apoio durante o curso e realização deste trabalho.

A Profa. Dra. Eng.º Agrônoma Elisângela Dupas, pela coorientação, ensinamentos e apoio durante a realização deste trabalho.

Ao Pesquisador Dr. Eng.º Agrônomo Ademar Pereira Serra, pela grande ajuda e por ter agregado tantas informações ao meu conhecimento.

Ao Prof. Dr. Eng.º Agrônomo Luiz Carlos Ferreira de Souza, pela ajuda na condução do experimento, sem a qual não seria possível a realização deste trabalho.

Aos professores da pós-graduação, pelos ensinamentos e inúmeros auxílios durante todo curso.

À CAPES pela bolsa concedida.

Aos meus pais Ali El Kadri e Cristiane Aparecida Cazeiro, pelo amor, esforço, carinho, compreensão e confiança que tiveram em mim.

Aos meus irmãos Sâmer Cazeiro El Kadri e Sarah Cazeiro El Kadri, pelo carinho, apoio e confiança em mim.

Aos amigos Maílson Vieira Jesus, Sara Parra Carlos, Vinicius de Souza Patricio, Viviane Neves por estarem sempre dispostos a ajudar.

Aos técnicos e funcionários da UFGD pelo apoio nos experimentos.

### **SUMÁRIO**

	PÁGINA
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Nutrição mineral	4
2.3 Avaliação do estado nutricional	5
2.4 Diagnose da Composição Nutricional (CND)	7
3. MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1 Caracterização da área experimental	9
3.2 Base geral de dados	9
3.3 Coletas e análise nutricional de folhas, raízes e produtividade	10
3.4 Detecção dos outliers e Teste de normalidade	11
3.5 Cálculo das Normas CND	11
3.6 Cálculo dos Índices CND	12
3.7 Cálculo da distância de Mahalanobis	13
3.8 Seleção de subpopulações	13
3.9 Definição do critério de seleção	14
3.10 Análise discriminante múltipla (ADM)	15
3.11 Curva Receiver Operating Characteristic (ROC)	15
3.12 Análise de componentes principais (ACP)	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1 Detecção de outliers e teste de normalidade	17
4.2 Seleção das populações de referência pelo particionamento de Cate testes de diagnósticos	
4.3 Normas CND	23
4.4 Análises discriminantes múltiplas	24
4.5 Curvas ROC	27
4.6 Análise de Componentes Principais	29

5. CONCLUSÕES	33
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

## LISTA DE QUADROS

## PÁGINA

<b>QUADRO 1.</b> Número de observações, amplitude de produtividade, média e desvio padrão para folha e raiz após a retirada dos <i>outliers</i>	19
QUADRO 2. Teste de diagnóstico, segundo Parent et al. (2013), para dois tecidos vegetais (folha e raiz) de seleção de populações de referência	22
QUADRO 3. Normas CND-clr para tecido foliar e radicular da planta de milho para estudo da composição nutricional	23
QUADRO 4. Teste de igualdade de médias dos grupos aplicado na análise discriminante múltipla para folha e raiz avaliadas	24
<b>QUADRO 5</b> . Teste M de BOX entre matrizes de covariância para folha e raiz	25
QUADRO 6. Sumarização de funções discriminantes para folha e raiz	25
QUADRO 7. Funções discriminantes de coeficientes para folha e raiz	26
<b>QUADRO 8.</b> Valores da área sob a curva, intervalo de confiança (IC) e significância assintótica para as variáveis produtividade (PROD), Mahalanobis (MAH) e CND-r <sup>2</sup> de teste em relação a folha e raiz	29
<b>QUADRO 9.</b> Autovalores da análise dos componentes principais calculados pelos diferentes critérios de seleção (folha e raiz) da população de referência.	30
<b>QUADRO 10.</b> Matriz de componente rotativa gerada pela ACP para as normas $\operatorname{CND}\left(V_{\operatorname{X}}^{*}\right)$ e componente principais	31

### LISTA DE FIGURAS

PÁGINA

FIGURA 1. Detecção de <i>outliers</i> nos dados da produtividade e distância de Mahalanobis das concentrações foliares e radiculares dos nutrientes: A) Folha; B) Raiz	18
FIGURA 2. Histogramas com curva de normalidade de dados observados para A) folha e B) raiz após a remoção dos <i>outliers</i>	19
FIGURA 3. Partição de Cate-Nelson entre distância de Mahalanobis para variáveis multinutrientes (CND-clr) e produtividade da planta de milho, classificando os indivíduos em quatro subpopulações: VN (Verdadeiro Negativo); FP (Falso Positivo); FN (Falso negativo) e VP (Verdadeiro Positivo). (A) distância de Mahalanobis para variáveis multinutrientes do tecido foliar e (B) distância de Mahalanobis para variáveis multinutrientes do tecido radicular	21
FIGURA 4. Representação dos centróides de cada classificador para A) folha e B) raiz	27
<b>FIGURA 5.</b> Curva ROC da produtividade (PROD), Mahalanobis (MAH) e CND-r <sup>2</sup> para A) folha e B) raiz	28
FIGURA 6. Análise gráfica da distribuição das variáveis multinutrientes (VN, VP, VK, VCa, VMg, VS, VCu, VMn e VZn) nos componentes principais para as normas CND (razão logarítmica centrada) na população de alta produtividade selecionada pelos critérios de seleção, onde (A) Folha e (B) raiz	31

#### **RESUMO**

KADRI, Tarik Cazeiro El. **Diagnose da composição nutricional de tecido foliar e radicular do milho.** 2017. 47f. (Mestrado em Agronomia) — Universidade Federal da Grandes Dourados, Dourados — MS.

Objetivou-se com esse trabalho desenvolver padrões de referência preliminares para a diagnose da composição nutricional do tecido foliar e radicular da planta de milho. O experimento foi desenvolvido no ano de 2016, na área experimental localizada na Fazenda Experimental de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, no município de Dourados, MS, com a cultura do milho, na segunda safra do ano agrícola de 2015/2016. As amostras foliares e radiculares foram coletadas no estádio de desenvolvimento R1, sendo que a folha referência foi a primeira abaixo e oposta da espiga e as raízes foram coletadas de cinco plantas por parcela e lavadas para retirar o solo aderido nelas. As subpopulações foram separadas pelos níveis de produtividade da lavoura e a distância de Mahalanobis das variáveis multinutrientes. Foram calculadas as normas da Diagnose Composicional de Nutrientes (CND -Compositional Nutrients Diagnosis), composta pela média e o coeficiente de variação das variáveis multinutrientes nas populações de referência. O método utilizado para a separação de subpopulações foi o de Cate-Nelson, dividindo-as em quatro subpopulações classificadas em VN (Verdadeiro Negativo), VP (Verdadeiro Positivo), FN (Falso Negativo) e FP (Falso Positivo). Com a análise de componentes principais foi possível identificar quatro componentes principais (CP) que apresentaram os autovalores 3,385; 2,4; 1,513 e 1,380 para cada tecido vegetal com variâncias acumuladas de 37,6; 64,3; 81,1 e 96,4%, respectivamente. O tecido radicular apresentou melhor desempenho pelos métodos de Cate-Nelson, teste de diagnóstico e análise discriminante para seleção de populações de alta produtividade.

**Palavras chave:** CND, diagnose nutricional, componentes principais.

#### **ABSTRACT**

KADRI, Tarik Cazeiro El. **Diagnosis of the nutritional composition of corn leaf and root tissue.** 2017. 47f. (Master in Agronomy) – Federal University of the Great Dourados, Dourados – MS.

This work and preliminary reference standards for a diagnosis of the nutritional composition of the corn leaf and root tissue were aimed at this work. The experiment developed in 2016, in the experimental area located in the Experimental Farm of Agricultural Sciences of the Federal University of Grande Dourados, in the municipality of Dourados, MS, with a corn crop, in the second harvest of the agricultural year of 2015/2016. Leaf and root samples were collected at the R1 development stage, and the reference reference for the first row and bet of spike and as roots were collected from five plants per plot and washed to remove soil adhered thereto. As subpopulations were separated by crop yield levels and Mahalanobis distance from the multinutrient variables. They were calculated as norms of the Composition of Nutrients Diagnosis (CND - Composition Nutrient Diagnosis), composed of the mean and the coefficient of variation of the multinutrient variables in the reference populations. The method used to separate subpopulations was from Cate-Nelson, dividing it into four subpopulations classified as VN (True Negative), VP (True Positive), FN (False Negative) and FP (False Positive). With a principal components analysis it was possible to identify four main components (CP) that presented the eigenvalues 3,385; 2,4; 1,513 and 1,380 for each plant tissue with accumulated variances of 37.6; 64.3; 81.1 and 96.4%, respectively. The root tissue presented better performance by the methods of Cate-Nelson, diagnostic test and discriminant analysis for selection of populations of high productivity.

**Key words:** CND, nutritional diagnosis, principal components.

#### 1. INTRODUÇÃO

O milho é o principal cereal para alimentação humana, pois é consumido *in natura* ou através de produtos processados além de ser utilizado, com a soja, como o principal insumo na formulação de rações para rebanhos. Com o crescimento da população mundial, a demanda pelo milho e seus subprodutos aumentou substancialmente.

No que se refere à diagnose nutricional, os métodos mais utilizados são os níveis críticos e as faixas de suficiência, porém, esses métodos podem ser pouco eficazes, uma vez que eles não levam em consideração o balanço entre os nutrientes. Para resolver essa limitação para a diagnose nutricional, têm sido propostos os métodos de Sistema Integrado de Diagnose e Recomendação (DRIS), descrito por Beaufils (1973) e a Diagnose da Composição Nutricional (CND), descrito por Parent e Dafir (1992).

O CND apresenta a vantagem em relação a outros métodos de diagnose nutricional devido sua capacidade de avaliar múltiplas interações entre todos os nutrientes possibilitando, assim, obter maior sensibilidade diagnóstica (ANJANEYULU et al., 2008).

Apesar dos elementos essenciais serem iguais para todas as plantas, a sua exigência e concentrações ideais variam entre uma cultura e outra, podendo variar até mesmo dentro da própria cultura (ROZANE et al., 2015). Sabendo-se que os nutrientes não ficam inertes, mas sim em constante interação entre os mesmos, é importante que se faça a análise da composição nutricional como um todo e não concentração de cada nutriente isoladamente.

Como os nutrientes encontram-se em concentrações variadas no tecido vegetal, precisa ser feito uma transformação logarítmica dos dados para que não haja discrepâncias entre eles, para isso Aitchison (1986) propôs três, sendo elas, razão logarítmica aditiva (alr), razão logarítmica centrada (clr) e razão logarítmica isométrica (ilr). Com essas transformações as concentrações que estavam no sistema de composição fechado, onde variavam de 0 a 100% passaram para um sistema aberto onde variam entre valores positivo e negativos tendendo ao infinito.

Caso não seja feito as transformações, a concentração dos nutrientes no tecido vegetal tende a ter uma distribuição assimétrica, e por isso a transformação é necessária para manter uma distribuição normal.

Para proceder a análise das composições de nutrientes é preciso que haja um banco de dados padrões considerando todos os nutrientes simultaneamente. Por ser uma análise relativamente nova comparada as análises univariadas (faixa de suficiência e nível crítico), o CND possui um banco de dados limitado a poucas culturas, sendo assim, é preciso que haja pesquisas para o desenvolvimento desses bancos de dados.

Diante do exposto, objetivou-se com esse trabalho desenvolver padrões de referência preliminares para a diagnose da composição nutricional de tecido foliar e radicular da planta de milho e verificar se há diferença entre os tecidos vegetais (folha e raiz) para a definição destes padrões de referência.

#### 2. REVISÃO DE LITERATURA

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho (*Zea mays*), estando atrás dos Estados Unidos e China. A estimativa de área plantada com milho na safra 2016/2017 é de aproximadamente 17 milhões de hectares, com produção ao redor de 91 milhões de toneladas de milho, 37,5% superior a safra passada, sendo que o milho safrinha representa 61 milhões de toneladas da produção total (CONAB, 2017).

Na região Centro-Oeste, o Mato Grosso do Sul é o segundo estado com maior área plantada e maior produção de grãos de milho e, estima-se que a safrinha do ano agrícola 2016/2017 tenha produtividade média de 5,1 t ha<sup>-1</sup>, representando produção de 8,7 milhões de toneladas (CONAB, 2017).

Por ser a principal opção no cultivo de segunda safra, também conhecido como safrinha, o milho se destaca na produção nacional, além disso, pode ser o cultivo da safra de verão no sistema de plantio direto, onde substituirá a soja no ano seguinte. No Brasil, a área cultivada com o milho safrinha vem aumentando desde 2008 quando eram plantados em torno de 5 milhões hectares, e a previsão para 2017 são de mais de 11 milhões hectares plantados, sendo a principal cultura sucessora da soja (CONAB, 2017).

No estado de Mato Grosso do Sul, a estimativa de área plantada para o milho safrinha em 2017 apresentou um incremento de 2,1% em relação ao ano anterior, totalizando 1,7 milhões de hectares, com produção esperada de mais de 8 milhões de toneladas (CONAB, 2017).

O milho pertence à família Poaceae, sendo originário de regiões tropicais e possui metabolismo C4 de assimilação de carbono e, portanto, alta eficiência fotossintética, menor ponto de compensação de CO<sub>2</sub> e necessita de maior consumo de ATP (Adenosina trifosfato) para fixar o CO<sub>2</sub> em relação as plantas com metabolismo C3 (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Na utilização de fertilizantes durante o manejo da fertilidade do solo é necessário que haja ação conjunta com a diagnose nutricional, proporcionando adequada utilização do uso de fertilizantes, melhorando a relação custo/benefício.

Além disso, o uso correto dos fertilizantes pode diminuir possíveis danos ambientais ocasionados pelo uso excessivo de corretivos e fertilizantes. Como por exemplo, a eutrofização das águas ocasionados pela lixiviação ou escoamento

superficial dos fertilizantes a base de nitrogênio, fósforo, enxofre e potássio entre outros que podem estar em excesso na adubação desbalanceada.

#### 2.1 Nutrição mineral

A nutrição mineral de plantas é reconhecida desde o século 19, quando foi formulada a Lei do Mínimo, postulando que se um fator for alterado e todos os demais mantidos constantes, há mudança relacionada ao crescimento da planta. Quando ocorre a variação de apenas um nutriente e os demais estão em concentrações suficientes e não excessivas, a relação entre o crescimento da planta e os nutrientes segue a Lei dos Incrementos Decrescentes (DE WIT, 1992).

A cultura do milho exporta grandes quantidades de nitrogênio (N) do solo, requerendo maior uso de adubação nitrogenada, sendo recomendado o seu parcelamento, para maior eficiência de utilização, o que onera os custos de produção (MÜLLER, 2015).

A exigência de N deve-se à sua função estrutural, pois é componente da molécula de compostos orgânicos, como aminoácidos e proteínas, além de ser ativador de enzimas (MALAVOLTA, 2006). Na deficiência de N a produtividade e competitividade ecológica interespécies é afetada negativamente, tornando a planta atrofiada, com folhas estreitas e cloróticas (MARSCHNER, 2012).

A concentração adequada de fósforo (P) no tecido foliar do milho varia entre 0,25-0,40% (MALAVOLTA, 2006), a expansão foliar está diretamente ligada a expansão das células epidérmicas e na deficiência de P as folhas adquirem cor verde mais escura e arroxeada, porque a expansão foliar é mais inibida pelo P do que a formação de clorofila e há um acúmulo de antocianina no tecido foliar (MARSCHNER, 2012).

O potássio (K) é o nutriente mais abundante no tecido vegetal e por encontrarse predominantemente em sua forma iônica K<sup>+</sup> no tecido seu retorno ao solo é muito rápido e ocorre logo após a senescência da planta já que não participa de nenhuma das estruturas orgânicas do tecido vegetal e forma ligações com complexos orgânicos de fácil reversibilidade. Desta forma, a maior parte do potássio é reciclado, porém, a perda por lixiviação é alta quando há um manejo incorreto na forma de aplicação e quantidade aplicada, sendo requerido o parcelamento na adubação potássica, principalmente em solos arenosos. O cálcio (Ca) e o magnésio (Mg) desempenham funções estruturais importantes no tecido vegetal, sendo que o Ca é essencial para o fortalecimento das paredes celulares, encontrado na forma de pectatos de cálcio na lamela média e a degradação dos pectatos é mediada pela poligalacturonase, que é fortemente inibida pelo alto teor de Ca. Enquanto o Mg é essencial para a biossíntese da molécula de clorofila, pois é necessário a inserção do Mg<sup>+2</sup> na porfirina, transformando o Mg no átomo central da molécula de clorofila (MARSCHNER, 2012).

O enxofre (S) é constituinte de aminoácidos, como a cisteína e metionina que por sua vez são percursores de outros compostos que contém S (ferredoxina, biotina, pirofosfato de tiamina, uréases, entre outros). Rausch e Wachter (2005) relataram que a fertilização em níveis adequados de S promove um impacto positivo na resistência das plantas ao estresse abióticos e bióticos.

Os micronutrientes, apesar de serem requeridos em menores quantidades, são tão importantes quanto os macronutrientes, sendo que, além de suas funções isoladas ainda apresentam efeito sinérgicos com outros nutrientes. O molibdênio (Mo) exerce papel indispensável na assimilação do nitrato absorvido pelas plantas, atuando na redutase do nitrato (MARSCHNER, 2012). As adubações com boro (B), cobre (Cu), manganês (Mn) e zinco (Zn) aumentam significativamente a produção de matéria seca da parte aérea do milho (LEITE et al., 2003).

Mesmo que os elementos essenciais sejam os mesmos para todas as plantas, a necessidade e o equilíbrio deles, como o momento em que os nutrientes são mais demandados e o modo como que será aplicado os fertilizantes diferem entre espécies e sistemas de cultivo. Pelo fato do crescimento das plantas ser dependente de sua composição nutricional, além da velocidade de absorção (YOUSUF et al., 2013), os métodos de diagnose de diversos tecidos vegetais e a análise de solo foram desenvolvidos para estimar as exigências da planta nos sistemas de cultivo.

#### 2.3 Avaliação do estado nutricional

Os elementos minerais essenciais advém do solo e, na deficiência de algum desses nutrientes, que possuem quantidades mínimas exigidas de acordo com cada cultura, ocorre diminuição no desenvolvimento e, consequentemente, e na produtividade das culturas.

Para avaliação do estado nutricional existem diferentes métodos, mas todos têm o objetivo de comparar uma planta com baixa produtividade devido a uma

limitação ou deficiência de nutriente com outra altamente produtiva, considerada normal. Dentre os diversos órgãos e tecidos amostrados para a diagnose, são escolhidos preferencialmente as folhas, pois elas concentram as maiores atividades fisiológicas, sendo que expressam melhor os sintomas em caso de deficiência ou excesso de nutrientes (MALAVOLTA, 2006 e MARSCHNER, 2012). Também há uma maior facilidade na coleta destes tecidos, sendo que geralmente fica bem acessível, sem a necessidade do uso de instrumentos para a sua coleta.

Entre os métodos de interpretação do estado nutricional das plantas, se destacam os univariados (nível crítico e faixa de suficiência), os bivariados (DRIS) (Beaufils 1973), e os multivariados, additive log ratio (alr) (AITCHISON, 1986), centered log ratio (clr) (AITCHISON, 1986), e isometric log ratio (ilr) (EGOZCUE et al., 2003).

Os métodos univariados baseiam-se na comparação dos valores de nutrientes em tecidos vegetais que são estabelecidos previamente a partir de resultados de experimentos de calibração, em que o nutriente é aplicado em doses crescentes e os demais fatores são supridos em quantidades adequadas e constantes para que não haja a interferência na produtividade (KURIHARA et. al., 2013). Se o valor padrão do teor de um nutriente for maior ou igual a 90% do máximo de produtividade, é então chamado de Nível Crítico (NC), caso seja assumida amplitude de valores, também, com nível igual ou superior a 90% da produtividade, é denominada de Faixa de Suficiência (FS) (KHIARI et al., 2001a).

Segundo Partelli et al. (2014), a FS possui uma alta dependência à calibração local, sendo assim, esse método de diagnóstico torna-se muito sensível as variações no manejo da cultura e outros fatores que são responsáveis por alterar as taxas de absorção dos nutrientes e na distribuição da biomassa.

Em relação ao DRIS, Beaufils (1973) propôs criar este método que se baseia nas relações duais existentes entre os nutrientes, indicando de maneira mais clara o equilíbrio nutricional em relação ao teor isolado de cada nutriente, utilizado nos métodos univariados e com isso, obter de forma mais precisa o balanço nutricional que influenciam a produtividade das culturas. Parent e Dafir (1992) identificaram restrições ao método DRIS, reveladas na tentativa de aplicar a estatística multivariada, a fim de correlacionar os nutrientes, neste caso, em relação binária com a análise de componentes principais.

No intuito de ajustar, adequando melhor o método DRIS, Parent e Dafir (1992), se fundamentaram em relações de log-transformadas entre cada nutriente e a média geométrica da composição nutricional do tecido amostrado, com base nos estudos de composição nutricional de Aitchison (1986), onde o mesmo reportou a importância de se transformar os dados composicionais em razão logaritimica aditiva (alr) ou razão logarítmica centrada (clr).

#### 2.4 Diagnose da Composição Nutricional (CND)

Holland (1966) observou que conforme o número de nutrientes analisados simultaneamente aumenta, a consistência no diagnóstico melhora, até que o método de interpretação envolva todos os nutrientes. Parent e Dafir (1992) então realizaram estudos em torno do conceito do DRIS em conjunto com a análise composicional empregada por Aitchison (1986). Esse método teve como base a análise de dados composicionais (CDA), que descreve os dados de forma quantitativa relacionada a um todo, como por exemplo, as frações minerais do solo que se dividem em areia, silte e argila sempre completando 100% do todo. O método proposto por Parent e Dafir (1992) difere do DRIS porque as concentrações dos nutrientes na amostra é modificado pela transformação logarítmica centrada (centred log ratio - clr), e corrigido pela média geométrica da composição nutricional, onde transforma um sistema fechado que varia de 0 a 100% em um sistema aberto que varia do positivo ao negativo tendendo ao infinito. Este método tem uma vantagem em relação ao DRIS, porque é analisada a interação de todos os nutrientes avaliados simultaneamente e não apenas interações duais, isso aumenta a precisão no diagnóstico. Por avaliar a composição nutricional como um todo e não apenas relações duais como o DRIS, os autores atribuíram o nome 'Compositional Nutrient Diagnosis' (CND) ao novo método.

#### 2.4.1 Obtenção das concentrações de nutrientes

Os dados de concentração dos nutrientes no tecido vegetal, além da produtividade da cultura, constitui o primeiro passo a ser realizado para o desenvolvimento das normas CND. As concentrações dos nutrientes no tecido vegetal tendem a ter uma apresentação não normal (assimétrica), essa composição de dados é melhorada projetando o espaço fechado de dados de composição brutos em um espaço aberto com números variando de positivo a negativo tendendo ao infinito.

A base de dados constituída pelas concentrações dos nutrientes foliares, radiculares e a produtividade não está totalmente definida, principalmente quando se trata das concentrações dos nutrientes radiculares, pois não há estudos de CND utilizando tal tecido. Alguns pesquisadores estão utilizando métodos multivariados para o estabelecimento de normas para diferentes culturas como batata doce (PARENT e DAFIR, 1992), milho doce (KHIARI et al., 2001a), soja (URANO et al., 2007), algodão (SERRA et al., 2010), laranja-pera (CAMACHO et al., 2012), cana-de-açúcar (SANTOS et al., 2013) e arroz irrigado (WADT et al., 2013). Contudo, a ênfase deve ser dada na qualidade do material e eficiência do banco de dados e isso, se consegue aplicando de forma correta a metodologia de coleta das folhas, empregando critérios na escolha das folhas, que devem apresentar alta produtividade e bom estado de fitossanidade (SERRA et al., 2013).

#### 2.4.2 Seleção de subpopulações

Um passo fundamental para o desenvolvimento de normas CND é a discriminação do seu banco de dados, dividindo-as em quatro subpopulações por meio da partição Cate-Nelson, sendo duas de alta produtividade separadas em uma equilibrada e outra desequilibrada nutricionalmente e duas de baixa produtividade sendo separadas em uma equilibrada e outra desequilibrada, totalizando quatro subpopulações, entretanto, não se tem uma metodologia bem definida para essa separação.

Walworth e Sumner (1987) propuseram considerar relações de variância de expressões de nutrientes para a discriminação. Parent e Dafir (1992) esperavam que os próprios cálculos aplicados na análise multivariada fornecessem um meio para a definição de uma subpopulação de alta produtividade. Parent et al. (1992) sugeriram a função de distribuição do qui-quadrado para definir um valor limiar de CND para o desequilíbrio de nutrientes. Serra et al. (2013) utilizaram das médias e desvio padrão. Enquanto Khiari et al. (2001b) apresentaram trabalho bem didático, contendo abordagem genérica para a seleção de um alvo de produtividade mínima para uma subpopulação de alta produtividade, além de fornecer índice CND limite de desequilíbrio de nutrientes pela função de distribuição qui-quadrado.

#### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Caracterização da área experimental

O trabalho foi desenvolvido ano de 2016, na área experimental localizada na Fazenda Experimental de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, no município de Dourados, MS, com a cultura do milho, na segunda safra do ano agrícola de 2015/2016. O local situa-se em torno das coordenadas geográficas latitude 22°14'S e longitude 54°49'W, com altitude média de 434 m de altitude. O clima é do tipo Cfa (Clima Mesotérmico Úmido sem estiagem), segundo a classificação de Köppen (KOPPEN, 1948). A temperatura média anual é de 22°C e a precipitação média anual está entre 1100 e 1200 mm.

O solo da área é classificado como Latossolo Vermelho Distroférrico (LVdf) (SANTOS et al., 2014). Os dados da análise dos atributos químicos do solo da área experimental, amostrados na camada de 0-20 cm são: pH 5,7 (CaCl<sub>2</sub>); P (Mehlich) 41,5 mg dm<sup>-3</sup>; matéria orgânica 25,25 g dm<sup>-3</sup>; K 3,1; Ca 51,5; Mg 24,5; H+Al 27,25; SB 79; CTC 106 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> e V% = 73,5%.

#### 3.2 Base geral de dados

Em março de 2016 foi dessecada uma área que estava em pousio, tendo sido anteriormente cultivada sob sistema de plantio direto. As parcelas tinham dimensões de 15 metros de largura por 15 metros de comprimento, com espaçamento de 3 metros de largura entre parcelas. Foi semeado mecanicamente o hibrido de milho Pioneer Yieldgard HX, no espaçamento entre linhas de 90 centimetros com as sementes já tratadas com inseticida Clorantraniliprole 625 g L<sup>-1</sup> (48 mL/60.000 sementes) e Clotianidina a 60% (350 mL/100 kg sementes).

A área experimental tinha três adubações diferentes com e sem o uso de um bioestimulante mineral e outro bioestimulante orgânico no esquema fatorial incompleto, totalizando dez tratamentos com quatro repetições cada um sendo eles:

- 1) Adubação 0;
- 2) Adubação 0 + BM;
- 3) Adubação 0 + BO;
- 4) Adubação 0 + BM + BO;
- 5) Adubação 1;

- 6) Adubação 1 + BM;
- 7) Adubação 2;
- 8) Adubação 2 + BM
- 9) Adubação 2 + BO;
- 10) Adubação 2 + BM + BO

Onde a Adubação 0 representa o não uso de fertilizantes, a Adubação 1 o uso de 30 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O com 45 kg ha<sup>-1</sup> de N sem o uso de P na formulação, a adubação 2 o uso de 250 kg ha<sup>-1</sup> da fórmula 08-20-20, o BM representa o uso do bioestimulante mineral e BO o uso do bioestimulante orgânico. Todas as adubações foram feitas no momento da semeadura, enquanto a aplicação dos no solo bioestimulantes ocorreu 15 dias antes da semeadura e, 30 dias após o plantio, foi aplicado 112 kg ha<sup>-1</sup> de ureia (50 kg N), em todas as parcelas. Aos 20 dias após o plantio foi realizado a aplicação de inseticida a base de Triflumurom a 48% (100 mL ha<sup>-1</sup>).

#### 3.3 Coletas e análise nutricional de folhas, raízes e produtividade

Para a análise foliar foram coletadas as primeiras folhas abaixo e oposta da espiga, no estádio de desenvolvimento R1 (MALAVOLTA et al., 1997). Foram coletadas cinco amostras por parcela e posteriormente lavadas em água destilada e deionizada, secadas em estufa com circulação forçada de ar, a 65°C por 72h. Foi então realizada a moagem em moinho de lâminas de aço inoxidável do tipo Wiley com peneira de 20 mesh. Nas amostras de folhas, foram determinados os teores totais de N por meio da digestão sulfúrica e determinado pelo método micro Kjeldahl, os demais elementos (P, K, Ca, Mg, S, B, Zn, Cu, Mn e Fe ) foram extraídos pela digestão nítrico-perclórica, conforme Malavolta et al. (1997).

A coleta de raízes também foi feita no estádio de desenvolvimento R1, realizando-se uma cova com a dimensão de aproximadamente 40 cm de diâmetro e 20 cm de profundidade em volta de cada planta, sendo coletadas cinco plantas por parcela selecionadas ao acaso, não coincidindo com as plantas utilizadas para a coleta de folhas, e retirada com cuidado para não haver a quebra de raízes mais finas. Após a coleta, realizou-se a retirada do maior volume de solo aderido a raiz com utilização de água corrente e, depois, com ajuda de uma peneira, para que não houvesse perda das raízes mais finas, foi realizada outra lavagem mais vigorosa para a retirada do solo altamente aderido com uso de água destilada. Posteriormente, seguiram-se os procedimentos descritos acima para análise das folhas (MALAVOLTA et al., 1997).

A produtividade de grãos foi realizada após colheita manual de todas as espigas em duas linhas de 5 metros na área central de cada parcela, totalizando 9 m². Depois as espigas foram debulhadas mecanicamente e os grãos foram pesados em balança de precisão com duas casas decimais, com valores expressos em kg ha<sup>-1</sup>.

#### 3.4 Detecção dos outliers e Teste de normalidade

Para a detecção dos *outliers* e Teste de normalidade foi utilizado programa estatístico onde foram usados os valores da distância de Mahalanobis calculada pelas variáveis multinutrientes e os dados da produtividade e depois submetidos aos testes de *boxsplot* e teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov e posteriormente removidos os *outliers* apresentados, esse procedimento é repetido, sem os dados retirados anteriormente, até que não haja mais *outliers* nos dados da distância de Mahalanobis e produtividade.

#### 3.5 Cálculo das Normas CND

Conforme descrito por Parent e Dafir (1992), a composição do tecido vegetal forma uma disposição nutricional d-dimensional fechado, isto é, um simplex ( $S^d$ ) constituído por d+1 proporções de nutrientes incluindo d nutrientes transformados para mg e um valor de enchimento definido como se segue:

$$S^{d} = [(N, P, K ..., Rd): N > 0, P > 0, K > 0, ...:$$
  
 $Rd > 0, N + P + K ... + Rd = 10000001$ 

em que 1000000 é o teor na matéria seca; N, P, K, ... são proporções de nutrientes (%); e  $R^d$  é o valor de enchimento entre 100% e a soma de d proporções de nutrientes calculadas a partir da seguinte equação:

$$R^{d} = 1000000 - (N + P + K + ... + Zn)$$

As proporções de nutrientes tornaram-se invariantes na escala depois de terem sido divididas pela média geométrica (G) dos componentes d+1, incluindo Rd (AITCHISON, 1986) conforme a expressão:

$$G = [N \times P \times K \dots, \times Rd] \frac{1}{d+1}$$

A transformação pela relação logarítmica centrada (CND-clr) geraram as variáveis multinutrientes  $V_{\rm N}, V_{\rm P}, V_{\rm K,...,} V_{\rm Rd}$ , que foram calculadas da seguinte forma:

$$V_{\rm N}=ln\left(rac{N}{G}
ight) \quad V_{
m P}=ln\left(rac{P}{G}
ight) V_{
m K}=ln\left(rac{K}{G}
ight) V_{
m Rd}=ln\left(rac{R{
m d}}{G}
ight)$$
e 
$$V_{N}+V_{P}+V_{K}+...,V_{R{
m d}}=0$$

Esta operação é um controle para garantir que os cálculos das variáveis foram realizados corretamente. Por definição, a soma dos componentes teciduais é 100%, e a soma das variáveis multinutrientes transformadas incluindo o valor de preenchimento será zero.

#### 3.6 Cálculo dos Índices CND

Seja,  $V_N^*$ ,  $V_P^*$ ,  $V_K^*$ ,...,  $V_{Rd}^*$  e SD<sub>N</sub>\*, SD<sub>P</sub>\*, SD<sub>K</sub>\*,... SD<sub>Rd</sub>\*, as normas CND com médias e desvios padrões centrados de d nutrientes, respectivamente. Os Índices CND são as relações centradas de dados independentes e são padronizadas da seguinte forma:

$$I_{N} = \frac{(V_{N} - V_{N}^{*})}{SD_{N}^{*}}, I_{P} = \frac{(V_{P} - V_{P}^{*})}{SD_{P}^{*}}, I_{K} = \frac{(V_{K} - V_{K}^{*})}{SD_{K}^{*}}, ...,$$
$$I_{Rd} = \frac{(V_{Rd} - V_{Rd}^{*})}{SD_{Pd}^{*}}$$

A independência entre os dados de composição é observada utilizando uma transformação centrada (AITCHISON, 1986). Os índices CND, como definidos pela equação acima, são variáveis padronizadas e linearizadas com dimensões de um círculo (d + 1 = 2), uma esfera (d + 1 = 3), ou uma hipersfera (d + 1 > 3), em um espaço dimensional d + 1. O índice de desequilíbrio de nutrientes diagnosticado é o CND- $r^2$ , sendo calculado pela seguinte equação:

$$CND - r^2 = I_N^2 + I_P^2 + I_K^2 + ... + I_{Rd}^2$$

Cada dado composicional é assim caracterizado pelo seu raio, r, calculado. A soma de d+1 produz uma nova variável com uma distribuição de qui-quadrado com d+1 graus de liberdade (ROSS, 1987). Como os índices CND são independentes, os valores de CND- $r^2$  devem ter distribuição de qui-quadrado.

#### 3.7 Cálculo da distância de Mahalanobis

A distância de Mahalanobis (*M*) por meio dos balanços ortogonais foi calculada como índice de desequilíbrio de nutrientes da seguinte forma:

$$M = \sqrt{(x - \bar{x})^T COV^{-1}(x - \bar{x})}$$

onde, x é a concentração do nutriente e  $\bar{x}$  é a média dos nutrientes da população de referência, T é a matriz transposta e COV é a matriz de covariância da população de referência (LUZ et al., 2007).

#### 3.8 Seleção de subpopulações

Para obtenção da diagnose nutricional por meio do CND, é necessário um critério para separar uma população em subpopulações de baixa e alta produtividade e que forneça um valor de corte mínimo entre as subpopulações. O método utilizado neste trabalho para a partição foi o Cate-Nelson definido por Nelson e Anderson (1977), separados em três passos:

- **Passo 1 -** Foram calculadas as variáveis multinutrientes, através do R<sub>d</sub> e G;
- **Passo 2 -** Classificaram-se as observações em ordem de produtividade decrescente com as respectivas distâncias de Mahalanobis;

**Passo 3** - Iterou-se uma partição do banco de dados entre duas subpopulações usando o procedimento de Cate-Nelson. Em que na primeira partição, os dois valores de produtividade mais elevados formam um grupo (A) e o restante dos valores de produtividade formam outro grupo (B). Depois disso, os três valores de produtividade mais elevados formam o grupo A, e o restante dos valores de produtividade formam o outro (B). Este processo é repetido até que os dois valores mais baixos de produtividade formam o grupo A, e o restante dos valores de produtividade formam o outro (B). Em cada iteração, a primeira subpopulação compreende  $n_1$  observações, e a segunda

compreende  $n_2$  observações para um total de n observações ( $n = n_1 + n_2$ ) em toda a base de dados.

**Passo 4 -** Para cada divisão da população total em subpopulações foi calculado o coeficiente de determinação de valor crítico (R<sup>2</sup>) conforme a equação abaixo:

$$R^{2} = \frac{\left(\sum Y^{2} \ pop \ total - \frac{\left(\sum Y \ pop \ total\right)^{2}}{n_{pop \ total}}\right) - \left(\sum Y_{A}^{2} - \frac{\left(\sum Y_{A}\right)^{2}}{n_{A}}\right) - \left(\sum Y_{B}^{2} - \frac{\left(\sum Y_{B}\right)^{2}}{n_{B}}\right)}{\left(\sum Y^{2} \ pop \ total - \frac{\left(\sum Y \ pop \ total\right)^{2}}{n_{pop \ total}}\right)}$$

#### 3.9 Definição do critério de seleção

#### 3.9.1 Classificação das amostras

Para se definir qual o melhor critério de seleção a ser utilizado para a avaliação do estado nutricional do milho, foi seguida a metodologia apresentada por Parent et al. (2016), que consiste em comparar a distância de Mahalanobis calculada utilizando-as, após a seleção das subpopulações pelo método de Cate-Nelson com os dados de produtividade. A partir desta comparação os autores propõem a partição das amostras em VN (Verdadeiro Negativo), VP (Verdadeiro Positivo), FN (Falso Negativo) e FP (Falso Positivo).

Os VN foram classificados como amostras altamente produtivas, ou seja, de alta produtividade e altamente equilibradas; os FN (erro do tipo II) foram considerados como amostras de baixa produtividade, identificadas incorretamente como equilibradas; os FP (erro do tipo I) compreenderam amostras de alta produtividade, classificadas incorretamente como equilibradas; os VP corresponderam às amostras de baixa produtividade, classificadas corretamente como desequilibradas. Todos esses procedimentos foram realizados para os dois critérios de seleção (tecido foliar e radicular).

#### 3.9.2 Teste de precisões

O teste de precisão da comparação descrita acima foi realizado segundo Parent et al. (2016), como demonstrado a seguir:

 O Valor Preditivo Negativo (VPN) é a probabilidade de um diagnóstico equilibrado retornar a uma alta produtividade, calculado como VN / (VN + FN);

- O Valor Preditivo Positivo (PPV) é a probabilidade de um diagnóstico de desequilíbrio retornar a uma baixa produtividade, calculado como VP / (VP + FP);
- A Acurácia (Acc) é a probabilidade de uma observação ser corretamente identificada como equilibrada ou desequilibrada, calculada como (VN + VP) / (VN + FN + VP + FP);
- A Especificidade é a probabilidade de uma observação de elevada produtividade ser equilibrada, calculada como VN / (VN + FP);
- A Sensibilidade é a probabilidade de uma observação de baixa produtividade estar desequilibrada, calculada como VP / (VP + FN).

#### 3.10 Análise discriminante múltipla (ADM)

A ADM é aplicada na seleção da variável dependente é qualitativa (onde representa diferentes grupos) e das variáveis independentes são quantitativas e/ou qualitativas (JOHNSON e WICHERN, 2007). A ADM permite a análise das variáveis que mais se destacaram na discriminação de grupos, a partir de testes estatísticos, como o lâmbda de Wilks, a correlação canônica e autovalores.

#### 3.11 Curva Receiver Operating Characteristic (ROC)

É gerada uma análise de Característica de Operação do Receptor - Receiver Operating Characteristic (ROC), que avalia a especificidade e sensibilidade de cada variável analisada para identificar a que melhor discrimina uma relação binária. Distinguindo as populações de alto e baixo rendimento, gerando uma curva no gráfico, onde a sensibilidade é mostrada no eixo das abcissas e a especificidade (1-especificidade) no eixo das ordenadas. Depois de feita analise é possível classificar a variável em relação ao seu poder discriminatório em excelente, muito boa, boa, suficiente e ruim com relação a área sob a curva apresentar valores de 1,0-0,9; 0,9-0,8; 0,8-0,7; 0,7-0,6; e 0,6-0,5, respectivamente (Šimundić, 2009).

#### 3.12 Análise de componentes principais (ACP)

A ACP é realizada a partir das normas CND e definida pelos quatro critérios de seleção da população. Para serem significativos, os CPs devem apresentar autovalores > 100 / P, onde P é o número total de variáveis originais sob diagnose (OVALLES e

COLLINS, 1988). Alternativamente, CPs associados a autovalores < 1 são considerados não significativos.

Para que os autovetores sejam considerados significativo, foi utilizado o critério definido por Ovalles e Collins (1988), sendo autovalores significativos aqueles que apresentam valores acima de critério de seleção com a seguinte fórmula:

$$CS = \frac{0.5}{(autovalores\ CP)^{0.5}}$$

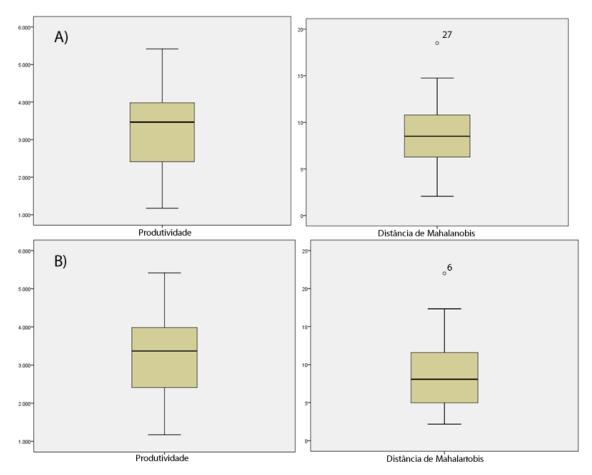
As análises estatísticas foram realizadas com o uso do *software* estatístico SPSS<sup>®</sup> IBM<sup>®</sup> versão 23, e os demais cálculos do CND, foram realizados com o uso da planilha do EXCEL<sup>®</sup> (2010) e os gráficos gerados no SPSS.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1 Detecção de outliers e teste de normalidade

Com base numa análise prévia das concentrações de nutrientes, foram excluídas as concentrações de Fe do banco de dados (folha e raiz), dando sequência com os demais dados, para a detecção e exclusão de *outliers* no banco de dados. Esses cuidados na análise do banco de dados têm como objetivo evitar a deterioração das normas CND-clr [compositional nutrient diagnosis (CND) - centered log ratio (clr)] desenvolvidas posteriormente. Assim, como reportado por Parent et al. (2011), a presença de *outliers* no banco de dados pode comprometer o desenvolvimento de normas CND-clr, isso ocorre devido a transformação dos dados de composição nutricional pela relação logaritimica centrada (clr) ser sensível a presença de *outliers*. Por este motivo foram retiradas as leituras de Fe, de folhas e raízes do banco de dados para evitar erros nos cálculos das variáveis multinutrientes (CND-clr).

Após a transformação das concentrações de nutrientes (folha e raiz) pela relação logaritimica centrada (clr), pode se calcular as distâncias de Mahalanobis para a detecção e remoção dos resultados discrepantes (*outliers*) por meio dos boxplots (Figura 1). A remoção dos *outliers* possibilitou a distribuição normal das produtividades e distância de Mahalanobis para as variáveis CND-clr (Figura 2). Os dados de produtividade não apresentaram *outliers*, sendo tal observação constatada para as variáveis multinutrientes (CND-clr), em que procedeu a remoção dos *outliers* restando 39 indivíduos para os dados de composição nutricional para folhas e 36 para raiz, os quais eram compostos previamente por 40 indivíduos cada, somando 80 indivíduos no banco de dados (Quadro 1).

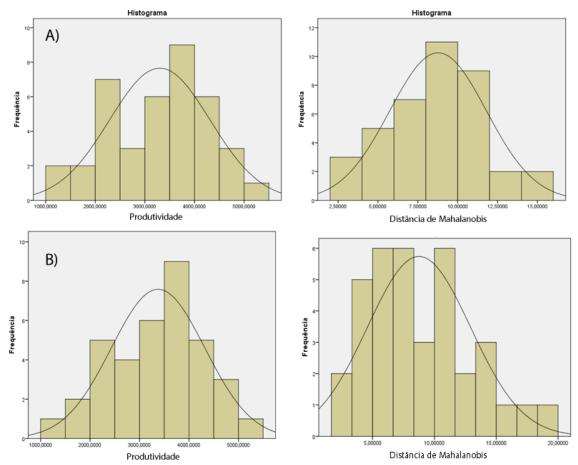


**FIGURA 1.** Detecção de *outliers* nos dados da produtividade e distância de Mahalanobis das concentrações foliares e radiculares dos nutrientes: A) Folha; B) Raiz.

Após a remoção dos *outliers* foi observado o comportamento nas variações de produtividade, média e desvio padrão para raiz e folha (Quadro 2). Antes de proceder a análises multivariada, realizou o teste de normalidade *Kolmogorov – Smirnov* dos dados, onde pode-se observar a ocorrência de distribuição normal para produtividade e distância de Mahalanobis para as variáveis multinutrientes das concentrações de nutrientes de folha e raiz, desta forma, a função de distribuição normal com a média e desvio padrão especificados no Quadro 1 é contínua (Figura 2).

**QUADRO 1.** Número de observações, amplitude de produtividade, média e desvio padrão para folha e raiz após a retirada dos *outliers*.

Número de	Amplitude de produtividade	Média	Desvio padrão
observações	(kg ha <sup>-1</sup> )	(kg ha <sup>-1</sup> )	(kg ha <sup>-1</sup> )
	Folha		
39	1172,22 – 5416,61	3300,71	1016,47
	Raiz		
36	1483,33 – 5416,61	3483,33	946,54



**FIGURA 2.** Histogramas com curva de normalidade de dados observados para A) folha e B) raiz após a remoção dos *outliers*.

## 4.2 Seleção das populações de referência pelo particionamento de Cate-Nelson e testes de diagnósticos

Com base nos resultados da partição de Cate-Nelson, pode se definir quatro quadrantes com os limites críticos para separação de alta e baixa produtividade e

distância crítica de Mahalanobis (Figura 3). As subpopulações para os critérios analisados (folha e raiz) foram definidas pelas produtividades maiores que 3094 kg ha<sup>-1</sup> e distância de Mahalanobis menor que 8,88 para as folhas e produtividades maiores que 3466 kg ha<sup>-1</sup> e distância Mahalanobis menor que 10,18 para as raízes (Figura 3A e B). Os pontos críticos da distância de Mahalanobis foram definidos onde a soma de quadrados das distâncias foram máximos, e assim podendo maximizar as chances de particionar indivíduos equilibrados dos não equilibrados nutricionalmente.

Desta forma, a seleção da população de referência para com base no tecido foliar definiu número menor de indivíduos pertencentes ao quadrante dos verdadeiros negativo (VN) em comparação com o tecido radicular. A partição de Cate-Nelson possibilitou a remoção de indivíduos que embora apresente alta produtividade, os mesmo estão em consumo de luxo, os quais são representados pelos indivíduos presentes no quadrante 2 [falso positivo (FP)] (Figura 3). Essa metodologia possibilitou também a identificação dos indivíduos que, embora esteja em equilíbrio nutricional, apresentam baixa produtividade associada a outros fatores não nutricionais, sendo identificados no quadrante 4 [falso negativo (FN)]. Mesmo com pequeno banco de dados (n=40) foi possível selecionar indivíduos suficientes para dar procedimento à determinação das normas CND-clr para o estudo da composição nutricional do tecido foliar e radicular do milho.

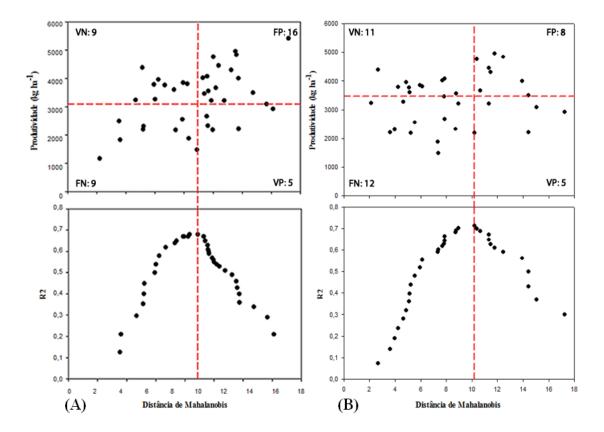


FIGURA 3. Partição de Cate-Nelson entre distância de Mahalanobis para variáveis multinutrientes (CND-clr) e produtividade da planta de milho, classificando os indivíduos em quatro subpopulações: VN (Verdadeiro Negativo); FP (Falso Positivo); FN (Falso negativo) e VP (Verdadeiro Positivo). (A) distância de Mahalanobis para variáveis multinutrientes do tecido foliar e (B) distância de Mahalanobis para variáveis multinutrientes do tecido radicular.

As subpopulações em VN são classificadas como altamente produtivas, pois apresentaram alta produtividade e equilíbrio nutricional. Os FP apesar de apresentarem alta produtividade não são eficazes, pois apresentam desequilíbrio nutricional, que pode ter sido gerado por contaminação nas amostras ou pelo consumo de luxo de algum nutriente. Os FN apresentaram baixa produtividade, mas foram identificados incorretamente como nutricionalmente equilibrados. Isso pode ter ocorrido pelo fato dos nutrientes estarem em deficiência, ou por algum fator não relacionado ao estado nutricional estar ocasionando uma limitação na produtividade.

Os VP apresentaram baixa produtividade e desequilíbrio nutricional, que é o esperado, uma vez que a planta com desequilíbrio nutricional deva ter uma baixa produtividade em relação a plantas equilibradas nutricionalmente. A raiz demonstrou

uma melhor performance para o valor preditivo positivo (VPP), acurácia (Acc) e especificidade. Para o valor preditivo negativo e a sensibilidade entre os dois critérios utilizados não se observou diferença notável (Quadro 2).

**QUADRO 2**. Teste de diagnóstico, segundo Parent et al. (2013), para dois tecidos vegetais (folha e raiz) de seleção de populações de referência.

Tecido vegetal	VPN	VPP	Acurácia	Especificidade	Sensibilidade
Folha	0,50	0,24	0,36	0,36	0,36
Raiz	0,48	0,38	0,44	0,58	0,29

VPN = Valor Preditivo Negativo; VPP = Valor Preditivo Positivo.

O VPN e sensibilidade identificam uma potencial deficiência de nutrientes e outros fatores que podem limitar o crescimento da planta enquanto o VPP e especificidade identificam potenciais problemas relacionados ao consumo de luxo ou contaminações (PARENT et al., 2016).

Para estes testes, o tecido foliar apresentou um melhor desempenho no VPN e sensibilidade indicando que ele é mais sensível à detecção de problemas relacionados com fatores externos a nutrição que afetam a produtividade, enquanto o tecido radicular demonstrou um melhor desempenho no VPP e especificidade, indicando que ele é mais sensível à identificação dos problemas ocasionados pelo consumo de luxo ou contaminações.

A acurácia é a probabilidade de uma observação ser corretamente identificada como equilibrada ou desequilibrada, ocasionado por maiores populações VN e VP em relação a população total. A raiz apresentou um melhor desempenho neste teste, indicando que ela é o melhor critério de seleção, pois a probabilidade das observações feitas pelo teste serem corretamente identificadas como VN e VP é superior. Diferenças entre as subpopulações de acordo com os critérios de seleção também foram encontrados por Khiari et al. (2001a) e Serra et al. (2013) em batata-doce e algodão, respectivamente. Como se trata de duas partes totalmente distintas na planta, era esperado que houvesse essa diferença nos resultados devido à translocação dos nutrientes que ocorre durante o crescimento da planta.

#### 4.3 Normas CND

As normas CND foram desenvolvidas através da média dos valores das variáveis multinutrientes da subpopulação de alto rendimento (VN) e, posteriormente é gerado um desvio padrão, aplicando-se o desvio padrão do CND aos valores das variáveis multinutrientes de uma população, para distinguir uma planta equilibrada nutricionalmente de outras desequilibradas nutricionalmente.

O Quadro 3 apresenta os valores das variáveis multinutrientes média e desvio padrão obtidos do tecido foliar e radicular, respectivamente, utilizados no desenvolvimento das normas CND. Através desses valores é possível diagnosticar o estado nutricional das amostras de folha e raiz de milho, caso estejam em desequilíbrio pode-se verificar qual nutriente está ocasionando isto.

**QUADRO 3.** Normas CND-clr para tecido foliar e radicular da planta de milho para estudo da composição nutricional.

	Folha		Raiz	
Variáveis multinutrientes	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
$oldsymbol{V_{\mathbf{N}}^{*}}$	-0,51443	0,195504	-0,36336	0,162041
$V_{\mathbf{p}}^{*}$	-2,76196	0,14737	-2,80304	0,117943
$V_{\mathbf{K}}^{*}$	0,945934	0,091558	1,025301	0,120471
$V_{Ca}^*$	-2,06094	0,240685	-1,9416	0,226883
$V_{ m Mg}^*$	-2,855	0,172809	-2,76448	0,144639
$V_{\mathrm{S}}^{*}$	-1,56424	0,533734	-1,42948	0,254723
$V_{Cu}^*$	2,17576	0,303911	2,042047	0,302109
$V_{\mathbf{Mn}}^{*}$	2,213313	0,387385	2,04428	0,44385
$V_{\mathbf{Z}\mathbf{n}}^{*}$	0,03607	0,434056	-0,32807	0,51135
$V_{ m R_9}^*$	4,385494	0,12225	4,518397	0,145317
$\sum_{j=1}^{k} Vx_{j}$	0	-	0	-

#### 4.4 Análises discriminantes múltiplas

Para a análise discriminante múltipla os índices de desbalanços nutricionais (CND-r²) calculados para todo o banco de dados foram separados em quatro grupos, de acordo com a partição de Cate-Nelson, sendo: grupo 1 (VN), grupo 2 (FP), grupo 3 (FN) e grupo 4 (VP). Através das variáveis produtividades, CND-r² e distância de Mahalanobis foram verificadas qual variável tem a maior capacidade de discriminar os grupos de maneira correta, verificar a veracidade do teste diagnóstico e elaborar predições para novos grupos.

A análise do Quadro 4 testa a significância das variáveis em relação ao seu poder discriminante dos grupos pelo Lâmbda de Wilks que varia de 0 a 1, e verifica se existem diferenças de médias entre os grupos para cada nível de classificação, sendo que, valores próximos de 1 indicam que não há diferenças e valores próximos de 0 indicam que há diferença entre os grupos.

**QUADRO 4**. Teste de igualdade de médias dos grupos aplicado na análise discriminante múltipla para folha e raiz avaliadas.

	Fol	lha	
	Lâmbda de Wilks	F	Significância
Produtividade	0,267	31,991	0,000*
Mahalanobis	0,328	23	0,000*
CND-r <sup>2</sup>	0,869	1,759	$0,173^{NS}$
	Ra	niz	
Produtividade	0,319	22,772	0,000*
Mahalanobis	0,288	26,395	0,000*
CND-r <sup>2</sup>	0,607	6,91	0,001*

<sup>\*</sup> significativo à 1% de probabilidade; NS não significativo pelo teste F.

O CND-r<sup>2</sup> indicou ausência de diferença para a avaliação do tecido foliar enquanto produtividade e distância de Mahalanobis indicaram que há diferença entre os grupos, tanto em folha quanto raiz.

O teste F avalia as diferenças entre as médias, sendo que quanto mais próximos de 0, mais próximas são as médias. Novamente o CND-r<sup>2</sup> indicou que as diferenças entre as médias existem, porém são baixas.

Para analisar se há igualdade nas matrizes de covariância entre os grupos, foi utilizado a estatística M de BOX, que verifica se há ou não diferença estática significativa entre as observações, se a hipótese nula for aceita, significa que há homogeneidade das matrizes de covariância para os grupos em análise (Quadro 5).

**QUADRO 5**. Teste M de BOX entre matrizes de covariância para folha e raiz.

lha	Significância
11,793	$0,334^{NS}$
1,135	
aiz	Significância
9,887	$0,474^{\mathrm{NS}}$
0,957	
	1,135 aiz 9,887

<sup>&</sup>lt;sup>NS</sup> não significativo pelo teste F.

As matrizes de covariância geradas na ADM auxilia na interpretação da relação entre as variáveis analisadas e a homogeneidade entre as matrizes de covariância é o pressuposto para a análise discriminante (VARMUZA e FILZMOSER, 2009). Ambos os critérios de seleção foram não significativos pelo teste F, então aceita-se a hipótese nula, indicando a homogeneidade das matrizes de covariância dos grupos analisados.

Após aceitar a hipótese de nulidade, pode-se sumarizar as funções discriminantes dos critérios de seleção (Quadro 6).

**QUADRO 6.** Sumarização de funções discriminantes para folha e raiz.

Função	Autovalor	Variância (%)	Variância cumulativa (%)	Correlação canônica
		Folha		
1	2,995	67,2	67,2	0,866
2	1,463	32,8	100	0,771
		Raiz		
1	2,836	60,6	60,6	0,860
2	1,847	39,4	100	0,805
Teste	de funções	Lâmbd	la Wilks	Significância
		Folha		
1	até 2	0,	102	0,000*
	2	0,4	406	$0,000^{*}$
		Raiz		
1	até 2	0.	,92	0,000*
	2	0,	0,351	
* significative à	1% do probabilidado			

<sup>\*</sup> significativo à 1% de probabilidade

Foram geradas duas funções que representam 100% da variância total para folha e raiz, a função 1 foi predominante na variância, representando 67,2% e 60,6%, respectivamente. As funções 1 e 2 apresentaram alto valor de correlação canônica, para ambos os critérios de seleção, demonstrando um alto grau de associação das funções com os grupos discriminantes (Quadro 6).

Na parte inferior do Quadro 6 há o teste das duas funções em conjunto, para a folha o conjunto de funções 1 e 2 apresenta um poder discriminatório maior que na função 2. Enquanto que na raiz o inverso acontece, a função 2 apresenta maior poder discriminatório que o conjunto das funções 1 e 2.

As novas classificações dos grupos são geradas pelo ponto de corte, este ponto de corte é gerado pelo coeficiente das funções de classificação apresentados na Quadro 7.

**QUADRO 7.** Funções discriminantes de coeficientes para folha e raiz.

Classificadores	Funções			
	Folha	Raiz		
VN	$f_{\text{(VN)}} = 0.012x + 1.101y - 26.618$	$f_{\text{(VN)}} = 0.014x + 1.479y - 34.958$		
FP	$f_{\text{(FP)}} = 0.011x + 2.515y - 38.302$	$f_{(FP)} = 0.014x + 2.636y - 45.849$		
VP	$f_{(VP)} = 0,006x + 2,916y - 24,633$	$f_{\text{(VP)}} = 0.010x + 2.667y - 32.901$		
FN	$f_{(FN)} = 0,006x + 1,349y - 10,958$	$f_{\text{(FN)}} = 0.008x + 1.179y - 14.962$		

 $x = \text{produtividade (kg ha}^{-1}); y = \text{distância de Mahalanobis.}$ 

A representação gráfica do diagrama de dispersão comparando as funções discriminantes e indicando os centroides de cada um dos quatro grupos auxilia no entendimento da capacidade das funções em discriminar os grupos (Figura 4).

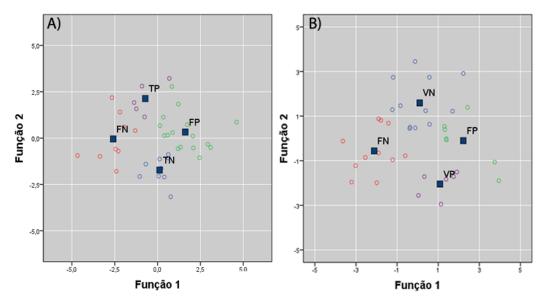


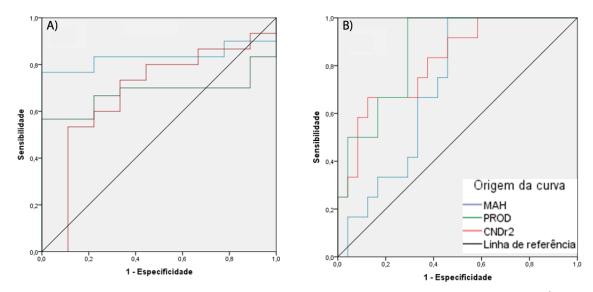
FIGURA 4. Representação dos centróides de cada classificador para A) folha e B) raiz.

Na figura 4 é possível notar que a raiz apresentou maiores distâncias entre os centróides do grupo, isso indica que há uma maximização das funções discriminantes e maior precisão na avaliação discriminativa.

### 4.5 Curvas ROC

Foi utilizado a curva ROC para os critérios de seleção (folha e raiz), comparando-se as variáveis produtividade, distância de Mahalanobis e CND-r<sup>2</sup>. Através deste método, é possível identificar qual variável discrimina melhor as populações entre altamente produtivas ou não.

Com a Figura 5, é possível ver o comportamento das variáveis, sendo que, uma maior área abaixo da curva demonstra maiores valores de sensibilidade e especificidade, aumentando a precisão do teste em separar as populações. A produtividade, apesar de ser uma variável resposta, foi utilizada na discriminação de grupos pelo teste de ADM, sendo assim, é necessário a utilização da mesma na curva ROC com intuito de verificar a veracidade das informações obtidas anteriormente.



**FIGURA 5.** Curva ROC da produtividade (PROD), Mahalanobis (MAH) e CND-r<sup>2</sup> para A) folha e B) raiz.

A análise demonstra a capacidade das variáveis produtividade, distância de Mahalanobis e CND-r<sup>2</sup> de discriminar as amostras numa relação binária entre a subpopulação eficaz (VN) estipulada como 0 na análise e as outras amostras estipuladas como 1 (FP, FN e VP).

Com base no Quadro 8, nota-se que para discriminar as populações no critério de seleção de folha a variável distância de Mahalanobis foi a que apresentou maior área sob a curva, indicando que foi a melhor variável. Para o critério de seleção raiz, a produtividade e distância de Mahalanobis foram as melhores variáveis para discriminar as populações, pois apresentaram a maior área sob a curva.

**QUADRO 8.** Valores da área sob a curva, intervalo de confiança (IC) e significância assintótica para as variáveis produtividade (PROD), Mahalanobis (MAH) e CND-r<sup>2</sup> de teste em relação a folha e raiz.

Variáveis de teste	Área sob a	IC (95%)	Significância
	curva		assintótica
		Folha	
PROD	0,681	0,521 - 0,842	0,082*
MAH	0,833	0,707 - 0,960	0,064*
CND-r2	0,681	0,474 - 0,889	$0,106^{NS}$
		Raiz	
PROD	0,865	0,748 - 0,981	0,000***
MAH	0,865	0,546 - 0,878	0,041**
CND-r2	0,712	0,678 - 0,961	0,002**

\*\*\* significativos a 1% de probabilidade; \*\* significativos a 5% de probabilidade; \* significativo a 10% de probabilidade; <sup>NS</sup> não significativo pelo teste de significância assintótica.

Estatisticamente, para ambos os tecidos vegetais analisados, não houve diferença entre as variáveis segundo o intervalo de confiança, porém, pela classificação feita por Šimundić (2009) a variável distância de Mahalanobis obteve uma performance muito boa para ambos os tecidos, sendo que este desempenho foi igual a produtividade quando considerado apenas a raiz.

### 4.6 Análise de Componentes Principais

Para o cálculo da análise de componentes principais (ACP) foram utilizados os dados das variáveis multinutrientes da subpopulação eficaz. Conforme relatado por Parent e Dafir (1992), as relações das variáveis multinutrientes (CND-clr) são compatíveis com a ACP.

Foi possível identificar quatro componentes principais (CP) que apresentaram os autovalores 3,385; 2,4; 1,513 e 1,380 para cada critério de seleção com variâncias acumuladas de 37,6; 64,3; 81,1 e 96,4%, respectivamente (Quadro 9). Como o objetivo principal na ACP é reduzir o número de variáveis para facilitar a interpretação das variâncias, deste modo foi reduzido para dois componentes principais, sendo que para a seleção dos dois CP foi feita utilizando os dois maiores autovalores.

A definição da significância dos *loadings* foram definidas com base nos autovalores conforme recomendado por Ovalles e Collins (1998), o que pode se observar que o rigor do critério aumenta com aumento dos componentes principais (Quadro 9).

**QUADRO 9.** Autovalores da análise dos componentes principais calculados pelos diferentes critérios de seleção (folha e raiz) da população de referência.

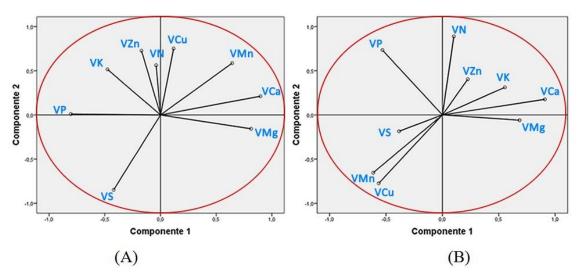
Componentes principais	Autovalores	Variância explicada (%)	Variância acumulada (%)	Critério de seleção dos <i>loadings</i>		
Folha						
1	3,385	37,606	37,606	0,272		
2	2,4	26,668	64,275	0,323		
Raiz						
1	3,728	41,427	41,427	0,259		
2	1,740	19,339	60,766	0,379		

Em relação ao reconhecimento das interações entre as normas CND e os componentes principais é possível observar que os dois critérios de seleção geraram padrões distintos da interação, o que demonstra que os critérios de seleção alteram os padrões de interação (Quadro 10 e Figura 6).

**QUADRO 10.** Matriz de componente rotativa gerada pela ACP para as normas CND  $(V_X^*)$  e componente principais.

Critérios de seleção							
	Folha		Raiz				
Normas CND	CP-1	CP-2	CP-1	CP-2			
$V_{\mathrm{N}}^{*}$	-0,039	0,562*	0,101	0,888*			
$oldsymbol{V_{\mathbf{P}}^{*}}$	-0,806*	0,011	-0,532*	0,733*			
$V_{\mathrm{K}}^{*}$	-0,476*	0,515*	0,554*	0,312			
$oldsymbol{V_{Ca}^*}$	0,897*	0,212	0,909*	0,176			
$oldsymbol{V_{Mg}^*}$	0,813*	-0,157	0,684*	-0,060			
$V_{\mathbf{S}}^{*}$	-0,421*	-0,848*	-0,384*	-0,184			
$oldsymbol{V}^*_{Cu}$	0,118	0,752*	-0,565*	-0,774*			
$V_{\mathrm{Mn}}^{*}$	0,644*	0,586*	-0,614*	-0,654*			
$V_{\mathrm{Zn}}^{*}$	-0,171	0,728*	0,225	0,403*			

<sup>\*</sup>significativos pelo critério de seleção proposto por com base em Ovalles e Collins (1988).



**FIGURA 6**. Análise gráfica da distribuição das variáveis multinutrientes (VN, VP, VK, VCa, VMg, VS, VCu, VMn e VZn) nos componentes principais para as normas CND (razão logarítmica centrada) na população de alta produtividade selecionada pelos critérios de seleção, onde (A) Folha e (B) raiz.

Observa-se na Figura 6 que quanto menor o ângulo entre a variável e o eixo do CP, mais importante é a variável para explicar a variabilidade daquele componente. Na

folha, o VP é a principal variável para explicar o componente principal 1 (CP-1) enquanto o VN é a principal variável para o componente principal 2 (CP-2). Entretanto, a importância muda de acordo com o critério de seleção, como pode ser visto na raiz o principal nutriente para o CP-1 é o VMg, enquanto para para o CP-2 a principal é VN.

Na folha, o CP-1 teve relação positiva com  $V_N^*$ ,  $V_{Ca}^*$ ,  $V_{Mg}^*$ ,  $V_{Cu}^*$  e  $V_{Mn}^*$  e relação negativa com  $V_P^*$ ,  $V_K^*$ ,  $V_S^*$  e  $V_{Zn}^*$  e o CP-2 relacionou-se positivamente com  $V_N^*$ ,  $V_P^*$ ,  $V_K^*$ ,  $V_{Ca}^*$ ,  $V_{Cu}^*$ ,  $V_{Mn}^*$  e  $V_{Zn}^*$  e relação negativa com  $V_{Mg}^*$  e  $V_S^*$ . Na raiz as relações positivas e negativas das variáveis também mudam em relação ao CP analisado. Essas diferenças entre os componentes principais estão relacionadas com a grande quantidade de variáveis analisadas em cada componente principal, então possibilita afirmar que o diagnóstico de equilíbrio nutricional para o milho não pode ser concluído corretamente, se feito isoladamente, porque depende diretamente dos critérios de seleção da população de referência.

Na folha a estrutura modelada pelo CP-1 (Ca<sup>+</sup> Mg<sup>+</sup> Mn<sup>+</sup> P<sup>-</sup> K<sup>-</sup> S<sup>-</sup>), Ca e Mg pode apresentar uma inibição competitiva em relação ao K, quando há uma alta concentração de Ca e Mg no solo reduz a absorção de K. Além disso, o K tem relação inibitiva ao Mn, como o Ca e Mg reduziram a absorção de K o Mn pode ser absorvido em maior quantidade. O excesso de Ca no solo diminui o teor de P na folha, isso pode estar relacionado ao aumento do pH e formação de fosfatos de cálcio insolúveis. As concentrações de P na folha estão relacionadas às de S e vice-versa (MALAVOLTA, 2006). Para o CP-2 (N<sup>+</sup> K<sup>+</sup> Cu<sup>+</sup> Mn<sup>+</sup> Zn<sup>+</sup> S<sup>-</sup>), o fornecimento de N em forma de NH<sub>4</sub>, aumenta a disponibilidade de Zn no solo, então isso ocasiona uma correlação positiva entre N-Zn, N, K, Cu, Mn e Zn se correlacionam de maneira negativa ao S.

Para a raiz a estrutura modelada pelo CP-1 foi (K<sup>+</sup> Ca<sup>+</sup> Mg<sup>+</sup> P<sup>-</sup> S<sup>-</sup> Cu<sup>-</sup> Mn<sup>-</sup>), além das relações Ca-P e P-Zn explicados anteriormente, o Ca se relaciona de forma negativa com Cu e Mn, pois as fontes de Ca geralmente aumentam o pH do solo diminuindo a disponibilidade destes elementos. Na estrutura modelada de CP-2 (N<sup>+</sup> P<sup>+</sup> Zn<sup>+</sup> Cu<sup>-</sup> Mn<sup>-</sup>) N, P e Zn se correlacionam de maneira negativa a Cu e Mn.

A estrutura formada pelo CP-1 da folha e raiz e CP-2 da folha indicam um grande número de nutrientes envolvido, isso demonstra que a diagnose nutricional não deve ser realizada com base apenas num nutriente, pois a interação entre eles é complexa, ampla e as vezes varia caso por caso, pois depende não apenas do tipo de nutriente, mas também de sua quantidade, indicando efeitos de diluição ou consumo de luxo (Figura 5).

## 5. CONCLUSÕES

O tecido radicular apresentou melhor desempenho pelos métodos de Cate-Nelson, teste de diagnóstico e análise discriminante para seleção de populações de alta produtividade.

A distância de Mahalanobis foi a melhor variável para discriminar as populações de alta produtividade independente do tecido vegetal ou método utilizado.

# 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora o número de amostras seja pequeno, foi possível desenvolver normas CND-clr preliminares com acurácia suficiente para a diagnose da composição nutricional da folha e raiz da planta de milho.

Há a necessidade de mais pesquisas, com populações maiores, em outros solo e condições climáticas para verificar se o tecido radicular realmente é mais eficaz para a diagnose nutricional do milho. Apesar de ter o melhor tecido para proceder as análises, é necessário considerar a viabilidade da coleta dos tecidos radiculares por ser uma amostragem destrutiva e pelas dificuldades na amostragem no campo e posterior limpeza das amostras.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AITCHISON, J. Statistical analysis of compositional data. **Chapman and Hall**, p. 416, 1986.
- ANJANEYULU K.; RAGHUPATHI, H. B.; CHANDRAPRAKASH, M. K. Compositional nutrient diagnosis norms (CND) for guava (*Psidium guajava* L.). **Journal Horticultural Science.** v. 3 n.2, p. 132-135, 2008.
- BEAUFILS, E. R. Diagnosis and recommendation integrated system (DRIS). A general scheme of experimentation and calibration based on principles developed from research in plant nutrition. **South Africa: University of Natal**, p. 132, 1973.
- CAMACHO, M. A.; SILVEIRA, M. V. da; CAMARGO, R. A.; NATALE, W. Faixas normais de nutrientes pelos métodos ChM, DRIS e CND e nível crítico pelo método de distribuição normal reduzida para laranjeira-pera. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, p. 193-200, 2012.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira grãos.** Monitoramento agrícola Safra 2016/2017, v.4, n.7, 2017.
- DE WIT, C. T. Resource use in agriculture. **Agricultural Systems**, v. 40, p. 125-151. 1992.
- EGOZCUE, J. J.; GLAHN, V. P.; FIGUERAS, G. M.; VIDAL, C. B. Isometric Logratio transformations for compositional data analysis. **Mathematical Geology**, v. 35, n. 3, p. 279-300, 2003.
- HOLLAND, D. A. The interpretation of Leash Analysis. **Journal Horticultural Science**, v. 41, p. 311-329, 1966.
- JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. Applied multivariate statistical analysis. **Prentice-Hall**, 773p. 2007.
- KHIARI, L.; PARENT, L. E.; TREMBLAY, N. Critical compositional nutrient indexes for sweet corn at early growth stage. **Agronomy Journal**, v. 93, p. 809–814, 2001a.
- KHIARI, L.; PARENT, L. E.; TREMBLAY, N. Selecting the high-yield subpopulation for diagnosing nutrient imbalance in crops. **Agronomy Journal**, v. 93, n. 4, p. 802-808, 2001b.
- KÖPPEN, W. Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra. México: Fondo de Cultura Económica, 478p. 1948.
- KURIHARA, C. H.; VENEGAS, V. H. A.; NEVES, J. C. L.; NOVAIS, R. F.; STAUT, L. A. Faixas de suficiência para teores foliares de nutrientes em algodão e em soja definidas em função de índices DRIS. **Revista Ceres**, v. 60, n. 3, p. 412-419, 2013.

- LEITE, U. T.; AQUINO, B. F.; ROCHA, R. N. C.; SILVA, J. Níveis críticos foliares de boro, cobre, manganês e zinco em milho. **Bioscience Journal**, v. 19, n. 2, p. 115-125, 2003.
- LUZ, F. A.; MUNITA, C. S.; NEVES, E. G. Caracterização química preliminar do sítio Lago Grande, AM. In: **Simpósio Latino Americano sobre Métodos Físicos e Químicos em Arqueologia, Arte e Conservação de Patrimônio Cultural,** 1., 2007, São Paulo, Museu de Arte de São Paulo.
- MALAVOLTA, E. Manual de nutrição mineral de plantas. **Agronômica Ceres**, p. 638, 2006.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: princípios e aplicações. **Potafos**, v. 2, p. 319, 1997.
- MARSCHNER, H.; Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. **Elsevier** / **Academic Press**, v. 3, p. 684, 2012.
- MÜLLER, T. M.; SANDINI, I. E.; RODRIGUES, J. D.; NOVAKOWISKI, J. H.; BASI, S.; KAMINSKI, T. H. Combination of inoculation methods of *Azospirilum brasilense* with broadcasting of nitrogen fertilizer increases corn yield. **Ciência Rural**, v. 46, n. 2, 2015.
- NELSON, L. A.; ANDERSON, R. L. Partitioning of soil test-crop response probability. p. 19–38, 1977. In M. Stelly (ed.) Soil testing: Correlating and interpreting the analytical results. **American Society of Agronomy**, 1977.
- OVALLES, F. A.; COLLINS, M. E. Variability of northwest Florida soils by principal component analysis. **Soil Science Society America Journal**, v. 52, p. 1430-1435, 1988.
- PARENT, L. E. Diagnosis of the nutrient compositional space of fruit crops. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 321-334, 2011.
- PARENT, L. E.; DAFIR, M. A theoretical concept of compositional nutrient diagnosis. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 117, p. 239-242, 1992.
- PARENT, L. E.; NOWAKI, R. H. D.; PARENT, S. E.; FILHO, A. B. C.; NATALE, W. Avaliação do estado nutricional de hortaliças pelo método CND, 2016. In: PRADO, R. de M.; CECÍLIO FILHO, A. B. Nutrição e adubação de hortaliças. p. 393-418 **Embrapa Rondônia,** p. 600, 2016.
- PARENT, L. E.; PARENT, S. E.; HÉBERT-GENTILE, V.; NAESS, K.; LAPOINTE, L. "Mineral Balance Plasticity of Cloudberry (Rubus Chamaemorus) in Quebec-Labrador," **American Journal of Plant Science**, v. 4, n. 7, p. 1508-1520, 2013.
- PARTELLI, F. L.; DIAS, J. R. M.; VIEIRA, H. D.; WADT, P. G. S.; JUNIOR, E. P. Avaliação nutricional de feijoeiro irrigado pelos métodos CND, DRIS e Faixas de Suficiência. **Revista Brasileira de Ciência do Solo,** v. 38, p. 858-866, 2014.

- RAUSCH, T.; WACHTER, A. Sulfur metabolismo: a versatile platform for launching defence operations. **Trends in Plant Science**, v. 10, p. 503-509, 2005.
- ROSS, S. M. Introduction to probability and statistics for engineers and scientists. **John Wiley & Sons**, New York, 1987.
- ROZANE, D. E.; MATTOS, D. J.; PARENT, S. E.; NATALE, W.; PARENT, L. E. Meta-analysis in the selection of groups in varieties of citrus. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 46, n. 15, p. 1948-1959, 2015.
- SANTOS, E. F.; DONHA, R. M. A.; ARAUJO, C. M. M.; JUNIOR, J. L.; CAMACHO, M. A. Faixas normais de nutrientes em cana-de-açúcar pelos métodos ChM, DRIS e CND e Nível Crítico pela distribuição normal reduzida. **Revista Brasileira de Ciência do Solo,** v. 37, p. 1651-1658, 2013.
- SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; CUNHA, T. J. F.; OLIVEIRA, J. B. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 4 ed. p. 376, 2014.
- SERRA, A. P.; MARCHETTI, M. E.; ROJAS, E. P.; MORAIS, H.S.; CONRAD, V. A.; GUIMARÃES, F. C. N. Estabelecimento de normas DRIS para o algodoeiro com diferentes critérios de seleção da população de referência. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p. 1472-1480, 2013.
- SERRA, A. P.; MARCHETTI, M. E.; VITORINO, A. C. T.; NOVELINO, J. O.; CAMACHO, M. A. Desenvolvimento de normas DRIS e CND e Avaliação do Estado Nutricional da Cultura do Algodoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 34, p. 97-104, 2010.
- ŠIMUNDIĆ, A. M. Measures of Diagnostic Accuracy: Basic Definitions. **The Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 19, p. 203-211, 2009.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Assimilação de Nutrientes. **Taiz, L.; Zeiger, E. Fisiologia Vegetal. Porto Alegre: Artmed**, p. 918, 2013.
- URANO, E. O. M.; KURIHARA, C. H.; MAEDA, S.; VITORINO, A. C. T.; GONÇALVES, M. C.; MARCHETTI, M. E. Determinação de teores ótimos de nutrientes em soja pelos métodos chance matemática, sistema integrado de diagnose e diagnose da composição nutricional. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 63-72, 2007.
- VARMUZA, K.; FILZMOSER, P. Introduction to multivariate statistical analysis in chemometrics. **Taylor & Francis Group**. p. 283, 2009.
- WADT, P. G. S.; ANGHINONI, I.; GUINDANI, R. H. P.; LIMA, A. S. T.; PUGA, A. P.; SILVA, G. S.; PRADO, R. M. Padrões nutricionais para lavouras arrozeiras irrigadas por inundação pelos métodos da CND e Chance Matemática. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, p. 145-156, 2013.

WALWORTH, J. L.; SUMNER, M. E. The Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS). **Advance in Soil Science**, v. 6, p. 149-188, 1987.

YOUSUF, M. N.; AKTER, S.; HAQUE, M. I.; MOHAMMAD, N.; ZAMAN, M. S. Compositional nutrient diagnosis (CND) of onion (Allium cepa L.). **Bangladesh Journal of Agricultural Research**, p. 38, n. 2, p. 271 -287, 2013.