

DIAGNOSE DA NUTRIÇÃO NITROGENADA DO MILHO, PELA ANÁLISE QUÍMICA DAS FÔLHAS⁽¹⁾

J. ROMANO GALLO e FERNANDO A. SOARES COELHO, *engenheiros-agrônomo*s, *Laboratório de Análise Foliar, Instituto Agrônomo* (2)

RESUMO

Estuda-se a sensibilidade das partes da folha (base, meio e ponta) e do tecido (porção clorofilada da lâmina e nervura), para análise das formas de nitrogênio solúvel em água (nitrato) e nitrogênio-total, como índices de nutrição de milho. As amostras de folhas provieram de ensaio de adubação NPK onde era visível a reação das plantas à adubação nitrogenada. A análise foliar efetuada cerca de 9 semanas depois do plantio, fornece indicação do estado nutricional da planta, a tempo de possibilitar a correção da deficiência. Os resultados obtidos mostraram ser a base da folha a parte mais adequada para o estudo da nutrição nitrogenada de milho. Ai é maior a sensibilidade dos tecidos às formas de nitrogênio-total e nitrato.

1 — INTRODUÇÃO

A clorose nas folhas motivada pela deficiência de nitrogênio na planta pode resultar muitas vezes de um desequilíbrio de nutrientes, do que propriamente de sua falta no solo. Ao contrário, substanciais aumentos de nitrogênio nas folhas podem estar associados a deficiências de diversos elementos (1). Também não está evidenciado se o aparecimento de sintoma de deficiência tem relação com o teor total ou se apenas à deficiência de uma forma de combinação específica do elemento (6). Dêsse modo, o conhecimento do teor de nitrogênio total nas folhas e daquele contido numa forma solúvel representa uma base útil na investigação dos problemas nutricionais ligados a êsse nutriente.

No que respeita às formas de combinação para o nitrogênio, Ulrich (7) estabelece a seguinte ordem de preferência como capaz de refletir o

(1) Trabalho apresentado ao IX Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, realizado em Fortaleza, Ceará, de 15 a 23 de julho de 1963. Executado com auxílio da Fundação Rockefeller (E. U. A.) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. Recebido para publicação em 26 de agosto de 1963.

(2) Os autores agradecem aos engenheiros-agrônomos Glauco Pinto Viégas e Luiz Tôrres de Miranda, o fornecimento dos dados de produção e facilidades oferecidas à execução dêste trabalho.

estado nutricional da cultura: nitrato, nitrogênio-não-coloidal, nitrogênio total e nitrogênio-coloidal.

Na análise foliar do milho tem sido usada a folha situada em posição oposta à espiga, colhida no período do empenoamento, constituindo a amostra a folha toda, com exclusão da bainha, que permanece no colmo. O presente trabalho sugere a modificação da técnica de amostragem com referência à parte e ao tecido da folha e à idade da planta, apropriados à diagnose da nutrição nitrogenada do milho.

2 – MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se de um ensaio de adubação NPK, em combinação fatorial 3³, com evidência de reação das plantas à adubação nitrogenada, instalado pela Seção de Cereais do Instituto Agrônomico, na localidade de Cordeirópolis. Os adubos foram aplicados na razão de 0, 60 e 120 quilogramas por hectare de N, P₂O₅ e K₂O. O nitrogênio foi aplicado a quarta parte no plantio e o restante 40-50 dias mais tarde, em cobertura. Um tratamento extra 322, isto é, nas doses de 180 kg de N, 120 kg de P₂O₅ e 120 kg de K₂O por hectare, em três repetições, acompanhou o ensaio.

Em cada tratamento colheram-se cerca de 10 a 15 folhas de posição +4, das três linhas úteis de cada canteiro, em plantas com 9 semanas de idade, ou seja, na época em que a flecha floral está prestes a emergir ou apenas é notada. Por folha de posição +4 é designada a quarta folha a partir do ápice, considerando a primeira aquela de posição mais alta em que a interseção da lâmina com a bainha é visível. A figura 1 indica a posição e situa a parte da folha recomendada para análise.

Colhidas as folhas, foram elas divididas em três partes a saber: base, meio e ponta. Na base separou-se a nervura da porção clorofilada da lâmina. O peso seco de cada amostra de folha foi anotado.

A fim de estudar a tendência de variação de composição das folhas em estádios mais avançados, foram também retiradas amostras 11, 13 e 15 semanas depois do plantio. Plantas com essas idades correspondem aproximadamente aos seguintes estádios fisiológicos: embonecamento, 11 semanas; estado de "milho verde", 13 semanas; máximo de peso dos grãos, 15 semanas. Nas amostragens efetuadas nessas épocas foi colhida a folha de posição oposta à espiga. Desde que o teor de nitrato na planta está sujeito a variação durante o dia (4), em todas as épocas a amostragem foi realizada entre 10 e 12 horas.

As amostras, reduzidas a um grau de finura definido pela peneira de malha 40, foram submetidas a análises de nitrogênio total e nitrato. O



FIGURA 1. — Planta de milho 9 semanas após o plantio. Fôlhas de posição +4 e parte da fôlha indicada para análise. A nervura é usada para a dosagem de nitrato e reserva-se a porção clorofilada para a análise de nitrogênio-total.

nitrogênio total foi determinado pelo processo semi-micro Kjeldahl (5); o método analítico empregado para nitrato foi adaptado de Johnson e Ulrich (3).

3 – RESULTADOS

No quadro 1 são apresentados os resultados da análise de nitrato e nitrogênio total nas três partes da folha designadas como ponta, meio e base, colhidas 9 semanas depois do plantio. Os dados do quadro 2 mostram os teores das respectivas formas de nitrogênio dosado na nervura e

QUADRO 1. – Concentração de nitrato e nitrogênio total em diferentes partes de folhas de milho, colhidas 9 semanas após o plantio

Tratamentos (Níveis de N, P ₂ O ₅ , K ₂ O)	Base		Meio		Ponta	
	N-NO ₃	N-total	N-NO ₃	N-total	N-NO ₃	N-total
	ppm	%	ppm	%	ppm	%
000	284	2,80	200	2,19	399	1,70
001	264	2,60	392	2,30	503	1,86
002	316	2,73	356	2,92	536	1,93
010	144	2,46	256	1,79	362	2,01
011	228	1,81	240	1,79	193	1,49
012	388	2,60	224	1,76	286	1,43
020	300	2,19	192	2,33	206	1,26
021	252	2,25	152	1,80	156	1,37
022	256	1,85	208	1,72	122	1,24
100	168	3,48	504	3,07	1889	2,46
101	268	3,03	328	2,19	1838	2,12
102	188	2,93	480	2,98	1942	2,35
110	212	3,23	160	2,69	466	2,09
111	136	2,95	320	2,71	675	1,85
112	356	3,10	440	2,62	761	1,98
120	128	3,11	248	2,33	276	1,61
121	292	3,24	400	1,84	261	2,61
122	244	3,01	144	2,01	100	1,98
200	112	3,33	692	3,19	3162	2,56
201	284	3,60	576	2,92	2485	2,38
202	268	1,74	496	3,10	1758	2,54
210	192	3,04	408	2,67	1314	2,33
211	308	3,24	136	2,76	914	2,17
212	120	2,87	492	2,68	1795	2,66
220	300	3,53	232	2,60	560	2,29
221	180	3,33	256	2,87	369	2,16
222	300	3,30	264	2,50	448	2,23
322	112	2,37	224	2,88	659	2,60
322	268	3,11	200	3,06	840	2,07
322	260	3,25	136	2,98	753	2,28

QUADRO 2. — Teores de nitrogênio na nervura e lâmina de fôlhas de milho, colhidas 9, 11, 13 e 15 semanas após o plantio, da parte relativa à base da fôlha

Tratamentos (Níveis de N, P ₂ O ₅ , K ₂ O)	9 semanas		11 semanas		13 semanas		15 semanas	
	N-NO ₃	N-total	N-NO ₃	N-total	N-NO ₃	N-total	N-NO ₃	N-total
	<i>ppm</i>	%	<i>ppm</i>	%	<i>ppm</i>	%	<i>ppm</i>	%
000	592	2,38	168	2,46	90	2,16	72	2,01
001	568	2,38	240	2,25	92	1,71	120	1,91
002	656	2,57	196	1,98	84	1,99	64	1,61
010	400	2,65	112	2,10	68	1,91	80	1,75
011	172	2,05	132	1,80	52	1,85	62	1,98
012	272	1,80	80	2,01	62	1,63	80	2,13
020	156	1,80	40	1,85	40	1,49	56	1,51
021	132	1,74	104	2,50	40	1,51	80	1,82
022	120	1,67	144	2,16	40	1,67	96	1,47
100	3176	2,97	1600	3,05	132	2,05	200	1,77
101	2536	3,06	1040	2,53	228	2,27	112	1,68
102	3560	3,21	1456	3,23	224	2,74	144	2,50
110	800	2,70	152	2,04	90	2,11	40	2,45
111	904	2,40	104	2,80	84	2,19	184	2,32
112	1000	2,82	224	2,56	104	2,15	108	1,86
120	328	2,20	72	2,00	48	2,21	96	1,68
121	268	2,96	80	2,41	100	2,29	112	1,95
122	120	2,77	80	2,90	20	1,86	56	2,87
200	4264	3,45	3376	3,20	560	2,87	232	2,60
201	3680	3,00	1824	2,80	324	2,87	288	2,61
202	2800	3,31	3056	3,00	668	2,71	104	2,87
210	1848	3,03	696	3,16	140	3,32	264	2,33
211	1784	2,83	320	3,00	176	2,47	64	2,28
212	2792	3,40	736	3,02	240	2,47	80	2,35
220	856	3,36	248	2,70	68	2,34	72	2,15
221	472	2,90	196	2,77	24	2,45	56	2,92
222	576	2,75	240	2,62	36	2,60	136	2,00
322	1016	3,47	248	3,03	40	2,75	72	2,45
322	1832	2,85	424	3,24	100	2,61	100	2,70
322	1448	3,15	184	3,05	44	2,46	64	2,93

na porção clorofilada, relativas à base da fôlha, em diferentes estádios do ciclo do milho.

3.1 — NITRATO NAS PARTES DA FÔLHA

A análise da variância dos teores de nitrato nas frações da fôlha (ponta, meio e base) revelou o seguinte:

Base — Ocorrência de reação linear e positiva, altamente significativa, às doses crescentes de nitrogênio; negativa, altamente significativa, para as componentes P₁ e N₁P₁.

Meio — Efeitos idênticos aos ocorridos na base foram verificados, com exceção da interação N_1P_1 , cujo efeito foi significativo a 5%.

Ponta — Apenas tendência para reação linear e positiva às doses crescentes de nitrogênio foi observada. A componente P_1 apresentou ainda efeito negativo, significativo a 5%.

A análise da variância da base menos meio para os teores de nitrato, mostrou efeito significativo para a componente N_1 e negativo para P_1 .

3.2 — NITROGÊNIO TOTAL NAS PARTES DA FÔLHA

Para a forma nitrogênio-total, a análise da variância revelou:

Base — Efeito linear e positivo, altamente significativo, da adubação nitrogenada; linear e negativo, significativo, da adubação fosfatada sobre o teor de nitrogênio.

Meio — Comportamento idêntico à base, sendo que o efeito da adubação fosfatada foi altamente significativo.

Ponta — Reação linear e positiva, altamente significativa às doses crescentes de nitrogênio. Efeito positivo, significativo da interação N_1P_1 sobre o teor de nitrogênio.

Um resumo das análises da variância, com os respectivos coeficientes de variação, é apresentado no quadro 3.

QUADRO 3 — Resultados da análise da variância para as formas de nitrogênio dosado nas diversas frações da fôlha. Valores de F obtidos

Fontes de variação	Nitrogênio — nitrato			Nitrogênio — total		
	Base	Meio	Ponta	Base	Meio	Ponta
N_1	66,71**	18,62**	3,11	41,04**	29,99**	20,95**
P_1	95,49**(-)	30,34**(-)	8,16*(-)	8,24*(-)	15,83**(-)	n. s.
N_1P_1	22,55**(-)	6,98*(-)	n. s.	n. s.	n. s.	7,79*
Cocf. var.%	32,9	24,2	20,5	12,8	11,8	11,9

3.3 — ANÁLISE DAS FORMAS DE COMBINAÇÃO DE NITROGÊNIO NA NERVURA E PORÇÃO CLOROFILADA DA BASE

Como a fração nitrato acha-se mais concentrada na nervura central — tecido de condução — e o nitrogênio total na lâmina clorofilada — tecido de reserva — a determinação dessas formas foi feita nos respectivos tecidos da base da fôlha. Os dados, discutidos a seguir, dizem respeito somente à análise das amostras correspondentes a 9 semanas depois do plantio, idade que coincide com o início do período ativo de absorção de nitrogênio no

milho (8). Nessa fase ainda seria possível corrigir, por meio da adubação, eventual deficiência do elemento considerado, revelada pela análise foliar.

A análise da variância dos teores de nitrato na nervura, mostrou reação linear e positiva altamente significativa, às doses crescentes de nitrogênio usadas na adubação; efeito negativo, altamente significativo, da adubação fosfatada e da interação N_1P_1 sobre os teores de nitrato na fôlha.

No caso do nitrogênio total, na lâmina, a análise da variância revelou que houve, também, reação linear e positiva às doses crescentes de nitrogênio, e reação linear negativa, altamente significativa, à adubação fosfatada.

Um resumo das análises da variância para as formas nitrato e nitrogênio total, determinadas na nervura e na lâmina da base da fôlha, respectivamente, é apresentado no quadro 4.

QUADRO 4. — Resultados da análise da variância para os teores de nitrato e nitrogênio total na porção basal da fôlha. Valores de F obtidos

Fontes de variação	Nitrato, na nervura	N-total, na parte clorofilada
N_1	61,12**	99,56**
P_1	84,37**(-)	21,52**(-)
N_1P_1	19,77**(-)	n. s.
Coef. var. %	37,4	7,9

Os resultados da análise da variância podem ser apreciados de modo mais geral pelos gráficos da figura 2. Na mesma figura constam outros gráficos apresentados para mostrar a tendência de variação dos teores de N-nitrato e de N-total determinados na porção basal da fôlha, segundo a idade do milho durante o ciclo. Verifica-se que os níveis de nitrogênio nas fôlhas sofrem modificações substanciais através do ciclo, sendo as amostras colhidas em quatro estádios diferentes, tendendo a ser altos nas plantas novas e baixos no final do ciclo.

3. 4 — DADOS DE PRODUÇÃO

Produção de matéria seca das fôlhas — Um dado quantitativo do desenvolvimento da planta pode ser fornecido pela produção de matéria seca das fôlhas. A análise da variância dos pesos de matéria seca das fôlhas, colhidas para análise química na primeira época de amostragem, revelou reação linear e positiva, altamente significativa, às adubações nitrogenada e fosfatada, com valores de F obtidos de 19,8** e 53,0**, respectivamente, e

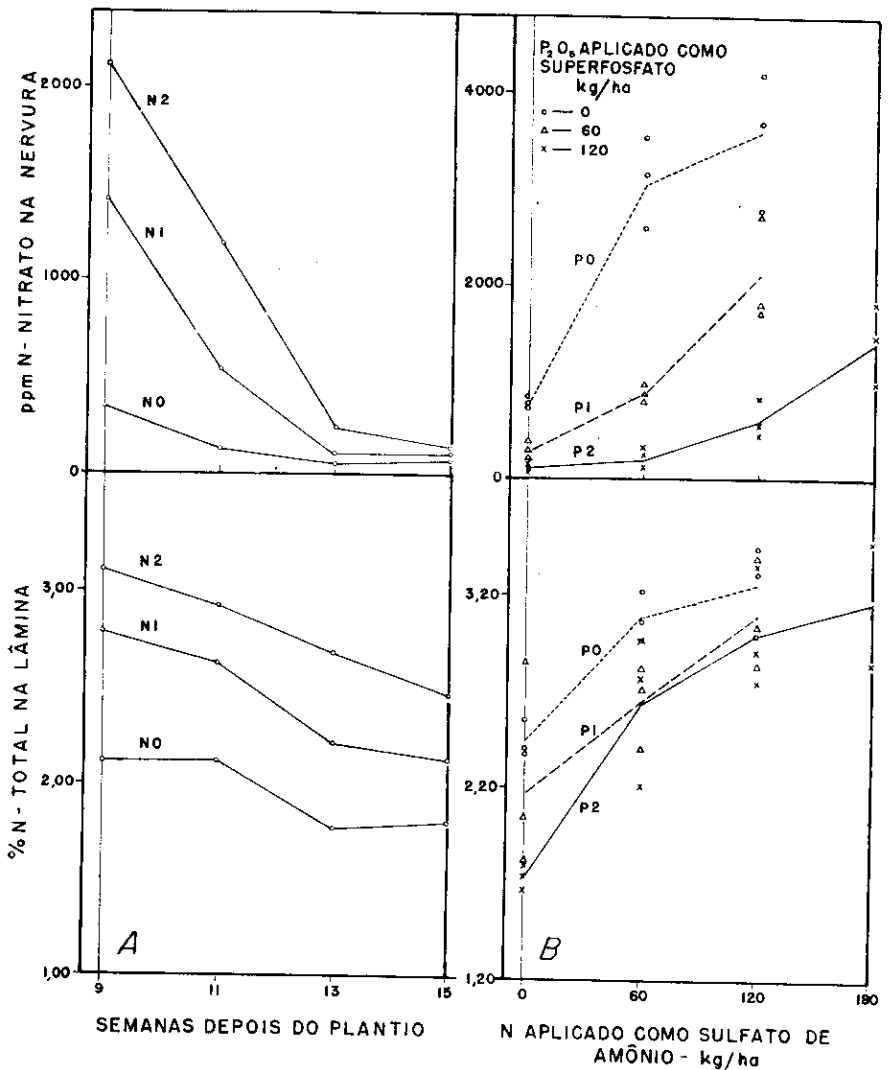


FIGURA 2. — Variação dos teores de nitrogênio, sobre matéria seca, na nervura e na porção clorofilada da base da fôlha, em milho: A — efeitos da adubação nitrogenada e idade da planta; B — efeitos das doses de N e P₂O₅ fornecidas pela adubação em fôlhas colhidas 9 semanas após o plantio.

um efeito positivo da interação N_1P_1 ($F=11,4^{**}$). O coeficiente de variação foi de 13,7%.

Produção de milho — A análise estatística dos dados de produção, resumida no quadro 5, indica um efeito dominante da adubação nitrogenada sobre a produção, produzindo a dose n_2 o dôbro do tratamento sem nitrogênio. Verifica-se, também que houve efeito do fósforo e que não houve resposta à adubação potássica. O efeito principal das doses de nitrogênio é revelado pelos seguintes resultados das médias de produção em quilogramas de grãos por hectare: n_0 , 1.564; n_1 , 2.503; e n_2 , 3.100.

QUADRO 5. — Análise da variância da produção de milho

Fonte de variação	G. L.	Soma dos quadrados	Quadrados médios	F
Total	26	402,1331		
Blocos	2	36,4693	18,2481	9,93**
N_1	1	149,2416	149,2816	81,21**
N_q	1	2,4704	2,4704	
P_1	1	85,7613	85,7613	46,67**
P_q	1	15,6493	15,6493	8,52**
K_1	1	7,6832	7,6832	4,18
K_q	1	0,9761	0,9761	
N_1P_1	1	74,3016	74,3016	40,43
N_1K_1	1	0,0037	0,0037	
P_1K_1	1	1,9845	1,9845	
Resíduos	15	27,5651	1,8377	

Coef. var. = 15,1%

4 — DISCUSSÃO

A experiência aqui relatada evidencia que a análise foliar efetuada em milho, 9 semanas após o plantio, oferece sensibilidade suficiente para diagnose da nutrição nitrogenada. A posição da fôlha, em relação à planta, para análise é indicada pelo sistema de Kuijper, já adotado anteriormente para cana-de-açúcar (2). Considerando a ausência de espiga nesse estágio, a técnica empregada permite colher fôlhas de mesma posição, comparáveis por sua idade fisiológica.

Os resultados obtidos apontam a porção da base da fôlha como a parte mais adequada ao estudo das formas nitrato e nitrogênio total, sendo o N-nitrato dosado na nervura e o N-total, na parte clorofilada da lâmina. Segundo mostram os dados do quadro 4, ambas as formas se prestam para

revelar os efeitos da adubação nitrogenada. O maior coeficiente de variação obtido quando se usou a análise de nitrato deve-se à estreita dependência dessa forma às condições ambientes (4), concorrendo isso para menor uniformidade das amostras.

Outra observação importante a destacar é o efeito linear da adubação fosfatada na redução dos teores de nitrogênio nas folhas. A maior concentração de nitrogênio nas folhas das plantas sem fósforo, ou que receberam menor adubação com fósforo, pode ser explicada em função da menor produção de matéria seca obtida nesses casos.

Os teores médios obtidos da análise das folhas apresentam interesse por indicar boas diferenças de produção. O teor médio de nitrogênio-nitrato dosado na nervura foi de 341 ppm para as plantas do tratamento n_0 , sem nitrogênio, comparado com 1410 e 2119 ppm para os tratamentos n_1 e n_2 , o que dá as razões de 1: 4,13: 6, 6,21. As médias para o nitrogênio total foram, respectivamente, 2,12, 2,79 e 3,11 por cento, guardando os números as proporções de 1: 1,32: 1,47. Assim, são indicadas variações mais amplas nos teores de nitrato, comparados aos de nitrogênio total.

Sintomas de deficiência foram observados nos canteiros sem nitrogênio e em alguns que receberam 60 kg de N por hectare. Nos canteiros sem N os teores nas folhas variaram entre 120-656 ppm de $N-NO^3$ e 1,67-2,65% de N. Teores de nitrogênio nas folhas em torno dos valores médios obtidos para a dose 2 podem ser considerados como indicativos de uma nutrição adequada das plantas de milho, usando a técnica de amostragem descrita.

A modificação da técnica de amostragem para milho, aqui apresentada, veio proporcionar uma base para novos estudos, a fim de estabelecer, nas condições do Estado de São Paulo, os níveis limiares de nutrição relativos às formas de nitrogênio e parte da folha considerada.

5 - CONCLUSÕES

a) Os resultados do presente estudo revelaram que a análise foliar pode ser usada como instrumento eficiente para diagnose da nutrição nitrogenada no milho, em amostras colhidas 9 semanas depois do plantio. As amplitudes de variação obtidas para os teores médios tendem a mostrar maior sensibilidade para a forma de N-nitrato do que para o N-total.

b) Constitui importante fator a ser considerado a influência da idade da planta na variação de composição das folhas para esse elemento e formas.

c) Houve efeito linear positivo, altamente significativo, da adubação nitrogenada sobre os teores de nitrogênio total nas três partes da folha (base, meio e ponta), e na base e meio sobre os teores de nitrato.

d) A adubação fosfatada produziu um efeito depressivo sobre os teores de nitrogênio na folha, mais acentuado para a forma nitrato.

e) A base da folha foi a parte que melhor se prestou às investigações das formas nitrato e nitrogênio total para fins de diagnose, sendo o N-nitrato dosado na nervura e o N-total na porção clorofilada.

THE DIAGNOSIS OF NITROGEN NUTRITION OF CORN, ACCORDING TO CHEMICAL COMPOSITION OF LEAVES

SUMMARY

A study is reported about sensitivity to total nitrogen and nitrate changes taking place in corn leaf parts (basal, median and top parts) and tissue (blades or midribs). Also a sampling procedure is described.

Samples were collected from one NPK fertilizer experiment of the 3³ factorial design, the plants showing a definite response to nitrogen fertilizer. Fertilizers were supplied at the rates of 0, 60 and 120 kg per hectare of each N, P₂O₅, and K₂O. Nitrogen was supplied as ammonium sulphate; one fourth was given at planting time, the remaining topdressed when the plants were 40-50 days old.

It is suggested that leaves should be sampled about 9 weeks after planting, when tassel is just emerging or a little earlier. The position of the leaf on the plant is indicated by Kuijper system, as leaf of position +4. Figure 1 shows the right position and the proper part of the leaf to be selected for analysis. Sufficient information is available to utilize the procedure outlined as a method to diagnose nitrogen needs. A) at 60 to 70 days after planting the nitrogen absorption rate becomes more pronounced for corn plants; B) the data of chemical analysis, as obtained, gave a good indication of nitrogen status of the crop; and C) at that age it should still be possible to correct nitrogen deficiency, by adding fertilizers.

The results indicated the basal, third of the leaf as the best part for diagnosing the nitrogen status, the midribs being analysed for nitrate-nitrogen and the remaining portion of the sample analysed for total nitrogen. Plants deficient in nitrogen gave low yields of grain. Mean values for NO₃-N concentrations of midribs were 341 ppm for deficient plants or untreated plants, as compared with 1410 and 2119 ppm for those receiving 60 and 120 kg N per hectare, respectively. Analysis for total N in the leaves showed mean values of 2.12, 2.79 and 3.11 per cent, respectively for the three levels of fertilizer. Thus the data indicate that nitrate-nitrogen values provide a more sensitive index of the nitrogen status of the corn plant than total N values.

Phosphate fertilization had a marked influence on the levels of nitrogen in the leaves, mainly on nitrate-nitrogen content. These effects were negative, as can be seen in table 4. The greater coefficient of variation for nitrate contents also appearing in table 4 is probably due to a greater dependence of this form of nitrogen on external growth factors, such as temperature, humidity, sunlight, etc. In order to keep sampling errors to a minimum it is suggested to control closely the time of day at which samples are taken.

LITERATURA CITADA

1. BOYNTON, D., YATSU, L. & KWONG, S. S. Some factors influencing the intermediary nitrogenous compounds in leaves of the strawberry plant (*Fragaria chilensis* var. *ananassa*). In Walter Reuther, ed. Plant analysis and fertilizer problems. Washington D. C., American Institute of Biological Sciences, 1961. p. 301-313.
2. GALLO, J. R. ALVAREZ, R. & ABRAMIDES, E. Amostragem em cana-de-açúcar, para fins de análise foliar. *Bragantia*, 1962. *Bragantia* 21:[899-922]. 1962.
3. JOHNSON, C. M. & ULRICH, A. II. Analytical methods for use in plant analysis. Berkeley, California Agric. Exp. Sta., 1959. p. 25-78. (Bull. 766).
4. KRANTZ, B. A., NELSON, W. L. & BURKHART, L. F. Plant-tissue tests as a tool in agronomic research. In Herminie Broedel Kitchen, ed. Diagnostic Techniques for soils and crops. Washington D. C., The American Potash Institute, 1948. p. 137-155.
5. LOTT, W. L., NERY, J. P., GALLO, J. R. & MEDCALF, J. C. A técnica de análise foliar aplicada ao cafeeiro. Campinas, Instituto Agrônomo, 1956. 29 p. (Boletim n.º 79)
6. SMITH, P. F., REUTHER, W. & SPECHT, A. W. Mineral composition of chlorotic orange leaves and some observations on the relation of sample preparation technique to the interpretation of results. *Plant Physiology* 25:496-506. 1950.
7. ULRICH, A. Plant analysis - Methods and interpretation of results. In Herminie Broedel Kitchen, ed. Diagnostic Techniques for soils and crops. Washington D. C., The American Potash Institute, 1948. p. 157-198.
8. VIÉGAS, G. P., CATANI, R. A. & FREIRE, E. S. Adubação do milho. IV - Adubação azotada em cobertura. *Bragantia* 14:[179]-192. 1955.