

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**DETERMINAÇÃO DA FOLHA DIAGNÓSTICO E
AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL DE CANOLA
(*Brassica napus* L.)**

MAÍLSON VIEIRA JESUS

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2017**

**DETERMINAÇÃO DA FOLHA DIAGNÓSTICO E AVALIAÇÃO
DO ESTADO NUTRICIONAL DE CANOLA (*Brassica napus* L.)**

MAÍLSON VIEIRA JESUS
Engenheiro Agrônomo

Orientadora: PROFa. DRa. MARLENE ESTEVÃO MARCHETTI

Coorientador: Dr. ADEMAR PEREIRA SERRA

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).

J43d	<p>Jesus, Maílson Vieira. Determinação da folha diagnóstico e avaliação do estado nutricional de canola (<i>Brassica napus</i> L.). / Maílson Vieira Jesus. – Dourados, MS : UFGD, 2017. 48f.</p> <p>Orientadora: Prof. Dra. Marlene Estevão Marchetti. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Nutrição mineral. 2. Diagnose foliar. 3. Análise multivariada. I. Título.</p>
------	--

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

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

**DETERMINAÇÃO DA FOLHA DIAGNÓSTICO E
AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL DE CANOLA
(*Brassica napus* L.)**

por

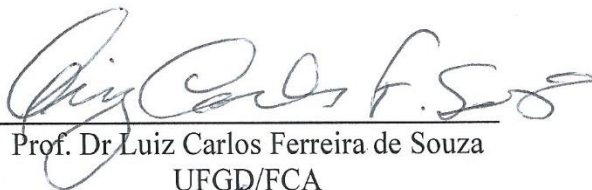
MAÍLSON VIEIRA JESUS

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

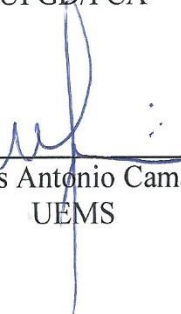
Aprovada em: 24 / 04 / 2017



Prof.^a Dr.^a Marlene Estevão Marchetti
UFGD/FCA
(Orientadora)



Prof. Dr. Luiz Carlos Ferreira de Souza
UFGD/FCA



Prof. Dr. Marcos Antonio Camacho da Silva
UEMS

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, por cada oportunidade, pela Fé que me move, por iluminar meu caminho e ser meu guia diário.

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

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

Ao Pesquisador Dr. Eng.º Agrônomo Ademar Pereira Serra, pela coorientação, por ter me dado a oportunidade de obter um novo conhecimento, me apoiado neste projeto e pela confiança que depositou em mim.

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Ferreira de Souza, pelo auxílio na elaboração do objetivo do trabalho. Por ceder a área experimental para realização do trabalho e orientações de coletas e análises.

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

A CAPES pela bolsa concedida.

Aos meus pais José Fernando da Costa Jesus e Diva Aparecida Vieira, pelo amor, pelo exemplo de humildade, esforço, carinho, dedicação, pela paciência e confiança que têm em mim.

Aos amigos Eng.º Agrônomo Tárík El Kadri, a Biotecnologista Priscila de Carvalho, Eng.º Agrônomo Jefferson de Oliveira Barizon, Eng.º Agrônomo João Victor Stefanello e o graduando em Agronomia Guilherme Afonso Schmidt por estarem sempre dispostos a ajudar.

Aos técnicos e funcionários da UFGD pelo apoio nos experimentos.

Aos colegas e professores da Faculdade de Ciências Agrárias

SUMÁRIO

	PÁGINA
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Canola	3
2.2 Nutrição mineral da canola	6
2.3 Avaliação do estado nutricional	8
2.4 Diagnose da Composição Nutricional.....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Caracterização da área experimental.....	13
3.2 Base geral de dados e delineamento experimental.....	14
3.3 Base de dados para o desenvolvimento das normas CND	15
3.4 Cálculo das Normas CND	15
3.5 Cálculo dos Índices CND.....	16
3.6 Cálculo da distância de Mahalanobis	17
3.7 Seleção de subpopulações	17
3.8 Definição da folha diagnóstico.....	18
3.9 Análise discriminante múltipla (ADM)	19
3.10 Análise de componentes principais (ACP)	19
3.11 Estatística	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 Detecção de <i>outliers</i> e teste de normalidade	21
4.2 Definição das subpopulações pela partição de Cate-Nelson e teste diagnóstico ..	25
4.3 Normas CND.....	28
4.4 Análises discriminante múltipla e análise de característica de operação do receptor.....	29
4.5 Análise de componentes principais (ACP)	35
5. CONCLUSÕES	39
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

LISTA DE QUADROS

PÁGINA

QUADRO 1. Requerimentos dos macros e micronutrientes pela canola. Fonte: Ciampitti e García (2007).....	7
QUADRO 2. Número de observações, amplitude de produtividade, média e desvio padrão para cada par de folhas após exclusão de <i>outliers</i>	23
QUADRO 3. Teste de diagnóstico, para os três critérios de seleção de populações de referência.....	27
QUADRO 4. Normas CND, em uma população de alta produtividade para os três pares de folhas avaliados	28
QUADRO 5. Teste de igualdade de médias dos grupos aplicado na análise discriminante múltipla para os três pares de folhas avaliados	29
QUADRO 6. Teste M de BOX entre matrizes de covariância para os grupos dos três pares de folhas avaliados	30
QUADRO 7. Sumarização de funções discriminantes para o quarto par de folhas.....	31
QUADRO 8. Análise ROC para as variáveis de teste do quarto par de folhas.....	33
QUADRO 9. Autovalores da análise dos componentes principais calculados do quarto par de folhas.....	35
QUADRO 10. Matriz de componente rotativa gerada pela ACP para as variáveis multinutrientes (V_X^*) e componente principais.....	36

LISTA DE FIGURAS

PÁGINA

- FIGURA 1.** Estádios e períodos de desenvolvimento da cultura da canola.
Fonte: THOMAS (1984) 4
- FIGURA 2.** Precipitação pluviométrica, temperaturas máximas e mínimas por decêndio no período de fevereiro de 2015 a agosto de 2015.
Fonte: Estação Meteorológica da UFGD. Dourados – MS 13
- FIGURA 3.** Identificação de *outliers* pela distância de Mahalanobis. **A)** 3º par de folhas; **B)** 4º par de folhas; **C)** 5º par de folhas 22
- FIGURA 4.** Histogramas com curva de normalidade de dados observados após a remoção de *outliers*. **A)** 3º par de folhas; **B)** 4º par de folhas e **C)** 5º par de folhas 24
- FIGURA 5.** Classificação da população de referência em subpopulações em, VN (Verdadeiro Negativo), FP (Falso Positivo); FN (Falso Negativo) e VP (Verdadeiro Positivo), pela partição de Cate-Nelson através da comparação da distância de Mahalanobis com a produtividade (kg ha^{-1}). **A)** 3º par de folhas; **B)** 4º par de folhas e **C)** 5º par de folhas 25
- FIGURA 6.** Representação dos centróides para cada classificador no quarto par de folhas. **CP-1)** Componente principal 1 e **CP-2)** Componente principal 2 32
- FIGURA 7.** Curva ROC comparando produtividade (kg ha^{-1}), distância de Mahalanobis e $\text{CND-}r^2$ para o quarto par de folhas 34
- FIGURA 8.** Análise gráfica da distribuição dos componentes principais para as variáveis multinutrientes na população de alta produtividade 36

RESUMO

JESUS, Maílson Vieira. **Determinação da folha diagnóstico e avaliação do estado nutricional de canola (*Brassica napus* L.)**. 2017. 45f. (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados - MS.

Objetivou-se com este trabalho avaliar qual a posição da folha tem melhor relação com a produtividade e o estado nutricional da planta por meio do método Diagnose da Composição Nutricional (CND) para a cultura da canola. O experimento teve início em 2015, foi semeado mecanicamente o híbrido Hyola 433 em sistema de plantio direto. Para a validação das normas foi desenvolvido um experimento fatorial 5 x 4, com quatro repetições, em blocos casualizados, onde variou-se doses de enxofre (0, 30, 60, 90 e 120 kg ha⁻¹ de enxofre elementar) e nitrogênio (0, 40, 80, 120 kg ha⁻¹ de uréia) em Dourados, na Fazenda Experimental da UFGD, safra 2015/16. Foram coletadas 240 amostras de folhas (3º, 4º e 5º par, a partir do ápice da haste). A base de dados foi dividida em três populações de referência, utilizando como critérios os pares de folhas e realizada a transformação dos dados pela relação logarítmica centrada (CND-*ctr*). As subpopulações foram separadas pelo método de Cate-Nelson levando-se em consideração a produtividade (kg ha⁻¹) e o equilíbrio nutricional, assim classificou-se em VN (verdadeiro negativo); VP (verdadeiro positivo); FN (falso Negativo) e FP (falso positivo). A classificação foi testada, indicando o Valor Preditivo Negativo (NPV); Valor Preditivo Positivo (PPV); Acurácia (Acc); Sensibilidade (ou *Sensitivity*) e a Especificidade (ou *Specificity*). Foram calculadas as normas e os índices CND compostos pela média e o coeficiente de variação centrados de *d* nutrientes, bem como o índice de desequilíbrio nutricional (CND-*r*²). Foi realizado teste de normalidade dos dados e então detectados e removidos os valores discrepantes (*outliers*). Foram realizadas a análise discriminante múltipla (ADM), análise característica de operação do receptor (ROC) e análise de componentes principais (ACP) para se obter informações de qual variável discrimina melhor os grupos preditos, o estado nutricional da planta e o estudo da interação entre os nutrientes. Por meio do método CND e análises estatísticas propostas neste trabalho, pode-se indicar o quarto par de folhas como folha diagnóstico, na coleta de amostras para diagnose foliar e avaliação do estado nutricional da canola, em sistema de rotação de cultura no estado de Mato Grosso do Sul.

Palavras-chave: nutrição mineral, diagnose foliar, análise multivariada.

ABSTRACT

JESUS, Maílson Vieira. **Determination of the diagnostic leaf and evaluation of the nutritional status of canola (*Brassica napus* L.)**. 2017. 45f. (Master in Agronomy) - Federal University of Grande Dourados, Dourados - MS.

The objective of this work was to evaluate the position of the leaf with better relation with the productivity and the nutritional status of the plant by means of the Diagnosis of Nutritional Composition (CND) method for canola cultivation. The experiment started in 2015, the Hyola 433 hybrid was sown mechanically in no-tillage system. For the validation of the standards, a 5 x 4 factorial experiment was developed with four replications, in randomized blocks, where sulfur doses (0, 30, 60, 90 and 120 kg ha⁻¹ of elemental sulfur) and nitrogen (0, 40, 80, 120 kg ha⁻¹ of urea) in Dourados, at the Experimental Farm of the UFGD, harvest 2015/16. 240 leaf samples were collected (3rd, 4th and 5th pair, from the apex of the stem). The database was divided into three reference populations, using the leaf pairs as criteria and the transformation of the data by the centered logarithmic relationship (CND-*clr*). The subpopulations were separated by the Cate-Nelson method taking into account the productivity (kg ha⁻¹) and the nutritional balance, so it was classified as TN (True negative); TP (True positive); FN (False Negative) and FP (False Positive). The classification was tested, indicating the Negative Predictive Value (NPV); Positive predictive value (PPV); Accuracy (Acc); Sensitivity and Specificity. CND standards and indices were calculated by the mean and coefficient of variation centered on nutrients as well as the index of nutritional imbalance (CND-*r*²). A normality test was performed on the data and then the discrepant values (outliers) were detected and removed. Multiple discriminant analysis (MDA), characteristic rectifier operation (ROC) analysis and principal component analysis (PCA) were performed to obtain information on which variable discriminates the predicted groups better, the nutritional state of the plant and the interaction study between nutrients. Through the CND method and statistical analysis proposed in this work, the fourth pair of leaves can be indicated as diagnostic leaf, in the collection of samples for foliar diagnosis and evaluation of the nutritional status of canola, in a crop rotation system in the state of Mato Grosso do Sul.

Key-words: mineral nutrition, leaf diagnosis, multivariate analysis.

1. INTRODUÇÃO

A produção de canola (*Brassica napus*, L.) destina-se, principalmente, à obtenção de óleo comestível e à agroenergia relacionada com o biocombustível (ÖZTÜRK, 2010). Segundo a CONAB (2017), o canário atual apresenta aumento significativo na demanda pelos produtos originários da canola, por outro lado há queda em área cultivada e produtividade, gerando constante desafio, no que tange atender às expectativas de consumo dos produtos e, com a tropicalização da espécie, o desafio se tornou ainda maior, sendo o cultivo eficiente da cultura e de forma sustentável o objetivo principal.

A produção rentável de canola depende da nutrição adequada das plantas, sendo afetada pela fertilidade do solo que, por consequência, pode afetar a fisiologia da planta em resposta a fatores de estresse como, doenças e condições climáticas adversas. O fornecimento equilibrado de nutrientes não só contribui para a produtividade da canola, mas também ajuda a conservar os recursos do solo (CANOLA COUNCIL OF CANADA, 2013).

Para avaliar o estado nutricional de uma planta e, assim, poder planejar as ações a campo, tem-se realizado a diagnose foliar. Desse modo, é importante conhecer qual folha ou par de folhas melhor representa esta nutrição, obtendo protocolos de coleta e portanto, realizar as devidas análises químicas sem que ocorra padrões e interpretações distintas (KURIHARA E SILVA, 2014). Contudo, para a cultura da canola não foram encontrados trabalhos na literatura, quanto à folha diagnóstico a ser coletada.

Os métodos de diagnose foliar mais empregados, como o nível crítico e faixas de suficiência são baseados na comparação de valores de concentração foliar de um determinado nutriente com valores padrões estabelecidos. Posteriormente, foi desenvolvido o Sistema Integrado de Diagnose e Recomendação (DRIS) por Walworth e Sumner (1987), que difere dos anteriores, por se basear nas relações binárias dos teores. Entretanto, o estudo de forma univariada ou bivariada das concentrações, acarreta em limitações estatísticas e interpretativas à esses métodos, já que os nutrientes fazem parte de uma composição (matéria seca da folha), além do que, interagem entre si de forma multivariada.

A fim de apresentar retificação à essa problemática. Parent e Dafir, desenvolveram a Diagnose de Composição Nutricional (CND), utilizando a transformação da relação logarítmica centrada (*clr*) de dados composicionais (AITCHISON, 1986), gerando fatores

de correção para cada nutriente e resultando em um sistema aberto multidimensional com múltiplas interações e maior sensibilidade diagnóstica (ANJANEYULU et al., 2008).

Somado ao que foi exposto, por ser recente o cultivo da canola e a comercialização de seus produtos industrializados no país, foram encontradas poucas informações quanto às exigências de nutrientes para as regiões produtoras. Sendo assim, objetivou-se com este trabalho avaliar qual par de folhas tem melhor relação com a produtividade e o estado nutricional da planta por meio do método de Diagnose da Composição Nutricional para a cultura da canola na região de Dourados, Matogrosso do Sul.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Canola

A expansão do cultivo de canola no mundo, e principalmente no Canadá, teve como causa principal, a demanda por lubrificantes para máquinas a vapor dos navios de guerra e mercantes da Segunda Guerra Mundial, já que as fontes de lubrificantes europeias e asiáticas encontravam-se bloqueadas. Na América do Sul não foi diferente, sendo que mais tarde outra demanda, na ocasião, por óleos vegetais com variados usos, fez com que houvesse a criação de novas variedades e crescente importância dessa espécie no agronegócio mundial (CANOLA COUNCIL OF CANADA, 2013).

Atualmente, de acordo com a CONAB (2017), a produção de canola é destinada à utilização do óleo para a alimentação humana, bem como, para a indústria de biodiesel, além da produção de farelo que pode ser utilizado na alimentação de animais. Ainda segundo a CONAB, os maiores produtores e consumidores dos grãos encontram-se na União Europeia (UE), seguidos pelo Canadá, somando 38,5 milhões de toneladas na última safra (2016/17), sendo que o consumo somente na UE ultrapassou a oferta em 4,2 milhões de toneladas. A fabricação de óleo teve queda de 2,9% e aumento no consumo de 0,2%. No Brasil a produção se encontra em sua totalidade concentrada na região centro-sul, sendo o Rio Grande do Sul com maior participação, em torno de 85%, seguido do Paraná (12%), Mato Grosso do Sul (1,5%), e o remanescente encontra-se distribuído nos estados de Mato Grosso e São Paulo (TOMM, 2013).

A canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) é uma oleaginosa desenvolvida a partir do melhoramento genético convencional da colza (*Brassica napus*), por meio de cruzamentos resultando em modificação natural. Da família das crucíferas, se caracteriza por ser uma planta herbácea de ciclo anual, com raiz pivotante e grande volume de raízes secundárias fasciculadas. Sua haste é ereta, ascendente, ramificada, glabra, de cor verde variando tons, mais ou menos ramificada, podendo alcançar alturas superiores a 1,5 m a depender das condições ambientais. As folhas são glabras, mais ou menos recortadas, sendo as superiores cordiformes e as inferiores lobuladas e pecioladas, verde-azuladas a verde-claras, apresentando disposição alternada no caule. As flores surgem no extremo de sua haste principal, possuem pétalas amarelas, com 1,2 a 1,8 cm de diâmetro, sendo hermafroditas, agrupadas em racimos terminais, contendo quatro sépalas e quatro pétalas

dispostas em cruz (CORDEIRO, 1999). A Figura 1 ilustra os estádios de desenvolvimento da cultura.

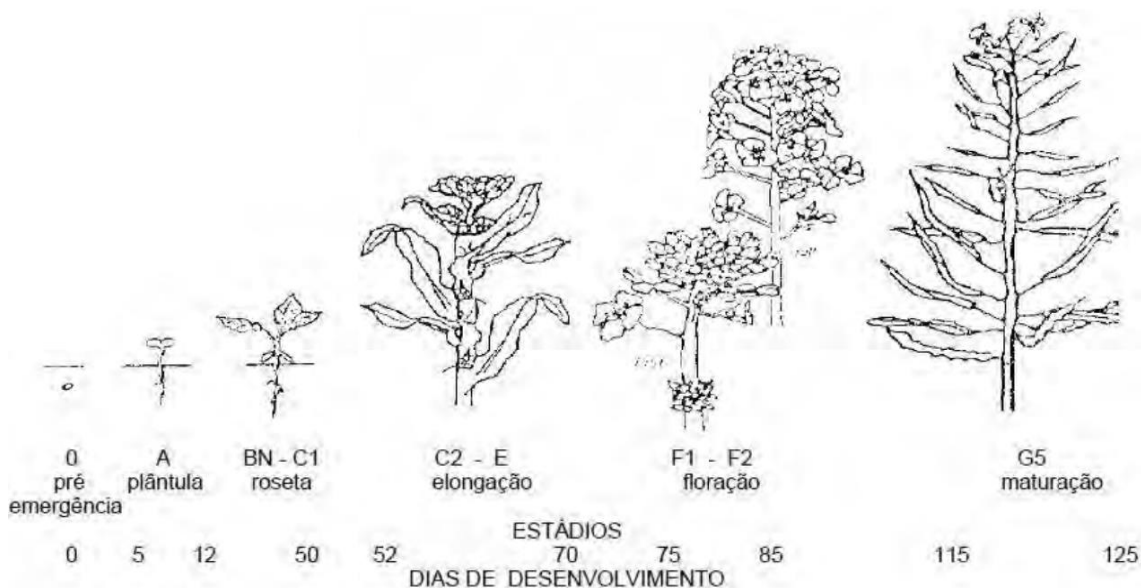


FIGURA 1. Estádios e períodos de desenvolvimento da cultura da canola. Fonte: THOMAS (1984).

A denotação "canola" surge da abreviação de 'Canadian Oil Low Acid', cuja tradução é 'Azeite Canadense de Baixo Teor Ácido'. Em 1986, era marca registrada de "um óleo com menos de 2% de ácido erúico e menos de 30 micromoles de glucosinolatos por grama de matéria seca de semente". A canola é um alimento saudável, livre de colesterol, fonte de vitamina E, vitamina C, ácido linolênico (Omega 3), ácido linoleico (Omega 6), protege contra ataques cardíacos e acidentes vasculares cerebrais (CANOLA COUNCIL OF CANADA, 2013).

Sendo referência na produção de biodiesel na Europa, a canola possui elevado teor de óleo com composição química de interesse para o mercado de biocombustíveis (MIGLIORINI, 2012). No Brasil, a produção dessa cultura iniciou em 1974 no estado do Rio Grande do Sul, como conclusões práticas do programa de melhoramento genético da canola, desenvolvido pela Embrapa Trigo. A variedade conseguida com tais esforços continuou sendo produzida até que houve dizimação das lavouras pela epidemia de canela-preta, uma doença fúngica. A partir de então, a iniciativa privada avançou com os estudos e comercialização de sementes de materiais híbridos (MELGAREJO et al., 2014).

Os grãos de canola produzidos no Brasil possuem em torno de 24 a 27% de proteína, 38% de óleo, enquanto o farelo possui de 34 a 38% de proteína, sendo muito usado em formulação de rações para bovinos, ovinos, suínos e aves (TOMM et al., 2009).

Segundo Santos et al. (2000), a grande aceitação dos produtores se deve à vários fatores, destacando risco menor por danos causados pelas geadas, elevado potencial de produção de grãos e alta qualidade dos produtos derivados, ou seja de interesse industrial, ainda mais pelo fato de serem excelentes para a alimentação humana.

Outros aspectos importantes relacionados com a expansão da cultura no país é que de acordo com Christen (2001) e Kirkegaard et al. (2012), a canola é considerada uma excelente alternativa para o sistema de rotação de cultura, pois com sua inclusão no sistema, há a diminuição de inóculos de fungos necrotróficos, ou seja, são interrompidos o ciclo dos patógenos, cuja ação nas plantas, compromete a produtividade de grãos. São exemplos desses patógenos *Fusarium graminearum* e *Septoria nodorum*. Segundo os mesmo autores, também é benéfica para as leguminosas, como soja e feijão, quebrando o ciclo do nematóide de cisto, por não ser hospedeira e, para gramíneas, como o milho, pois está relacionada com a redução de danos consequentes da mancha de diplodia e cercosporiose, quando cultivadas em sucessão à canola de inverno.

A canola atua, também, no controle das plantas daninhas, que podem se desenvolver pelo cultivo seguido de cereais. Ao se cultivar essa *Brassica*, ainda se pode contar com melhorias na macroporosidade do subsolo, já que seu sistema radicular é profundo. Em relação a infraestrutura, esta cultura não exige especificidade, dispondo das mesmas máquinas e equipamentos existentes nas propriedades (WALKER e BOOTH, 2001; KIRKEGAARD et al., 2008).

No estado de Mato Grosso do Sul, no ano de 1994, por meio de iniciativa da cooperativa agroindustrial COCAMAR, deu-se o avanço da produção com objetivo comercial de canola, na região de Aral Moreira. A área cultivada atingiu seu apogeu em 1998, sendo formada por 1.500 ha, com redução gradativa da área até o ano 2000, remanescendo 1000 ha cultivados (TOMM e al., 2009).

No restante do país também se pode observar a mesma situação, onde houve resposta linear de 2008 a 2011 atingindo 59.100 ha, entretanto a ocorrência de deficiência hídrica no Sul do Brasil e Argentina, afetou a safra de soja e a disponibilidade de sementes de canola, resultado no cancelamento da semeadura. Levando-se em conta que na ausência do problema climático ocorrido e se tivessem sido tomadas medidas preventivas mais organizadas, em 2013 a área semeada de canola poderia atingir os 100.000 ha e com tendência ao crescimento, é que se tem realizado algumas ações que enfatizam a importância de se conhecer cada vez mais a cultura, seu desenvolvimento, necessidades nutricionais e técnicas de cultivo (TOMM, 2013).

2.2 Nutrição mineral da canola

O estudo da exigência e absorção de nutrientes por uma determinada espécie deve ter como referência a realização de melhores práticas de manejo dos nutrientes para o cultivo, permitindo assim, o alcance de rendimentos que expressem o mais próximo do potencial genético das cultivares. Portanto, tal manejo deve ser racional e eficiente, obtendo-se benefícios tanto ao sistema de cultivo quanto ao meio ambiente.

A produtividade e a absorção de nutrientes da canola estão diretamente relacionados com a adubação nitrogenada. Sendo assim, esta cultura possui elevada demanda por nitrogênio (N) (JACKSON, 2000). Por outro lado, uma dose excessiva de N resulta em crescimento vegetativo também excessivo, causando ciclos mais tardios, susceptibilidade a doenças e queda na porcentagem de óleo (AGOSTI e MIRALLES, 2007; AGOSTI et al., 2008).

A respeito das exigências de N pela cultura, diferentes valores são baseados em estimativas feitas a partir da literatura, variando entre 48 kg de N t⁻¹ de grãos (RUBIO et al., 2007) a 160 kg de N t⁻¹ de grãos (JAN et al., 2010; ÖZTÜRK, 2010). No entanto, os valores mais frequentes são entre 54 e 60 kg de N t⁻¹ de grãos (CIAMPITTI e GARCIA, 2007; RUBIO et al., 2007). De acordo com Iriarte (2002), a exigência de N atinge o máximo quando 50% de floração é atingida, ou seja, recomenda-se a aplicação deste nutriente nos estádios vegetativos iniciais (4 a 6 folhas).

A canola, sendo uma *Brassicaceae* é caracterizada por ter maior exigência de enxofre (S) em relação à outras espécies. Exemplificando tal fato, a produção de 1 t de grãos de canola requer, aproximadamente, 16 kg de S (BLAKE et al., 2004; MALHI et al., 2007). Na literatura são encontrados vários ensaios realizados à campo que demonstram ser a canola uma das culturas mais sensíveis à deficiência de S, tendo redução de 40% na produtividade, quando em situação de deficiência deste nutriente (BURZACO et al., 2009). Ahmad e Abdin (2000) apresentaram dados de que com adubação adequada os teores de rubisco (Ribulose-1,5-Bisfosfato Carboxilase-Oxigenase), clorofila e proteína, nas folhas superiores completamente expandidas, aumentaram consideravelmente. Também foi observado que a disponibilidade de S foi associada com maior teor de óleo no grão (BURZACO et al., 2009). Segundo Malhi et al. (2007), 90% da produtividade máxima pode ser com 20 kg ha⁻¹ de S independente da cultivar. A interação entre S e N avaliada por Malhi e Gill (2007), demonstra efeitos relevantes como, na ausência de S, conforme houve o aumento na concentração de N, os

sintomas da deficiência daquele nutriente apresentaram mais severidade, ocorrendo reduções no rendimento do óleo. As doses de N utilizadas foram 0, 50, 100 e 150 kg ha⁻¹ e as de S foram 0, 10, 20 e 30 kg ha⁻¹. Por outro lado, com a aplicação de S, a absorção de N aumentou. A adubação sulfatada contribuí positivamente à absorção de N, pois altas doses de S incrementam a resposta quanto ao N.

O fósforo (P) na canola também é requerido em quantidades que variam de 13 a 17 kg de P t⁻¹ de grãos (RUBIO et al., 2007). As plantas de canola absorvem P rapidamente durante o crescimento inicial, mas em menor velocidade que o N. Apesar de não ter relações com micorrizas, as pesquisas mostram que funciona como eficiente extrator de P do solo. A canola tem a característica de possuir raízes abundantes e finas conferindo a capacidade de ramificar e proliferar em zonas de maior teores de nutrientes. Além disso, aumenta a concentração de pêlos radiculares em resposta a baixas concentrações de P (GONZALES e NAPOLI, 2009).

Os requerimentos nutricionais para o cultivo da canola em relação aos macros e micronutrientes são apresentados no Quadro 1.

QUADRO 1. Requerimentos dos macros e micronutrientes pela canola. Fonte: Ciampitti e García (2007).

Nutrientes	Requerimentos (kg nutriente t ⁻¹ de grão)
N	60,00
P	17,00
K	65,00
S	20,00
Ca	33,00
Mg	10,00
Mn	0,43
Fe	0,21
Zn	0,15
B	0,09
Cu	0,05

2.3 Avaliação do estado nutricional

O substrato (solo, substrato comercial ou meio de cultura) é o responsável por dispor dos elementos minerais essenciais ao desenvolvimento das plantas. A deficiência desses nutrientes prejudica diretamente a produção das mesmas, pois suas necessidades nutricionais serão insuficientes, resultando na deficiência nutricional. Portanto, a correta avaliação do estado nutricional das plantas têm por finalidade fornecer a quantidade adequada de nutrientes e identificar os que estão limitando o desenvolvimento das culturas (MARSCHNER, 2012).

Ainda segundo Marschner (2012), a avaliação do estado nutricional, possui diversos métodos, mas que resumidamente, têm por objeto comparar uma planta, uma população de plantas ou uma amostra dessa população com uma planta da cultura em estudo, sem deficiência ou limitações e altamente produtiva. É o que Malavolta et al. (1997), denominam de padrões nutricionais, que podem ser plantas cultivadas sob condições controladas ou a campo em plantios comerciais, desde que apresentem produtividade de pelo menos três vezes a média nacional, acreditando que este material deva possuir em seus tecidos todos os nutrientes de forma equilibrada, sem nenhuma deficiência. Segundo Malavolta (2006) e Marschner, (2012), dentre os diversos órgãos para amostragem para a diagnose, são preconizadas as folhas, devido concentrarem as atividades fisiológicas, sendo as principais indicadoras do suprimento, deficiência e excesso de nutrientes. Os autores elucidam que em fundamento teórico, se espera uma relação direta entre o acréscimo de nutrientes e a produção, e que ainda tal fornecimento deva corresponder com o aumento no teor na folha.

Dessa forma, para que se obtenha uma interpretação confiável do estado nutricional, quando se utiliza a folha como objeto de análise, é indispensável que se estabeleça a caracterização da folha (tipo e local de inserção) que fornecerá as informações, chamada então de folha diagnóstico ou folha índice. O que se sabe é que a possibilidade de diferença que pode ocorrer entre as folhas de uma mesma planta é devido à translocação de alguns nutrientes via floema, tendo como influência o estágio de desenvolvimento, posição e tipo de folha. Com a definição de qual folha é a melhor para se analisar os teores de nutrientes, é minimizada a chance de falsos diagnósticos que apresentem erros nas informações, quanto ao equilíbrio nutricional, culminando em mais erros, que abrangem as tomadas de decisões e que de maneira geral acarretará em

aumentos no custo de produção, devido a não detecção correta de deficiências, bem como, decréscimos de produtividade pela mesma causa ou por excessos (KURIHARA, 2014; WADT et al., 2007).

Os trabalhos realizados por Wadt e Silva (2016), com pimenta-longa, testando posições de coleta e diferenças entre os métodos faixa de suficiência e CND; Kurihara e Silva (2014), com pinhão-manso, coletando folhas dos terços médio e superior; Souza et al., (2011), com feijoeiro cultivar BRS Talismã, analisando folhas em diferentes estádios de maturação e Maeda et al. (2004), com soja, no qual, a coleta se baseou em folhas com e sem pecíolo, chegaram à conclusões concretas que ressaltam as diferenças que ocorrem nas distintas posições, idades e morfologias das folhas a serem coletadas, bem como, os métodos utilizados para a avaliação nutricional das plantas e, portanto, as correlações existentes com a produtividade e o manejo correto.

Em relação aos métodos para interpretação do estado nutricional das plantas, destacam-se os univariados: nível crítico e faixa de suficiência; os bivariados: sistema integrado de diagnose e recomendação DRIS e por fim, o CND que é desenvolvido por análise multivariada. (CAMACHO et al., 2012).

Os métodos univariados se baseiam em comparar a concentração do nutriente em órgão específico da planta e seu estágio de desenvolvimento, a uma referência estabelecida por banco de dados, geralmente relacionado com percentual de produção. Se o valor padrão de um teor de nutriente for maior ou igual a 90% do máximo de produtividade, é então chamado de Nível Crítico (NC), caso for 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).

A obtenção dos métodos de faixas ou níveis são dependentes diretos de fatores muitas vezes não controláveis, para que sejam realizadas suas curvas de calibração, como ambiente, resposta dos genótipos, manejo do solo, sistema de cultivo adotado, entre outros, que submete o processo a muitos erros, devido as diferenças entre o material e momento de execução com o que se encontrava no momento da obtenção da curva de calibração (NOVAIS et al., 2007; WADT, 2011).

Em conformidade com Costa (1999), o DRIS foi inicialmente desenvolvido para a classificação dos nutrientes quanto a ordem de limitação de crescimento da planta, sendo atualmente o método bivariado mais aplicado. O que Beaufils (1973) propôs ao criar este método é que as relações duais existentes entre os nutrientes indicam de maneira mais clara o equilíbrio nutricional em detrimento ao teor isolado utilizado nos métodos

univariados e com isso, levantar todos os dados nutricionais que limitam a produtividade das culturas.

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. O ponto de partida se encontra na análise de dados composicionais (CDA), ou seja, formada pela descrição de um dado quantitativo em relação a um todo, no caso em específico, o todo (100%) compreende a amostra foliar (massa seca), de onde análises multivariadas são desenvolvidas tendo em vista, um valor de referência, produtividade, por exemplo.

2.4 Diagnóstico da Composição Nutricional

Holland (1966) julgou que a consistência do diagnóstico nutricional, aumenta conforme o número de nutrientes analisados simultaneamente, até que a interpretação envolva todos os nutrientes. Ao tentar aplicar a análise dos componentes principais, bem como, outras análises multivariadas, utilizando o método DRIS, averiguou inconsistência do método para tal, se não feitas transformações dos dados. Parent e Dafir (1992) realizaram então investigação em torno do conceito do DRIS em conjunto com a análise composicional empregada por Aitchison (1986). Nesta abordagem, os dados de estudo possuem a característica que se enquadram em um *simplex*, ou seja, em um sistema fechado onde se parte de 0 (zero) e a soma dos dados leva à unidade de medida, como 1 para frações e 100% para porcentagem, por exemplo.

De acordo com Aitchison (1986), O estudo de dados em sistemas fechados requer, em muitos casos, a aplicação de transformações para sistemas reais abertos, com dados variando de positivo a negativo tendendo ao infinito, devido a distribuição assimétrica intrínseca das variáveis, como no caso dos teores de nutrientes, que pode ocorrer a interação positiva-negativa. Para a análise multivariada, o autor encontrou nas transformações logarítmicas, a melhor forma de abrir os dados. Propôs em seu trabalho duas destas transformações: a relação logarítmica aditiva (do inglês, 'additive log-ratio' - *alr*) e a relação logarítmica centrada (do inglês, 'centered log-ratio' - *clr*).

A transformação *alr* é resultado do logaritmo da fração do valor de um componente (numerador), pelo valor de um componente base (denominador). Segundo Van den Boogaart et al. (2013), a *alr* é apropriada para análises multivariadas, porém não é ortogonal, apresentando distâncias oblíquas, o que acarreta em dificuldades de

interpretação. A transformação *clr* se difere, pelo fato, que no cálculo da relação logarítmica é levado em consideração, não somente um componente base, mas a média geométrica de todos os componentes do sistema (denominador), conferindo efetivamente uma relação multivariada, pelo sistema multidimensional real e aberto, onde é analisado todo o conjunto de variáveis e suas interações.

Mais tarde, Egozcue et al. (2003) propuseram uma nova transformação, a relação logarítmica isométrica (do inglês, 'isometric log-ratio' - *ilr*), que também é utilizada a média geométrica dos componentes, entretanto em seu cálculo é aplicado um coeficiente de projeção dos dados composicionais em um espaço Euclidiano, ou seja, é feita a transformação de balanços ortogonais em ortonormais. Assim, é gerado um sistema de relação binária com subcomposições ou subconjuntos das variáveis.

Parent e Dafir (1992) utilizaram a *clr* na análise de teores de nutrientes em plantas e demonstraram que a transformação pela relação logarítmica centrada, com referência à média geométrica dos valores observados, aplicada na estatística multivariada, propiciou a retificação do cálculo do DRIS, tornando compatíveis suas variáveis com todos os testes estatísticos multivariados, os autores atribuíram o nome Diagnose de Composição Nutricional (do inglês, 'Compositional Nutrient Diagnosis' - CND) ao novo método.

Parent et al. (2013) se basearam no trabalho de Egozcue et al. (2003), e aplicaram a *ilr* em análises de nutrição de plantas e obtiveram êxito nas estatísticas multivariadas, porém utilizaram o nome original da transformação para o método (ILR). Os dois métodos, CND e ILR, possuem vantagens e desvantagens, cabendo ao pesquisador definir qual será aplicado conforme seus objetivos. Segundo os autores, o CND traz como vantagem, servir de base para uma análise exploratória, principalmente quando se tratam de espécies e objetos de estudo com pouco conhecimento e pesquisas realizadas. O cuidado que se deve ter, ao se utilizar este método, é que devido a natureza dos componentes envolvidos no cálculo, pode ocorrer a influência de valores discrepantes (*outliers*) afetando o resultado, sendo portanto, necessária a aplicação de métodos de remoção desses valores. O ILR, por sua vez, é aplicado de forma satisfatória em estudos mais específicos, para interações pré-estabelecidas pelo pesquisado. Como desvantagem, pode apresentar menor correlação com os índices de desequilíbrio dos nutrientes, como observado no trabalho com tomate de Parent et al. (2016), onde compararam a correlação entre os diferentes métodos.

2.4.1 Obtenção das concentrações de nutrientes

Os dados de concentração foliar dos nutrientes e a produtividade da cultura constitui o primeiro passo a ser realizado para o desenvolvimento das normas CND. Os dados de teores dos nutrientes devem ser submetidos à testes de normalidade, a fim de detectar a assimetria que esses tipos de dados tendem a apresentar. Uma vez detectada a distribuição não-normal, é realizada a remoção dos *outliers* pelo cálculo da distância de Mahalanobis, que processa a discrepância em dados composicionais.

A base de dados constituída pelas concentrações dos nutrientes foliares e a produtividade não está totalmente definida quando se trata das informações de literatura. Serra et al. (2010) utilizaram 65 amostras em algodão, enquanto Khiari et al. (2001a) se basearam em 240 amostras de milho doce, já Parent e Dafir (1992) obtiveram 1117 amostras de batata. 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 da coleta das folhas, empregando critérios na escolha das folhas, que devem apresentar alta produtividade e bom estado de fitossanidade (SERRA et al., 2010).

2.4.2 Seleção de subpopulações

Outro processo importante para o desenvolvimento das normas CND é a segregação do banco de dados em subpopulações de alta e baixa produtividade, selecionadas, a partir de um determinado critério. Entretanto, uma metodologia única não está bem definida pela literatura, 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. (2016), utilizaram das médias e desvio padrão. Khiari et al. (2001b) apresentaram um trabalho bastante 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

Este trabalho foi desenvolvido a partir dos dados coletados de área experimental localizada na Fazenda Experimental de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, no município de Dourados, MS, no 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 (1948). A temperatura média anual é de 22°C e a precipitação média anual está entre 1100 e 1200 mm. Os dados referentes às precipitações pluviométricas e temperaturas máximas e mínimas por decêndios durante o período de implantação, coleta de amostras e obtenção de dados são apresentados na Figura 2.

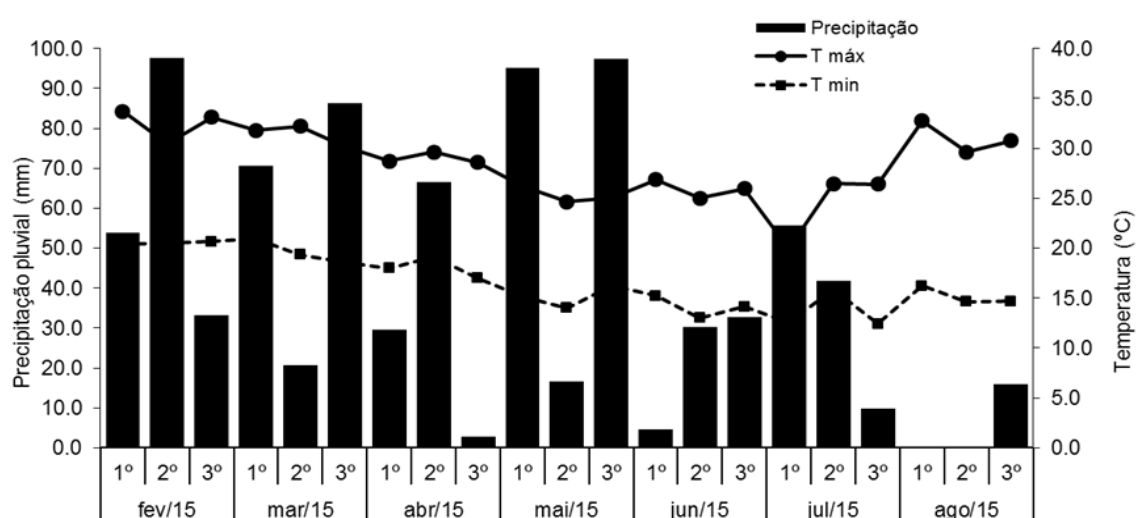


FIGURA 2. Precipitação pluviométrica, temperaturas máximas e mínimas por decêndio no período de fevereiro de 2015 a agosto de 2015. Fonte: Estação Meteorológica da UFGD. Dourados – MS.

O solo da região de estudo é classificado como Latossolo Vermelho Distroférrico (LVDF) conforme Santos et al. (2013). A análise dos atributos químicos do solo da área experimental, amostrados na camada 0-20 cm, realizada em janeiro de 2014, apresentou pH (H₂O) = 5,72; P (resina) = 12,8 mg dm⁻³ e teor de matéria orgânica = 28,38 g dm⁻³. Os dados em mm_c dm⁻³, foram potássio (K) = 1,53; cálcio (Ca) = 53,4; magnésio (Mg) =

20,1; acidez potencial (H+Al) = 6,5; soma de bases trocáveis (SB) = 8,88; capacidade de troca catiônica (CTC) = 15,3, por fim a saturação por bases em porcentagem (V%) foi de 57,7%.

3.2 Base geral de dados e delineamento experimental

Em março de 2015 foi implantado um experimento de canola na área descrita acima, semeando mecanicamente o híbrido Hyola 433 em sistema de plantio direto. Foi realizada adubação básica de 250 kg ha⁻¹ da fórmula 08-20-20 + 0,3% de Zn + 0,3% de B. Após o estabelecimento da emergência (estádio A), que ocorreu em torno de dez dias após a semeadura (DAS), foram delimitadas as parcelas experimentais. Cada parcela foi constituída por sete linhas, espaçadas em 0,40 m, com cinco metros de comprimento, totalizando 14 m². Quando as plantas encontravam-se em estágio inicial de roseta (BN), contendo em torno de três folhas (15 DAS), foram estabelecidos quatro blocos casualizados, combinando-se cinco doses de enxofre (0; 30; 60; 90; 120 kg ha⁻¹) e quatro doses de nitrogênio (0; 40; 80 e 120 kg ha⁻¹), formando esquema fatorial (5x4). Os tratamentos foram aplicados em sulcos, sendo a adubação com o enxofre realizada em torno de quinze dias antes da adubação com nitrogênio, devido as diferenças no tempo de reação dos adubos. As fontes utilizadas na aplicação foram enxofre elementar (99,5% de S) e ureia (45% de N).

Como trato cultural foi realizada a capina manual de plantas daninhas. A coleta das folhas foi realizada quando as plantas encontravam-se em pleno florescimento, que compreendeu o estágio F2 (65 DAS). Levando-se em consideração a simetria nutricional que ocorre em pares de folhas, quando assim é apresentada a morfologia de uma espécie, as amostras foliares foram compostas de três pares de folhas (3º, 4º e 5º par) a partir do ápice da haste principal, coletando-se 10 plantas por parcela, totalizando 240 amostras (3 pares x 20 parcelas x 4 repetições).

Posteriormente, as folhas foram lavadas com água destilada e em seguida colocadas sobre papel absorvente. Após a lavagem passaram por processo de secagem em estufa com circulação forçada de ar, com temperatura variando em torno de 65 a 70° C por 72 horas. Foi então realizada a moagem em moinho de lâminas de aço inoxidável do tipo Wiley com peneira de 20 mesh. Nas amostras foliares foram quantificadas as concentrações totais de N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Mn, Fe e Zn, de acordo com a metodologia descrita por Malavolta (1997).

A produtividade de grãos foi determinada após a colheita manual das três linhas centrais da parcela, com cinco metros de comprimento e total de área útil de 6 m². Posteriormente, as síliquas foram debulhadas e os grãos foram limpos com auxílio de peneira, sendo a umidade corrigida para 13% e pesados em balança de precisão de duas casas decimais, com valores expressos em kg ha⁻¹.

3.3 Base de dados para o desenvolvimento das normas CND

A base de dados para o desenvolvimento das normas CND foi formada pelas concentrações de macronutrientes (g kg⁻¹) e micronutrientes (mg kg⁻¹) nas folhas e produtividade de cada parcela. Foram realizadas transformações dos dados originais dos macronutrientes para mg kg⁻¹, a fim de padronizar as unidades. A base foi dividida em três populações de referência, utilizando como critérios os pares de folhas coletados. As subpopulações foram segregadas pelo método Cate-Nelson (NELSON e ANDERSON, 1977), em níveis de produtividade e equilíbrio nutricional.

3.4 Cálculo das Normas CND

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

$$S^d = [(N, P, K \dots, Rd): N > 0, P > 0, K > 0, \dots: [1]$$

$$Rd > 0, N + P + K \dots + Rd = 1.000.000]$$

em que 1.000.000 é a concentração de matéria seca (mg kg⁻¹); N, P, K, \dots são proporções de nutrientes (mg kg⁻¹); e R^d é o valor de enchimento entre 1.000.000 e a soma de d proporções de nutrientes calculadas como se segue:

$$R^d = 1.000.000 - (N + P + K + \dots)] [2]$$

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) como se segue:

$$G = [N \times P \times K \dots, \times Rd] \frac{1}{d+1} \quad [3]$$

A transformação pela relação logarítmica centrada (CND-*clr*), geram as variáveis multinutrientes $V_N, V_P, V_K, \dots, V_{Rd}$, que foram calculadas da seguinte forma:

$$V_N = \ln\left(\frac{N}{G}\right) \quad V_P = \ln\left(\frac{P}{G}\right) \quad V_K = \ln\left(\frac{K}{G}\right) \quad V_{Rd} = \ln\left(\frac{Rd}{G}\right) \quad [4]$$

e

$$V_N + V_P + V_K + \dots, V_{Rd} = 0 \quad [5]$$

Esta operação é um controle para garantir que os cálculos das variáveis foram realizados corretamente. Por definição, a soma dos componentes teciduais é 1.000.000 (Eq. [1]), e a soma das variáveis multinutrientes transformadas incluindo o valor de preenchimento deve ser zero (Eq. [5]).

3.5 Cálculo dos Índices CND

Seja, $V_N^*, V_P^*, V_K^*, \dots, V_{Rd}^*$ e $SD_N^*, SD_P^*, SD_K^*, \dots, SD_{Rd}^*$, 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:

$$I_N = \frac{(V_N - V_N^*)}{SD_N^*}, \quad I_P = \frac{(V_P - V_P^*)}{SD_P^*}, \quad I_K = \frac{(V_K - V_K^*)}{SD_K^*}, \dots, \quad [6]$$

$$I_{Rd} = \frac{(V_{Rd} - V_{Rd}^*)}{SD_{Rd}^*}$$

A aditividade ou independência entre os dados de composição é verificada utilizando um transformação centrada (AITCHISON, 1986). Os índices CND, como definidos pela Eq. [6], 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 e é calculado da seguinte forma:

$$CND - r^2 = I_N^2 + I_P^2 + I_K^2 + \dots + I_{Rd}^2 \quad [7]$$

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.

3.6 Cálculo da distância de Mahalanobis

A distância de Mahalanobis (M) por meio dos balanços ortogonais, foi também calculada como índice de desequilíbrio de nutrientes e medida de disparidade dos dados composicionais, como segue:

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

onde, \bar{x} é o baricentro da população de referência, T é a matriz transposta e COV é a matriz de covariância da população de referência (PARENT et al., 2016).

3.7 Seleção de subpopulações

É necessário, para se obter a diagnose nutricional por meio do CND, 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), seguem os passos realizados:

Passo 1 - Foram calculadas as variáveis multinutrientes, conforme Eq. [2] a [4];

Passo 2 - classificaram-se as observações em ordem de produtividade decrescente com as respectivas distância de Mahalanobis;

Passo 3 - iterou-se uma partição do banco de dados entre duas subpopulações usando o procedimento de Cate-Nelson. 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^2) conforme a Eq. [8].

$$R^2 = \frac{\left(\sum Y^2 \text{ pop total} - \frac{(\sum Y \text{ pop total})^2}{n_{\text{pop total}}}\right) - \left(\sum Y_A^2 - \frac{(\sum Y_A)^2}{n_A}\right) - \left(\sum Y_B^2 - \frac{(\sum Y_B)^2}{n_B}\right)}{\left(\sum Y^2 \text{ pop total} - \frac{(\sum Y \text{ pop total})^2}{n_{\text{pop total}}}\right)} \quad [8]$$

3.8 Definição da folha diagnóstico

3.8.1 Classificação das amostras

Para se definir qual a melhor posição da folha a ser coletada para a avaliação do estado nutricional de canola, foi seguida 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. Desta comparação o autor propõe a partição das amostras em VN (Verdadeiro Negativo), VP (Verdadeiro Positivo), FN (Falso Negativo) e FP (Falso Positivo).

Os VN's foram classificados como amostras eficazes, ou seja, de alta produtividade e altamente equilibradas; os FN's (erro do tipo II) foram considerados como amostras de baixa produtividade, identificadas incorretamente como equilibradas; os FP's (erro do tipo I) compreenderam amostras de alta produtividade, classificadas incorretamente como equilibradas; os VP's corresponderam à amostras de baixa produtividade, classificadas corretamente como desequilibradas. Todos esses procedimentos foram realizados para os três pares de folhas.

3.8.2 Teste de precisões

O teste de precisão da comparação descrita acima foi realizado segundo Parent et al. (2016) como é 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 $VP / (VP + FN)$.

3.9 Análise discriminante múltipla (ADM)

Esta etapa consistiu na seleção da variável dependente (categórica) e das variáveis explicativas (métricas). A ADM permitiu a análise das variáveis que mais se destacaram na discriminação de grupos, a partir de testes estatísticos, como o λ de Wilks, a correlação canônica e autovalores. Complementando a ADM, foi realizada a análise de Característica de Operação do Receptor (do inglês, 'Receiver Operating Characteristic' - ROC ou ROC *curve*), avaliando pela especificidade e sensibilidade, quais variáveis melhor discriminaram a relação binária de eficaz e ineficaz das amostras (JOHNSON e WICHERN, 2007; ŠIMUNDIĆ, 2009).

3.10 Análise de componentes principais (ACP)

Grandes variações nas concentrações absolutas dos nutrientes requerem que seja aplicada a ACP, o que auxilia a explicar as interações entre os nutrientes. A ACP reduz o número de variáveis originais interdependentes em menor número de componentes principais (CPs), os quais são combinações lineares de variáveis originais.

Para isto, a ACP foi 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 significativos, foi utilizado o critério definido por Ovalles e Collins (1988), sendo autovalores significativos aqueles que apresentam valores acima de critério de seleção que segue:

$$CS = 0,50 / (\text{autovalores } CP)^{0,5}$$

3.11 Estatística

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

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Detecção de *outliers* e teste de normalidade

Após realizada uma análise geral dos dados processados, verificou-se que as concentrações de Ca e Fe, apresentaram valores discrepantes (*outliers*), que possivelmente é consequência do solo, no qual se conduziu o experimento, conter grandes quantidades de Fe devido sua própria morfogênese. No caso do Ca, por ser feita calagem regularmente, conforme a necessidade, juntamente com a alta fertilidade construída neste solo, foi provável que se tenha ocorrido grandes taxas de absorção deste nutriente. Portanto, optou-se pela exclusão das análises de Ca e Fe do banco de dados para evitar distorções nos cálculos das normas CND. O restante dos cálculos e análises estatísticas foram realizados normalmente, segundo a metodologia proposta neste trabalho.

Assim sendo, o banco de 240 dados composto pelos três pares de folhas (3º, 4º e 5º par) com seus respectivos 20 tratamentos, quatro repetições, pela produtividade e teores foliares determinados, apresentaram variações de produtividade entre 1320 e 648 kg ha⁻¹, com média de 897,91 kg ha⁻¹, e desvio padrão de 139,45 kg ha⁻¹. Após essa observação, foram detectados os *outliers* no conjunto de dados, isto posto, foi realizada então uma análise refinada para a remoção desses *outliers* pela distância de Mahalanobis (PARENT et al., 2009). A Figura 3 apresenta *outliers* observados para os três pares de folhas avaliados.

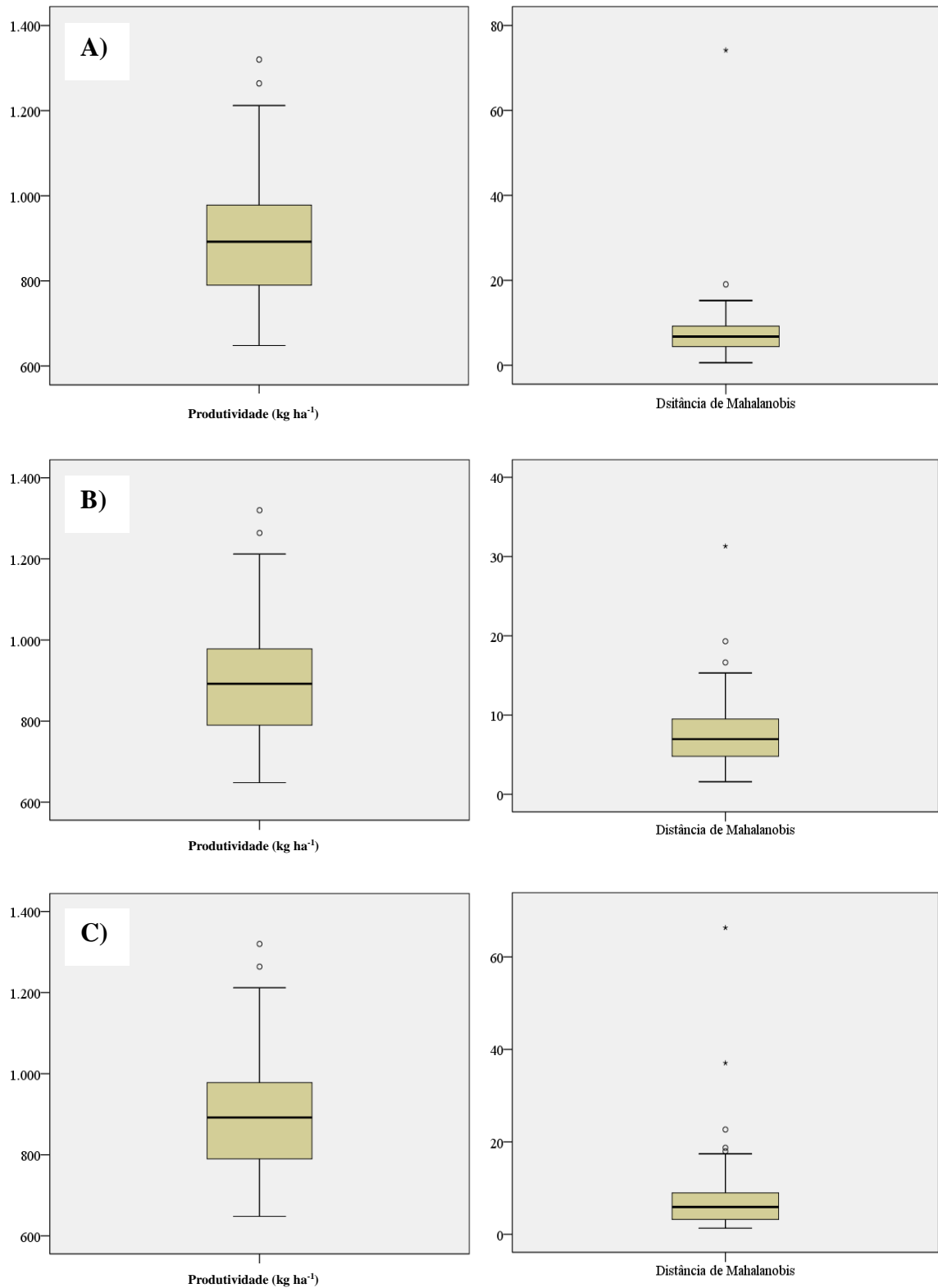


FIGURA 3. Identificação de *outliers* pela distância de Mahalanobis A) 3^o par de folhas; B) 4^o par de folhas; C) 5^o par de folhas.

Posterior à exclusão de resultados discrepantes foram observadas diferentes variações na produtividade, média e desvio padrão nos três pares avaliados (Quadro 2). Anteriormente à análise multivariada, realizou-se o teste de normalidade de *Kolmogorov - Smirnov* dos dados, onde pôde-se observar a ocorrência de distribuição normal para a produtividade e distância de Mahalanobis para cada par de folhas, ou seja, aceitou-se a hipótese de nulidade (H_0) (Figura 4).

QUADRO 2. Número de observações, amplitude de produtividade, média e desvio padrão para cada par de folhas após exclusão de *outliers*.

Número de observações	Amplitude de produtividade (kg ha⁻¹)	Média (kg ha⁻¹)	Desvio padrão (kg ha⁻¹)
3° par de folhas			
74	648,00 - 1212,00	886,10	128,83
4° par de folhas			
72	648,00 - 1116,00	874,85	111,69
5° par de folhas			
69	648,00 - 1116,00	872,64	110,12

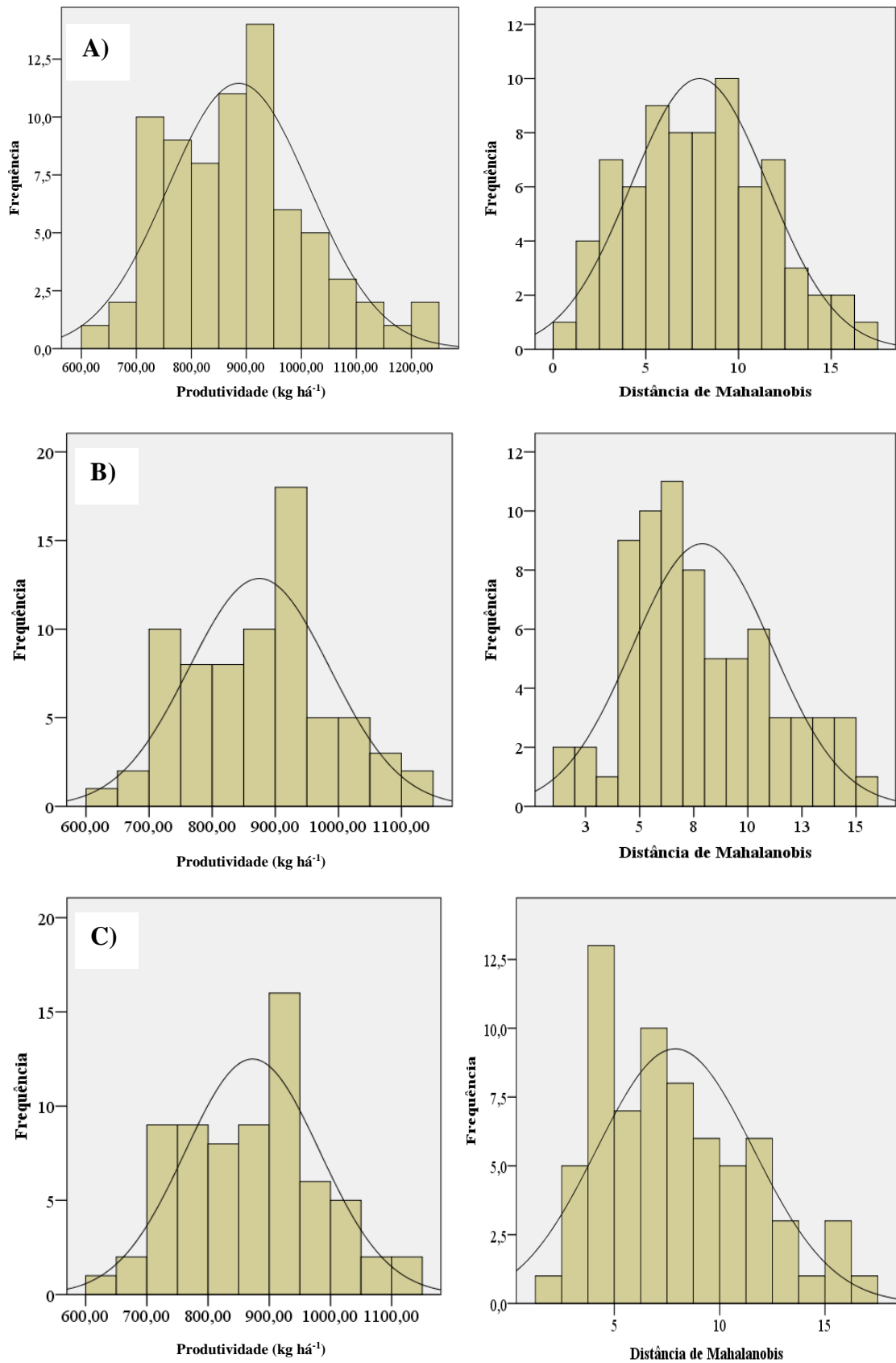


FIGURA 4. Histogramas com curva de normalidade de dados observados após a remoção de *outliers*. **A)** 3º par de folhas; **B)** 4º par de folhas e **C)** 5º par de folhas.

4.2 Definição das subpopulações pela partição de Cate-Nelson e teste diagnóstico

A partição das populações de referência pelo método de Cate-Nelson geraram quatro subpopulações diferentes, pelos classificadores VN, FP, FN, VP, quanto ao equilíbrio de nutrientes e produtividade, para os pares de folhas avaliados (Figura 5).

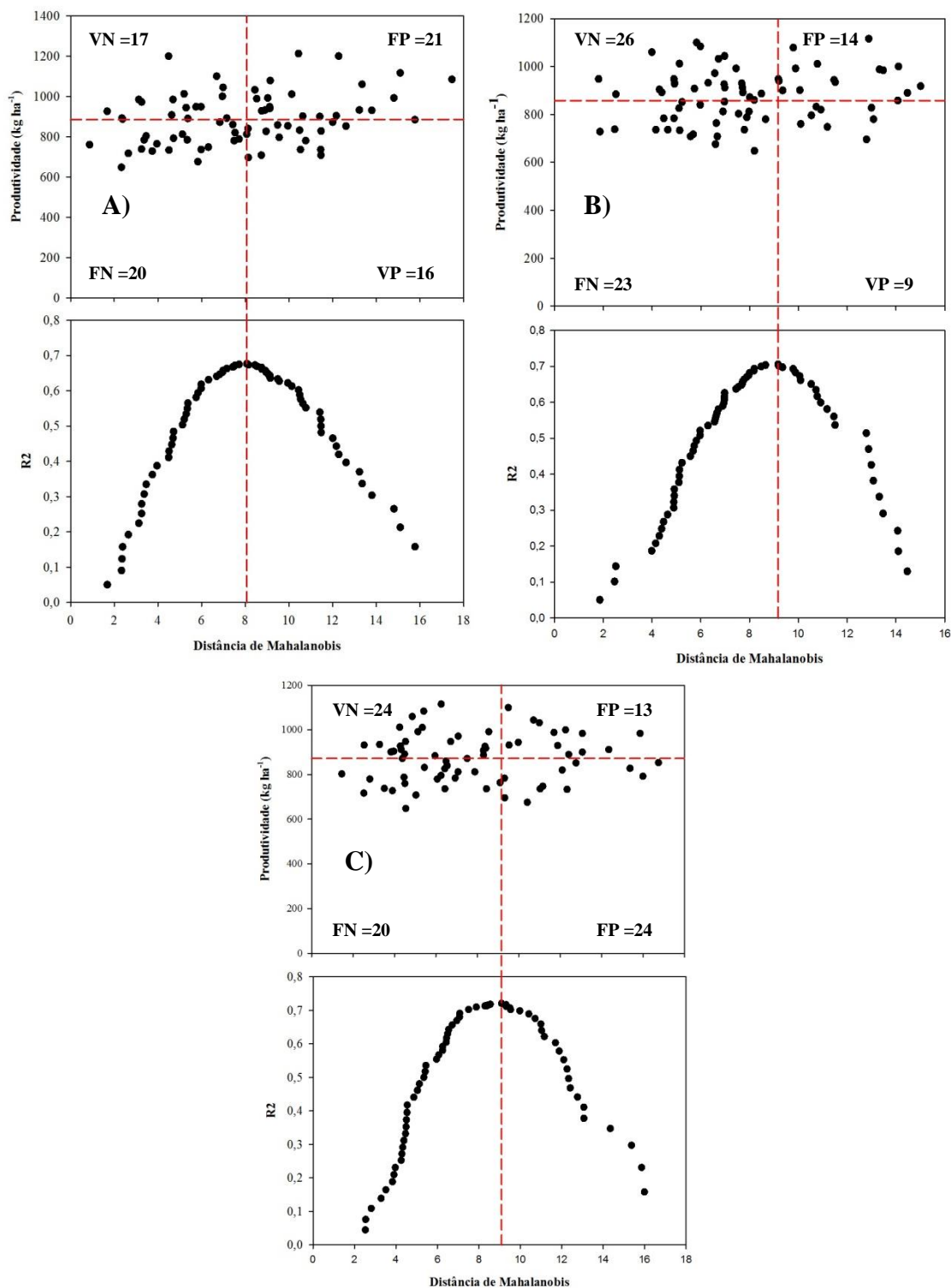


FIGURA 5. Classificação da população de referência em subpopulações em, VN (Verdadeiro Negativo), FP (Falso Positivo); FN (Falso Negativo) e VP

(Verdadeiro Positivo), pela partição de Cate-Nelson através da comparação da distância de Mahalanobis com a produtividade (kg ha^{-1}).

A) 3º par de folhas; **B)** 4º par de folhas e **C)** 5º par de folhas.

O par de folhas que apresentou maior quantidade de amostras classificadas como eficazes (VN), ou seja, que tem alta produtividade (acima do valor crítico) e estão equilibradas nutricionalmente (menor que a distância crítica de Mahalanobis), foi o quarto par (26 amostras). O terceiro par de folhas foi o que detectou menos indivíduos neste quadrante, isso pode ser explicado pelo terceiro par de folhas ter sido o mais rigoroso na classificação para subpopulações VN, pois apresentou maior valor de corte para produtividade ($884,00 \text{ kg ha}^{-1}$) e menor distância de Mahalanobis (8,071) dentre os três pares.

O quarto par de folhas indicou maior número de observações em FN (23 amostras). Essa classificação indica amostras de baixa produtividade que foram identificadas incorretamente como equilibradas, podendo ser explicado pela ação de outros fatores, não relacionados ao estado nutricional das plantas e que estão limitando a produção. O terceiro e quinto pares de folhas obtiveram menores quantidades de amostras distribuídas nessa classe.

O quinto par de folhas também apresentou menor dados em FP, que indica amostras de alta produtividade, porém classificadas incorretamente como equilibradas, sendo que isso pode ocorrer devido ao consumo de luxo de nutrientes ou resultantes de contaminação das amostras foliares. Entretanto, esses resultados para o quinto par têm possível explicação, devido este apresentar o menor número de amostras contidas na subpopulação de alta produtividade, o que por sua vez, parece estar relacionado com o menor número de amostras de toda a população de referência, após a exclusão dos *outliers*.

A classe VP indica as amostras que apresentaram baixa produtividade e desequilíbrio nutricional, a explicação pode ser relacionada à Lei do Mínimo que estabelece que o desenvolvimento e produtividade de uma planta será limitada pelo nutriente em deficiência. O quarto par de folhas foi o que detectou menores quantidades de amostras nessa classe (9 amostras).

Diferenças significativas entre as subpopulações em função dos critérios de seleção também foram encontradas por Khiari et al. (2001a), em batata-doce e Serra et al. (2013), em algodão. Especificamente, ao se tratar de amostras foliares é de se esperar que

haja diferença entre os resultados dos teores de nutrientes em função da posição da folha na planta, devido a possibilidade de translocação dos mesmos via floema. Dessa forma, ao se definir uma folha diagnóstico para uma determinada espécie vegetal, pode-se evitar a determinação de falsos diagnósticos de deficiências, excessos ou desbalanços nutricionais (PARENT et al., 2016). Sabendo que no CND a população de referência é utilizada como base para a diagnose nutricional, espera-se alcançar a distinção entre uma planta com equilíbrio nutricional de outra desequilibrada nutricionalmente

Somente pela contagem de amostras dentro de cada quadrante não se pode obter um diagnóstico nutricional exato. Neste sentido, são aplicados testes de validação de resultados. O testes de diagnósticos apresentados no Quadro 3 tem como base a relação entre os classificadores das subpopulações e auxiliam no entendimento dessas relações.

QUADRO 3. Teste de diagnóstico, para os três critérios de seleção de populações de referência.

Critério de seleção	VPN	VPP	Acurácia	Especificidade	Sensibilidade
3° PF	0,46	0,43	0,45	0,52	0,44
4° PF	0,53	0,39	0,48	0,65	0,28
5° PF	0,55	0,48	0,52	0,65	0,38

PF = Par de Folhas; VPN = Valor Preditivo Negativo; VPP = Valor Preditivo Positivo.

Pelos conceitos de cada teste pode-se chegar à conclusões de qual par de folhas foi melhor em indicar determinada classificação. O quinto par de folhas apresentou maior VPN, que identifica o potencial de deficiência de nutrientes indicando possível limitação no crescimento da planta devido outros fatores.

Segundo Parent et al. (2016), o VPP e a especificidade estão relacionadas na detecção de problemas de consumo de luxo de nutrientes ou contaminação das amostras. O quinto par de folhas teve maior desempenho nesses testes, ou seja, apresenta maior sensibilidade para indicar esses problemas. Isso pode ser comprovado pelo teste de acurácia que mede a probabilidade de uma amostra ser corretamente identificada como equilibrada ou desequilibrada, levando em consideração toda a população. Como o quinto par também obteve o melhor desempenho neste teste, pode se dizer que foi o critério mais preciso na realização dos testes.

4.3 Normas CND

Após a definição das subpopulações foram geradas normas CND das variáveis multinutrientes relacionadas a subpopulação eficaz (VN) para o *Simplex* (S^8). Estas são apresentadas na Quadro 4, seguidas das médias e desvios padrão. Através dos valores obtidos para as normas é possível se realizar um diagnóstico prévio de equilíbrio nutricional da planta, e caso esteja em desequilíbrio pode-se verificar qual nutriente está causando este quadro.

QUADRO 4. Normas CND, em uma população de alta produtividade para os três pares de folhas avaliados.

Variáveis multinutrientes	3º par de folhas		4º par de folhas		5º par de folhas	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
V_N^*	2,8842	0,1218	2,9804	0,1537	2,9754	0,1305
V_P^*	0,9821	0,2077	0,8308	0,1449	0,7578	0,1195
V_K^*	1,1335	0,1205	1,2270	0,1295	1,1911	0,1414
V_S^*	1,0842	0,0918	1,1634	0,1240	1,1361	0,1091
V_{Mg}^*	0,5090	0,0999	0,6020	0,1345	0,6177	0,1160
V_{Cu}^*	-4,9539	0,1892	-5,1714	0,3200	-5,1086	0,2386
V_{Mn}^*	-3,1449	0,1007	-3,1439	0,1161	-3,0749	0,1621
V_{Zn}^*	-4,2347	0,2142	-4,3178	0,2248	-4,3137	0,2232
V_{R8}^*	5,7442	0,0884	5,8250	0,0877	5,8261	0,0975
$\sum_{j=1}^k V_{X_j}$	0	-	0	-	0	-

4.4 Análises discriminante múltipla e análise de característica de operação do receptor.

4.4.1 Análises discriminante múltipla (ADM)

Na ADM, para cada par de folhas foram propostos quatro grupos coincidentes com as classes da partição de Cate-Nelson, grupo 1 - VN; grupo 2 - FP; grupo 3 - FN e grupo 4 - VP, através das variáveis produtividade, $CND-r^2$ e distância de Mahalanobis, a fim de saber qual variável tem maior capacidade de discriminar os grupos, testar a veracidade do teste diagnóstico e elaborar previsões para novas observações.

A análise de variância resultante do teste de igualdade de médias dos grupos para os três pares de folhas, é apresentada no Quadro 5.

QUADRO 5. Teste de igualdade de médias dos grupos aplicado na análise discriminante múltipla para os três pares de folhas avaliados.

3º par de folhas			
	Lâmbda de Wilks	F	Significância
Produtividade	0,336	46,071	0,000**
CND-r^2	0,771	6,936	0,000**
Distância de Mahalanobis	0,306	53,011	0,000**
4º par de folhas			
Produtividade	0,299	53,267	0,000**
CND-r^2	0,736	8,120	0,000**
Distância de Mahalanobis	0,311	50,278	0,000**
5º par de folhas			
Produtividade	0,290	52,994	0,000**
CND-r^2	0,783	5,996	0,001**
Distância de Mahalanobis	0,278	56,322	0,000**

** significativos à 1% de probabilidade pelo teste F.

Esta análise teve como objetivo testar a significância das variáveis quanto ao seu poder de discriminação dos grupos. Pelo Lâmbda de Wilks que varia de 0 a 1, é testada a existência de diferenças de médias entre os grupos para cada variável. Assim, valores elevados dessa análise indicam ausência de diferenças entre os grupos. Os maiores valores para o Lâmbda de Wilks foram apresentados pela produtividade e distância de Mahalanobis, portanto são as variáveis que mais possuem poder de diferenciação dos grupos, quando comparadas ao $CND-r^2$, que apresentou valores bem abaixo.

O teste F é utilizado para a avaliação das diferenças entre as médias, sendo que os valores mais próximos de 0 indicam menores diferenças entre as mesmas. As três variáveis foram significativas à 1% de probabilidade, apontando que existe pelo menos um grupo em que as médias são diferentes.

O quadro 6 apresenta a estatística M de BOX onde é verificada a igualdade da matriz de covariância entre os grupos.

QUADRO 6. Teste M de BOX entre matrizes de covariância para os grupos dos três pares de folhas avaliados.

3º par de folhas		Significância
M de BOX	79,278	0,000**
F	4,053	
4º par de folhas		Significância
M de BOX	21,583	0,377 ^{NS}
F	1,070	
5º par de folhas		Significância
M de BOX	56,594	0,000**
F	2,848	

** significativos à 1% de probabilidade. ^{NS} não-significativos por significância assintótica.

De acordo Varmuza e Filzmozer (2009), as matrizes de covariância geradas entre na ADM, auxilia na interpretação da relação das variáveis analisadas, sendo que a homogeneidade entre as matrizes de covariância é pressuposto para a análise discriminante. Somente o quarto par de folhas teve resultado não-significativo, portanto

aceitou-se a hipótese de nulidade, indicando homogeneidade da matriz de covariância para os grupos avaliados.

Levando em consideração que o terceiro e quinto pares de folhas não atenderam o pressuposto da homogeneidade dos dados e, portanto, não têm base estatística multifatorial para continuarem sendo avaliados, as análises que seguem a partir daqui foram aplicadas somente para o quarto par de folhas. O Quadro 7 apresenta o resumo das funções discriminantes da análise.

QUADRO 7. Sumarização de funções discriminantes para o quarto par de folhas.

Componente principal	Autovalor	Variância (%)	Variância cumulativa (%)	Correlação canônica
1	3,216	67,20	67,20	0,873
2	1,554	32,50	99,70	0,780
3	0,017	0,300	100,00	0,127
Teste dos componentes principais		Lâmbda Wilks		Significância
1 até 3		0,091		0,000**
2 até 3		0,385		0,000**
3		0,984		0,293 ^{NS}

**significativos à 1% de probabilidade. ^{NS} não-significativos por significância assintótica.

As funções discriminantes são combinações lineares das variáveis pelo grau de liberdade dos grupos. Como foram estabelecidos quatro grupos, foram definidas três funções gerando componentes principais, que por sua vez, explicam a variância total ocorrida nos dados da matriz de correlação entre os grupos representaram. O quadro acima está dividido em duas partes, onde na primeira parte são apresentados os componentes principais e sua aplicação. Pode-se notar que houve predominância do primeiro componente que representa 67,20% da variância total explicada. Também apresentou maior valor de correlação canônica, demonstrando alto grau de associação dessa função com os grupos.

Na segunda parte do quadro, foram testadas as três funções com seus respectivos componentes principais, em conjunto. O resultado não-significativo para o terceiro componente condiciona a não possibilidade de rejeição de H_0 , que indica haver diferenças entre as médias dos grupos. Também é possível notar que houve menor poder discriminativo da primeira função até a terceira por conta do aumento no valor de Wilks.

Com a associação de grupos prevista pôde-se identificar uma nova variável de classificação baseada na previsão do modelo com resultados dos grupos preditos. Corroborando com os resultados apresentados até aqui para a análise discriminante, o quarto par apresentou maior número de amostras que tinham sido classificadas como FP e FN, ou seja, incorretamente, retornarem à VN (subpopulação eficaz).

A representação gráfica do diagrama de dispersão comparando os componentes principais, ou seja, os dois primeiros componentes, e indicando a posição do centróide de cada um dos quatro grupos, auxilia no entendimento da capacidade discriminativa das funções (Figura 6).

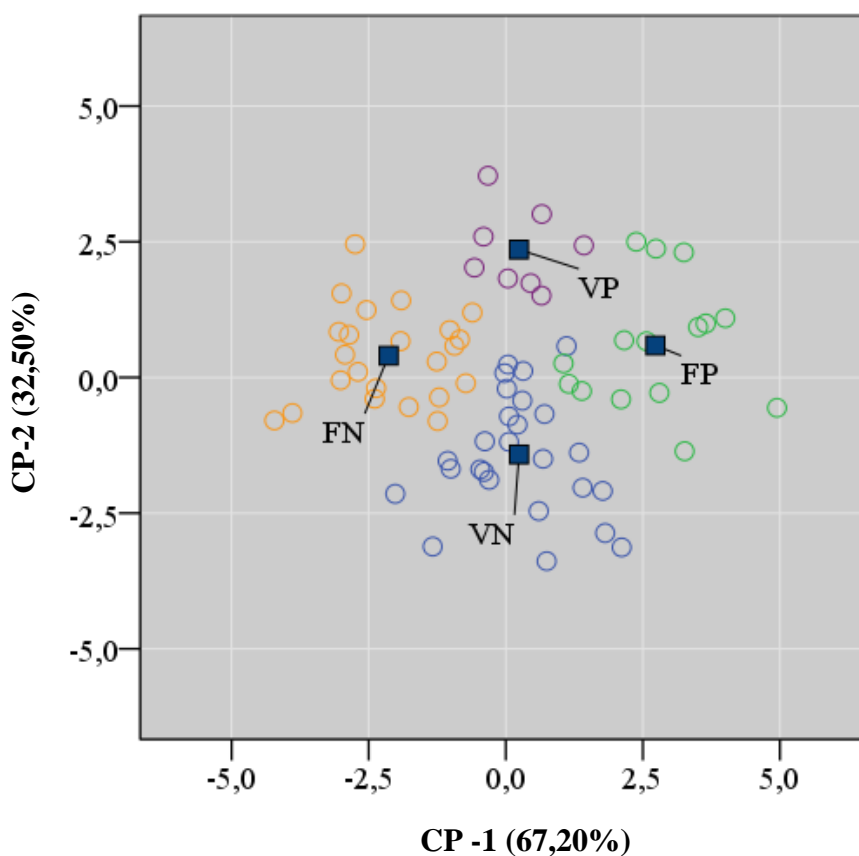


FIGURA 6. Representação dos centróides para cada classificador no quarto par de folhas.

CP-1) Componente principal 1 e **CP-2)** Componente principal 2.

Pelo gráfico nota-se que o quarto par de folhas apresentou grandes distâncias entre os centróides dos grupos, bem como, poucos dados observados, encontram-se em áreas de grupos que não pertencem, o que indica uma maximização das funções discriminativas e maior precisão para a discriminação.

4.4.2 Análise de característica de operação do receptor (ROC)

Foi aplicada uma análise refinada através de curvas ROC, que tem como objetivo descrever quantitativamente o desempenho de um teste diagnóstico. O Quadro 8 apresenta os resultados da análise ROC.

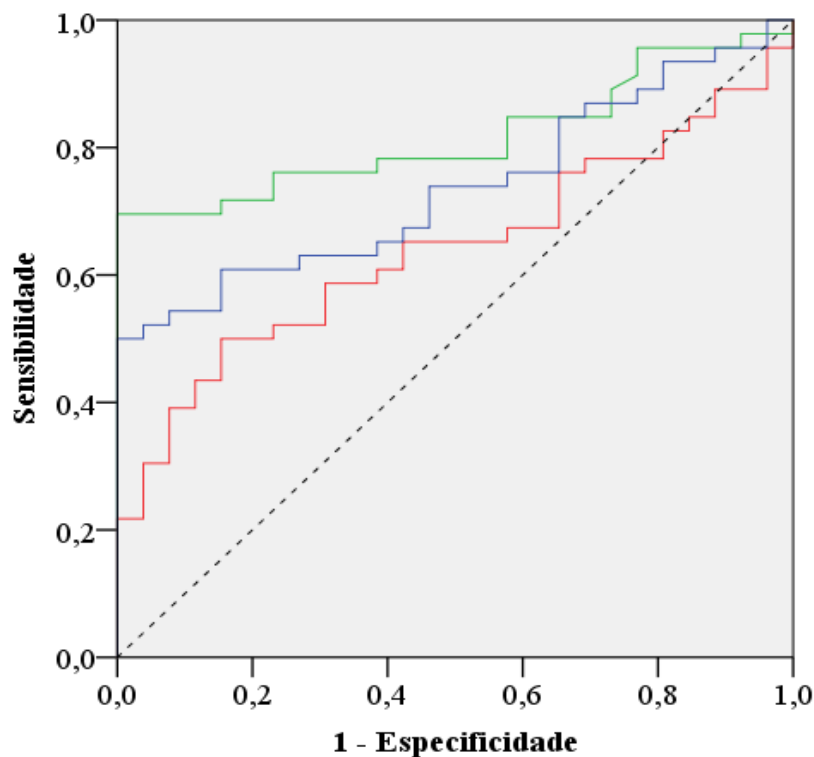
QUADRO 8. Análise ROC para as variáveis de teste do quarto par de folhas.

Variáveis de teste	Área sob a curva	Intervalo de confiança (95%)	Significância
Produtividade	0,817	0,720 - 0,915	0,000**
Distância de Mahalanobis	0,737	0,624 - 0,849	0,001**
CND - r^2	0,640	0,515 - 0,766	0,049*

** significativos a 1% de probabilidade assintótica * significativos à 5% de probabilidade assintótica.

A análise se baseou em testar a capacidade das variáveis produtividade, distância de Mahalanobis e CND- r^2 em discriminar as amostras em uma relação binária, onde uma classe foi determinada como eficaz, amostras VN, denotada como 1 e outra classe, ineficaz, contendo o outros classificadores (FP, FN e VP), denotada como 0.

A forma da curva e área sob a curva ROC são medidas resumo utilizadas para avaliar o desempenho do teste. Quanto maior a capacidade do teste em discriminar as amostras segundo a relação binária, mais a curva se aproxima do canto superior esquerdo e maior será a área sob a curva que tem como limite a reta de referência que divide o gráfico (MARTINEZ et al., 2003; WEBB e TING, 2005). A Figura 7 representa graficamente os resultados obtidos.



Legenda:

- Produtividade (kg ha⁻¹)
- Distância de Mahalanobis
- CND - r^2
- Linha de referência

FIGURA 7. Curva ROC comparando produtividade (kg ha⁻¹), distância de Mahalanobis e CND- r^2 para o quarto par de folhas.

A produtividade apresentou maior área sob a curva com 0,817 e o CND- r^2 apresentou a menor área com 0,640. Segundo Raslich et al. (2007), a área sob a curva pode ter qualquer valor entre 0 e 1, como indicador da qualidade do teste. O teste diagnóstico ideal apresentaria uma área com valor 1, enquanto o teste não discriminatório tem área de 0,5. De acordo com Šimundić (2009), áreas sob a curva com valores compreendidos entre 0,8 e 0,9 são classificados como “muito bom”, como é o caso da produtividade, valores entre 0,7 e 0,8 são classificados como “bom”, no caso da distância

de Mahalanobis e de 0,6 e 0,7 correspondem à “suficiente” para o CND- r^2 . As significâncias do teste para as variáveis avaliadas apresentaram diferenças. No quarto par de folhas as três variáveis não diferiram entre si no intervalo de confiança resultante, que indica a confiança do teste quando aplicado nessas condições.

4.5 Análise de componentes principais (ACP)

Para o cálculo da análise de componentes principais (ACP) foram utilizadas as normas CND (subpopulação eficaz). Conforme relatado por Parent e Dafir (1992), as relações logarítmicas centradas são compatíveis com a ACP.

Foi possível identificar três componentes principais (CP-1,2 e 3) para o quarto par de folhas com variâncias acumuladas de 53,85% (CP-1) e 15,73% (CP-2) e 13,33% (CP-3). A ACP tem como principal objetivo reduzir a quantidade de variáveis, portanto para melhor interpretação das matrizes originais dos dados, foi padronizado realizar a análise utilizando os dois primeiros componentes principais que obtiveram autovalores maiores que 1 (um).

Para que houvesse um melhor ajuste nos resultados dos CPs, foi aplicada uma rotação baseada na máxima variância dos mesmos. A significância dos *loadings* foi definida com base nos autovalores seguindo o que foi proposto por Ovalles e Collins (1988) (Quadro 9). Os dois primeiros componentes principais do quarto par de folhas apresentaram maiores porcentagens de variância explicada.

QUADRO 9. Autovalores da análise dos componentes principais calculados do quarto par de folhas.

Componentes principais	Autovalores	Variância explicada (%)	Variância acumulada (%)	Critério de seleção dos <i>loadings</i>
1	4,308	53,852	53,852	0,2408
2	1,258	15,731	69,583	0,4457

A matriz de componentes rotativa gerada pela ACP para as normas CND e a análise do gráfico dos *loadings* permitem o entendimento de padrões das interações entre os nutrientes. Nota-se os diferentes padrões de interação entre os nutrientes no Quadro 10 e Figura 8.

QUADRO 10. Matriz de componente rotativa gerada pela ACP para as variáveis multinutrientes (V_X^*) e componente principais.

Variáveis multinutriente	CP-1	CP-2
V_N^*	0,554*	0,400
V_P^*	0,077	0,644*
V_K^*	0,752*	0,102
V_S^*	0,937*	0,136
V_{Mg}^*	0,872*	-0,111
V_{Cu}^*	-0,929*	-0,026
V_{Mn}^*	-0,023	-0,848*
V_{Zn}^*	-0,881*	-0,275

* *Loadings* significativos pelo critério de seleção proposto por com base em Ovalles e Collins (1988).

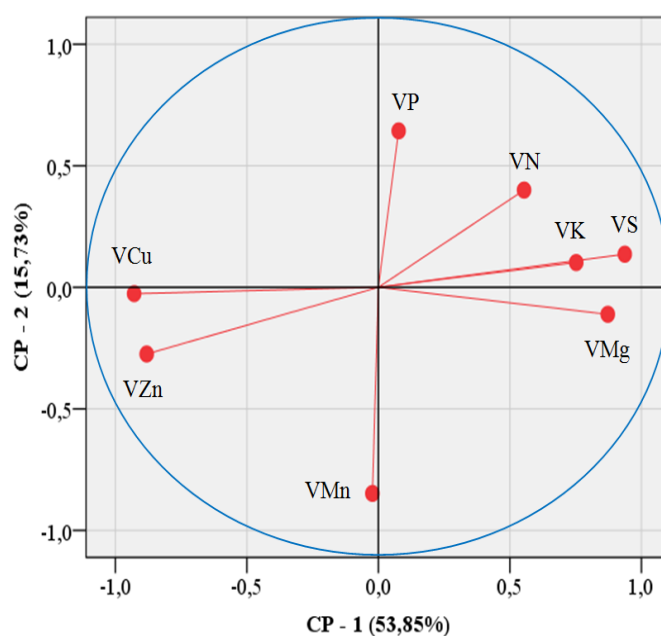


FIGURA 8. Análise gráfica da distribuição dos componentes principais para as variáveis multinutrientes na população de alta produtividade.

Pode ser observado pela análise do gráfico, que quanto menor o ângulo entre a variável e o eixo correspondente ao CP em análise, mais a variável explica a variabilidade daquele componente, como pode ser observado no quarto par de folhas no CP-1 para o Cu e no CP-2 para o Mn.

O primeiro componente principal do quarto par de folhas teve relação positiva com V_N^* , V_K^* , V_S^* e V_{Mg}^* e relação negativa com V_{Cu}^* e V_{Zn}^* . O segundo componente principal diferiu pela relação positiva com o V_P^* e negativa com o também com o V_{Mn}^* . Essas diferenças entre os dois componentes, quanto as relações com as variáveis multiutrientes podem estar relacionadas com a grande quantidade de variáveis estudadas em cada componente principal, que por sua vez, possibilita afirmar que o diagnóstico de equilíbrio nutricional para a canola não pode ser concluído corretamente, se feito de maneira isolada, pois depende diretamente das relações entre as variáveis que formam a composição.

A estrutura modelada pelo CP-1 ($N^+K^+S^+Mg^+Cu^-Zn^-$), CP-2 (P^+Mn^-), pode ser entendida pelas direções apontadas no gráfico, onde os diferentes sinais indicam que os nutrientes positivos comportam-se em uma direção enquanto os restante dos nutrientes negativos apontam em direção oposta.

No CP-1 pode ser observada a interação positiva entre N e K. Segundo Malavolta (2006), ocorre uma relação estreita de sinergismo entre N e K, onde o teor absorvido de um elemento é proporcionalmente aumentado quando ocorre o aumento no teor do outro. Esse efeito de íon acompanhante, dado principalmente pelo N nesta relação, é dependente da fonte, o N- NH_4^+ por meio da competição na absorção e da influência na difusão do potássio da argila, pode diminuir a concentração deste nutriente.

A interação N-Mg é competitiva quando se trata da fonte N- NH_4^+ , diminuindo o teor de Mg (MALAVOLTA, 2006). Entretanto, houve uma relação positiva entre N e Mg, no quarto par de folhas. Este fato pode ser explicado pela diferença na fonte, no qual foi aplicada ureia, que no solo se transforma em NO_3^- sendo, neste caso, de sinergismo. Outra interação positiva resultante foi a K-Mg, também segundo o mesmo autor, geralmente o que se encontra é um efeito inibidor, principalmente quando ocorrem grandes concentrações de Ca, como averiguado neste trabalho. Por outro lado, de acordo com Epstein e Bloom (2006) e Marschner (2012), o Mg é o maior ativador de enzimas dentre os nutrientes minerais, sendo que as mais importantes são as que estão relacionadas com

a transferência de energia (ATPases e PPases), que por sua vez, há uma relação direta com o P, portanto, se os teores de P estiverem adequados, juntamente com elevadas concentrações de Ca, é diminuído o efeito inibidor do K, no teor foliar de Mg.

A relação negativa obtida entre N e Cu, pode ser explicada pela adição de N em solos com baixas concentrações de Cu. Tal fato pode ser contornado com aplicação foliar de Cu, resultando em uma maior tendência de relação positiva entre os dois nutrientes. A interação N-Zn está estritamente relacionada com a fonte, sendo positiva quando N-NH_4^+ e negativa enquanto NO_3^- , como pode ser observado nos resultados encontrados, assim, o teor de N na folha é diminuído com o aumento na dose de Zn. Em se tratando do K, sua interação negativa com o Cu e o Zn corrobora com a literatura, onde o aumento da concentração de K diminuiu a de Cu e com o aumento na de Zn, houve queda na de K. No caso do zinco este efeito também é observado na interação com S e Mg. A interação negativa entre P e Mn correlacionada no CP-2 do quarto par de folhas indica altas concentrações de P, acarretando na diminuição das de Mn (MALAVOLTA, 2006).

A relação positiva N-S, encontrada no quarto par de folhas, é de grande importância para a canola, pois deve-se buscar ter a disponibilidade de S no solo em equilíbrio com N, uma vez que este nutriente é fundamental na fisiologia da planta, como na composição de aminoácidos, bases nitrogenadas e ácidos nucléicos, enzimas e coenzimas, vitaminas, glico e lipoproteínas, pigmentos e produtos secundários. Também está relacionado com o processo de absorção iônica, fotossíntese, respiração, sínteses em geral, multiplicação e diferenciação celular (MARSCHNER, 2012).

Para este experimento foi utilizado um híbrido de canola, os quais, são mais exigentes em nitrogênio que as cultivares convencionais. A produção de canola é altamente dependente da fertilidade nitrogenada. Os rendimentos ótimos de canola são obtidos desde que as exigências N, P e S individuais sejam satisfeitas. Uma vez que a deficiência de N ou S é corrigida, parece haver pouca necessidade de equilibrar as taxas de aplicação de N e S em qualquer relação particular com canola híbrida, já que nos estudos de proporção entre os dois nutrientes, para a canola, tem se encontrada alta amplitude, bem como, não interferência das diferentes fontes de N no desempenho agrônomo da canola (KARAMANOS et al., 2007; KAEFER et al., 2014).

As interações entre os nutrientes precisam ser consideradas para a correção de deficiências e para a evolução do manejo de nutrientes e assim, serem desenvolvidas estratégias para que a canola obtenha maior rendimento e maior qualidade (ANJANEYULU et al., 2008).

5. CONCLUSÕES

Por meio do método CND e análises estatísticas propostas neste trabalho, pode-se indicar o quarto par de folhas como folha diagnóstica, na coleta de amostras para diagnose foliar e avaliação do estado nutricional da canola, em sistema de rotação de cultura no estado de Mato Grosso do Sul.

Nos métodos estatísticos ADM e ROC, a produtividade foi a variável com maior poder discriminativo da população de alta produtividade para o quarto par de folhas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTI, M.B.; MIRALLES, D.J. 2007. **Efecto del nitrógeno sobre el rendimiento y la calidad de canola**. Workshop Internacional de Ecofisiología, 2007. p. 102-103.

AGOSTI, M.B., RONDANINI, D.P.; MIRALLES, D.J. **Interacción nitrógeno x azufre sobre la calidad en canola (*Brassica napus*)**. In: Reunión Argentina de Fisiología Vegetal, 27., 2008, Rosario. Argentina. PI 003, 2008. p. 52.

AHMAD, A.; M.Z. ABDIN. Effect of sulphur application on lipid, RNA and fatty acid content in developing seeds of rapeseed (*Brassica campestris* L.). **Plant Science**, v. 152, p. 71-76, 2000.

AITCHISON, J. Statistical analysis of compositional data. **Journal of the Royal Statistical Society**, v. 44, n. 2, p. 139-177, 1986.

ANJANEYULU K.; RAGHUPATHI, H. B.; CHANDRAPRAKASH, M. K. Compositional nutrient diagnosis norms (CND) for guava (*Psidium guajava* L.). **Journal of Horticultural Sciences**. 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, Pietermaritzburg, 1973. 132 p.

BLAKE, M.M.A.; ZHAO, F.J.; McGRATH, S.P. Development of the malate:sulfato ratio test for sulphur deficiency in winter wheat and oilseed rape. **Home-Grown Cereals Authority**, London, p. 45, 2004.

BURZACO, J. P.; IGNACIO A. C. **Mejores Prácticas de Manejo para la Nutrición del Cultivo de Colza-Canola: Una revisión**. ZIPNI Cono Sur, Acassuso, Buenos Aires, Argentina, 2009.

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.

CANOLA COUNCIL OF CANADA. **Canola grower's manual**. 2013. Disponível em: <<http://www.canolacouncil.org/crop-production/canola-grower's-manual> contents>. Acesso em: 09 fev. 2017.

CHRISTEN, O. Yield, yield formation and yield stability of wheat, barley and rapeseed in different crop rotations. **German Journal of Agronomy**, v. 5, p. 33-39, 2001.

CIAMPITTI, I.A.; GARCÍA, F.O. Requerimientos nutricionales. absorción y extracción de macronutrientes y nutrientes secundarios. I. **Cereales, Oleaginosos e Industriales**. Arquivo agrônômico 11. Disponível em: <http://www.ipni.net/lasc> Iriarte B. L. Colza: Cultivares, Fecha de Siembra, Fertilización. INTA. Chacra Experimental Integrada Barrow, 2007. 4 p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. – v. 1, n.3. Brasília: **Conab**, 2017.

COSTA, A.N. Aplicação do sistema integrado de diagnose e recomendação (DRIS) em cafeeiros Conilon (*Coffea canephora*) e arábica (*Coffea arabica*). In: SIMPÓSIO MONITORAMENTO NUTRICIONAL PARA RECOMENDAÇÃO DA ADUBAÇÃO DE CULTURAS, 1., Piracicaba, 1999. Anais. Piracicaba, **Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato**, 1999.

CORDEIRO, L. A. M.; REIS, M. S.; ALVARENGA, E.M. **A cultura da canola**. Viçosa: UFV, 1999. 50p.; Il. (Cadernos Didáticos, 60).

EGOZCUE, J.J.; PAWLOWSKY-GLAHN, V.; MATEU-FIGUERAS, G.; BARCELÓ-VIDAL, C. Isometric logratio transformations for compositional data analysis. **Mathematical Geology**, v. 35, n. 3, p. 279-300, 2003.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição mineral de plantas**. Londrina: Planta. 2006. 401p.

GONZALEZ, M.; NAPOLI M. Manejo de la fertilización en cultivos de cosecha fina en el contexto actual de relaciones de precios y situación financiera de las empresas en la zona Mar y Sierras. In: Simposio de Fertilidad 2009 “Mejores prácticas de manejo para una mayor eficiencia en la nutrición de cultivos”. F.O. García e I.A. Ciampitti (eds.). **IPNI Cono Sur y Fertilizar**. Rosario, Santa Fe, Argentina, 2009.

Holland, D.A. The interpretation of leaf analysis. **J. Horticultural Science**, v. 41, p. 311-329, 1966.

IRIARTE B. L. Colza: cultivares, fecha de siembra, fertilización. **Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria**. Chacra Experimental Integrada Barrow, 2002. 4 p.

JACKSON G.D. Effects of nitrogen and sulfur on canola yield and nutrient uptake. **Agronomy Journal**. v. 92, n. 4, p. 644-649, 2000.

JAN, A.; AHMAD, G. ARIF, M.; JAN, M.T.; MARWAT, K.B. Quality parameters of canola as effected by nitrogen and sulfur fertilization. **Journal of Plant Nutrition**, v. 33, p. 381-390, 2010.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. Applied multivariate statistical analysis. **Prentice-Hall**, 773p. 2007.

KAEFER, J. E.; GUIMARÃES, V. F.; RICHART, A.; TOMM, G. O.; MÜLLER, A. L. Produtividade de grãos e componentes de produção da canolade acordo com fontes e doses de nitrogênio. **Pesquisa agropecuaria brasileira**, v. 49, n. 4, p. 273-280, 2014.

KARAMANOS, R.E.; GOH, T.B.; FLATEN, D.N. Nitrogen and sulphur fertilizer management for growing canola on sulphur sufficient soils. **Canadian Journal Plant Science**. v. 87, p. 201-210, 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, 2001 a.

KHIARI, L.; PARENT, L. E.; TREMBLAY, N. Selecting the high-yield subpopulation for diagnosing nutrient imbalance in crops. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, n. 4, p. 802-808, 2001 b.

KIRKEGAARD J.A.; SPRAGUE S.J.; DOVE H.; KELMAN W.M.; MARCROFT S.J.; LIESCHKE A.; HOWE G.N.; GRAHAM J.M. Dual-purpose canola new opportunity in mixed farming systems. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 59, p. 291-302, 2008.

KIRKEGAARD J.A.; SPRAGUE S.J.; HAMBLIN P.J. GRAHAM J.M.; LILLEY J.M. Refining crop and livestock management for dual-purpose spring canola (*Brassica napus*). **Crop & Pasture Science**, v. 63, p. 429-443, 2012.

KÖPPEN, W. **Climatologia**: con un estudio de los climas de la tierra. México: Fondo de Cultura Económica, 478p. 1948.

KURIHARA, C.H.; SILVA, C. J. da. **Folha índice para avaliação do estado nutricional do pinhão-mansão**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2014. 5 p.

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.

MAEDA, S.; LIMA FILHO, O. F. de; FABRÍCIO, A. C. **Análise de amostras de folha de soja: com ou sem pecíolo**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 5 p.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo, Agronômica Ceres, 2006. 638 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: princípios e aplicações**. 2 ed., Potafos, Piracicaba, 1997. 319 p.

MALHI, S.S.; GILL, K.S. Interactive effects of N and S fertilizers on canola yield and seed quality on S-deficient Gray Luvisol soils in northeastern Saskatchewan. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 87, p. 211-222, 2007.

MARSCHNER, P. **Mineral nutrition of higher plants**. 3.ed. San Diego: Academic Press, 2002. 639p.

MARTINEZ, E. Z.; LOUZADA-NETO, F.; PEREIRA, B. B. de. A curva ROC para testes diagnósticos. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 11, n. 1, p. 7-31, 2003.

MELGAREJO, M. A.; JÚNIOR, J. B. D.; COSTA, A. C. T.; MEZZALIRA, É. J.; PIVA, A. L.; SANTIN, A. Características agronômicas e teor de óleo da canola em função da época de semeadura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, s.l., v. 18, n. 9, p. 934-938, 2014.

MIGLIORINI, P. **Potencial Fisiológico de Sementes de Canola (Geração F2) Produzidas no Paraná**. Universidade Federal de Santa Maria –UFSM, Santa Maria - RS, 2012.

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. ASA Spec. Publ, 1977.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J.; NUNES, F. N. Fósforo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V. V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). **Fertilidade do Solo**. Viçosa: SBCS, 2007. p. 471-550.

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.

ÖZTÜRK, Ö. Effects of source and rate of nitrogen fertilizer on yield, yield components and quality of winter rapeseed (*Brassica napus* L.). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 70, n. 1, p. 132-141, 2010.

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.; NATALE, W.; ZIADI, N. Compositional nutrient diagnosis of corn using the Mahalanobis distance as nutrient imbalance index. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 89, p. 383-390, 2009.

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**, Jaboticabal, SP, 2016. 600 p.

PARENT, S-É.; PARENT, L. E.; ROZANE, D.E.; NATALE, W. Plant ionome diagnosis using sound balances: Case study with mango (*Mangifera Indica*) **Frontiers in Plant Science**, v. 4, n. 449, 2013.

RASLICH, M.A.; MARKERT, R.J.; STUTES, S.A. Selecting and interpreting diagnostic tests. **Biochemia Medica**, v. 17, n. 2, p. 139-270, 2007.

ROSS, S.M. Introduction to probability and statistics for engineers and scientists. **John Wiley & Sons**, New York, 1987.

RUBIO G.; J.D. SCHEINER, M.A.; TABOADA, R.S. Lavado. Distribución de Nitrógeno, Fósforo y Azufre en un cultivo de Colza: Efectos sobre el ciclado de nutrientes. **Ciencia del Suelo**, v. 25, n. 2, p. 189-194, 2007.

SANTOS, H. P. dos; TOMM, G. O.; BAIER, A. C. **Avaliação de germoplasmas de colza (*Brassica napus* l. var. oleifera) padrão canola introduzidos no sul do Brasil, de 1993 a 1996, na Embrapa Trigo**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2000.

SERRA, A. P. et al. Desenvolvimento de normas DRIS e CND e avaliação do estado nutricional da cultura do algodoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 1, p. 97-104, 2010.

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.

SCHEINER, J.D.; GUTIERREZ-BOEM, F.H.; LAVADO, R.S. **Fertilización en Colza-Canola**. 2008.

ŠIMUNDIĆ, A. Measures of diagnostic accuracy: basic definitions. **The Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 19, n. 4, p. 203-211, 2009.

THOMAS, P. Canola growers manual: grow with canola. Winnipeg: Canola Council of Canada, 1984.1424 p. (Manual). In: MILLÉO, M.V.R.; DONI FILHO, L. Marcha de absorção de enxofre por plantas de canola. **Scientia Agraria**, v. 2, n. 1, p. 1-6, 2001.

TOMM, G. O.; WIETHÖLTHNER, S.; DALMAGO, G. A.; SANTOS, H. P. **Tecnologia para produção de canola no Rio Grande do Sul**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009. 88 p.

TOMM G. O. Levantamento da área semeada com canola no Brasil. **Embrapa Trigo**, 2013.

VAN DEN BOOGAART, K.G.; TOLOSANA-DELGADO, R.; BREN, M. Compositional data analysis in R package. **Computers & Geosciences**, v. 34, n. 4, p. 320-338, 2013.

VARMUZA, K.; FILZMOSE, P. **Introduction to multivariate statistical analysis in chemometrics**. Taylor & Francis Group. Nova Yorky, 283 p.

WADT, P. G. S. **Diagnose foliar e recomendação de adubação para lavouras comerciais**. Rio Branco: Embrapa, 2011. 69 p.

WADT, P. G. S.; SILVA, D. J.; MAIA, C. E.; TOMÉ JUNIOR, J. B.; PINTO, P. A. C.; MACHADO, P. L. O. A. Modelagem de funções no cálculo dos índices DRIS. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 57-64, 2007.

WADT, P. G. S.; SILVA, L. M. Faixa de suficiência e definição da posição da folha na avaliação do estado nutricional de pimenta-longa. **Científica**, Jaboticabal, v. 44, n. 3, p.431-438, 2016.

WALKER, K.C.; BOOTH, E.J. Agricultural aspects of rape and other *Brassica* products. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 103, p. 441-446, 2001.

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

WEBB, G.I.; TING, M. On the application of ROC analysis to predict classification performance under varying class distributions. **Machine Learning**, v. 58, n. 1, p. 25-32, 2005.