

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DAIANE CRISTINA DA ROCHA

COMPOSIÇÃO MINERAL E TEOR DE NITRATO EM ALFACE HIDROPÔNICA *BABY LEAF* SOB DIFERENTES PROPORÇÕES  $\text{NO}_3^-$  :  $\text{NH}_4^+$  E CONCENTRAÇÕES DE MOLIBDÊNIO

CURITIBA

2019

DAIANE CRISTINA DA ROCHA

COMPOSIÇÃO MINERAL E TEOR DE NITRATO EM ALFACE HIDROPÔNICA *BABY LEAF*, SOB DIFERENTES PROPORÇÕES DE  $\text{NO}_3^-$  :  $\text{NH}_4^+$  E CONCENTRAÇÕES DE MOLIBDÊNIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração Solo e Ambiente, do Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Pedrosa Gomes  
Co-orientador: Prof. Dr. Volnei Pauletti

CURITIBA

2019

R672c Rocha, Daiane Cristina da  
Composição mineral e teor de nitrato em alface hidropônica baby leaf, sob diferentes proporções de  $\text{NO}_3^-$  :  $\text{NH}_4^+$  e concentrações de molibdênio / Daiane Cristina da Rocha. - Curitiba, 2019.  
59 p.: il.,

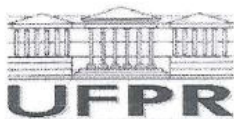
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências do Solo.

Orientador: Marcelo Pedrosa Gomes

Coorientador: Volnei Pauletti

1. Plantas - efeito do nitrogênio. 2. Hortaliças. 3. Alface. 4. Nitratos. 5. Fotossíntese. I. Gomes, Marcelo Pedrosa (Orientador). II. Pauletti, Volnei (Coorientador). III. Título. IV. Universidade Federal do Paraná.

CDU 635.52



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS AGRARIAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS DO SOLO -  
40001016014P4

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS DO SOLO da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **DAIANE CRISTINA DA ROCHA** intitulada: **Composição mineral e teor de nitrato em alface hidropônica baby leaf, sob diferentes proporções de  $\text{NO}_3^-$ - $\text{NH}_4^+$  e concentrações de molibdênio**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 08 de Março de 2019.



MARCELO PEDROSA GOMES

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)



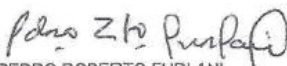
VOLNEI PAULETTI

Coordenador - Avaliador Interno (UFPR)



JANAINA GUERNICA SILVA

Avaliador Externo (UFMS)



PEDRO ROBERTO FURLANI

Avaliador Externo (CONPLANT)

Aos meus pais, Teresinha Aparecida da Rocha e Cedeval Teixeira da Rocha;

Ao meu marido, Alcides Masaaki Miyada Filho, pelo apoio, entendimento e amor incondicional nas horas mais difíceis;

À minha filha, Giovana Sayuri Miyada da Rocha, motivo maior da minha força de vontade hoje e sempre ...

**... DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço à Deus e aos meus pais pela oportunidade da vida.

Agradeço em especial à minha mãe Teresinha Aparecida da Rocha, por cuidar da minha filha para que eu pudesse estudar e realizar o mestrado.

Agradeço muito a paciência e dedicação dos orientadores, Prof. Marcelo Pedrosa Gomes e Volnei Pauletti.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo pela oportunidade e à CAPES pela concessão da bolsa que permitiu minha dedicação exclusiva neste projeto.

Não posso deixar de agradecer também à minha amiga doutoranda Bruna Franciele Iversen da Silva pela amizade, ajuda e parceria. Gratidão também à minha eterna amiga Aline Mexiko, por estar sempre ao meu lado incentivando e torcendo pelo meu sucesso!

Meu agradecimento também à aluna de graduação Jéssica Maria Moreira dos Santos pela disposição, comprometimento e responsabilidade em me ajudar.

Ao mestrando Davi Tavares pela disposição no dia da colheita.

Aos laboratórios utilizados para as análises, bem como aos técnicos pelo auxílio preciso.

*“O importante é não parar de questionar.  
A curiosidade tem sua própria razão de existir!”*

Albert Einstein

## RESUMO

De todos os nutrientes o nitrogênio é um dos mais requeridos pela maioria das culturas e aplicado em maiores quantidades, sendo um dos principais responsáveis juntamente com as condições ambientais, pela elevação do teor de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) nos vegetais. A primeira etapa de sua assimilação envolve a enzima Nitrato Redutase (NR), a qual depende do micronutriente molibdênio (Mo) como cofator. Nas hortaliças folhosas a preocupação com o acúmulo de  $\text{NO}_3^-$  é maior, pois são de consumo *in natura*, sendo que o  $\text{NO}_3^-$  presente nos tecidos foliares pode prejudicar o transporte de  $\text{O}_2$  no sangue humano ou mesmo levar a formação de nitrosaminas, potencialmente cancerígenas. As hortaliças *baby* representam um mercado em expansão e são obtidas através de artifícios no manejo cultural, como a colheita antecipada com foco em folhas jovens. Diante desta problemática, este trabalho objetivou investigar a influência de diferentes proporções de nitrato:amônio (%) na solução nutritiva (100/0; 75/25; 50/50 e 25/75), associadas a duas concentrações do micronutriente Mo (0,06 e 0,12 mg Mo L<sup>-1</sup>) sobre a produção, composição mineral e acúmulo de nitrato na folha de alface Mimososa *baby leaf*, cultivada em sistema hidropônico estático do tipo floating. Foram avaliadas características de massa fresca e seca da parte aérea; trocas gasosas nas folhas; massa seca, comprimento, área superficial e volume de raízes, bem como a concentração de nitrato, a atividade da enzima NR e a composição mineral das folhas. A massa seca da parte aérea não diferiu entre os tratamentos. Entretanto, a produção de massa fresca foi menor no tratamento com maior proporção de  $\text{NH}_4^+$ , embora a taxa fotossintética líquida tenha sido favorecida. Como esperado, maior teor de  $\text{NO}_3^-$  foi observado em folhas das plantas tratadas com a máxima concentração N- $\text{NO}_3^-$  (100%) e não diferenciou entre os demais tratamentos. Maiores teores de macro e micronutrientes foram obtidos em plantas tratadas com 100% de N- $\text{NO}_3^-$ , bem como massa seca e crescimento radicular. O aumento da concentração de Mo na solução não estimulou a atividade da enzima NR e não garantiu menor concentração de  $\text{NO}_3^-$  nas folhas. Diante do exposto, devido ao menor acúmulo de  $\text{NO}_3^-$  nas folhas e à manutenção da produção de massa fresca da parte aérea indica-se o uso da proporção nitrato: amônio (%) de 50/50, na solução nutritiva e de 0,06 mg Mo L<sup>-1</sup> para a produção da alface *baby leaf* cultivada em sistema hidropônico estático do tipo floating.

Palavras-chave: nitrato redutase, atividade enzimática, fotossíntese, solução nutritiva, *Lactuca sativa*,



## ABSTRACT

Between all the nutrients, nitrogen is one of most required by most crops and applied in larger quantities for crop production, being also one of the responsible along with environmental conditions, for the elevation of the nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) content in food. The first step of its assimilation involves the enzyme Nitrate Reductase (NR), which depends on the metal molybdenum (Mo) as cofactor. In the leafy vegetables, the concern with the nitrate accumulation is higher, since they consumed *in natura*, and the  $\text{NO}_3^-$  present in leaf tissues can impair the transport of  $\text{O}_2$  in human blood or even lead to the formation of nitrosamines, which are potentially carcinogenic. The baby vegetables represent an expanding market and are obtained through artifices in cultural management, such as early harvesting with a focus on young leaves. Here, we investigated the influence of different proportions of nitrate: ammonium (%) in the nutrient solution (100/0, 75/25, 50/50 and 25/75), associated with two concentrations of the micronutrient Mo (0.6 and 0.12 mg Mo  $\text{L}^{-1}$ ) on the production, mineral composition and nitrate accumulation in lettuce Mimosa baby leaf, grown in a floating hydroponic system. Fresh and dry mass parameters; leaf gas exchange; length, surface area and volume of roots; as well as nitrate concentration, the activity of Nitrate Reductase enzyme and leaf mineral composition were evaluated. Dry shoot mass did not differ between treatments. However, fresh mass production was lower in the treatment with the highest proportion of  $\text{NH}_4^+$ , although the net photosynthetic rate was favored. As expected, higher nitrate content was observed in leaves of plants treated with the maximum concentration of nitrate (100% N- $\text{NO}_3^-$ ) and did not differ between the other treatments. Higher levels of macro and micronutrients were obtained in plants treated with 100% N- $\text{NO}_3^-$ , as well as dry mass and root growth. Increased concentration of Mo in the solution did not stimulate the activity of Nitrate Reductase enzyme and did not assure lower concentration of nitrate in the leaves. In view of the foregoing, due to the lower accumulation of nitrate in the leaves and the maintenance of the fresh mass production of the aerial part, it is indicated the use of the nitrate: ammonium (%) ratio of 50/50, in the nutrient solution and of 0.06 mg Mo  $\text{L}^{-1}$  to produce baby leaf lettuce grown in a floating hydroponic system.

Keywords: nitrate reductase, enzymatic activity, photosynthesis, nutrient solution, *Lactuca sativa*

## ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1 – TEMPERATURA MÉDIA E MÁXIMA (A) E UMIDADE RELATIVA (B) DENTRO DA CASA DE VEGETAÇÃO DURANTE O PERÍODO DE CULTIVO DA ALFACE *BABY LEAF* ----- 19
- FIGURA 2 – DETALHE DO SISTEMA DE AERAÇÃO DAS BANCADAS PARA HIDROPONIA (A) E DETALHE DOS VASOS COM O SUPORTE DE ISOPOR E AS MUDAS DE ALFACE (B) ----- 20
- FIGURA 3 - ACOMPANHAMENTO DA CE E pH DA SOLUÇÃO NUTRITIVA DAS DIFERENTES PROPORÇÕES  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  E CONCENTRAÇÕES DE  $\text{M}_0$ ----- 24
- FIGURA 4 - TAXA FOTOSSINTÉTICA LÍQUIDA DE FOLHAS DE ALFACE *BABY LEAF* var. MIMOSA HIDROPÔNICA SOB CONCENTRAÇÕES DE  $\text{N-NH}_4^+$  E  $\text{M}_0$  NA SOLUÇÃO NUTRITIVA ----- 36
- FIGURA 5 - TEORES DE NITRATO ( $\text{mg NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$  DE MF) EM FOLHA DE ALFACE *BABY LEAF* var. MIMOSA HIDROPÔNICA SOB PROPORÇÕES  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  E CONCENTRAÇÕES DE  $\text{M}_0$  NA SOLUÇÃO NUTRITIVA ----- 40
- FIGURA 6 - MASSA SECA (A), VOLUME (B), ÁREA SUPERFICIAL (C) E COMPRIMENTO TOTAL (D) DE RAÍZES DE ALFACE HIDROPÔNICA *BABY LEAF* var. MIMOSA, EM FUNÇÃO DAS PROPORÇÕES  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  NA SOLUÇÃO NUTRITIVA ----- 48

## TABELAS

- TABELA 1 – COMPOSIÇÃO DA SOLUÇÃO NUTRITIVA, COM BASE EM FURLANI et. al (1999), EM FUNÇÃO DOS DIFERENTES TRATAMENTOS UTILIZADOS NO EXPERIMENTO. UFPR, CURITIBA, PR----- 23
- TABELA 2 - RESUMO DO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA PARA AS TODAS AS VARIÁVEIS ANALISADAS EM RELAÇÃO AOS FATORES PROPORÇÕES DE N ( $\text{NO}_3^-$  :  $\text{NH}_4^+$ ), CONCENTRAÇÕES DE  $\text{M}_0$  E INTERAÇÃO  $\text{N} \times \text{M}_0$ , PARA ALFACE HIDROPÔNICA *BABY LEAF* ----- 31
- TABELA 3 – MASSA FRESCA E SECA DA PARTE AÉREA DE ALFACE HIDROPÔNICA *BABY LEAF* var. MIMOSA, SOB DIFERENTES PROPORÇÕES  $\text{NO}_3^-$  :  $\text{NH}_4^+$  E CONCENTRAÇÕES DE  $\text{M}_0$  NA SOLUÇÃO NUTRITIVA----- 32
- TABELA 4 - TAXA DE FOTOSSÍNTESE LÍQUIDA,  $\text{CO}_2$  INTERNO, RAZÃO  $C_i/C_e$  DE FOLHAS DE ALFACE *BABY LEAF* var. MIMOSA HIDROPÔNICA, SOB DIFERENTES PROPORÇÕES  $\text{NO}_3^-$  :  $\text{NH}_4^+$  E CONCENTRAÇÕES DE  $\text{M}_0$  NA SOLUÇÃO NUTRITIVA ----- 35
- TABELA 5 – TEOR DE NITRATO E ATIVIDADE DA ENZIMA NR EM FOLHAS DE ALFACE *BABY LEAF* var. MIMOSA, SOB DIFERENTES PROPORÇÕES  $\text{NO}_3^-$  :  $\text{NH}_4^+$  E CONCENTRAÇÕES DE  $\text{M}_0$  NA SOLUÇÃO NUTRITIVA ---  
----- 42
- TABELA 6 - TEORES DE MACRONUTRIENTES NA FOLHA DE ALFACE *BABY LEAF* var. MIMOSA HIDROPÔNICA, SOB DIFERENTES PROPORÇÕES  $\text{NO}_3^-$  :  $\text{NH}_4^+$  E CONCENTRAÇÕES DE  $\text{M}_0$  NA SOLUÇÃO NUTRITIVA. ----- 45
- TABELA 7 - TEORES DE MICRONUTRIENTES NA FOLHA DE ALFACE *BABY LEAF* var. MIMOSA HIDROPÔNICA, SOB DIFERENTES PROPORÇÕES  $\text{NO}_3^-$  :  $\text{NH}_4^+$  E CONCENTRAÇÕES DE  $\text{M}_0$  NA SOLUÇÃO NUTRITIVA. ----- 47

## ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	- Análise de variância
ATP	- Adenosina trifosfato
BOD	- Bio-Oxygen Demand
CE	- Condutividade elétrica
C <sub>i</sub>	- Concentração interna de carbono
C <sub>i</sub> /C <sub>e</sub>	- Razão entre concentração interna e externa de carbono
DAT	- Dias após o transplante
FAO	- Food and Agriculture Organization
GS	- Glutamina sintase
GOGAT	- Glutamato sintase
ICP-MS	- Espectrometria de emissão óptica de massa com plasma acoplado indutivamente
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MF	- Massa fresca de parte aérea
MS	- Massa seca de parte aérea
MSR	- Massa seca de raiz
NADH	- Dinucleotídeo dicotinamida e adenina
NFT	- Técnica do Fluxo Laminar de Nutrientes (Nutriente Film Technique)
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	- Amônio
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	- Nitrato
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	- Nitrogênio na forma de amônio
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	- Nitrogênio na forma de nitrato
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> : NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	- Proporção nitrato e amônio
OMS	- Organização Mundial da Saúde
PEBD	- Polietileno de baixa densidade
POF	- Pesquisa sobre Orçamentos Familiares
NR	- Nitrato Redutase
RuBisCo	- Ribulose-1,5-bifosfato carboxilase oxigenase
UV	- Ultravioleta

## UNIDADES

g	- grama
mg	- miligrama
kg	- quilograma
L	- litro
$\mu\text{L}$	- microlitro
mmol	- milimol
$\mu\text{mol}$	- micromol
$\beta$	- beta
M	- molar
mM	- milimolar
nm	- nanômetro
s	- segundo
min	- minuto
h	- hora
$\text{m}^2$	- metro quadrado
pH	- potencial hidrogeniônico

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>18</b>
2.1	SISTEMA DE CULTIVO .....	18
2.2	PRODUÇÃO DE MUDAS .....	20
2.3	CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS .....	21
2.3.1	Solução nutritiva .....	22
2.3.2	Colheita .....	25
2.4	CARACTERÍSTICAS AVALIADAS .....	25
2.4.1	Massa fresca e seca da parte aérea .....	25
2.4.2	Análise radicular .....	26
2.5	ANÁLISES QUÍMICAS .....	26
2.5.1	Macro e micronutrientes .....	26
2.5.2	Carbono e nitrogênio .....	27
2.6	ANÁLISES FISIOLÓGICAS .....	27
2.6.1	Nitrato .....	28
2.6.2	Ensaio enzimático da Nitrato Redutase (NR) .....	28
2.6.3	Atividade fotossintética .....	28
2.7	ANÁLISE DOS DADOS .....	29
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>30</b>
3.1	MASSA FRESCA E SECA DA PARTE AÉREA .....	30
3.2	ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA .....	34
3.3	NITRATO E ATIVIDADE DA ENZIMA NR .....	38
3.4	COMPOSIÇÃO MINERAL .....	42
3.4.1	Macronutrientes .....	42
3.4.2	Micronutrientes .....	46
3.5	ANÁLISE RADICULAR .....	47
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>49</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>50</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O consumo de hortaliças contribui para a manutenção de uma dieta saudável para os consumidores, e é fonte de renda e trabalho no campo, principalmente para pequenos produtores. Atualmente, a alface é a hortaliça folhosa de maior valor comercial cultivada no Brasil (SALA; COSTA, 2012). No estado do Paraná, na safra 2016, da produção olerícola total do Estado (3,06 milhões de toneladas) a produção de alface foi de 133,8 mil toneladas em uma área de 6,5 mil hectares, gerando um valor bruto da produção superior a 148 milhões de reais (SALVADOR, 2017).

A alface (*Lactuca sativa*), família *Asteraceae*, é a principal hortaliça folhosa consumida no Brasil devido ao seu baixo valor calórico, facilidade de aquisição e produção durante o ano todo (OLIVEIRA et al., 2004). Considerando seu baixo custo e popularidade perante as demais hortaliças, o consumo de alface é uma importante fonte de vitaminas, fibras e sais minerais na dieta, principalmente K, Ca, P e Mg (COMETTI et al., 2004; STERTZ et al., 2005). A hortaliça é também boa fonte de compostos bioativos promotores da saúde, como fenólicos, vitamina C, folatos, carotenóides e clorofilas (KIM et al., 2016; NICOLLE et al., 2004). Dessa forma, a alface contribui de forma significativa na ingestão mínima diária de 400,0 g de hortaliças e frutas, recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e Food and Agriculture Organization (FAO), especialmente em países em desenvolvimento (FAO, 2012).

No entanto, no Brasil o consumo de hortaliças e frutas ainda é pequeno, em média 164,27 g por habitante por dia segundo dados publicados da última Pesquisa sobre Orçamentos Familiares – POF, realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2008).

Frente a isso, inovações como as hortaliças *baby* ajudam a estimular a demanda de hortaliças pela população em geral, em especial as crianças que tem maior simpatia por alimentos de tamanho reduzido e colorações diversificadas (CALORI et al., 2014). O consumo de saladas constituídas por folhas jovens, e até mesmo mudas, vem ganhando popularidade como tendência culinária (SALA e COSTA, 2012; XIAO et al., 2012). Em comparação com a versão tradicional, a alface *baby leaf* possui maior concentração de substâncias bioativas como compostos fenólicos e antioxidantes (OH; CAREY; RAJASHEKAR, 2010), e, sendo o seu consumo no estágio de folhas *baby*, representam a

fonte dietética mais apropriada e emergente de compostos antioxidantes (KIM et al., 2018) . As hortaliças *baby* são obtidas através de artifícios no manejo cultural, onde é realizada a colheita antecipada das plantas em relação ao tempo tradicional, portanto as folhas são jovens e não estão completamente expandidas. Esta prática apresenta grande praticidade pois o produto é embalado devidamente sanitizado e pronto para consumo (PURQUERIO e MELO, 2011).

Na Europa, Estados Unidos e Japão o produto *baby leaf* é amplamente comercializado. Assim como na Itália, onde cerca de 26% da produção de hortaliças folhosas são destinadas para o mercado de *baby leaf* (CASTOLDI; BECHINI; FERRANTE, 2011). No Brasil, o mercado de *baby leaf* é recente bem como o conhecimento sobre sistemas de produção.

O valor nutricional da alface pode ser otimizado através da adequação das práticas culturais, como nutrição adequada, cultivo protegido e sistema hidropônico (KIM et al., 2016). O uso de biofilmes plásticos que permitem menor exposição à radiação UV, favorecem o crescimento vegetativo e a biossíntese de flavonoides (MARIN et al., 2015; TSORMPATSIDIS et al., 2010). Esta prática, aliada ao cultivo sem solo (hidroponia), proporcionam ganho de produtividade e podem ser utilizados para explorar condições de mercado em períodos de oferta limitada com hortaliças de alto valor agregado, caso da alface (GUERRA; COSTA; TAVARES, 2017). Além disto, o produto hidropônico apresenta melhor aspecto visual, durabilidade e facilidade na limpeza (OHSE et al., 2001).

Na técnica de hidroponia os nutrientes minerais estão completamente disponíveis através de uma solução nutritiva balanceada. Resultados indicam que o controle da concentração de nutrientes resulta em aumento de produção (CASTOLDI; BECHINI; FERRANTE, 2011). Dessa forma, o manejo adequado da concentração de sais na solução nutritiva fornece uma ferramenta eficaz para melhorar a qualidade dos vegetais folhosos.

O nitrogênio (N) e o potássio (K) são os nutrientes mais exigidos pela maioria das culturas e, quando limitantes, podem reduzir o crescimento e produtividade sendo utilizadas doses mais elevadas destes nutrientes (SOUZA; FERNANDES, 2006). A aplicação de fertilizante nitrogenado aumentou exponencialmente após o desenvolvimento do processo Haber-Bosch na década de 1920, e desde então, contribui para o aumento da taxa de deposição de N na superfície terrestre (HOWARTH, 2008; WARD et al., 2018). Devido a sua alta mobilidade a maior parte do N aplicado é drenado dos campos agrícolas atingindo os



corpos hídricos, assim adubação nitrogenada traz preocupações sob dois aspectos: primeiro, pela contaminação e eutrofização de águas e mananciais, juntamente com o fósforo (P); e segundo, devido à elevação do teor de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) nos alimentos, principalmente os de consumo *in natura* (DAVIDSON et al., 2011). A acumulação de nitrato em plantas ocorre quando há desequilíbrio entre a absorção e assimilação do íon  $\text{NO}_3^-$ , devido à diversos fatores como a forma e disponibilidade de nitrogênio na solução (CAVARIANNI et al., 2008; KERBIRIOU et al., 2013); a intensidade luminosa (COMETTI et al., 2011); horário de colheita (CAVARIANNI et al., 2008; KROHN et al., 2003; LOPES et al., 2011); atividade da enzima Nitrato Redutase (NR) (PINTO et al., 2014); disponibilidade de molibdênio (KOVÁCS et al., 2015) e temperatura (LIU; DU; LI, 2017).

Para ser assimilado pelas plantas, ou seja, incorporado a compostos orgânicos formando aminoácidos, proteínas e outros compostos nitrogenados, o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) absorvido deve ser necessariamente reduzido a amônio ( $\text{NH}_4^+$ ). Tanto em raízes ou em folhas, a assimilação ocorre em duas etapas: a primeira no citosol, onde o  $\text{NO}_3^-$  é reduzido a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), através da atividade da enzima NR e, a segunda nos cloroplastos das folhas ou nos plastídios da raiz, onde o  $\text{NO}_2^-$  é reduzido a  $\text{NH}_4^+$ , pela atividade da Redutase do nitrito (RNO<sub>2</sub>) (TAIZ e ZEIGER, 2013). O molibdênio (Mo) é um elemento essencial na nutrição e fisiologia das plantas e está intimamente ligado ao metabolismo do nitrogênio (N). A enzima NR possui três grupos prostéticos, sendo um deles co-fator Mo ligado à pterina, formando o complexo molibdopterina (MENDEL e BITTNER, 2006). Tanto o  $\text{NO}_3^-$  quanto o Mo são substratos para a atividade da enzima, e deficiência deste micronutriente pode ocasionar acúmulo de  $\text{NO}_3^-$  nas plantas (KOVÁCS et al., 2015).

Na composição de soluções nutritivas de diversos autores utiliza-se em maior proporção a forma de nitrato, em detrimento da forma amoniacal, o que pode favorecer o acúmulo do  $\text{NO}_3^-$  pela planta (HOAGLAND e ARNON, 1950; SONNEVELD e STRAVER, 1992; CASTELLANE e ARAUJO, 1994; FURLANI, et al., 1999). O fornecimento de nitrogênio na forma amoniacal pode reduzir o acúmulo de  $\text{NO}_3^-$  na planta pois é diretamente incorporado a compostos orgânicos, porém sua toxicidade é espécie-específica, e, na maioria das plantas uma proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  ideal garante melhor desempenho e produtividade (LIU; DU; LI, 2017). De fato, uma combinação adequada de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$  foi reconhecida como importante no crescimento da maioria das espécies de plantas (BRITTO e KRONZUCKER, 2002).

Havendo o desequilíbrio, as quantidades excedentes de  $\text{NO}_3^-$  são armazenadas nos vacúolos celulares (FERNANDES e SOUZA, 2006). A presença de  $\text{NO}_3^-$  na folha pode variar com relação à idade e diferentes posições das folhas, sendo que folhas jovens podem acumular mais  $\text{NO}_3^-$  que as folhas velhas. Além disso, os teores de  $\text{NO}_3^-$  diferem entre as partes da alface, sendo as maiores concentrações observadas no caule, seguido pelas folhas internas (mais jovens) e por último pelas folhas externas (mais velhas) (LOPES et al., 2011).

Embora o  $\text{NO}_3^-$  não seja tóxico às plantas, em humanos e animais a preocupação principal é a sua potencial conversão endógena em  $\text{NO}_2^-$  que, na corrente sanguínea oxida o ferro da hemoglobina, passando de  $\text{Fe}^{2+}$  para  $\text{Fe}^{3+}$ . Esta forma de hemoglobina é incapaz de transportar o  $\text{O}_2$  para a respiração normal dos órgãos e tecidos, causando a metahemoglobinemia onde as células sofrem por anoxia (BEDALE; SINDELAR; MILKOWSKI, 2016; SAVINO et al., 2006). Além disso, o  $\text{NO}_2^-$  pode combinar-se com aminas formando as nitrosaminas que, além de mutagênicas e carcinogênicas, podem causar distúrbios da tireoide, por exemplo (BAHADORAN et al., 2015). Dessa forma, a importância regulatória deste composto nos alimentos (EFSA, 2008, 2010)

A exposição humana ao  $\text{NO}_3^-$  é principalmente exógena e resulta do consumo de produtos hortícolas e frutos (cerca de 60-80%) e, em menor escala, de água e de alimentos processados (EFSA, 2008). Esta preocupação com o consumo de  $\text{NO}_3^-$  é ainda maior com relação às hortaliças folhosas, pois são de consumo *in natura*. No Brasil não há legislação que estabeleça limites máximos de nitrato em vegetais.

Porém a questão do  $\text{NO}_3^-$  e a saúde humana é tratada com a devida responsabilidade por órgãos reguladores na União Europeia, com o Regulamento 1881/2006 e 1258/2011 (UE, 2006, 2011) que estabelece limites máximos de nitrato nos vegetais. Deste modo, considerando os riscos associados à ingestão de nitrato, foi fixada uma ingestão diária admissível de  $3,7 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso corporal  $\text{dia}^{-1}$  (expresso em íon  $\text{NO}_3^-$ ).

Diante da problemática do nitrato e a saúde humana, e a crescente demanda por hortaliças *baby leaf*, objetivou-se com este trabalho determinar a melhor proporção de fornecimento de nitrogênio, nas formas de nitrato e amônio, e a influência do micronutriente molibdênio no acúmulo de  $\text{NO}_3^-$ , que permitam melhor produção de massa fresca com menor acúmulo de nitrato na folha de alface *baby leaf* var. Mimosa hidropônica.

## 2 METODOLOGIA

O presente estudo foi conduzido em área experimental do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, em casa de vegetação (ambiente protegido) localizada no Setor de Ciências Agrárias - Campus Agrárias da Universidade Federal do Paraná (UFPR) em Curitiba, Paraná (25°24'38" S; 49°14'57" O; 920 m de altitude).

O ambiente protegido possui estrutura em aço galvanizado e coberto com plástico semitransparente (PEBD, anti-UV) de 150 µm, com 3,0 m de altura (pé-direito) e dimensões de 7,0 largura e 15,0m de comprimento, totalizando área de 105,0 m<sup>2</sup>. Possui sistema de refrigeração composto por um painel evaporativo do tipo PadFan e exaustores que realizam a troca do ar da estufa.

O clima local é do tipo Cfb - clima temperado propriamente dito; temperatura média no mês mais frio abaixo de 18°C (mesotérmico), com verões frescos, temperatura média no mês mais quente abaixo de 22°C e sem estação seca definida, segundo a classificação de Köppen-Geiger (ALVARES et al., 2013).

Os dados de temperatura e umidade relativa do ar (%) foram obtidos a partir de um coletor de dados de temperatura e umidade *indoor*, marca Outest modelo HTC-2, a cada dois dias, entre as 15h e 17h (FIGURA 1).

### 2.1 SISTEMA DE CULTIVO

O experimento foi disposto em três bancadas de ferro com estrutura para circulação de ar através de cânulas de aeração ligadas a um ramal central, acoplado sob cada bancada (FIGURA 2A). A aeração disponível para alimentar o sistema foi gentilmente fornecida pelo Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais, UFPR. Dessa forma, o sistema hidropônico utilizado foi de aeração estática, conhecido como floating. Nesse sistema não há recirculação da solução nutritiva, ou seja, o sistema é fechado e a solução reutilizada e periodicamente corrigida.

Os vasos contendo consistiram de recipientes plásticos com capacidade de 2 litros. As plantas permaneceram flutuando sobre a solução nutritiva através de uma lâmina de isopor

contendo o orifício de suporte da muda com 3 cm de diâmetro (FIGURA 2B). Cada recipiente continha duas mudas de alface *baby leaf* Mimosa (Salad Bowl).

A fim de evitar o enovelamento das raízes, as mudas foram espaçadas em 2,5 cm. Este espaçamento proporciona melhor rendimento, quando há mais de uma planta por recipiente (CALORI et al., 2014).

FIGURA 1 – TEMPERATURA MÉDIA E MÁXIMA (A) E UMIDADE RELATIVA (B) DENTRO DA CASA DE VEGETAÇÃO DURANTE O PERÍODO DE CULTIVO DA ALFACE *BABY LEAF*

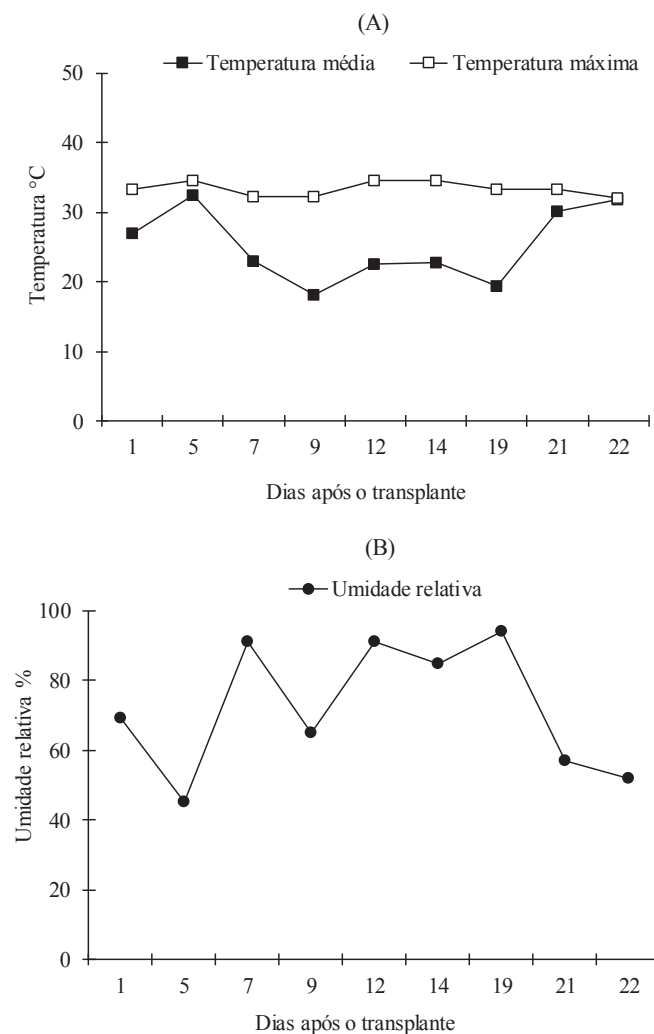
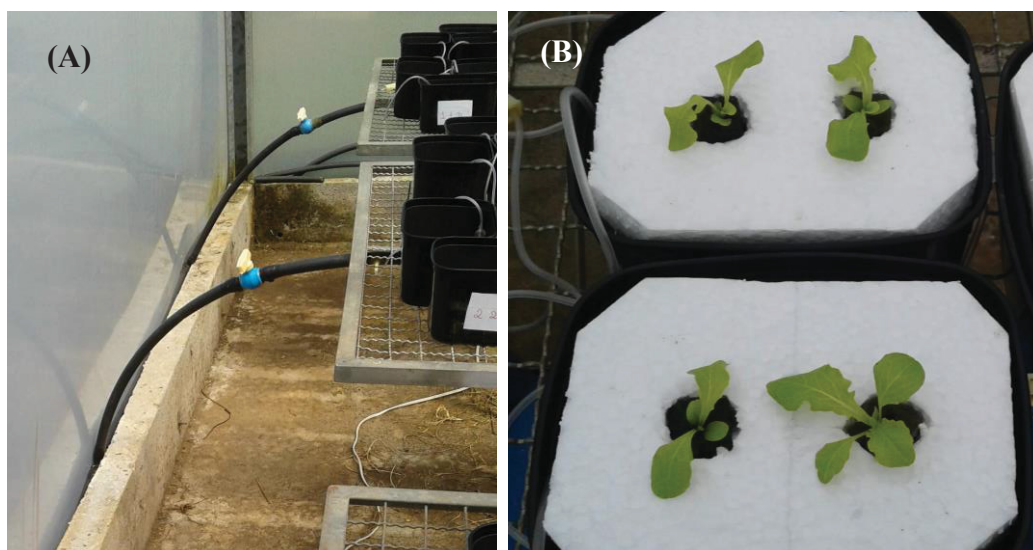


FIGURA 2 – DETALHE DO SISTEMA DE AERAÇÃO DAS BANCADAS PARA HIDROPONIA (A) E DETALHE DOS VASOS COM O SUPORTE DE ISOPOR E AS MUDAS DE ALFACE (B)



## 2.2 PRODUÇÃO DE MUDAS

As mudas de alface mimosa para *baby leaf* foram produzidas em duas etapas: germinação e transplante.

A primeira fase consistiu no período de germinação onde foram utilizadas sementes nuas adquiridas da empresa Isla. Na data de 12/09/2018, as sementes foram superficialmente desinfestadas pela imersão em solução de hipoclorito de sódio a 3% por 3 minutos. Após 3 lavagens em água deionizada, as sementes foram dispostas em Placa de Petri com filtro duplo de papel de germinação, para manter a umidade. Foram dispostas 20 sementes por placa e as placas regadas com água deionizada e colocadas para germinar em câmara de germinação do tipo BOD Incubator (Bio-Oxygen Demand). O período total da fase de germinação foi de 48 horas.

A segunda etapa consistiu no transplante das sementes germinadas na etapa anterior para bandejas contendo substrato constituído por vermiculita previamente umedecida (dia 14/09/2018). Esta fase ocorreu em casa de vegetação. A utilização da vermiculita como substrato evita a absorção de qualquer nutriente pelas mudas, uma vez que não apresenta cargas elétricas capazes de realizar troca catiônica e não possuem nutrientes para liberação. Além disso, a vermiculita apresenta alta capacidade de retenção da umidade.

Após a emissão da primeira folha, em 17/09/2018, iniciou-se a irrigação das mudas com solução nutritiva proposta por Furlani et al. (1999) com CE de  $1 \text{ dS m}^{-1}$  (meia força). O tempo total de produção das mudas *baby leaf* foi de 14 dias, sendo considerada a muda própria para transplante quando a mesma emite a primeira folha verdadeira (CALORI et al., 2014). Na data de 25/09/2018 as mudas prontas para a fase de crescimento foram encaixadas em cubos de espuma fenólica tamanho 3x3 (tipo “sanduíche”), para encaixe e estabilidade no orifício da placa de isopor.

### 2.3 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

O experimento foi instalado no dia 26/09/2018, em esquema do tipo fatorial 2 X 4 com quatro repetições, totalizando 8 tratamentos arranjados em delineamento inteiramente casualizado.

O fator A, com 4 níveis, foi composto de diferentes proporções de  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  na solução nutritiva (em %): 100/0; 75/25; 50/50; 25/75. O fator B, com 2 níveis, composto por concentrações de molibdênio: concentração recomendada ( $0,06 \text{ mg L}^{-1}$ ) e 2x a concentração recomendada ( $0,12 \text{ mg L}^{-1}$ ) por Furlani et al. (1999). Desta forma os tratamentos resultantes da interação dos fatores foram:

**1.1** =  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  100/0, concentração de Mo  $0,06 \text{ mg L}^{-1}$

**1.2** =  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  100/0, concentração de Mo  $0,12 \text{ mg L}^{-1}$

**2.1** =  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  75/25, concentração de Mo  $0,06 \text{ mg L}^{-1}$

**2.2** =  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  75/25, concentração de Mo  $0,12 \text{ mg L}^{-1}$

**3.1** =  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  50/50, concentração de Mo  $0,06 \text{ mg L}^{-1}$

**3.2** =  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  50/50, concentração de Mo  $0,12 \text{ mg L}^{-1}$

**4.1** =  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  25/75, concentração de Mo  $0,06 \text{ mg L}^{-1}$

**4.2** =  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  25/75, concentração de Mo  $0,12 \text{ mg L}^{-1}$

Cada repetição foi composta por 3 vasos agrupados com duas plantas cada, totalizando 6 plantas por repetição e 24 plantas por tratamento, perfazendo um total de 32 unidades experimentais e 192 plantas.

### 2.3.1 Solução nutritiva

A solução nutritiva utilizada como base para os tratamentos e recomendada para hortaliças folhosas foi a proposta por Furlani et al. (1999), por apresentar superioridade no desempenho (SCHMIDT et al., 2001), apresentando as seguintes concentrações (g 1000 L<sup>-1</sup>) de nutrientes: 174,0; 24,0; 39,0; 232,0; 189,0; 38,0; 50,0; 0,3; 0,02; 2,0; 0,4; 0,06; e 0,06 de N- NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N- NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn, respectivamente. Para o preparo da mesma foi utilizada água deionizada e, de acordo com cada tratamento de proporção NO<sub>3</sub><sup>-</sup> : NH<sub>4</sub><sup>+</sup> foram calculadas e utilizadas diferentes fontes de sais P.A. necessárias para compor as relações e manter a concentração exigida para cada nutriente (TABELA 1).

O valor da condutividade elétrica (CE) da solução nutritiva proposta por Furlani et al. (1999), para o cultivo de várias hortaliças folhosas situa-se ao redor de 2,0 mS cm<sup>-1</sup>. Para produção de alface *baby leaf* a CE que apresenta a maior produtividade, segundo estudo de Calori et al. (2014), é de 1,4 mS cm<sup>-1</sup>. Desta forma, foi utilizado esse valor como base para as formulações, porém nos tratamentos com maior concentração de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a condutividade foi maior que 1,4 mS cm<sup>-1</sup>, chegando a 1,8 mS cm<sup>-1</sup>. Neste caso, para o presente experimento foi utilizado uma faixa de CE entre 1,4 a 1,8 mS cm<sup>-1</sup>, pois ao realizar diluições para diminuir a CE, não há alteração na relação entre NO<sub>3</sub><sup>-</sup> : NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, porém ocorre diminuição da concentração dos nutrientes interferindo no resultado.

O pH foi mantido no intervalo entre 5,5 e 6,5, utilizando ácido sulfúrico 1,0 N e hidróxido de sódio 1,0 N para sua correção, sendo o monitoramento do pH e CE realizados a cada dois dias através de equipamentos portáteis: peagâmetro marca B-MAX modelo ATC; e condutivímetro HM-Digital AP-1 AquaPro Water Tester. Não houve variações fora do intervalo de CE estabelecida para o experimento (FIGURA 3).

A cada 4 dias o volume de solução em cada vaso foi verificado e, quando necessário, foi repostado, sendo realizada a renovação total da solução nutritiva aos 12 dias da fase de hidroponia (data de 08/09/2018), a fim de evitar o excesso de correções do pH da solução. Nesta ocasião os vasos foram lavados com água deionizada por 3 vezes antes de ser colocada a solução nova.

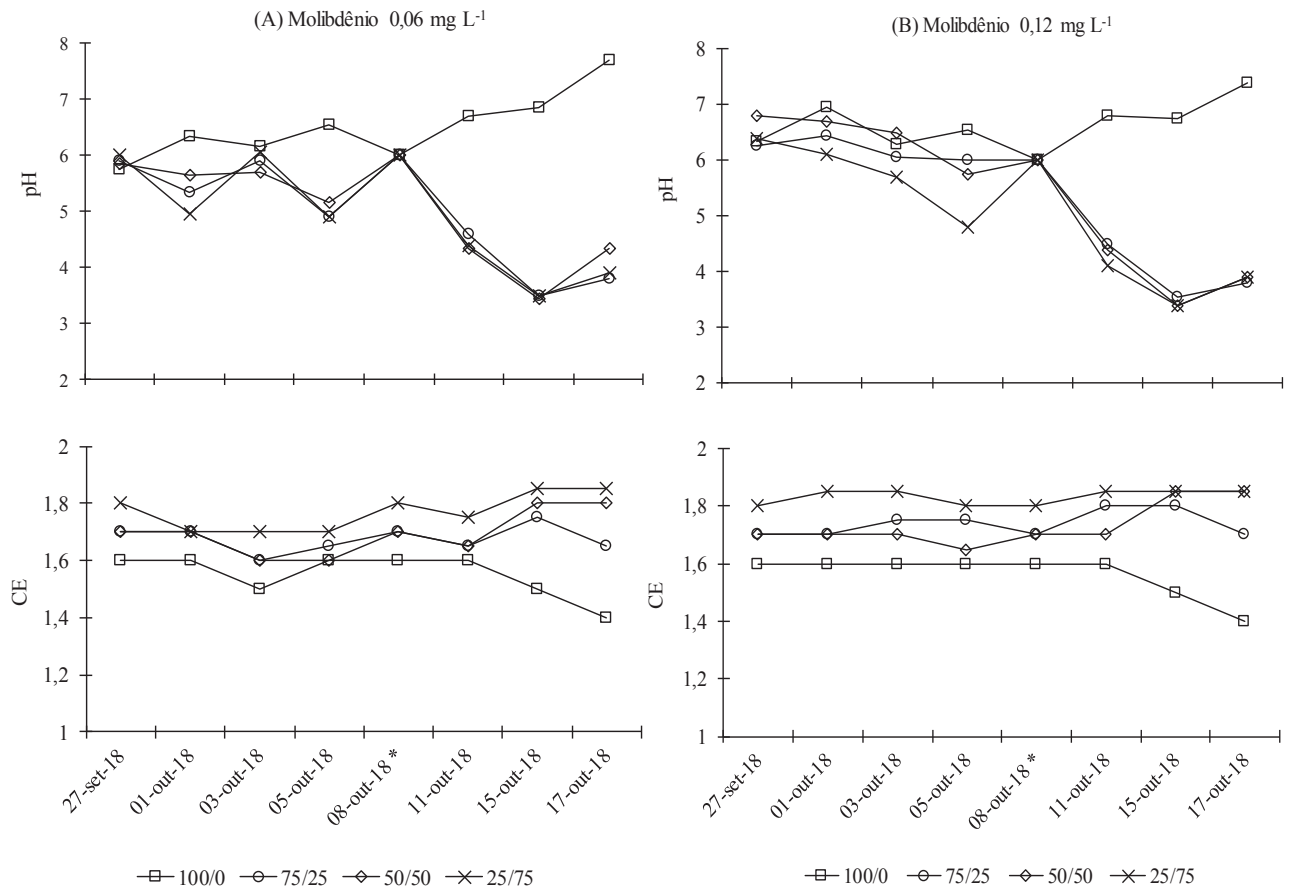
TABELA 1 – COMPOSIÇÃO DA SOLUÇÃO NUTRITIVA, COM BASE EM FURLANI et. al (1999), EM FUNÇÃO DOS DIFERENTES TRATAMENTOS UTILIZADOS NO EXPERIMENTO. UFPR, CURITIBA, PR

Sal utilizado		Proporção de nitrato e amônio (%)			
		100/0	75/25	50/50	25/75
Macronutrientes	Massa molar	Quantidade (g.L <sup>-1</sup> )			
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	236,15	1,117	0,838	-	-
KNO <sub>3</sub>	101,10	0,473	0,124	-	-
(NH <sub>4</sub> )H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	115,02	-	0,145	-	0,145
(NH <sub>4</sub> )(NO <sub>3</sub> )	80,04	-	0,182	0,566	0,283
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	132,14	-	-	-	0,384
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	136,09	0,171	-	0,171	-
KCl	74,56	-	0,257	0,255	0,349
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	147,01	-	-	0,522	0,522
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	246,48	0,385	0,385	0,385	0,385
Micronutrientes		Quantidade (mg L <sup>-1</sup> )			
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	61,83	1,716	1,716	1,716	1,716
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	249,68	0,079	0,079	0,079	0,079
FeEDDHA	367,00	33,333	33,333	33,333	33,333
MnSO <sub>4</sub>	169,01	1,231	1,231	1,231	1,231
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O *	241,95	0,151*	0,151	0,151	0,151
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	287,54	0,264	0,264	0,264	0,264
<b>Elemento</b>		<b>Concentração total</b>			
Macronutrientes		g L <sup>-1</sup>			
N		0,198	0,198	0,198	0,198
P		0,039	0,039	0,039	0,039
K		0,232	0,183	0,183	0,183
Ca		0,189	0,142	0,142	0,142
Mg		0,038	0,038	0,038	0,038
S		0,050	0,050	0,050	0,144
Micronutrientes		mg L <sup>-1</sup>			
B		0,30	0,30	0,30	0,30
Cu		0,02	0,02	0,02	0,02
Fe		2,00	2,00	2,00	2,00
Mn		0,40	0,40	0,40	0,40
Mo		0,06	0,06	0,06	0,06
Zn		0,06	0,06	0,06	0,06

\* concentração utilizada para o primeiro nível de Mo. Para o segundo nível utilizou-se o dobro.



FIGURA 3 - ACOMPANHAMENTO DA CE E pH DA SOLUÇÃO NUTRITIVA DAS DIFERENTES PROPORÇÕES  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  E CONCENTRAÇÕES DE Mo (A) E (B)



\* nesta data foi realizada a renovação total da solução nutritiva

### 2.3.2 Colheita

Para a colheita, não há padronização oficial para o tamanho ideal da folha de *baby leaf*, até o momento. No entanto, Purquerio et al. (2010a, 2010b) sugerem o comprimento máximo da folha de 15,0 cm como mais interessante para classificar uma folha como *baby leaf*. Para Clarkson, Rothwell, Taylor (2005) a colheita das folhas pode ser realizada entre 6 e 10 cm de comprimento. No presente estudo foi adotado como referência o prazo de 22 dias de crescimento em hidroponia, como padrão para a colheita da alface *baby leaf*. Dessa forma, com o tempo de crescimento padronizado foi possível observar o comportamento de cada tratamento no rendimento de massa fresca e seca. O comprimento máximo observado, no dia da colheita foi de 16 cm. O tempo total do experimento foi de 36 dias, envolvendo a fase de produção de mudas (14 dias) e a fase de hidroponia (22 dias).

Na data de 18/10/2018, 22 dias após o transplante das mudas, foi realizada a colheita das plantas. As plantas foram divididas em parte aérea e raízes sendo utilizadas quatro plantas para a determinação da massa fresca (MF) e seca (MS) da parte aérea e massa seca de raízes (MSR), e duas plantas por repetição foram congeladas e armazenadas em ultra freezer a -80°C para realização das análises bioquímicas. Não houve necessidade de controle fitossanitário durante a condução do experimento.

## 2.4 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS

### 2.4.1 Massa fresca e seca da parte aérea

Após a colheita, a parte aérea das plantas de cada repetição foi embalada e levada ao Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, Campus Agrárias – UFPR para pesagem da massa fresca (MF). Posteriormente foram lavadas com água deionizada e submetidas à secagem em estufa de circulação de ar a 65°C, até atingir peso constante e pesadas para obtenção da matéria seca (MS), o que ocorreu entre três e quatro dias.

#### 2.4.2 Análise radicular

As raízes de quatro plantas por repetição foram acondicionadas em sacos plásticos Zip Lock, congeladas e armazenadas em ultra freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  para análise radicular em scanner. Após o descongelamento foram colocadas em lâmina d'água e analisadas usando o software WinRHIZO™ 2002c (Regent Instrument Inc., Cidade de Quebec, Canadá). Nesta ocasião foram obtidos dados de comprimento total de raízes (cm), área superficial ( $\text{cm}^2$ ) e volume total ( $\text{cm}^3$ ). Após a análise em scanner, as raízes foram submetidas à secagem estufa de circulação de ar a  $65^{\circ}\text{C}$ , até atingir massa constante e pesadas para obtenção da massa seca radicular (MSR).

As raízes das outras duas plantas por repetição foram acondicionadas em sacos plásticos Zip Lock, congeladas e armazenadas em ultra freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  para futuras análises fisiológicas.

### 2.5 ANÁLISES QUÍMICAS

Para realização das análises químicas, o material vegetal da parte aérea previamente seco foi moído, em moinho do tipo portátil para café em grão (Marca Cadence®), até homogeneização completa da amostra. As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição de Plantas, Campus Agrárias – UFPR.

#### 2.5.1 Macro e micronutrientes

A extração dos nutrientes da planta foi realizada através de digestão ácida em sistema aberto com bloco digestor. Para a digestão do material vegetal, foram pesados aproximadamente 0,300g de material e adicionado  $\text{HNO}_3$  (7mL) com digestão a  $80^{\circ}\text{C}$  por 60 minutos; e após adicionado  $\text{H}_2\text{O}_2$  (3mL) com digestão a  $160^{\circ}\text{C}$  por 150 minutos. Após o resfriamento o material foi filtrado em papel filtro quantitativo, de filtragem lenta – Faixa Azul e armazenado em frascos de plástico.

A determinação dos teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu), zinco (Zn) e molibdênio (Mo) foi

realizada por espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES), em aparelho Marca Varian Inc., modelo 720-ES.

O conteúdo dos nutrientes foi obtido pelo produto entre o teor do elemento e a MS correspondente.

### 2.5.2 Carbono e nitrogênio

Especialmente para a determinação de carbono (C) e nitrogênio total (N), foi realizada uma segunda moagem em moinho do tipo “Wiley” para que as partículas atingissem tamanho igual ou inferior a 2 mm. De cada amostra foram pesados 0,015g e empacotados em cápsula de estanho, sendo a determinação feita por combustão, em analisador CHONS, marca Elementar, Modelo VARIO EL III - Elementar®.

## 2.6 ANÁLISES FISIOLÓGICAS

Para as análises de nitrato, atividade da enzima NR e atividade fotossintética foram utilizadas duas plantas de cada repetição, escolhidas de forma aleatória, separadas em raiz e parte aérea através de corte na base da planta. Após a medição da taxa fotossintética nestas plantas, foram retiradas duas folhas medianas de cada correspondentes ao terceiro e quarto nó foliar da base para o ápice, uma vez que Cometti et al. (2004) concluíram que as folhas medianas são as que melhor representam o teor de compostos nitrogenados livres e de açúcares solúveis da parte aérea da alface. Tanto as raízes como as folhas foram embaladas em papel alumínio e congeladas em ultra freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  para posterior análise de nitrato e atividade da enzima NR.

Este cuidado pós colheita é importante pois o teor de nitrato decresce nas plantas de alface com o tempo, principalmente nas primeiras 72h, chegando a 67% do valor inicial após este período (APRÍGIO et al., 2012). Quanto à atividade enzimática, Berges e Harrison (1995) concluíram que amostras congeladas não diferem de amostras não congeladas.

A determinação do nitrato e da enzima NR foi realizada em Espectrofotômetro Marca BioTek®, modelo Synergy HT, localizado no Departamento de Farmacologia, Campus Politécnico – UFPR.

### 2.6.1 Nitrato

Para análise do nitrato foram utilizadas amostras de 0,1g da folha mediana de cada planta, duas plantas por repetição com uma análise para cada uma. Todas as análises foram feitas em duplicata, portanto, totalizando quatro análises por tratamento.

As determinações de nitrato foram realizadas *in vitro* pelo método colorimétrico, através da nitração do ácido salicílico segundo procedimentos recomendados por Cataldo et al. (1975) no Laboratório de Fisiologia de Plantas sob Estresse, Departamento de Botânica, Campus Politécnico – UFPR.

Alíquotas do extrato (3 $\mu$ L) foram pipetadas em microplaca, adicionado solução de ácido salicílico a 5% em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (12 $\mu$ L) e deixado em repouso por 20 minutos à temperatura ambiente (21°C). Após o repouso, foi adicionado vagarosamente solução de NaOH 2N, elevando o pH para 12 (285 $\mu$ L), perfazendo um volume final de 300 $\mu$ L. A leitura das amostras foi realizada em microplaca com absorvância a 410nm. As concentrações de nitrato foram calculadas com base em uma curva padrão com concentrações conhecidas.

### 2.6.2 Ensaio enzimático da Nitrato Redutase (NR)

A atividade da NR nas folhas de alface foi quantificada segundo Berges e Harrison (1995) com algumas modificações. Alíquotas do extrato (100 $\mu$ L) foram adicionadas ao meio de reação composto de tampão fosfato 0,1M pH 7,5,  $\beta$ -NADH 0,2mM e KNO<sub>3</sub> 10mM (200 $\mu$ L), perfazendo um volume final de 300 $\mu$ L. Após a incubação do meio por 3 minutos a 30°C, a reação foi iniciada pela adição de NADH.

A leitura foi realizada em microplaca, pelo decréscimo da absorvância em 340nm, durante 10 minutos, em intervalos de 30 segundos. A quantificação da atividade da enzima foi realizada a partir de 5 minutos de decaimento e expressa em  $\mu$ mol NADH por minuto por grama de matéria fresca ( $\mu$ mol min<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>).

### 2.6.3 Atividade fotossintética

A determinação da atividade fotossintética foi realizada *in vivo*, de maneira não destrutiva, utilizando um sistema aberto de analisador de gases infravermelho - IRGA (CI-340

Hand-held Photosynthesis System; CID Bio-Science Inc., USA). O funcionamento deste tipo de aparelho baseia-se na capacidade de absorção do infravermelho sobre os gases cujas moléculas são constituídas por dois ou mais átomos diferentes, caso do CO<sub>2</sub>. Desta forma, dentro da câmara fechada do equipamento, a variação da concentração de CO<sub>2</sub> é obtida por análise de absorbância proporcional à concentração presente, sendo utilizada para calcular as taxas de fotossíntese, transpiração e condutância estomática, por exemplo.

No momento da colheita, entre 10:00 e 14:00h foram realizadas leituras em 2 plantas por repetição. As taxas fotossintéticas foram avaliadas três vezes em cada planta (a 100  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

Foram obtidas as seguintes variáveis: fotossíntese líquida (A), transpiração (E), concentração interna de carbono (C<sub>i</sub>) e razão C<sub>i</sub>/C<sub>e</sub>.

## 2.7 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e de homogeneidade de Bartlett, e após realizada a análise de variância usando *two-way* ANOVA. A interação entre proporções de N e concentrações de Mo foi incluída no modelo. Dados não homocedásticos (MF, trocas gasosas, S e K, teor de nitrato, comprimento, área e volume de raízes) foram ordenados e distribuídos em postos (ranqueados) para posterior avaliação. Na ocorrência de diferenças estatísticas significativas para a variável resposta, evidenciadas pelo teste F ( $P < 0,05$ ), aplicou-se o teste de comparação de médias de Tukey ( $P < 0,05$  para duas ou mais variáveis), com auxílio do Software JMP® versão 7.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 MASSA FRESCA E SECA DA PARTE AÉREA

As proporções de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  exerceram efeito sobre a MF da parte aérea das plantas, com significância a 1% (TABELA 2). Não houve interação ( $P>0.05$ ) entre as proporções de N e concentrações de Mo. O acúmulo de MF da parte aérea médio foi de 11,5 g planta<sup>-1</sup> e foi menor no tratamento 4 (25/75  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ ) em relação aos tratamentos 1 (100/0  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ ) e 2 (75/25  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ ) (TABELA 3). Redução de até 44,9% na MF da parte aérea das plantas do tratamento 4 foi observada em relação à maior média. Além disso, não foi observada diferença no acúmulo de MF da parte aérea entre plantas tratadas com diferentes concentrações de Mo (TABELA 3). Sobre o Mo, Resende et al. (2009) observaram resposta quadrática às concentrações crescentes deste nutriente em alface americana (ciclo tradicional e cultivo de verão em solo) com máxima produção de 489 g MF planta<sup>-1</sup> na dose de 94,2 g Mo ha<sup>-1</sup>.

Na literatura há pouca informação sobre manejo e sistema de produção de alface para *baby leaf*. Com alface Elisa *baby leaf* (tipo lisa) em bandejas com diferentes volumes de células, utilizando substrato e irrigação com solução nutritiva, Purquerio et al. (2010a) obtiveram a maior produtividade (5,9 kg m<sup>2</sup>) em bandejas com 31 cm<sup>3</sup> de volume e 42 dias após a semeadura (DAS), resultando em rendimento de MF de 8,22 g por planta. Na mesma condição de cultivo em bandejas e irrigação com solução nutritiva, aos 42 DAS, Oliveira et al. (2009) obtiveram produtividade de 5,2 kg m<sup>2</sup> para bandejas com 12,4 cm<sup>3</sup> de volume, com MF de 5,96 g por planta, para a alface Lilá *baby leaf* (tipo crespa). Utilizando a mesma CE deste experimento (1,4 dS m<sup>-1</sup>), Calori et al. (2014) com alface Vera (tipo crespa) para *baby leaf* em sistema hidropônico utilizando Técnica de Fluxo Laminar de Nutrientes (NFT), encontraram a maior média estimada para MF de 2,1 g por planta aos 22 dias de ciclo de cultivo e espaçamento de 2,5 cm entre plantas. Aparentemente a MF das plantas parece estar relacionada ao tipo de alface, com maiores MF encontrados na literatura para o tipo de alface lisa. Porém, neste estudo com alface do tipo crespa, a menor MF obtida de 8,45 g por planta (tratamento 4, 25/75  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ ) é superior aos valores encontrados na literatura, inclusive ligeiramente maior que os resultados de alface lisa obtidos por Purquerio et al. (2010a)

TABELA 2 - RESUMO DO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA PARA AS TODAS AS VARIÁVEIS ANALISADAS EM RELAÇÃO AOS FATORES PROPORÇÕES DE N ( $\text{NO}_3^-$  :  $\text{NH}_4$ ), CONCENTRAÇÕES DE Mo E INTERAÇÃO NxMo, PARA ALFACE HIDROPÔNICA *BABY LEAF*

Variável	Proporções N	Concentrações de Mo	Interação NxMo
Massa fresca (MF)	**	ns	ns
Massa seca (MS)	ns	ns	ns
Ci/Ce	ns	ns	ns
Fotossíntese Líquida (A)	*	**	**
Transpiração (E)	ns	**	ns
Nitrato ( $\text{NO}_3^-$ )	**	ns	ns
Atividade da enzima (NR)	ns	ns	ns
<b>Macronutrientes</b>			
C	ns	ns	ns
N	**	ns	ns
P	**	**	ns
K	**	ns	ns
Ca	**	ns	ns
Mg	**	ns	ns
S	**	ns	ns
<b>Micronutrientes</b>			
Cu	*	*	ns
Fe	ns	*	ns
Mn	**	ns	ns
Mo	**	**	ns
Zn	**	ns	ns
<b>Raízes</b>			
Massa seca (MSR)	**	ns	ns
Comprimento total (cm)	**	ns	ns
Área superficial ( $\text{cm}^2$ )	**	ns	ns
Volume ( $\text{cm}^3$ )	**	ns	ns

\*significativo ao nível 5% de probabilidade; \*\*significativo ao nível de 1% de probabilidade; ns: não significativo a 5%.



Para a alface com ciclo tradicional, para a cv. Alcione em sistema hidropônico NFT Jordan et al. (2018) obtiveram produtividade de 2,58 kg m<sup>2</sup> para 20 plantas por m<sup>2</sup> aos 40 dias após o transplante (DAT). Em cultivo no solo sob plástico transparente (150µm) a alface crespa cv. Elba, apresentou MF de 378,5 g por planta e produtividade de 6,0 kg m<sup>2</sup> aos 35 DAT (espaçamento de 2,5 entre plantas) (GUERRA; COSTA; TAVARES, 2017). Como esperado a MF de alface em ciclo tradicional é superior a MF de alface *baby leaf*, haja visto que seu ciclo de cultivo é menor com tamanho máximo da maior folha de até 15cm de comprimento.

TABELA 3 – MASSA FRESCA E SECA DA PARTE AÉREA DE ALFACE HIDROPÔNICA *BABY LEAF* var. MIMOSA, SOB DIFERENTES PROPORÇÕES NO<sub>3</sub><sup>-</sup> : NH<sub>4</sub><sup>+</sup> E CONCENTRAÇÕES DE Mo NA SOLUÇÃO NUTRITIVA

Mo (mg. L <sup>-1</sup> )	Proporção NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> : NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>				Média concentração de Mo
	100/0	75/25	50/50	25/75	
Massa fresca (g planta <sup>-1</sup> )					
0,06	13,60	11,30	9,78	8,22	10,73 A
0,12	14,90	14,78	11,04	8,67	12,35 A
Média fonte de N	14,25 a **	13,04 a	10,41 ab	8,45 b	
Massa seca (g planta <sup>-1</sup> )					
0,06	0,69	0,81	0,77	0,68	0,74 A <sup>ns</sup>
0,12	0,75	0,93	0,88	0,74	0,83 A
Média fonte de N	0,72 a <sup>ns</sup>	0,87 a	0,83 a	0,71 a	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem significativamente entre as fontes de N (tratamentos 1 a 4) e, médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas não diferem significativamente entre as concentrações de Mo. \* Teste Tukey (p<0,05). \*\* Teste Tukey (p<0,01). ns = não significativo a 5%.

Portanto, considerando a produção de MF, os resultados desse estudo demonstram uma tolerância da planta de alface por N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, sendo necessário ao menos 50% da concentração recomendada de N-total. Resultado similar foi obtido por Tabatabaei; Yusefi; Hajiloo, et al. (2008) avaliando morango cultivado em hidroponia. Segundo estes autores, o peso da MF da fruta foi aumentado nos tratamentos 50/50 e 75/25 (proporção NO<sub>3</sub><sup>-</sup>:NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) em relação aos tratamentos 100/0 e 25/75 (proporção NO<sub>3</sub><sup>-</sup>:NH<sub>4</sub><sup>+</sup>).

O potencial osmótico de uma solução nutritiva é consequência da quantidade e tipos de sais dissolvidos. Quanto maior a quantidade de sais, pode haver maior restrição à absorção de água pelas raízes, podendo ocorrer a perda de água da planta para o meio. Cada sal apresenta um índice salino, baseando-se no nitrato de sódio = 100. Uma maneira indireta de medição da pressão osmótica é através da condutividade elétrica (CE), que apresenta boa correlação com a quantidade de íons dissolvidos (COMETTI et al., 2006). Uma vez que os sais que compõem os tratamentos com  $\text{NO}_3^-$  possuem um índice salino menor do que os sais utilizados para os tratamentos mais concentrado em  $\text{N-NH}_4^+$ , fato esse observado pela maior CE nestes tratamentos, pode ter havido maior absorção de água em plantas tratadas com  $\text{NO}_3^-$  até a proporção de 50%, garantindo, portanto, o maior acúmulo de massa fresca nestas plantas.

Para a variável MS não houve efeito dos tratamentos (Tabela 2). Esse resultado reforça a hipótese de que a diferença de MF observada nos tratamentos se deve à maior absorção de água e não a efeitos da assimilação de nutrientes, os quais estão associados ao acúmulo de massa seca. Resultados semelhantes foram observados por M'Hamdi et al. (2014) avaliando o efeito de três níveis de adubação nitrogenada (0, 120 e 240 kg ha<sup>-1</sup>) sobre seis cultivares de alface e concluíram que a concentração de nitrogênio não afetou significativamente a produção de MS das cultivares.

O efeito deletério da nutrição amoniacal sobre o crescimento das plantas é mais pronunciado em condições de alta luminosidade causado por fotoinibição, em que a taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$  é limitada pela quantidade e atividade da RuBisCo bem como aumento dos níveis de  $\text{NH}_4^+$  devido à fotorrespiração (MAGALHAES; WILCOX, 1984; SHI-WEI et al., 2007; ZHU et al., 2000). Porém, sob menores intensidades de luz, como no caso do experimento em ambiente protegido, não houve diferenças na produção de MS, indicando ausência de interferência no processo de assimilação de carbono (ZHU et al., 2000). Suportando essa hipótese, não foi observado influência dos tratamentos nas taxas líquidas de troca de  $\text{CO}_2$  (ver item 3.2 -  $C_i/C_e$ , item).  $C_i/C_e$  representa o balanço entre as taxas de difusão de  $\text{CO}_2$  para o interior da folha (controlado principalmente pela condutância estomática) e a assimilação de  $\text{CO}_2$  (controlada pelas reações fotoquímicas e do Ciclo de Calvin) (TAN et al., 2017).

Portanto, a ausência de efeito no Ci/Ce das plantas indica ausência de efeito no rendimento fotossintético, explicando a produção similar de MS entre os tratamentos aplicados.

O  $\text{NH}_4^+$  em maiores quantidades na solução nutritiva demanda grande volume de esqueletos de carbono para a sua rápida assimilação, visando evitar a toxidez da planta pelo  $\text{NH}_4^+$ . Além disso, para alface, a absorção do  $\text{N-NH}_4^+$  é preferencial em relação à  $\text{N-NO}_3^-$  (COMETTI, 2003), sendo sua velocidade de absorção maior com rápida depleção da sua concentração na solução nutritiva (KAFKAFI, 1990). A absorção de  $\text{NO}_3^-$  ocorre contra um gradiente de potencial eletroquímico e, um mol de  $\text{NO}_3^-$  é absorvido por simporte com dois mols de  $\text{H}^+$ , e quando há maior suprimento de N na forma nítrica, a absorção de ânions é maior, elevando o pH. Ao contrário, a absorção de um mol de  $\text{NH}_4^+$ , que ocorre por difusão facilitada de forma isolada por carreadores uniporte, pode bombear um mol de  $\text{H}^+$  para o exterior da célula, diminuindo o pH da solução nutritiva (COMETTI et al., 2006). Isso explica a redução mais intensa do pH da solução nutritiva envolvendo os tratamentos com maior concentração de  $\text{N-NH}_4^+$ . O poder tamponante das soluções nutritivas é muito pequeno, e a utilização de água deionizada, comum em pesquisas como esta, reduz ainda mais esse poder de tamponamento da solução.

### 3.2 ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA

As plantas de alface variaram com relação à taxa de fotossíntese líquida e transpiração. Para as demais características de trocas gasosas avaliadas não houve diferença entre os tratamentos (TABELAS 2 e 4).

Quando expostas às menores concentrações de Mo, a adição de maiores proporções de  $\text{N-NH}_4^+$  (tratamentos 3 e 4) estimulou a taxa de fotossíntese líquida nas plantas. Porém sob mesma concentração de  $\text{N-NH}_4^+$  (tratamentos 3 e 4), o aumento nas concentrações de Mo na solução nutritiva resultou em diminuição na fotossíntese líquida (FIGURA 4). De forma oposta, em concentrações maiores de  $\text{N-NO}_3^-$  (tratamentos 1 e 2) a maior concentração de Mo não causou redução da fotossíntese líquida. O aumento na concentração de Mo estimulou também as taxas de transpiração das plantas (TABELA 4).

Esse resultado sugere que, no caso de maior adição de  $N-NH_4^+$ , o Mo excedeu as possibilidades de integração no metabolismo do nitrogênio e seu excedente tornou-se tóxico. O principal alvo da toxicidade do Mo nas plantas parece ser o comprometimento do processo fotossintético, pois Baldisserotto et al. (2010, 2013) observaram queda na fotossíntese devido à desorganização do sistema tilacoide e do padrão de pigmentos fotossintéticos, com danos ao Fotossistema II em *Trapa natans* (espécie aquática tolerante a metais pesados) a partir da concentração 4,8 mg de Mo  $L^{-1}$ . Em plântulas de soja, a forma dos cloroplastos e o arranjo dos tilacoides foram deformados e tornaram-se irregulares, em resposta à exposição ao excesso de Mo (100 mg  $L^{-1}$ ) (XU et al., 2018). Nestes estudos as doses utilizadas foram muito superiores à concentração utilizada na alface *Mimosa baby leaf* (0,12 mg  $L^{-1}$ ), porém é importante destacar através dos resultados encontrados por estes pesquisadores os efeitos da toxicidade do Mo ao aparato fotossintético.

TABELA 4 - TAXA DE FOTOSSÍNTESE LÍQUIDA,  $CO_2$  INTERNO, RAZÃO  $C_i/C_e$  DE FOLHAS DE ALFACE *BABY LEAF* var. MIMOSA HIDROPÔNICA, SOB DIFERENTES PROPORÇÕES  $NO_3^- : NH_4^+$  E CONCENTRAÇÕES DE Mo NA SOLUÇÃO NUTRITIVA

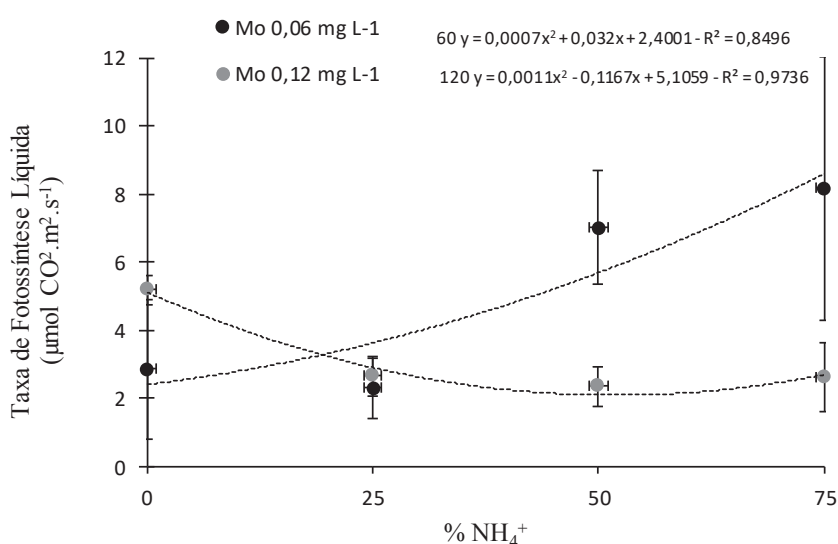
Mo (mg. $L^{-1}$ )	Proporção $NO_3^- : NH_4^+$				Média concentrações de Mo
	100/0	75/25	50/50	25/75	
$CO_2$ interno ( $\mu mol CO_2 m^2 s^{-1}$ )					
0,06	386,85	377,40	414,35	396,65	393,81 A <sup>ns</sup>
0,12	378,75	379,95	379,08	390,00	381,94 A
Média fontes de N	382,80 a <sup>ns</sup>	378,68 a	396,71 a	393,33 a	
$C_i/C_e$					
0,06	1,00	0,99	0,98	1,02	1,00 A <sup>ns</sup>
0,12	0,95	0,98	1,00	0,98	0,98 A
Média fontes de N	0,97 a <sup>ns</sup>	0,98 a	0,99 a	1,00 a	
Taxa de fotossíntese líquida ( $\mu mol CO_2 m^2 s^{-1}$ )					
0,06	2,84 bA**	2,30 bA	7,02 aA	8,16 aA	5,08
0,12	5,19 aA	2,64 abA	2,34 bB	2,61 abB	3,19
Média fontes de N	4,02	2,47	4,68	5,39	
Taxa de transpiração ( $mmol H_2O m^2 s^{-1}$ )					
0,06	0,043	0,078	0,043	0,090	0,06 B**
0,12	0,123	0,103	0,108	0,098	0,11 A
Média fontes de N	0,083 a <sup>ns</sup>	0,090 a	0,075 a	0,094 a	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem significativamente entre fontes de N (tratamentos 1 a 4) e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas não diferem significativamente entre as concentrações de Mo. \* Teste Tukey ( $p < 0,05$ ). \*\* Teste Tukey ( $p < 0,01$ ). ns = não significativo a 5%.

Embora seja argumentado que a toxicidade pelo  $\text{NH}_4^+$  deve-se ao desacoplamento de elétrons na fotofosforilação, resultando em menores taxas fotossintéticas, esta hipótese foi contestada em estudos com plantas sem atividade suficiente da enzima glutamina sintase (GS) ou glutamato sintase (GOGAT) que mostraram taxas fotossintéticas não prejudicadas pelo  $\text{NH}_4^+$  resultante da fotorrespiração (CLAUSSEN; LENZ, 1999).

A fotossíntese líquida é o resultado da fotossíntese total, menos a respiração e fotorrespiração. A fotorrespiração está relacionada com a oxigenação da enzima RuBisCo resultando na perda de  $\text{CO}_2$ . Portanto quanto maior a fotorrespiração, menor será a fotossíntese líquida (TAIZ; ZEIGER, 2013). Porém, para plantas supridas com amônio a taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$  é maior pois, parte do  $\text{CO}_2$  liberado da oxigenação é re-fixado através de carboxilação. Plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  têm taxa de fotorrespiração maior do que plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$ , sendo a taxa de re-fixação melhorada em até três vezes (FUHRER; ERISMANN, 1984). Desta forma a taxa de re-fixação do  $\text{CO}_2$  é aumentada com  $\text{NH}_4^+$  (SHI-WEI et al., 2007).

FIGURA 4 - TAXA FOTOSSINTÉTICA LÍQUIDA DE FOLHAS DE ALFACE *BABY LEAF* var. MIMOSA HIDROPÔNICA SOB CONCENTRAÇÕES DE  $\text{N-NH}_4^+$  E  $\text{Mo}$  NA SOLUÇÃO NUTRITIVA



A assimilação do  $\text{CO}_2$  é limitada pela quantidade e atividade de Rubisco, pela concentração interna de carbono ( $\text{C}_i$ ) e pela capacidade de regenerar a enzima, sendo que sua taxa de regeneração é limitada pelo suprimento de ATP, que depende da taxa de transporte de elétrons ou da disponibilidade de ortofosfato ( $\text{P}_i$ ). Como a assimilação do  $\text{NO}_3^-$  demanda maior gasto energético, sugere-se que a fotossíntese seja limitada pela regeneração da RuBisCo (RAAB; TERRY, 1994). Além disso, o  $\text{NH}_4^+$  absorvido deve ser prontamente assimilado para evitar sua toxicidade, e, normalmente, plantas cultivadas sob adubação amoniacal apresentam alta capacidade de formação de proteínas solúveis refletindo na concentração das enzimas associadas à fotossíntese (CRUZ; PELACANI; ARAÚJO, 2008; RAAB; TERRY, 1994)

Outra possibilidade, observada por alguns autores é a de que o estresse de N afeta negativamente a síntese de clorofilas. Liu, Du, Li (2017) observaram que níveis elevados de  $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NH}_4^+$ , sozinhos, na solução reduziram o teor de clorofilas em mudas de tomateiro. Para morango hidropônico o índice de clorofila foi aumentado com adição de  $\text{NH}_4^+$  na solução (TABATABAEI; YUSEFI; HAJILOO, 2008).

Porém, o estímulo à assimilação líquida de C pode estar associado ao fato de uma maior necessidade de esqueletos de carbono em plantas submetidas à fertilização amoniacal, uma vez que, não podendo ser estocado, o  $\text{NH}_4^+$  é prontamente assimilado e incorporado, sem necessidade de passar pelos processos de redução aos quais são submetidos o  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$ . Para o  $\text{NO}_3^-$  ser absorvido, transportado e assimilado há um custo total de 32 fótons  $\text{mol}^{-1}$  de N. Portanto há um custo energético maior para a planta, no sentido de ATP e poder redutor do NADPH. Para o  $\text{NH}_4^+$  este custo total é de 9,45 fótons  $\text{mol}^{-1}$  de N com excedente de ATP e NADPH (RAVEN, 1985).

As taxas de assimilação de  $\text{CO}_2$  variam entre as espécies de planta (SHI-WEI et al., 2007). M'Hamdi et al. (2014) mostraram uma correlação negativa entre a concentração de N- $\text{NO}_3^-$  e a capacidade fotossintética de cultivares de alface. Em framboesa e mirtilo, cultivados em vasos com areia irrigados com solução nutritiva contendo o N-total na forma amoniacal e adição de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) para regulação do pH, o  $\text{NH}_4^+$  aumentou a fotossíntese líquida. O contrário foi observado para morango em que a adubação nítrica favoreceu a fotossíntese (CLAUSSEN; LENZ, 1999). Este fato sugere a adaptabilidade das plantas às condições do meio, como pH e fonte de N, pois a susceptibilidade ao  $\text{NH}_4^+$  em plantas

implica em redução nas taxas de fotossíntese líquida (BRITTO; KRONZUCKER, 2002; ZHOU et al., 2011).

A respiração mitocondrial libera  $\text{CO}_2$  e está relacionada com a produção de ATP e provimento de citrato e 2-oxoglutarato para a síntese de aminoácidos (GUO et al., 2007). Guo et al. (2005) mostraram que a nutrição amoniacal aumentou a taxa de respiração diurna, devido ao aumento da demanda por ATP para a síntese de sacarose no citosol acompanhada de elevada taxa de fosforilação mitocondrial. Dessa forma, uma vez que não foi verificada diferença da produção de MS entre os tratamentos, sugere-se que o tratamento amoniacal tenha tanto favorecido a fotossíntese quanto a respiração, o que torna similar a fixação final líquida do carbono assimilado entre as plantas tratadas com diferentes fontes de nitrogênio.

Este é um resultado importante pois a assimilação do  $\text{NO}_3$  pode ser inibida em níveis elevados de  $\text{CO}_2$ , devido à maior demanda energética utilizada em sua assimilação, limitando a produção (BLOOM et al., 2014). Portanto, um efeito indireto, uma vez que a concentração de  $\text{CO}_2$  está se elevando em todo o planeta, como resultado das mudanças climáticas (ELIAS, 2018).

### 3.3 NITRATO E ATIVIDADE DA ENZIMA NR

O teor de nitrato foi afetado apenas pela fonte de N utilizada ( $P < 0,001$ ; TABELA 2). Como esperado, maior teor foi observado em folhas tratadas com a concentração máxima de nitrato (100% N- $\text{NO}_3^-$ ) (FIGURA 5), sem diferir entre os demais tratamentos. O teor máximo de nitrato encontrado (180,14  $\text{mg kg}^{-1}$  MF) está abaixo do limite estabelecido pelos órgãos reguladores da União Europeia, segundo Regulamento 1881/2006 e 1258/2011, de 4.000  $\text{mg NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$  de MF para cultivo de verão e de 5.000  $\text{mg NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$  de MF para cultivo de inverno.

Além do limite estabelecido para a cultura da alface, o Comitê Conjunto de Especialistas em Aditivos Alimentares da FAO/OMS (JECFA) (EFSA, 2008) estabeleceu a ingestão diária admissível, para humanos, de 3,7  $\text{mg NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$  de peso corporal ao dia. Como exemplo, tomando um adulto de 60kg, sua ingestão diária admissível será de 222  $\text{mg}$  de  $\text{NO}_3^-$ . Comparando com o resultado obtido no presente estudo, seria necessário a ingestão de 1,2 kg de folhas de alface ao dia, aproximadamente, para atingir este valor.

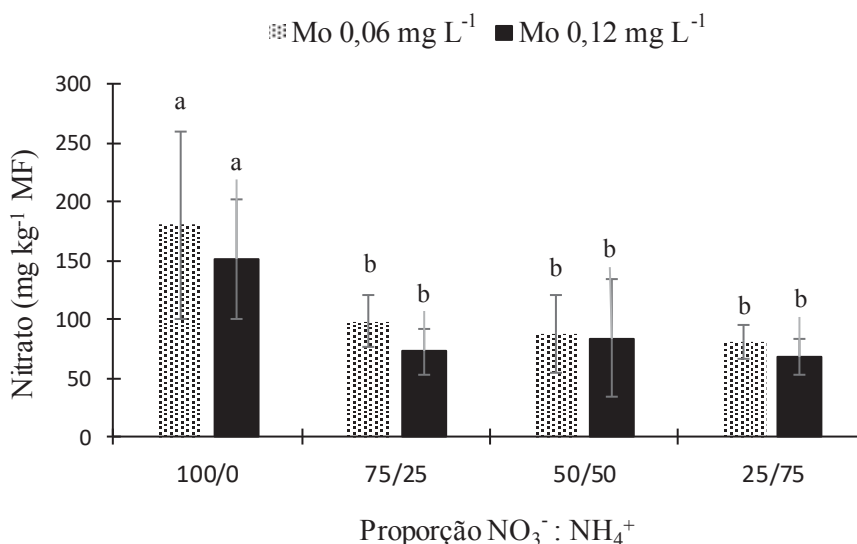
Na Itália, trabalhando com diferentes cultivares de alface *baby leaf* em hidroponia floating sob cinco diferentes CE da solução nutritiva (0,3, 1,2, 2,0, 2,8 e 3,6 dS m<sup>-1</sup>), Fallovo et al. (2009) verificaram aumentos lineares no teor de nitrato, chegando a 3.684 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> de MF no verão sob tratamento com maior CE. Porém os valores não foram superiores que o limite imposto pela Comunidade Europeia.

Para alface em ciclo tradicional, comparando os sistemas de cultivo Guadagnin, Rath, Reyes (2005) encontraram maiores valores de nitrato em alface hidropônica com 2.983 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> de MF contra 1.303 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> de MF do cultivo convencional. Estes autores avaliaram o NO<sub>3</sub><sup>-</sup> presente em outra hortaliça folhosa, a rúcula, e encontraram valores bem mais expressivos, 8.243 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> de MF.

O acúmulo de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> em vegetais apresenta grande variabilidade entre as espécies e cultivares. Porém do ponto de vista botânico algumas famílias de plantas são comumente conhecidas por acumular nitrato, dentre elas, a família *Asteraceae* da qual a alface é pertencente (SANTAMARIA, 2006). Em estudo realizado na Inglaterra, por exemplo, Escobar-Gutiérrez et al. (2002) compararam 16 cultivares de alfaces com ciclo tradicional, todas cultivadas em ambiente protegido. Os autores verificaram grande variação na quantidade de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> entre as variedades, mas também entre tipos de alface, com menor teor na *Butterhead* (tipo lisa – 3.623 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> de MF) e maior teor na *Lollo Rosso* (tipo crespa – 5.007 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> de MF).



FIGURA 5 - TEORES DE NITRATO ( $\text{mg NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$  DE MF) EM FOLHA DE ALFACE *BABY LEAF* var. MIMOSA HIDROPÔNICA SOB PROPORÇÕES  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  E CONCENTRAÇÕES DE Mo NA SOLUÇÃO NUTRITIVA



LEGENDA: As barras significam os desvios-padrão de cada tratamento

Durante o processo de assimilação do N, o  $\text{NO}_3^-$  é reduzido a  $\text{NO}_2^-$  pela ação da enzima NR, e este é então reduzido a  $\text{NH}_4^+$  pela enzima nitrito redutase. Este processo envolve maior gasto energético de ATP e poder redutor do NAPH, comparado com a assimilação de  $\text{N-NH}_4^+$  que, por seu estado de oxidação elimina a necessidade de redução na célula vegetal (XU; FAN; MILLER, 2012). Na sequência o  $\text{NH}_4^+$  é assimilado a glutamina e glutamato através da via GS (glutamina sintase) e glutamato sintase (GOGAT). As plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  podem armazená-lo no vacúolo, ao passo que as cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  têm que armazenar o N em aminoácidos (SHI-WEI et al., 2007). O balanço de carbono, é o principal fator de determina o acúmulo de nitrato na alface, como discutido anteriormente (BUWALDA; WARMENHOVEN, 1999).

Como a enzima NR possui em um dos seus grupos prostéticos o Mo como cofator, seria esperado que a atividade da enzima NR fosse aumentada com maiores concentrações de Mo, fato que não foi aqui observado (TABELA 2). Os resultados obtidos revelaram que a atividade da enzima não foi influenciada pelos tratamentos com diferentes proporções  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  e concentrações de Mo, e apresentou um valor médio de atividade  $0,006 \mu\text{mol NADH min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$  (TABELA 5).

O nível de atividade da enzima parece estar ligado a aspectos da espécie de planta. Plântulas de tomate com mais de 25% de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> na solução nutritiva em hidroponia apresentaram redução acentuada da atividade da enzima NR, ao passo que a adição de 100% de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> na solução nutritiva também prejudicou a atividade da enzima, bem como outras características avaliadas como, fotossíntese, biomassa e clorofila (LIU; DU; LI, 2017). Para a cultura do pessegueiro, Teixeira (2013) verificou que a atividade da enzima NR não sofreu influência de concentrações crescentes de adubação nitrogenada com ureia, com maior valor próximo à colheita de 1,89 μmol NO<sub>2</sub><sup>-</sup> g MF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. Em morango e framboesa, a nutrição amoniacal como única fonte de N, reduziu drasticamente a atividade da NR, e em mirtilo nenhuma atividade foi detectável (CLAUSSEN; LENZ, 1999). Neste estudo, a NR presente nas folhas de alface mostrou-se insensível ao amônio, mesmo na maior concentração de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (75%), o que era esperado e pode ser explicado por grande parte da sua assimilação ocorrer na raiz.

A princípio, o NO<sub>3</sub><sup>-</sup> é importante na expressão gênica e atividade da NR, funcionando com um sinalizador para a transcrição de genes (KONISHI; YANAGISAWA, 2011). Porém uma série de outros fatores como a luz, hormônios, temperatura e estresse hídrico modulam os níveis de expressão dos genes da enzima, bem como sua atividade, havendo uma hierarquia de controles transcricionais e pós-transcricionais (YANAGISAWA, 2014).

Resultados recentes demonstram efeito positivo da luz sobre a expressão e atividade da enzima NR (BIAN et al., 2018). No entanto, o mecanismo que coordena o estado de ativação da enzima com atividade fotossintética ainda é desconhecido (COLLA et al., 2018). Portanto, para a alface *Mimosa* cultivada em hidroponia, a enzima NR parece ter uma atividade basal foliar, independente do tratamento com diferentes fontes de N e concentração de Mo. Isto fica mais evidente ao relacionar a atividade da NR e o acúmulo de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> na folha (ocorrido no tratamento 100% N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, no qual a enzima provavelmente sofreu saturação em nível de substrato, ocasionando seu acúmulo para posterior assimilação) pois no tratamento 100% N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a manutenção da atividade da enzima em níveis similares aos das plantas tratadas com outras fontes de N pode ter promovido o acúmulo desta forma nitrogenada nas folhas.

TABELA 5 – TEOR DE NITRATO E ATIVIDADE DA ENZIMA NR EM FOLHAS DE ALFACE *BABY LEAF* var. MIMOSA, SOB DIFERENTES PROPORÇÕES  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  E CONCENTRAÇÕES DE Mo NA SOLUÇÃO NUTRITIVA

Mo (mg. L <sup>-1</sup> )	Proporção $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$				Média concentrações de Mo	
	100/0	75/25	50/50	25/75		
Teor de Nitrato (mg kg <sup>-1</sup> MF)						
0,06	180,14	98,52	87,98	80,99	111,91	A <sup>ns</sup>
0,12	151,17	72,72	83,68	68,48	94,01	A
Média fontes de N	165,65 a <sup>**</sup>	85,62 b	85,83 b	74,74 b		
Atividade da NR (μmol NADH min <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> MF)						
0,06	0,061	0,048	0,052	0,057	0,055	A <sup>ns</sup>
0,12	0,072	0,074	0,056	0,039	0,060	A
Média fontes de N	9,780 a <sup>ns</sup>	0,061 a	0,054 a	0,048 a		

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem significativamente entre as fontes de N (tratamentos 1 a 4) e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas não diferem significativamente entre as concentrações de Mo. \* Teste Tukey ( $p < 0,05$ ). \*\* Teste Tukey (0,01). ns = não significativo a 5%.

### 3.4 COMPOSIÇÃO MINERAL

#### 3.4.1 Macronutrientes

Com exceção do C, todos os outros macronutrientes variaram com as proporções  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  (TABELA 2). Este resultado corrobora com a similaridade na produção de MS entre os tratamentos.

A maior concentração de N- $\text{NO}_3^-$  (100%) na solução nutritiva promoveu maiores teores de N, P, K, S e Mg na folha de alface, com maior teor para o K seguido do N.

Estes resultados estão bem próximos dos encontrados por Martins et al. (2009) avaliando a curva de absorção de nutrientes em alface hidropônica *Isabela* (tipo crespa) com uso de nutrição nítrica. Aos 20 DAT, data próxima ao ciclo da alface *baby leaf*, os teores foram de 75,9 g K kg<sup>-1</sup>, 50,79 g N kg<sup>-1</sup> e 5,29 g P kg<sup>-1</sup> de MS. Com alface *baby leaf* lisa hidropônica, na Grécia, Neocleous et al. (2014) também obtiveram valores próximos para N (57,0 g kg<sup>-1</sup>), P (5,8 g kg<sup>-1</sup>) e Mg (2,7 g kg<sup>-1</sup>), e um pouco acima para Ca (5,7 g kg<sup>-1</sup> MS). Recentemente, comparando a composição mineral com a versão tradicional, Pinto et al. (2015) (PINTO et al., 2015) mostraram que a alface *baby leaf* possui maior teor de Ca e Mg e

menor conteúdo de  $\text{NO}_3^-$  que as alfaces maduras, corroborando com os resultados aqui obtidos.

Com a variação nas concentrações de Mo na solução nutritiva, apenas o teor foliar de P foi afetado, sendo maior na maior concentração ( $0,12 \text{ mg. L}^{-1}$ ) e apresentou teor médio de  $5,84 \text{ g kg}^{-1}$  MS. Um transportador específico para absorção de Mo pelas plantas ainda não é conhecido, de modo que a absorção do ânion molibdato pode ocorrer através do sistema de absorção do ânion fosfato (MENDEL; HÄNSCH, 2002)

A razão ótima de influxo de N, P e K pelas raízes em plantas adequadamente nutridas é de 1:0,1:1 (GAHOONIA; NIELSEN, 2004). Neste estudo, a razão de influxo destes elementos foi muito próxima: 1:0,12:1,2. À medida que aumenta a concentração de  $\text{N-NH}_4^+$ , o teor destes elementos reduz significativamente (TABELA 6), e a relação de influxo para o tratamento 2 (proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  75/25) foi 1:0,10:0,72, sendo observada queda no teor de K. A absorção de K pode ser feita por processo passivo ou ativo. No caso do processo ativo, a absorção é por simporte com  $\text{NO}_3^-$ , o que pode justificar o maior teor de K no tratamento 1, onde há maior disponibilidade do ânion. Ao contrário, uma vez que a absorção do amônio pode ser feita através dos canais de K, a competição iônica entre K e  $\text{NH}_4^+$  (HOOPEN et al., 2010) pode justificar menor teor nos tratamentos com aumento da disponibilidade de  $\text{N-NH}_4^+$  para absorção.

O elemento Ca apresentou uma resposta inversa em relação aos outros elementos, tendo menor teor em plantas tratadas com maior proporção de  $\text{NO}_3^-$  (100%) (TABELA 6).

Sabe-se que mudanças no pH da solução ao redor das raízes estão associadas ao balanço na absorção de cátions e ânions. A redução do pH da solução nutritiva, quando da absorção do  $\text{NH}_4^+$ , diminui a absorção de nutrientes principalmente P, K e Mg, coerente com o menor teor observado destes elementos nos tratamentos com maior concentração de  $\text{N-NH}_4^+$ . No entanto, o Ca é afetado negativamente por aumentos no pH da solução nutritiva, o que pode explicar maior teor do Ca na presença do  $\text{NH}_4^+$ . Além disso a absorção do Ca pode ser diminuída por altas concentrações de K e Mg (VITTI; LIMA; CICARONE, 2006). A manutenção do pH da solução nutritiva, numa faixa de 5,5 a 6,0, pode ter contribuído para a absorção do P, principalmente nos tratamentos com pH mais estáveis, caso do 100%  $\text{N-NO}_3^-$ . Além disso, a absorção de  $\text{NO}_3^-$  é ativa necessitando de 2 mols de ATP para cada mol de nitrato, sendo o P essencial para a síntese desta molécula de energia dentro da célula (FERNANDES; SOUZA, 2006).

A taxa de absorção do Mg pode ser afetada por outros cátions, como K, Ca e  $\text{NH}_4^+$  e em condições de pH baixo. A relação de K/Mg na planta, por exemplo, varia entre 7 e 10 (VITTI; LIMA; CICARONE, 2006). Nesta pesquisa a relação média de K/Mg entre os tratamentos foi de 29,5 (trat. 1), 17,6 (trat. 2) e 16,5 (trat. 3 e 4). Isto indica que plantas nutridas com maior concentração de  $\text{N-NO}_3^-$  absorvem mais K que Mg, o que pode ser explicado pelo menor potencial osmótico dessas soluções, comparados ao  $\text{N-NH}_4^+$ , que influencia na absorção de água favorecendo a absorção do K de forma passiva.

TABELA 6 - TEORES DE MACRONUTRIENTES NA FOLHA DE ALFACE *BABY LEAF* var. MIMOSA HIDROPÔNICA, SOB DIFERENTES PROPORÇÕES  $\text{NO}_3^-$ :  $\text{NH}_4^+$  E CONCENTRAÇÕES DE Mo NA SOLUÇÃO NUTRITIVA.

Tratamentos	C <sup>ns</sup>	N <sup>**</sup>	P <sup>**</sup>	K <sup>**</sup>	Ca <sup>**</sup>	S <sup>**</sup>	Mg <sup>**</sup>
Proporção $\text{NO}_3^-$ : $\text{NH}_4^+$ -----g kg <sup>-1</sup> MS-----							
100/0	393,57 a	59,53 a	7,17 a	70,37 a	2,69 b	8,55 a	2,38 a
75/25	411,28 a	49,47 b	5,45 b	35,55 b	3,83 a	4,23 b	2,01 b
50/50	413,85 a	47,98 b	5,00 b	27,25 c	3,26 ab	3,18 c	1,65 c
25/75	414,17 a	49,92 b	4,91 b	25,06 c	3,50 a	2,67 d	1,53 c
Mo (mg L <sup>-1</sup> ) -----g kg <sup>-1</sup> MS-----							
0,06	407,17 A	51,33 A	5,43 B	39,06 A	3,26 A	4,63 A	1,86 A
0,12	409,27 A	52,12 A	5,84 A	40,05 A	3,38 A	4,69 A	1,92 A

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre as fontes de N (tratamentos 1 a 4) e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna não diferem significativamente entre as concentrações de Mo. \* Teste Tukey (p < 0,05). \*\* Teste Tukey (0,01). ns = não significativo a 5%.

### 3.4.2 Micronutrientes

Todos os micronutrientes foram afetados pelas proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , exceto o Fe no qual observou-se efeito somente das diferentes concentrações de Mo (TABELA 2).

Os teores de Cu e Mo variaram para fontes de N e concentrações de Mo, sendo seus comportamentos similares para os tratamentos com fontes de N, mas antagônicos para os tratamentos com concentrações de Mo. Enquanto para o Mo o tratamento com 0,12 mg. L<sup>-1</sup> foi superior (teor médio de 3,72 mg kg<sup>-1</sup> MS), para o Cu e Fe esta concentração foi inferior (teor médio de 4,99 e 78,38 mg kg<sup>-1</sup> MS, respectivamente). Este resultado para o Mo era esperado, uma vez que os nutrientes na solução nutritiva são prontamente disponíveis, sua absorção é proporcional à sua concentração (DECHEN; NACHTIGALL, 2006). De fato, a concentração 0,06 mg. L<sup>-1</sup> proporcionou 1,82 mg kg<sup>-1</sup> de Mo (105% menor). Grande parte do Mo na planta está ligado à enzima NR, desempenhando papel importante no metabolismo do N, mas não dependente do N- $\text{NO}_3^-$  já que o tratamento 2, 3 e 4 foram superiores ao 1 (TABELA 7).

O fornecimento de N- $\text{NH}_4^+$  em até 50% promoveu os maiores teores do Mo, e na concentração de 75% promoveu os maiores teores de Cu. O pH da solução tem grande influência na disponibilidade dos micronutrientes, porém a fonte de N foi o que mais influenciou nos resultados, visto que a adubação amoniacal diminui o pH, mas não afetou a absorção do Mo e do Cu (DECHEN; NACHTIGALL, 2006). Outro fator é que compostos nitrogenados solúveis, como aminoácidos, atuam como carreadores do Cu no xilema e floema. Isto pode explicar os maiores teores na presença da adubação amoniacal, uma vez que o  $\text{NH}_4^+$  é diretamente incorporado a aminoácidos (DECHEN; NACHTIGALL, 2006).

Por outro lado, com 100% N- $\text{NO}_3^-$  ocorreram os maiores teores de Mn e Zn, com superioridade sobre os demais tratamentos, com teor médio de 157,30 e 113,71 mg kg<sup>-1</sup> MS, respectivamente. Estes valores foram superiores aos encontrados por Neocleous et al. (2014), porém estes autores expressaram os dados com base na MF. O Mn é essencial para a síntese de clorofila, o que pode explicar seus maiores teores no tratamento com adubação nítrica. Para a redução do  $\text{NO}_3^-$  são necessários 2 elétrons que podem ser fornecidos pelo NADH ou NADPH. Em tecidos fotossintetizantes, o poder redutor é proveniente do NADPH produzido nos cloroplastos na etapa luminosa da fotossíntese (RAVEN, 1985).

TABELA 7 - TEORES DE MICRONUTRIENTES NA FOLHA DE ALFACE *BABY LEAF* var. MIMOSA HIDROPÔNICA, SOB DIFERENTES PROPORÇÕES  $\text{NO}_3^-$  :  $\text{NH}_4^+$  E CONCENTRAÇÕES DE Mo NA SOLUÇÃO NUTRITIVA.

Tratamento	Mo **	Cu *	Fe *	Mn **	Zn **
Proporção $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ -----g kg <sup>-1</sup> MS -----					
100/0	2,51 b	3,35 b	88,18 a	157,30 a	113,71 a
75/25	3,55 a	8,15 a	82,95 a	57,60 b	47,64 b
50/50	3,17 a	5,57 ab	85,71 a	49,25 c	48,13 b
25/75	1,85 c	4,46 ab	82,13 a	44,12 c	51,49 b
Mo (mg L <sup>-1</sup> ) -----g kg <sup>-1</sup> MS -----					
0,06	1,82 B	5,77 A	91,10 A	79,57 A	65,08 A
0,12	3,72 A	4,99 B	78,38 B	74,56 A	65,40 A

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre fontes de N (tratamentos 1 a 4) e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna não diferem significativamente entre as concentrações de Mo. \* Teste Tukey ( $p < 0,05$ ). \*\* Teste Tukey (0,01). ns = não significativo a 5%.

### 3.5 ANÁLISE RADICULAR

Assim como para os nutrientes, o crescimento das raízes foi superior na concentração máxima de  $\text{NO}_3^-$  ( $P < 0,005$ ). Não houve efeito das diferentes concentrações de Mo sobre as variáveis analisadas na raiz (TABELA 2).

Ao contrário da parte aérea, a MSR apresentou diferenças entre os tratamentos com N, sendo menor no tratamento 4 (75% de N- $\text{NH}_4^+$ ) em relação aos tratamentos 1, 2 e 3, os quais apresentaram média de 0,100, 0,087 e 0,085 g planta<sup>-1</sup>, respectivamente. Portanto, comparando com os resultados obtidos até aqui, a MF da parte aérea e a MSR não são prejudicados por uma concentração de até 50% N- $\text{NH}_4^+$  na solução nutritiva (FIGURA 6).

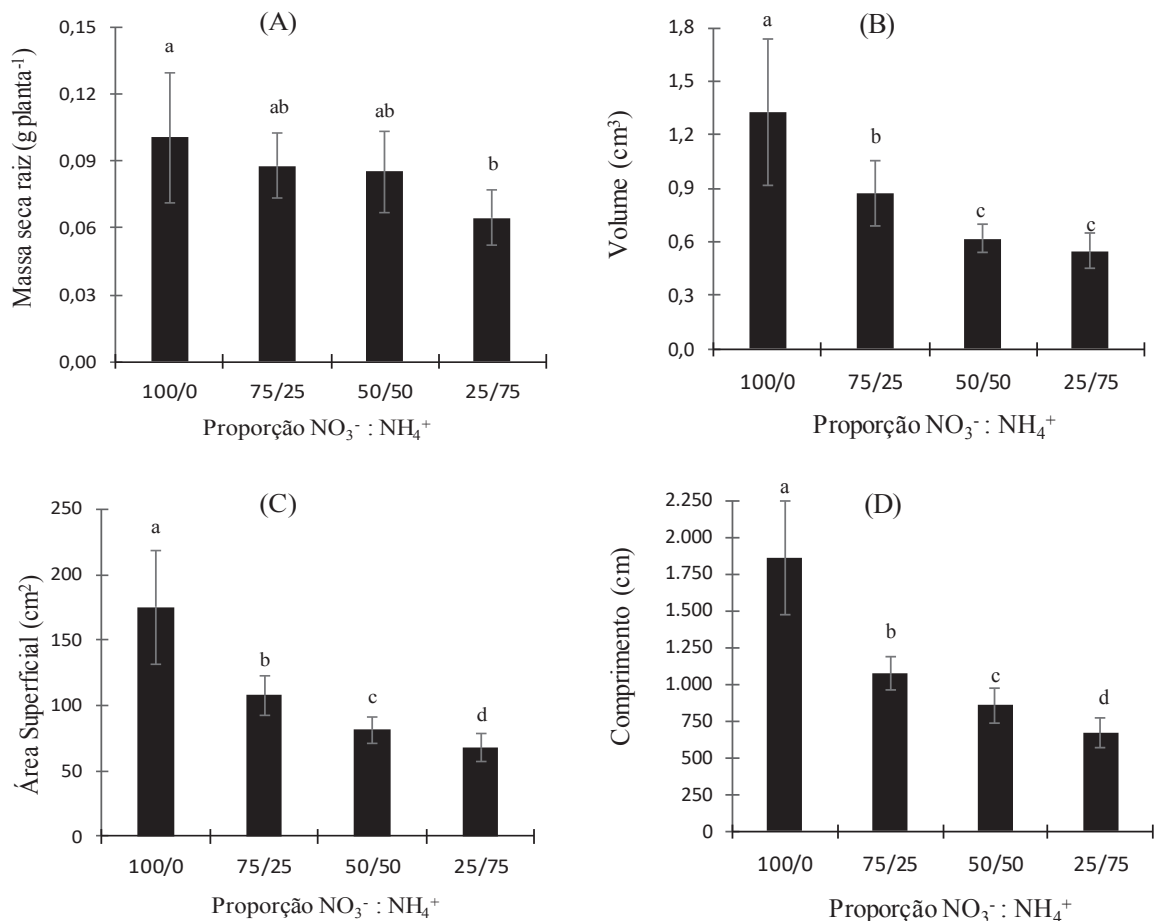
Por outro lado, o crescimento das raízes avaliado pelo comprimento total, área superficial e volume, apresentou resultado superior com o tratamento 1 (100% N- $\text{NO}_3^-$ ). Para estas características, observou-se diminuição proporcional ao aumento de  $\text{NH}_4^+$  na solução de cultivo (FIGURA 6). A toxicidade do  $\text{NH}_4^+$  nas raízes ocasiona um crescimento atrofiado, pois sua assimilação requer grandes quantidades de carboidratos, reduzindo a taxa de crescimento das raízes (FERNANDES; SOUZA 2006; BRITTO; KRONZUCKER, 2002).

Outro mecanismo de toxicidade proposto por Britto et al. (2001) é o de Ciclagem Fútil, onde até 80% do  $\text{NH}_4^+$  absorvido pode sofrer efluxo da célula resultando em gasto energético na forma de ATP e aumento da respiração das raízes, causando redução no seu



crescimento. Além disso, o  $\text{NO}_3^-$  na solução estimula o crescimento de raízes laterais por meio de sinalização envolvendo transcrição de genes (HO e TSAY, 2010). Sendo assim a adubação amoniacal causou efeitos deletérios ao sistema radicular, diminuindo a área absorptiva das plantas e ocasionando redução da absorção dos nutrientes, conforme discutido anteriormente onde a maioria dos nutrientes foram afetados por maiores concentrações de  $\text{NH}_4^+$  na solução nutritiva.

FIGURA 6 - MASSA SECA (A), VOLUME (B), ÁREA SUPERFICIAL (C) E COMPRIMENTO TOTAL (D) DE RAÍZES DE ALFACE HIDROPÔNICA *BABY LEAF* var. MIMOSA, EM FUNÇÃO DAS PROPORÇÕES  $\text{NO}_3^-$  :  $\text{NH}_4^+$  NA SOLUÇÃO NUTRITIVA



LEGENDA: As barras significam os desvios-padrão de cada tratamento

## 4 CONCLUSÕES

Para a alface var. Mimosa cultivada em ciclo curto objetivando *baby leaf*, a adição de até 50% de  $\text{NH}_4^+$  em relação à concentração total de N fornecido em solução nutritiva, não compromete o rendimento de massa fresca da parte aérea - característica alvo na produção de folhosas.

A taxa fotossintética líquida, foi favorecida pela adubação amoniacal. Apesar de indícios de maior taxa respiratória na presença do  $\text{NH}_4^+$ , a re-fixação do C pela fotorrespiração compensa a fotossíntese líquida.

A adubação nítrica parece ser a principal responsável pelo acúmulo de nitrato nas plantas de alface. O teor de nitrato foi maior nas plantas tratadas com 100% de  $\text{N-NO}_3^-$ , porém não ultrapassou os limites estabelecidos pela União Europeia. Ao passo que, um aumento de apenas 25% de  $\text{N-NH}_4^+$  foi suficiente para reduzir os teores de nitrato na folha. Esta redução no teor do nitrato provavelmente não foi em virtude da atividade da enzima NR, visto que sua atividade foi insensível às diferentes fontes de N. Também foi observado que, nas concentrações investigadas, o Mo não teve influência na atividade da enzima e nos teores de nitrato.

Doses elevadas de amônio na solução nutritiva, afetaram negativamente o crescimento das raízes, bem como causaram diminuição dos teores de macro e micronutrientes na parte aérea, reduzindo a qualidade nutricional da alface *baby leaf*. Porém sem prejudicar o crescimento da parte aérea e a produção de massa fresca, parte comercial do produto.

Pode-se concluir que a concentração recomendada atualmente de Mo na solução nutritiva ( $0,06 \text{ mg L}^{-1}$ ) é a ideal para a alface var. Mimosa cultivada em hidroponia, porém a proporção atual de  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  (88/12) pode ser atualizada pela utilização de até 50% de  $\text{N-NH}_4^+$  na solução nutritiva, sem comprometer a produção de massa fresca da parte aérea.

## REFERÊNCIAS

- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, [s. l.], v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.
- APRÍGIO, A. et al. Teor de nitrato em alface hidropônica em função de vazões e períodos de pós-colheita. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s. l.], v. 16, n. 9, p. 946–951, 2012.
- BAHADORAN, Z. et al. Is dietary nitrate/nitrite exposure a risk factor for development of thyroid abnormality? A systematic review and meta-analysis. **Nitric Oxide**, [s. l.], v. 47, p. 65–76, 2015.
- BALDISSEROTTO, C. et al. Morpho-physiological and biochemical responses in the floating lamina of *Trapa natans* exposed to molybdenum. **Protoplasma**, [s. l.], v. 240, p. 83–97, 2010.
- BALDISSEROTTO, C. et al. Comparison of photosynthesis recovery dynamics in floating leaves of *Trapa natans* after inhibition by manganese or molybdenum: Effects on Photosystem II. **Plant Physiology et Biochemistry**, [s. l.], v. 70, p. 387–395, 2013.
- BEDALE, W.; SINDELAR, J. J.; MILKOWSKI, A. L. Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions. **Meat Science**, [s. l.], v. 120, p. 85–92, 2016.
- BERGES, J. A.; HARRISON, P. J. Nitrate reductase activity quantitatively predicts the rate of nitrate incorporation under steady state light limitation: A revised assay and characterization of the enzyme in three species of marine phytoplankton. **Limnology and Oceanography**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 82–93, 1995.
- BIAN, Z. et al. Effect of green light on nitrate reduction and edible quality of hydroponically grown lettuce (*Lactuca sativa* L.) under short-term continuous light from red and blue light-emitting diodes. **Environmental and Experimental Botany**, [s. l.], v. 153, p. 63–71, 2018.
- BLOOM, A. J. et al. Nitrate assimilation is inhibited by elevated CO<sub>2</sub> in field-grown wheat. **Nature Climate Change**, [s. l.], v. 4, n. 6, p. 477–480, 2014.
- BRITTO, D. T. et al. Futile transmembrane NH<sub>4</sub><sup>+</sup> cycling: A cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v.

98, n. 7, p. 4255–4258, 2001.

BRITTO, D. T.; KRONZUCKER, H. J.  $\text{NH}_4^+$  toxicity in higher plants: a critical review. **Journal of Plant Physiology**, [s. l.], v. 159, p. 567–584, 2002.

BUWALDA, F.; WARMENHOVEN, M. Growth-limiting phosphate nutrition suppresses nitrate accumulation in greenhouse lettuce. **Journal of Experimental Botany**, [s. l.], v. 50, n. 335, p. 813–821, 1999.

CALORI, A. H. et al. Electrical conductivity and plant spacing on baby leaf table beet and lettuce production | Condutividade elétrica e espaçamento sobre a produção de baby leaf de beterraba e alface. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 32, n. 4, p. 426–433, 2014.

CASTELLANE, P.D.; ARAUJO, J.A.C.de. **Cultivo sem solo: hidroponia**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 43p

CASTOLDI, N.; BECHINI, L.; FERRANTE, A. Fossil energy usage for the production of baby leaves. **Energy**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 86–93, 2011.

CATALDO, D. A. et al. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 71–80, 1975.

CAVARIANNI, R. L. et al. Concentrações de nitrogênio na solução nutritiva e horários de colheita no teor de nitrato em rúcula. **Revista Caatinga**, [s. l.], v. 21, n. 5, p. 44–49, 2008.

CLARKSON, G. J. J.; ROTHWELL, S. D.; TAYLOR, G. End of day harvest extends shelf life. **HortScience**, [s. l.], v. 40, n. 5, p. 1431–1435, 2005.

CLAUSSEN, W.; LENZ, F. Effect of ammonium or nitrate nutrition on net photosynthesis, growth, and activity of the enzymes nitrate reductase and glutamine synthetase in blueberry, raspberry and strawberry. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 208, n. 1, p. 95–102, 1999.

COLLA, G. et al. Nitrate in fruits and vegetables. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 237, p. 221–238, 2018.

COMETTI, N. N. **Nutrição Mineral da Alface (*Lactuca sativa* L.) em Cultura**

**Hidropônica – Sistema NFT.** 2003. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia, [s. l.], 2003.

COMETTI, N. N. et al. Compostos nitrogenados e açúcares solúveis em tecidos de alface orgânica, hidropônica e convencional. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 22, n. 4, p. 748–753, 2004.

COMETTI, N. N. ; FURLANI, P. R. ; RUIZ, H. A. ; FERNANDES FILHO, E. I. IV – Soluções Nutritivas : formulação e aplicações. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 89-114.

COMETTI, N. N. et al. Nitrate concentration in lettuce leaves depending on photosynthetic photon flux and nitrate concentration in the nutrient solution. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], 2011.

CRUZ, J. L.; PELACANI, C. R.; ARAÚJO, W. L. Influência do nitrato e do amônio sobre a fotossíntese e a concentração de compostos nitrogenados em mandioca. **Ciência Rural**, [s. l.], v. 38, n. 3, p. 643–649, 2008.

DAVIDSON, E. A. et al. Excess nitrogen in the U.S. environment: Trends, risks, and solutions. **Issues in Ecology**, [s. l.], n. 15, 2011.

DECHEN, A.R; NACHTIGALL, G.R. XIII – Micronutrientes. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p.328-352

EFSA - European Food Safety Authority. **Nitrate in vegetables - Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain**. EFSA Journal. 2008; 6(6): 689. Disponível em: <<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2008.689>>. Acesso em: 10 de janeiro de 2019.

EFSA - European Food Safety Authority. **Statement on possible public health risks for infants and Young children from the presence of nitrates in leafy vegetables**. EFSA Journal. 2010; 8(12): 1935. Disponível em : <<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1935>>. Acesso em : 10 de janeiro de 2019.

ELIAS, S. A. **Greatly Increased CO<sub>2</sub>**. 1. ed. Londres: Elsevier, 2018.

ESCOBAR-GUTIÉRREZ, A. J. et al. Screening lettuce cultivars for low nitrate content

during summer and winter production. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, [s. l.], v. 77, n. 2, p. 232–237, 2002.

FALLOVO, C. et al. Nutrient solution concentration and growing season affect yield and quality of *Lactuca sativa* L. var. acephala in floating raft culture. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 89, n. 10, p. 1682–1689, 2009.

FAO – Food and Agriculture Organization. **Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases**. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/005/AC911E/AC911E00.HTM>>. Acesso em: 10 janeiro 2019

FUHRER, J.; ERISMANN, K. H. Steady-state carbon flow in photosynthesis and photorespiration in *Lemna minor* L.: the effect of temperature and ammonium nitrogen. **Photosynthetica**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 74–83, 1984.

FURLANI PR, SILVEIRA LCP; BOLONHEZI D; FAQUIN V. 1999. **Cultivo hidropônico de plantas**. Campinas: Instituto Agrônômico, 52 p. (Boletim técnico, 180).

GAHOONIA, T. S.; NIELSEN, N. E. Root traits as tools for creating phosphorus efficient crop varieties. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 260, p. 47–57, 2004.

GUADAGNIN, S. G.; RATH, S.; REYES, F. G. R. R. Evaluation of the nitrate content in leaf vegetables produced through different agricultural systems. **Food Additives and Contaminants**, [s. l.], v. 22, n. 12, p. 1203–1208, 2005.

GUERRA, A. M. N. de M.; COSTA, A. C. M.; TAVARES, P. R. F. Atividade fotossintética e produtividade de alface cultivada sob sombreamento. **Agropecuária Técnica**, [s. l.], v. 38, n. 3, p. 125, 2017.

GUO, S. et al. Different apparent CO<sub>2</sub> compensation points in nitrate- and ammonium-grown *Phaseolus vulgaris* and the relationship to non-photorespiratory CO<sub>2</sub> evolution. **Physiologia Plantarum**, [s. l.], v. 123, n. 3, p. 288–301, 2005.

GUO, S. et al. Effect of Ammonium and Nitrate Nutrition On Some Physiological Processes in Higher Plants - Growth, Photosynthesis, Photorespiration, and Water Relations. **Plant Biology**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 21–29, 2007.

HO, C.-H.; TSAY, Y.-F. Nitrate, ammonium, and potassium sensing and signaling. **Current**

**Opinion in Plant Biology**, [s. l.], v. 13, n. 5, p. 604–610, 2010.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The Water Culture Method for Growing Plants without Soil**. Berkeley.

HOOPEN, F. t. et al. Competition between uptake of ammonium and potassium in barley and *Arabidopsis* roots: molecular mechanisms and physiological consequences. **Journal of Experimental Botany**, [s. l.], v. 61, n. 9, p. 2303–2315, 2010.

HOWARTH, R. W. Coastal nitrogen pollution: A review of sources and trends globally and regionally. **Harmful Algae**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 14–20, 2008.

IBGE – **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/2393>>. Acesso em: 10 de janeiro de 2019

JORDAN, R. A. et al. Yield of lettuce grown in hydroponic and aquaponic systems using different substrates. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s. l.], v. 22, n. 8, p. 525–529, 2018.

KAFKAFI, U. Root temperature, concentration and the ratio  $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$  effect on plant development. **Journal of Plant Nutrition**, [s. l.], v. 13, n. 10, p. 1291–1306, 1990.

KERBIRIOU, P. J. et al. Shoot growth, root growth and resource capture under limiting water and N supply for two cultivars of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Plant and Soil**, [s. l.], v. 371, n. 1–2, p. 281–297, 2013.

KIM, D.-E. et al. Metabolite profiling of green, green/red, and red lettuce cultivars: Variation in health beneficial compounds and antioxidant potential. **Food Research International**, [s. l.], v. 105, p. 361–370, 2018.

KIM, M. J. et al. Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, [s. l.], v. 49, p. 19–34, 2016.

KONISHI, M.; YANAGISAWA, S. Roles of the transcriptional regulation mediated by the nitrate-responsive cis-element in higher plants. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s. l.], v. 411, n. 4, p. 708–713, 2011.

KOVÁCS, B. et al. Effect of molybdenum treatment on molybdenum concentration and nitrate reduction in maize seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s. l.], v. 96, p. 38–44, 2015.

KROHN, N. G. et al. Teores de nitrato em folhas de alface em função do horário de coleta e do tipo de folha amostrada. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 21, n. 2, p. 216–219, 2003.

LIU, G.; DU, Q.; LI, J. Interactive effects of nitrate-ammonium ratios and temperatures on growth, photosynthesis, and nitrogen metabolism of tomato seedlings. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 214, p. 41–50, 2017.

LOPES, C. C. et al. Influência do horário de colheita no teor de nitrato em alface hidropônica. **Semina: Ciências Agrárias**, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 63–68, 2011.

M'HAMDI, M. et al. Effect of different levels of nitrogen fertilizer on morphological and physiological parameters and nitrates accumulation of lettuce cultivars (*Lactuca sativa* L.). **Research in Plant Biology**, [s. l.], v. 4, n. 4, p. 27–38, 2014.

MAGALHAES, J. R.; WILCOX, G. E. Ammonium toxicity development in tomato plants relative to nitrogen form and light intensity. **Journal of Plant Nutrition**, [s. l.], v. 7, n. 10, p. 1477–1496, 1984.

MARIN, A. et al. Weather variability influences color and phenolic content of pigmented baby leaf lettuces throughout the season. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 63, n. 6, p. 1673–1681, 2015.

MARTINS, C. M. et al. Curva de absorção de nutrientes em alface hidropônica. **Revista Caatinga**, [s. l.], v. 22, n. 4, p. 123–128, 2009.

MENDEL, R. R.; BITTNER, F. Cell biology of molybdenum - Review. **Biochimica et Biophysica Acta**, [s. l.], v. 1763, p. 621–635, 2006.

MENDEL, R. R.; HÄNSCH, R. Molybdoenzymes and molybdenum cofactor in plants. **Journal of Experimental Botany**, [s. l.], v. 53, n. 375, p. 1689–1698, 2002.

NEOCLEOUS, D. et al. Assessing the Salinity Effects on Mineral Composition and Nutritional Quality of Green and Red “Baby” Lettuce. **Journal of Food Quality**, [s. l.], v. 37, n. 1, p. 1–8, 2014.



NICOLLE, C. et al. Characterisation and variation of antioxidant micronutrients in lettuce (*Lactuca sativa* folium). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 84, n. 15, p. 2061–2069, 2004.

OH, M.-M.; CAREY, E. E.; RAJASHEKAR, C. B. Regulated Water Deficits Improve Phytochemical Concentration in Lettuce. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, [s. l.], v. 135, n. 3, p. 223–229, 2010.

OHSE, S. et al. Quality of Lettuce Cultivars Grown in Hydroponic Solution. **Scientia Agricola**, [s. l.], v. 58, n. 1, p. 181–185, 2001.

OLIVEIRA, A. C. B. De et al. Divergência genética e descarte de variáveis em alface cultivada sob sistema hidropônico. **Acta Scientiarum Agronomy**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 211–217, 2004.

OLIVEIRA, F. et al. Produção de *baby leaf* de alface em bandejas com diferentes volumes de células. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 27, n. 2, p. 3111–3115, 2009.

PINTO, E. et al. Influence of the temporal and spatial variation of nitrate reductase, glutamine synthetase and soil composition in the N species content in lettuce (*Lactuca sativa*). **Plant Science**, [s. l.], v. 219–220, n. 220, p. 35–41, 2014.

PINTO, E. et al. Comparison between the mineral profile and nitrate content of microgreens and mature lettuces. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s. l.], v. 37, p. 38–43, 2015.

PURQUERIO, L. F. V.; MELO, P. C. T. De. Hortaliças pequenas e saborosas. **Horticultura Brasileira 29 (Artigo de Capa)**, Brasília, p. 1, 2011.

PURQUERIO, L. F. V. et al. Produção de *baby leaf* de alface Elisa em diferentes volumes de células. **Horticultura Brasileira**, Guarapari, v. 28, p. 1505–1511, 2010. a.

PURQUERIO, L. F. V. et al. Produção de *baby leaf* de rúcula em diferentes volumes de células no outono. **Horticultura Brasileira**, Guarapari, v. 28, n. 2, p. 2258–2263, 2010. b.

RAAB, T. K.; TERRY, N. Nitrogen Source Regulation of Growth and Photosynthesis in Beta

vulgaris L. **Plant Physiol**, [s. l.], v. 105, p. 1159–1166, 1994.

RAVEN, J. Tansley Review no. 2. Regulation of pH and Generation of Osmolarity in Vascular Plants: a cost-benefit analysis in relation to efficiency of use of energy, nitrogen and water. **New Phytologist**, [s. l.], v. 101, n. 1, p. 25–77, 1985.

RESENDE, G. M. De et al. Rendimento e teores de macronutrientes em alface tipo americana em função de doses de nitrogênio e molibdênio em cultivo de verão. **Ciência e agrotecnologia**, [s. l.], v. 33, n. 1, p. 153–163, 2009.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. Da. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 187–194, 2012.

SALVADOR, C. A. **Olericultura - Análise da conjuntura agropecuária**. Curitiba.

SANTAMARIA, P. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 86, n. 1, p. 10–17, 2006.

SAVINO, F. et al. Methemoglobinemia Caused by the Ingestion of Courgette Soup Given in Order to Resolve Constipation in Two Formula-Fed Infants. **Annals of Nutrition and Metabolism**, Torino, Italy, v. 50, n. 4, p. 368–371, 2006.

SCHMIDT, D. et al. Desempenho de soluções nutritivas e cultivares de alface em hidroponia. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 19, n. 2, p. 122–126, 2001.

SHI-WEI, G. et al. New Insights into the Nitrogen Form Effect on Photosynthesis and Photorespiration. **Pedosphere**, [s. l.], v. 17, n. 5, p. 601–610, 2007.

SONNEVELD, C; STRAVER, N. **Nutrient solutions for vegetables and flowers grown in water or substrate**. 10 ed. The Netherland: Naaldwijk. 1992

SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. IX - Nitrogênio. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). **Nutrição Mineral de Plantas**. 1ª edição ed. Viçosa, MG: Sociedad Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 216–245.

STERTZ, S. . et al. Qualidade nutricional e contaminantes de alface (*Lactuca sativa* L.) convencional, orgânica e hidropônica. In: VISÃO ACADÊMICA 2005, **Anais...** [s.l: s.n.]

TABATABAEI, S. J.; YUSEFI, M.; HAJILOO, J. Effects of shading and  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  ratio on the yield, quality and N metabolism in strawberry. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 116, n. 3, p. 264–272, 2008.

TAIZ, L. ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. p.208-201 e 346-348

TAN, Z.-H. et al. On the ratio of intercellular to ambient  $\text{CO}_2$  ( $c_i/c_a$ ) derived from ecosystem flux. **International Journal of Biometeorology**, [s. l.], v. 61, n. 12, p. 2059–2071, 2017.

TEIXEIRA, W. W. R. **Nutrição nitrogenada e intensidade de raleio na produção de pêssego**. 2013. Universidade Federal do Paraná, [s. l.], 2013.

TSORMPATSIDIS, E. et al. The influence of ultraviolet radiation on growth, photosynthesis and phenolic levels of green and red lettuce: potential for exploiting effects of ultraviolet radiation in a production system. **Annals of Applied Biology**, [s. l.], v. 156, n. 3, p. 357–366, 2010.

UE. REGULAMENTO (CE) n. 1881 de 19 de Dezembro de 2006 que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios. **Jornal Oficial da União Europeia**, Bruxelas, UE, n. 364/5, 20 dez. 2006. p5-24. Anexo, Secção 1: Nitratos

UE. REGULAMENTO (UE) n. 1258 de 2 de Dezembro de 2011 que altera o Regulamento (CE) n. o 1881/2006 no que diz respeito aos teores máximos de nitratos nos géneros alimentícios. **Jornal Oficial da União Europeia**, Bruxelas, UE, n. 320/15, 3 dez. 2011. p15-17. Anexo, Secção 1: Nitratos.

VITTI, G. C; LIMA, E.; CICARONE, F. XII – Cálcio, Magnésio e Enxofre. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p.300-325

WARD, M. et al. Drinking Water Nitrate and Human Health: An Updated Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [s. l.], v. 15, n. 7, p. 1557, 2018.

XIAO, Z. et al. Assessment of Vitamin and Carotenoid Concentrations of Emerging Food Products: Edible Microgreens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 60,

n. 31, p. 7644–7651, 2012.

XU, G.; FAN, X.; MILLER, A. J. Plant Nitrogen Assimilation and Use Efficiency. **Annual Review of Plant Biology**, [s. l.], v. 63, n. 1, p. 153–182, 2012.

XU, S. et al. Subcellular distribution of molybdenum, ultrastructural and antioxidative responses in soybean seedlings under excess molybdenum stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s. l.], v. 123, p. 75–80, 2018.

YANAGISAWA, S. Transcription factors involved in controlling the expression of nitrate reductase genes in higher plants. **Plant Science**, [s. l.], v. 229, p. 167–171, 2014.

ZHOU, Y. et al. Effects of nitrogen form on growth, CO<sub>2</sub> assimilation, chlorophyll fluorescence, and photosynthetic electron allocation in cucumber and rice plants. **Journal of Zhejiang University. Science. B**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 126–34, 2011.

ZHU, Z. et al. Different Tolerance to Light Stress in NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> Grown *Phaseolus vulgaris* L. **Plant Biology**, [s. l.], v. 2, n. 5, p. 558–570, 2000.