

**DAIANE DE SOUZA LAUTON WENCESLAU**

**CONCENTRAÇÕES DE NITRATO E RELAÇÃO  
NITRATO/AMÔNIO NO CULTIVO HIDROPÔNICO  
DE ALFACE**

**Dissertação de Mestrado**

**ALTA FLORESTA-MT**

**2019**

	DAIANE DE SOUZA LAUTON WENCESLAU	Diss. MESTRADO	PPGBioAgro 2019



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO  
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E  
AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS  
AMAZÔNICOS**



**DAIANE DE SOUZA LAUTON WENCESLAU**

**CONCENTRAÇÕES DE NITRATO E RELAÇÃO  
NITRATO/AMÔNIO NO CULTIVO HIDROPÔNICO  
DE ALFACE**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Caione

**ALTA FLORESTA-MT**

**2019**

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO, CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na publicação

Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias

Walter Clayton de Oliveira CRB 1/2049

W468c WENCESLAU, Daiane de Souza Lauton.  
Concentrações de Nitrato e Relação Nitrato/amônio no Cultivo Hidropônico de Alface/Daiane de Souza Lauton Wenceslau – Alta Floresta, 2019.  
46 f.; 30 cm.(ilustrações) Il. color. (sim)

Trabalho de Conclusão de Curso  
(Dissertação/Mestrado) – Curso de Pós-graduação Stricto Sensu (Mestrado Acadêmico) Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Câmpus de Alta Floresta, Universidade do Estado de Mato Grosso, 2019.  
Orientador: Gustavo Caione

1. Nitrogênio. 2. Hortaliça. 3. Hidroponia. 4. Solução Nutritiva.  
I. Daiane de Souza Lauton Wenceslau. II. Concentrações de Nitrato e Relação Nitrato/amônio no Cultivo Hidropônico de Alface.

CDU 631.589.2

# CONCENTRAÇÕES DE NITRATO E RELAÇÃO NITRATO/AMÔNIO NO CULTIVO HIDROPÔNICO DE ALFACE

**Daiane de Souza Lauton Wenceslau**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

Aprovada em: 25/02/19



Prof. Dr. Gustavo Caione

Orientador – UNEMAT/ PPGBioAgro



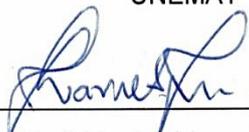
Profa. Dra. Lúcia Filgueiras Braga

UNEMAT/ PPGBioAgro



Prof. Dr. Hudson de Oliveira Rabelo

UNEMAT



Prof. Dr. José Lavres Junior

USP/CENA

*A Deus, que é meu  
refúgio e fortaleza ao  
meu esposo, e meus  
pais.*

*DEDICO.*

## AGRADECIMENTOS

Cada conquista em minha vida dedico a Deus. Porque Dele, por meio Dele, e para Ele são todas minhas conquistas.

Ao professor Gustavo Caione, pela oportunidade e orientação, pelo incentivo e apoio em todos os momentos dessa jornada.

Ao professor Guilherme Ferreira Ferbonink pela contribuição com esta pesquisa.

Aos colegas de classe e de laboratório pela amizade e contribuições com este trabalho.

Ao meu esposo Luciano Cardoso Wenceslau, pelo companheirismo, pela ajuda e principalmente pelo amor e carinho em todos os nossos momentos.

Aos meus pais Eliezer Roberto Lauton e Clesmari Alves de Souza Lauton, que me apoiaram e me deram forças para seguir perante as dificuldades.

À Universidade do Estado de Mato Grosso, e à Coordenação do programa de Pós Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos pela oportunidade de realização do curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) pela concessão de bolsa.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Cultivo hidropônico e solução nutritiva.....	2
2.2 Nitrato e a qualidade da alface.....	4
2.2.1 A enzima redutase do nitrato (RN).....	7
2.3 Proporções de nitrato e amônio em plantas.....	8
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
3.1.1 Localização e dados meteorológicos.....	9
3.1.2 Caracterização do local de instalação dos experimentos e condução.....	10
3.2 Características agronômicas e qualitativas avaliadas.....	13
3.2.1 Análises morfológicas.....	13
3.2.2 Análise da atividade da enzima redutase do nitrato (RN).....	14
3.2.3 Determinação do nitrogênio total.....	15
3.2.4 Determinação do teor de nitrato.....	15
3.2.5 Determinação do teor de amônio.....	16
3.3 Análise estatística.....	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
4.1 Análises morfológicas.....	17
4.1.1 Número de folhas por planta (NF).....	17
4.1.2 Diâmetro do caule (DC) e comprimento da parte aérea (CPA).....	19
4.1.3 Massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR) e volume de raiz (VR).....	21
4.1.4 Massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR).....	24
4.2 Nitrogênio total em folhas de alface.....	25
4.3 Teor de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) em folhas de alface.....	26
4.4 Atividade da enzima redutase do nitrato (RN) em folhas de alface.....	28
4.5 Teor de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) em folhas de alface.....	30
5 CONCLUSÕES.....	33

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	34
APÊNDICE .....	46

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Proporção de nitrato e concentração dos nutrientes na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018. .... 12
- Tabela 2.** Proporção de nitrato e amônio e concentrações dos nutrientes na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018. .... 12

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Temperatura diária média no período de Junho à Agosto de 2018. Fonte: INMET. .... 10
- Figura 2.** Etapas de condução dos experimentos: adição dos nutrientes (A), aferição de pH (B) e condutividade elétrica (C). UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018. .... 11
- Figura 3.** Análise da enzima redutase do nitrato em matéria fresca de folhas de alface. Peso de fragmentos de folhas de alface (A), frascos com meio de incubação em infiltração a vácuo (B) e curva padrão preparada com soluções diluídas de  $\text{NO}_2^-$  (C). UNEMAT, Alta Floresta (MT), 2018. .... 14
- Figura 4.** Análise de nitrogênio na matéria seca de folhas de alface. Béquer com 15 mL de ácido bórico (A), amostras após a destilação (B) e Titulação com solução de HCl  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  com obtenção da cor inicial (C). UNEMAT, Alta Floresta (MT), 2018. .... 15
- Figura 5.** Análise do teor de nitrato na matéria fresca de folhas de alface. Extração alcoólica com tecido fresco foliar (A), funil de separação contendo extrato + clorofórmio (B) e curva de calibração preparada com soluções diluídas de  $\text{KNO}_3$  (C). UNEMAT, Alta Floresta (MT), 2018. .... 16
- Figura 6.** Análise do teor de amônio em folhas de alface. Extração em banho-maria a  $100 \text{ }^\circ\text{C}$  (A), amostras após extração com adição dos reagentes (B) e curva padrão preparada com soluções diluídas de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (C). UNEMAT, Alta Floresta (MT), 2018. .... 17
- Figura 7.** Número de folhas de alface cultivada em sistema hidropônico em função de concentrações de nitrato (A) e proporções de nitrato/amônio (B) na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018. .... 18
- Figura 8.** Diâmetro do caule de alface (A) e comprimento da parte aérea (C) em função de concentrações de N-nitrato da solução nutritiva e diâmetro do caule de alface (B) e comprimento da parte aérea (D) em função

	das proporções de nitrato/amônio na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018. ....	20
<b>Figura 9.</b>	Massa fresca da parte aérea (A) massa fresca da raiz (C) e volume de raiz (E) em função de concentrações de N-nitrato da solução nutritiva e massa fresca da parte aérea (B) massa fresca da raiz (D) e volume de raiz (F) em função das proporções de nitrato/amônio na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018. ....	23
<b>Figura 10.</b>	Massa seca da parte aérea e massa seca da raiz (A) em função de concentrações de N-nitrato da solução nutritiva e massa seca da parte aérea e massa fresca da raiz (B) em função das proporções de nitrato/amônio na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018. ....	25
<b>Figura 11.</b>	Teor de nitrogênio total (A) em função de concentrações de N-nitrato da solução nutritiva e teor de nitrogênio total (B) em função das proporções de nitrato/amônio na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018. ....	26
<b>Figura 12.</b>	Teor de nitrato na matéria fresca de folhas de alface cultivada em sistema hidropônico em função da concentração de N-nitrato na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018. ....	27
<b>Figura 13.</b>	Teor de nitrato na matéria fresca de folhas de alface cultivada em sistema hidropônico em função da proporção de nitrato/amônio na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018. ....	28
<b>Figura 14.</b>	Atividade da enzima redutase do nitrato (RN) na matéria fresca de folhas de alface cultivada em sistema hidropônico em função da concentração de N-nitrato na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018. ....	29
<b>Figura 15.</b>	Atividade da enzima redutase do nitrato (RN) na matéria fresca de folhas de alface em função da proporção de nitrato/amônio na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018. ....	30
<b>Figura 16.</b>	Teor de amônio na matéria seca de folhas alface em função da concentração de N-nitrato na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018. ....	31

**Figura 17.** Teor de amônio na matéria seca de folhas alface em função da proporção de nitrato/amônio na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018. .... 32

## RESUMO

WENCESLAU, Daiane de Souza Lauton. M.Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso, Fevereiro de 2019. **Concentrações de nitrato e relação nitrato/amônio no cultivo hidropônico de alface.** Orientador: Gustavo Caione.

A alface por apresentar predisposição ao acúmulo de nitrato tem levado muitos pesquisadores a desenvolver pesquisas com intuito de reduzir esse acúmulo, sendo que o uso de parte do N na forma amoniacal na solução nutritiva pode ser uma opção para promover essa redução. Nesse contexto, o presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito da concentração de nitrato e da relação nitrato/amônio sobre crescimento, produção e acúmulo desses compostos em alface cultivada em sistema hidropônico. Foram conduzidos dois experimentos com alface cv. Americana, em sistema hidropônico do tipo floating em casa de vegetação localizada na Universidade do Estado de Mato Grosso em Alta Floresta-MT. No primeiro experimento foi avaliado cinco concentrações de nitrato 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 e 15,0 mmol L<sup>-1</sup> que corresponde à 25, 50, 75, 100 e 150% da concentração de N na solução nutritiva padrão recomendada, e no segundo experimento avaliou a melhor relação NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> com cinco proporções 0/100; 25/75; 50/50; 75/25 e 100/0 na solução. Aos 35 dias após o transplante, foram analisadas as variáveis agronômicas número de folhas (NF), comprimento da parte aérea (CPA), volume de raiz (VR), massa fresca da parte aérea (MFPA) e da raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR), teor de nitrogênio total, teor de nitrato, teor de amônio e atividade da enzima redutase do nitrato (RN) em folhas de alface. A maior produção de alface foi observada com o uso da concentração de nitrato na solução nutritiva de 15,0 mmol L<sup>-1</sup> sendo esta recomendada, contudo, por viés econômico a dose de 10,0 mmol L<sup>-1</sup> também pode ser utilizada sem perda de produtividade. Para a proporção de nitrato/amônio na solução, recomenda-se a proporção de 100:22% que corresponde à 10,0 mmol L<sup>-1</sup> e 2,2 mmol L<sup>-1</sup>.

Palavras-chave: Nitrogênio, hortaliça, hidroponia, solução nutritiva.

## ABSTRACT

WENCESLAU, Daiane de Souza Lauton. M.Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso, Fevereiro de 2019. **Nitrate concentrations and nitrate/ammonium ratio in hydroponic lettuce cultivation.** Advisor: Gustavo Caione.

Lettuce, because it is predisposed to nitrate accumulation, has led many researchers to develop research to reduce this accumulation, the use of part of the ammoniacal N in the nutrient solution may be an option to promote this reduction. In this context, the present study aimed to evaluate the effect of nitrate concentration and nitrate/ammonium ratio on growth, production and accumulation of these compounds in lettuce grown in a hydroponic system. Two experiments with lettuce cv. Americana, in a hydroponic system of floating type in protected cultivation house located at the University of the State of Mato Grosso in Alta Floresta-MT. In the first experiment was evaluated five concentrations of nitrate 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 and 15, mmol L<sup>-1</sup> corresponding to 25, 50, 75, 100 and 150% of the N concentration in the nutrient solution, and in the second experiment the best NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ratio was evaluated with five proportions 0/100; 25/75; 50/50; 75/25 and 100/0 in the solution. The number of leaves (NF), shoot length (CPA), root volume (VR), fresh shoot mass (MFPA) and root shoot mass (MFR) were analyzed at 35 days after transplanting dry matter (MSPA) and root (MSR), nitrogen content, nitrate content, ammonium content and nitrate reductase enzyme activity (RN) in lettuce leaves. The highest lettuce production was observed with the use of the nitrate concentration in the nutrient solution of 15,0 mmol L<sup>-1</sup>, which is recommended, however, the economic dose of 10,0 mmol L<sup>-1</sup> can also be used without loss productivity. For the proportion of nitrate/ammonium in the solution, the proportion of 100: 22% corresponding to 10,0 mmol L<sup>-1</sup> and 2,2 mmol L<sup>-1</sup> is recommended.

Key-words: Nitrogen, vegetable, hydroponics, nutrient solution.

## 1. INTRODUÇÃO

A alface *Lactuca sativa* (Linnaeus) é considerada como uma hortaliça de grande importância, sendo esta uma das folhosas mais consumidas no Brasil. Atualmente no Brasil, a alface de maior importância econômica é a crespa, tendo preferência de 70% do mercado brasileiro, seguida pela americana (15%), lisa (10%) e romana (5%) (SUINAGA et al., 2013). Contudo, observa-se que a alface do tipo americana vem tendo crescente importância no mercado brasileiro.

Para suprir a demanda do mercado consumidor pelas hortaliças, o produtor tem investido em sistemas hidropônicos, devido esse sistema representar uma opção vantajosa quando comparada ao cultivo convencional, por obter produtos de qualidade superior, mais uniformes, com maior produtividade e colheita em tempo reduzido, além de menores custos de mão-de-obra, de água e de insumos agrícolas. Em contrapartida, os cultivos hidropônicos quando mal manejados podem ocasionar acúmulo excessivo de nitrato em plantas, principalmente em folhosas como o alface, que possui predisposição ao acúmulo de nitrato.

O acúmulo de nitrato nas plantas pode ocorrer em decorrência de fatores como: fonte de nitrogênio, características genéticas, intensidade luminosa, temperatura, disponibilidade de íons no substrato, disponibilidade de molibdênio, época do cultivo e hora de colheita, contudo tem-se buscado reduzir o acúmulo de nitrato em alface com uso de técnicas como: o suprimento de molibdênio às plantas e o fornecimento de parte do N na solução nutritiva na forma de amônio, podendo reduzir o acúmulo de  $\text{NO}_3^-$  nos vacúolos.

Diante do exposto, foram considerados nesse estudo as seguintes hipóteses: i) a temperatura elevada característica da região amazônica resulta no aumento do teor de sais da solução nutritiva, com consequente elevação na absorção de íons como o nitrato pela planta; ii) o uso de parte do N na forma de amônio na solução, reduz o teor de nitrato nos tecidos da planta sem risco de perda de produtividade.

Para testar as hipóteses formuladas, o presente estudo teve por objetivo avaliar em alface cultivada em sistema hidropônico, o efeito da concentração de nitrato e da relação nitrato/amônio sobre o crescimento, produção e acúmulo desses compostos.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Cultivo hidropônico e solução nutritiva**

Originária do Mediterrâneo a alface *Lactuca sativa* (Linnaeus) foi uma das primeiras hortaliças cultivadas pelo homem. Atualmente é explorada em todo território nacional, tanto em solo como em sistemas hidropônicos, sendo a principal cultura utilizada em hidroponia no país (SOARES, 2002).

De acordo com Castellane e Araújo (1995), a hidroponia, cultivo sem solo, é uma alternativa interessante em relação ao cultivo tradicional no solo, podendo ser usada em regiões com pequena disponibilidade de terras agricultáveis ou naquelas onde o uso excessivo do solo causou desequilíbrio em sua microfauna, aumentando seu nível de infestação com patógenos. Mesmo em países tropicais com abundância de terras agricultáveis, como o Brasil, a hidroponia vem sendo utilizada com êxito. Além de sua elevada produção, oferece ainda produtos de alta qualidade e com uso reduzido de defensivos, se comparada ao meio tradicional de cultivo.

O cultivo em casa de vegetação permite a utilização intensiva do capital e maior rendimento por área, como também a produção de maneira controlada, melhor qualidade do produto, menor incidência de pragas e doenças, menor dependência das condições climáticas, melhor aproveitamento de insumos, possibilitando a distribuição da produção ao longo do ano, regularizando a oferta e dando oportunidade ao produtor de fugir das épocas de menor preço (RODRIGUES et al., 1997 e MARTINEZ, 2002).

Existem vários sistemas de cultivo hidropônico que diferem entre si quanto à forma de sustentação da planta, substrato ou meio líquido, quanto ao reaproveitamento da solução nutritiva, circulantes ou não circulantes, e ao fornecimento da solução nutritiva nas formas contínuas ou intermitentes, além de existirem também inúmeras composições de solução nutritiva.

O sistema hidropônico mais utilizado em cultivos com fins comerciais é a Técnica do filme nutriente (NFT) ou técnica do fluxo laminar de nutrientes. Neste sistema, as plantas são cultivadas em canais de cultivo por onde a solução nutritiva circula, intermitentemente, em intervalos definidos e controlados por um temporizador. O sistema NFT foi desenvolvido em 1965 por Allen Cooper na Inglaterra e tem sido considerado o mais viável comercialmente para o cultivo de

diferentes culturas, em especial para as hortaliças folhosas (COMETTI, 2003). Existem no mercado perfis hidropônicos próprios para este sistema de cultivo, e também podem ser utilizados tubos de PVC inteiros ou cortados ao meio, longitudinalmente. Este sistema de cultivo pode ser instalado tanto no sentido horizontal como no sentido vertical.

No cultivo hidropônico para fins de pesquisa, normalmente utiliza-se o sistema de aeração estática (floating), contudo atualmente tem-se usado essa técnica também em cultivos comerciais. Neste sistema as plantas são mantidas em vasos, sem substrato, com as raízes completamente submersas na solução nutritiva e um sistema de bombeamento de ar para proporcionar a respiração das raízes. Um tipo especial deste sistema de cultivo é o chamado de piscinão, o qual consta de um grande tanque, com cerca de 30 a 40 cm de profundidade, no qual são colocadas diversas placas de poliestireno com as plantas a serem cultivadas (NETO, 2012).

Existem inúmeras soluções nutritivas propostas na literatura, em alguns casos, ocorrem diferenças entre elas com relação às concentrações dos macronutrientes e micronutrientes, porém para os micronutrientes as diferenças são bem menores (FURLANI et al., 1999). No Brasil, têm sido utilizadas em pesquisas com nutrição mineral de plantas, algumas soluções nutritivas como as propostas por Hoagland e Arnon (1950), Sarruge (1975), Castellane e Araújo (1995) e Furlani et al. (1999).

Muitas fórmulas de soluções nutritivas têm sido usadas e avaliadas quanto à produtividade. Trabalho de Santos (1998) mostra que não há grande diferença na produtividade entre as soluções comumente utilizadas. Porém, segundo Furlani (1999), a solução nutritiva se manejada de forma incorreta, provoca redução na produtividade e na qualidade do produto. Com isso, vários cultivos hidropônicos realizados no país são levados ao fracasso em função do desconhecimento do manejo nutricional.

Para a obtenção de um cultivo hidropônico bem sucedido, alguns fatores devem ser levados em consideração, por exemplo, o ajuste frequente da solução nutritiva, para impedir que a absorção de nutrientes pelas raízes produza mudanças radicais nas concentrações de nutrientes e no pH do meio. Outro aspecto importante é o suprimento satisfatório de oxigênio ao sistema radicular,

o que pode ser conseguido borbulhando-se vigorosamente ar na solução nutritiva.

À medida que a planta absorve seletivamente a água e os nutrientes a composição da solução nutritiva se modifica (CARMELLO, 1996; FURLANI, 1998; ANDRIOLO, 1999). Em virtude disto, surge a necessidade de um monitoramento diário do pH e composição da solução nutritiva.

A disponibilidade e absorção dos nutrientes minerais são bastante influenciadas pelo pH do meio de cultivo. O pH ideal para a maioria das culturas se encontra na faixa de 5,5 a 6,5, esta faixa de pH é a ideal para a melhor absorção de macro e micro nutrientes pelas raízes das plantas. Nessa faixa de pH ocorre melhor absorção de macro nutrientes como Nitrogênio, Fósforo e Potássio, com isso as plantas tem uma condição ótima para crescimento (MALAVOLTA, 2006).

Assim como se faz o monitoramento do pH, há uma necessidade também do monitoramento diário da composição química da solução nutritiva (COSTA et al., 2001). Com isso, recomenda-se aferir a condutividade elétrica (CE) da solução, com utilização do condutivímetro, obtendo-se assim uma variável diretamente correlacionada com a concentração total de todos os nutrientes dissolvidos na solução. Soluções nutritivas muito concentradas ou muito diluídas podem dificultar a absorção da água pelas plantas e, portanto, o desenvolvimento das mesmas, ou proporcionam um desenvolvimento das plantas muito lento, devido à baixa concentração dos nutrientes.

A CE recomendada para a solução nutritiva varia para cada autor. Furlani et al. (1999) recomendam faixas de CE de 1,5 a 2,5 mS cm para alface, 1,5 a 2,0 para manjeriço, 3,0 a 3,5 para pepino e melão e 2,5 a 3,0 para tomate. Costa et al. (2001), avaliaram no estado de São Paulo o crescimento de alface cultivada hidroponicamente em soluções nutritivas com condutividade elétrica de 1,46; 2,46 e 4,21 dS m<sup>-1</sup> e obtiveram melhor desempenho em termos de biomassa fresca com a solução nutritiva que apresentava 2,46 dS m<sup>-1</sup>.

## **2.2 Nitrato e a qualidade da alface**

O nitrogênio desempenha funções importantes no metabolismo da planta, sendo que cerca de 90% do N da planta encontra-se em forma orgânica

e é assim que desempenha as suas funções, como componente estrutural de macromoléculas e constituinte de enzimas. Os “aminoácidos livres” dão origem: a outros aminoácidos e às proteínas e, por consequência, às coenzimas; são precursores de hormônios vegetais – triptofano do AIA e metionina do etileno; núcleos porfirínicos – clorofila e citocromos; reserva de N nas sementes – asparagina, arginina; às “bases nitrogenadas” (púricas e pirimídicas), aos nucleosídeos; e por polimerização destes ácidos nucleicos – DNA e RNA; ATP; coenzimas como o NAD (dinucleotídeo de nicotinamida e adenina) e o NADP (dinucleotídeo de nicotinamida adenina e fosfato) (FAQUIN, 2005).

A disponibilidade do nitrogênio é um dos fatores mais importantes no processo de crescimento e desenvolvimento das plantas (MALAVOLTA, 2006). No solo, a maior parte do nitrogênio absorvido pelas plantas está na forma de nitrato. No sistema hidropônico, o nitrogênio também é fornecido em sua maior parte, sob a forma de nitrato, já o amônio quando fornecido acima de 15% do nitrogênio total da solução, segundo Faquin et al. (1994), e 30% de acordo com Zito et al. (1994), pode ser fitotóxico, causando reduções no rendimento e na qualidade das plantas.

No processo assimilatório, o nitrato quando absorvido pela planta é reduzido para amônio. Esta redução, em sua maior parte, ocorre nas folhas e em duas etapas: a primeira no citoplasma das células, onde o nitrato é reduzido a nitrito, processo mediado pela enzima redutase do nitrato; a segunda nos cloroplastos, em que o nitrito passa para amônio, por ação da enzima nitrito redutase. Na primeira etapa, o agente redutor é o NADH<sup>+</sup>, originado na respiração, e na segunda etapa, nos cloroplastos, o agente redutor é a ferredoxina, cujos elétrons são originados na fotossíntese. (FAQUIN e ANDRADE, 2004). Na sequência, o amônio combina-se a compostos (ou cadeias) orgânicos, formando glutamina e, a partir dela, outros aminoácidos. unidades básicas na formação de proteínas, as quais participam dos processos metabólicos das plantas, tendo papel funcional e estrutural (TAIZ e ZIEGER, 2009).

Devido o nitrogênio ser mais exigido pela maioria das plantas, a recomendação de doses elevadas nas adubações tem aumentado o que traz preocupações sob dois aspectos: primeiro pela contaminação de águas e

mananciais e segundo, pela elevação dos teores de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) nos alimentos, principalmente naqueles de consumo *in natura* como as hortaliças e frutas (FAQUIN e ANDRADE, 2004).

A proporção de nitrogênio fornecido contribui em grande parte para o acúmulo de nitrato na planta, contudo outros fatores também podem ser aliados a esse processo, como por exemplo, o fator genético, fatores ambientais (intensidade luminosa, temperatura, época de cultivo), e adubação (manejo, quantidade e tipo de fertilizantes nitrogenados) (KROHN et al., 2003; FAQUIN e ANDRADE, 2004; PORTO et al., 2008).

Nesse contexto, com o objetivo de reduzir o acúmulo de nitrato pela planta, algumas medidas tem sido adotadas como exemplo: adequar a adubação nitrogenada, realizar a colheita em horários de maior intensidade luminosa, atentar para as condições de armazenamento, selecionar cultivares com menor potencial de acúmulo e controlar os efeitos ambientais buscando ativar o processo assimilatório de nitrato (TURAZI et al., 2006).

Embora o nitrato não seja considerado tóxico, quando consumido em excesso através de alimentos imbutidos ou hortaliças que possuem pré disposição ao acúmulo do íon, pode induzir efeitos tóxicos como resultado da conversão do nitrato em nitrito, processo que ocorre no trato digestivo. Em altas quantidades, o íon nitrito também é capaz de formar uma ligação irreversível com a hemoglobina do sangue, originando a meta-hemoglobina, o que dificulta o transporte de oxigênio pelas células do organismo (NASCIMENTO et al., 2008; CARTAXO, 2015).

Os níveis aceitáveis de nitrato em alface não são estabelecidos pela legislação brasileira, sendo adotados índices europeus o regulamento nº 1258/2011 da comissão de 2 de Dezembro de 2011, estabeleceu como limite máximo permitido para alface cultivada em ambiente protegido teores de 5000  $\text{mg kg}^{-1}$  na massa fresca (MF) para o período do verão e 4000  $\text{mg kg}^{-1}$  para o período de inverno (COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS, 2011). O consumo diário do íon nitrato por pessoa, segundo a *Food and Agriculture Organization* (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) são de 3,65 mg do íon nitrato e 0,133 mg do íon nitrito por kg de peso vivo. (LUZ et al., 2008; PORTO et al., 2008).

### 2.2.1 A enzima redutase do nitrato (RN)

A atuação da enzima RN é fundamental na incorporação do nitrogênio inorgânico em moléculas orgânicas, sendo a etapa limitante nesse processo. A redução do nitrato a aminoácidos depende da atividade da fotossíntese e da respiração, pois a expressão do gene e a atividade da enzima aumentam com a concentração de  $\text{NO}_3^-$ , intensidade luminosa ou níveis de carboidrato (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

A alta atividade da enzima RN indica maior capacidade na assimilação do  $\text{NO}_3^-$  disponível e assim, responsiva à adubação nitrogenada resultando em maior produtividade das culturas (VIANA; KIEHL, 2010).

A RN representa uma curta cadeia de transporte de elétrons localizada no citosol, que catalisa a transferência de dois elétrons do NAD(P)H para o nitrato (TISCHNER, 2000; KAISER e HUBER, 2001). Essa enzima pode ser classificada em três grupos: NADH específica, encontrada em algas e plantas; NADPH específica, presente em algas e plantas, porém, mais comum em fungos (GUERRERO et al., 1981). Além dessas formas há relatos da existência de uma RN associada à membrana plasmática (NRPM), para diversas espécies mas sua função ainda não foi totalmente esclarecida, visto que a RN citossólica (NRC) é a principal forma de catalisar a redução do nitrato a nitrito (STOHR e ULLRICH, 1997).

Os estudos do uso da atividade enzimática em tecidos vegetais, como indicadora do estado nutricional de plantas, surgiram nas décadas de 60 e 70. Esses estudos contribuíram para o avanço das pesquisas com métodos enzimáticos, apesar do avanço das pesquisas com enzimas, existe a necessidade de maiores estudos sobre a atividade enzimática (aRN) em plantas, devido ao fato de diversos fatores endógenos e exógenos exercerem influência na atividade dessa enzima, um exemplo disso pode-se citar o efeito da luz sobre a indução da RN. Assim como o nitrato, a ausência de luz induz uma alta expressão dos genes da RN. (TISCHNER, 2000 e LILLO et al., 2001).

Em relação à nutrição da alface em cultivo hidropônico, entende-se que a atividade da RN pode servir como uma ferramenta complementar no diagnóstico, auxiliando na recomendação de doses dos fertilizantes nitrogenados.

### 2.3 Proporções de nitrato e amônio em plantas

Na nutrição de plantas, o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e o amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) são as principais formas iônicas abundantes e acessíveis. O N, quando absorvido sob a forma de  $\text{NO}_3^-$ , requer a redução desse íon a  $\text{NH}_4^+$ , para sua posterior incorporação a compostos orgânicos, cujo processo consome grandes quantidades de equivalentes redutores (HACHIYA et al., 2007). Em contraste, o  $\text{NH}_4^+$ , ao ser absorvido pela planta, já se apresenta como forma iônica prontamente disponível para ser incorporada a compostos orgânicos, constituindo-se, assim, a fonte de N preferida em termos de custo de energia para a sua assimilação pelas plantas (HACHIYA et al., 2012). Entretanto, o  $\text{NH}_4^+$  quando fornecido em altas concentrações, é considerado tóxico para muitas espécies de plantas, causando redução do crescimento (BRITTO & KRONZUCKER, 2002).

Estudos apontam que a maioria das plantas superiores desenvolve sintomas tóxicos graves, quando cultivada apenas com amônio. O efeito tóxico da adubação nitrogenada na forma de amônio influencia no crescimento e no desenvolvimento das plantas, com isso, algumas espécies de plantas podem ser tolerantes ou não ao excesso de amônio no meio de cultivo (CRUZ et al., 2011). Os sintomas que as plantas apresentam quando absorvem N amoniacal ou nítrico são muito amplos, mesmo sendo da mesma espécie, de maneira que há diferenças entre variedades, quanto ao desenvolvimento, sob aplicação de amônio e de nitrato (HUANG et al., 2013).

O uso do nitrogênio na forma de nitrato/amônio na solução nutritiva é objeto de estudo e assunto controverso, onde muitos autores expõem opiniões diferentes a respeito dessa proporção. Para Britto e Kronzunker (2002), uma nutrição balanceada de N incluindo nitrato e amônio, pode proporcionar rendimentos superiores nas culturas comparado a utilizar apenas uma das fontes nitrogenadas. Contudo, ao estudarem diferenças fisiológicas em plantas de cevada, sob fontes de N (amoniacal e nítrica), Lopes e Araus (2008), verificaram que o N amoniacal promoveu diminuição da fotossíntese e no crescimento das plantas. Já em estudos com *Pisum sativum* L., Cruz et al. (2011), observaram que a ervilha apresentou tolerância ao excesso de N amoniacal e nítrico, de forma que o acúmulo de biomassa e os parâmetros fotossintéticos não foram

prejudicados pelo efeito de altas concentrações de N (até 10 mmol L<sup>-1</sup>). Os autores observaram também, que houve ativação da enzima glutamato desidrogenase, importante no metabolismo do nitrogênio sendo esta enzima, responsável pela catalise da amilação reversível do glutamato (MARCHI et al., 2014)

Ao avaliar os efeitos de fontes de nitrogênio nítrica e amoniacal em plantas de *Canna indica* L. sobre variáveis bioquímicas e fisiológicas, Konnerup e Brix (2010), concluíram que as plantas apresentaram maiores taxas fotossintéticas quando aplicado N amoniacal.

Em estudo com plantas de *Solanum lycopersicum* L., Borgognone et al. (2013), verificaram com o uso do amônio em excesso que ocorreu aumento da taxa de transpiração das plantas enquanto Vaculíková et al., (2014) observaram a diminuição da eficiência fotossintética de *Zea mays* L., causando menor crescimento das plantas.

O excesso de amônio também proporciona desequilíbrios nutricionais em plantas (PRADO, 2008). Existem relatos de que o NH<sub>4</sub><sup>+</sup> em excesso na solução nutritiva diminui os acúmulos dos cátions K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup> na parte aérea e na raiz, em espécies de *Eustoma grandiflorum* L. (VILLARREAL et al., 2015); *Fragaria* spp L. (CHOI et al., 2011) e *Eucalyptus urophylla* L. (GUIMARÃES et al., 2014).

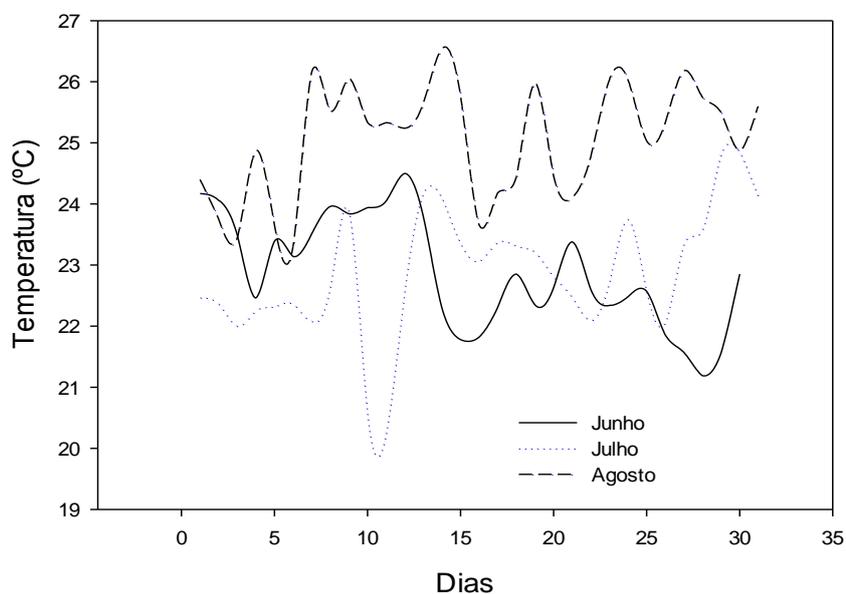
O desequilíbrio entre esses íons ocorre pelo fato do NH<sub>4</sub><sup>+</sup> competir pelos mesmo sítios de absorção de outros cátions (MARSCHNER, 2012). O aumento do influxo de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e de e fluxo de cátions na membrana plasmática promove a extrusão destes íons para o vacúolo celular, podendo causar sintomas de deficiência às plantas (VILLARREAL et al., 2015).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1.1 Localização e dados meteorológicos**

A pesquisa foi desenvolvida em sistema hidropônico do tipo DFT também chamado de Floating, na Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, localizada na cidade de Alta Floresta, MT no período de Junho à Agosto de 2018. O município está localizado geograficamente à -10,077262° latitude e -56,179221° longitude, com altitude de 292 metros e o clima do município é do tipo tropical Am, segundo a classificação de KOPPEN, (2007). As

médias mensais da temperatura na região, nos meses de condução dos experimentos foram de 23,0; 23,0 e 25,0 °C para os meses de Junho, Julho e Agosto, respectivamente, segundo INMET (Figura 1).



**Figura 1.** Temperatura diária média no período de Junho à Agosto de 2018. Fonte: INMET.

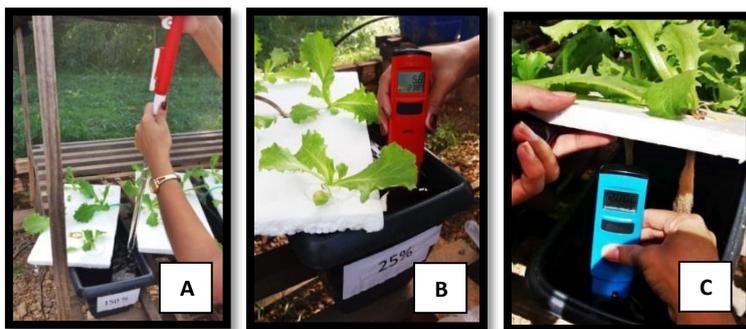
### 3.1.2 Caracterização do local de instalação dos experimentos e condução

Os experimentos foram conduzidos em cultivo protegido, do tipo arco coberto com filme de polietileno com fechamento lateral e frontal com tela de sombreamento de 50%. Foi utilizado, a cultivar de alface Great Lakes 659, tipo Americana, cuja a sementeira foi realizada em bandeja de poliestireno de 162 células contendo substrato comercial. Foram semeadas duas sementes por célula e após a emergência, realizou-se o desbaste, deixando-se uma planta por célula.

Aos 15 dias após a sementeira, as mudas foram transplantadas para o local de crescimento, sendo utilizados vasos de polipropileno com volume de 7 litros cobertos com placas de poliestireno para dar suporte às mudas.

A solução nutritiva adotada seguiu as recomendações de Hoagland & Arnon (1950) com modificações na concentração de N-nitrato. A solução nutritiva foi mantida em aeração constante mediante injeção forçada de ar por compressor modelo Super II potência 5 W, e a condutividade elétrica mantida na

faixa de 1,5 à 2,5 mS cm<sup>3</sup>, mediante a troca da solução quando o valor da solução atingia níveis abaixo de 1,5 mS cm<sup>3</sup>. Diariamente aferiu-se o pH da solução nutritiva, sendo mantido entre 5,8 e 6,2 mediante uso de soluções diluídas (0,1 M) de HCl e NaOH (Figura 2).



**Figura 2.** Etapas de condução dos experimentos: adição dos nutrientes (A), aferição de pH (B) e condutividade elétrica (C). UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018.

O estudo foi desenvolvido em duas etapas: No experimento I foram avaliadas cinco concentrações de nitrogênio: 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 e 15,0 mmol L<sup>-1</sup> que correspondem à 25%, 50%, 75%, 100% e 150% da concentração de N na solução nutritiva (Tabela 1). No experimento II, avaliou-se a melhor relação nitrato/amônio com cinco proporções: 0/100; 25/75; 50/50; 75/25 e 100/0 correspondendo às proporções de 0; 25; 50; 75 e 100% de nitrato em relação ao amônio (Tabela 2). Os experimentos foram conduzidos com delineamento em blocos ao acaso, com cinco tratamentos (doses de N) e quatro repetições (plantas por vaso), sendo realizado a média de duas plantas por repetição.

Para a composição da solução nutritiva do primeiro experimento, foi utilizada como fonte de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, o nitrato de cálcio (Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O) sendo realizado o balanceamento do cálcio utilizando-se cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O) 147,02g (Tabela 1).

**Tabela 1.** Proporção de nitrato e concentração dos nutrientes na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018.

NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (%)	Fertilizantes	Solução Estoque (g L <sup>-1</sup> )	Volume Solução (mL L <sup>-1</sup> )	Balanceamento (mL L <sup>-1</sup> )
25	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	136,09	1,0	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> ) 12,5
	Ca(NO <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> 4H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	236,16	2,5	
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	247,47	2,0	
	KCl (1 Mol L <sup>-1</sup> )	74,56	5,0	
50	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	136,09	1,0	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> ) 10,0
	Ca(NO <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> 4H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	236,16	5,0	
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	247,47	2,0	
	KCl (1 Mol L <sup>-1</sup> )	74,56	5,0	
75	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	136,09	1,0	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> ) 7,5
	Ca(NO <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> 4H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	236,16	7,5	
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	247,47	2,0	
	KCl (1 Mol L <sup>-1</sup> )	74,56	5,0	
100	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	136,09	1,0	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> ) 5,0
	Ca(NO <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> 4H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	236,16	10,0	
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	247,47	2,0	
	KCl (1 Mol L <sup>-1</sup> )	74,56	5,0	
150	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	136,09	1,0	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> ) 0,0
	Ca(NO <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> 4H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	236,16	15,0	
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	247,47	2,0	
	KCl (1 Mol L <sup>-1</sup> )	74,56	5,0	
Solução de micronutrientes (*)			1,0	
Ferro quelato (**)			1,0	

(\*) - (g L<sup>-1</sup>) H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> = 2,86; MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O = 1,81; ZnCl<sub>2</sub> = 0,10; CuCl<sub>2</sub> = 0,04; H<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O = 0,02 (HOAGLAND & ARNON, 1950).

(\*\*) - (g L<sup>-1</sup>) Fe-quelato = 0,016.

Para referidas proporções de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no segundo experimento, foram utilizadas as fontes nitrato de cálcio (Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O), nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>) e cloreto de amônio (NH<sub>4</sub>Cl), respectivamente. O balanceamento das concentrações de cálcio entre os tratamentos, também foi realizado utilizando-se cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O) 147,02g (Tabela 2).

**Tabela 2.** Proporção de nitrato e amônio e concentrações dos nutrientes na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018.

NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (%)	Fertilizantes	Solução Estoque (g L <sup>-1</sup> )	Volume Solução (mL L <sup>-1</sup> )	Balanceamento (mL L <sup>-1</sup> )
100/0	Ca(NO <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> 4H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	236,16	5,0	
	KNO <sub>3</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	101,11	5,0	
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	136,09	1,0	
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	247,57	2,0	

75/25	Ca(NO <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> 4H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	236,16	2,5	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	2,5
	KNO <sub>3</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	101,11	5,0		
	NH <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	53,49	2,5		
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	136,09	1,0		
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	247,57	2,0		
50/50	KNO <sub>3</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	101,11	5,0		
	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	147,02	5,0		
	NH <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	53,49	5,0		
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	136,09	1,0		
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	247,57	2,0		
25/75	Ca(NO <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> 4H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	236,16	2,5	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	2,5
	KCl (1 Mol L <sup>-1</sup> )	74,56	5,0		
	NH <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	53,49	7,5		
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	136,09	1,0		
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	247,57	2,0		
0/100	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O (Mol L <sup>-1</sup> )	147,02	5,0		
	KCl (1 Mol L <sup>-1</sup> )	74,56	5,0		
	NH <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	53,49	10,0		
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (1 Mol L <sup>-1</sup> )	136,09	1,0		
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (1 Mol L <sup>-1</sup> )	247,57	2,0		
	Solução de micronutrientes (*)		1,0		
	Ferro quelato (**)		1,0		

(\*) - (g L<sup>-1</sup>) H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> = 2,86; MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O = 1,81; ZnCl<sub>2</sub> = 0,10; CuCl<sub>2</sub> = 0,04; H<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O = 0,02 (HOAGLAND & ARNON, 1950).

(\*\*) - (g L<sup>-1</sup>) Fe-quelato = 0,016.

### 3.2 Características agrônomicas e qualitativas avaliadas

#### 3.2.1 Análises morfológicas

Aos 35 dias após o transplântio para local definitivo, as plantas foram colhidas, sendo avaliado o crescimento vegetativo das plantas analisado mediante a determinação das variáveis: número de folhas por planta (NF): contagem das folhas de cada planta, desconsiderando-se as senescentes; diâmetro do caule (DC): mensurado com auxílio de régua milimetrada; comprimento da parte aérea (CPA): mensurado com auxílio de régua milimetrada, medindo a partir da base até o ápice das folhas; volume da raiz (VR): obtido pela alteração de água em proveta; massa fresca da parte aérea (MFPA): avaliado após a colheita das plantas pesando-se em balança analítica de precisão modelo Ohaus Adventure<sup>®</sup>, massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR): as folhas e raízes foram secas em estufa com circulação e renovação forçada de ar, a 65°C, até atingir peso constante com posterior a pesagem em balança analítica.

### 3.2.2 Análise da atividade da enzima redutase do nitrato (RN)

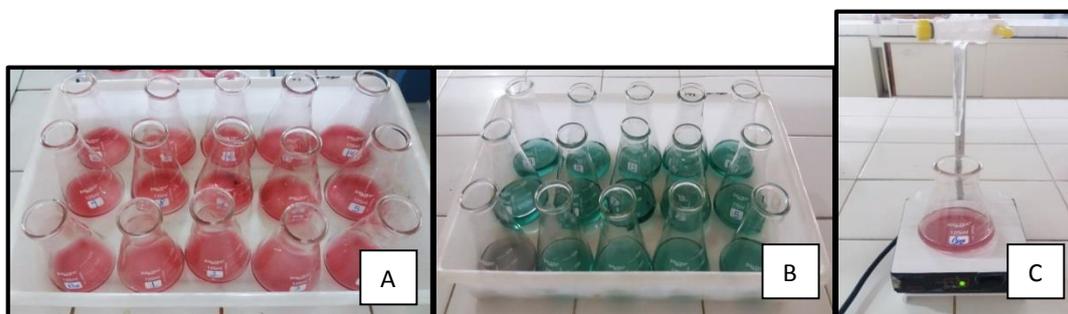
A atividade da enzima redutase do nitrato foi estimada "in vivo", utilizando-se o método descrito por Jaworski (1971). Para a determinação da RN realizou-se a coleta de folhas sempre entre 10:00 e 13:00 hs, baseado em Hageman e Reed (1980) período em que as plantas receberam pelo menos três horas de sol e a redutase do nitrato atinge sua máxima atividade. De cada amostra, foram retirados 300 mg de fragmentos foliares colocados em recipiente escuro com 2,5 mL de solução tampão fosfato em pH 7,4; 2,5 mL de KNO<sub>3</sub> (P.A); 2,5 mL de n-butanol 1% (v/v); 1,0 mL de Triton X-100 0,1% (v/v) e 1,5 mL de água deionizada (Figura 3A). As amostras preparadas foram mantidas em recipiente a vácuo por 3 minutos, com a finalidade de aumentar a penetração da solução nos tecidos. Em seguida os frascos contendo as amostras foram incubados em banho-maria a 30°C por 90 minutos no escuro, onde ao término desse período interrompeu-se a reação adicionando nos frascos 1,0 mL da solução de sulfanilamida (P.A). Após suave agitação, retirou-se uma alíquota de 0,5 mL transferida para o tubo de reação, para a determinação de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> formado (Figura 3B). Nesse tubo foi adicionado 0,5 mL de solução sulfanilamida, 0,5 mL de solução de dicloridrato N-(1-naftil)-etilenodiamina (P.A), e após 20 minutos o volume do tubo foi completado com 2,5 mL de água deionizada. A leitura foi realizada em espectrofotômetro UV a 540 nm, e a atividade da enzima RN calculada com base na equação de uma curva padrão feita com soluções diluídas de NaNO<sub>2</sub><sup>-</sup> (P.A), expressa em micromol de nitrito liberado por grama de massa fresca de tecido foliar, por hora de incubação ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$  de NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) (Figura 3 C).



**Figura 3.** Análise da enzima redutase do nitrato em matéria fresca de folhas de alface. Peso de fragmentos de folhas de alface (A), frascos com meio de incubação em infiltração a vácuo (B) e curva padrão preparada com soluções diluídas de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (C). UNEMAT, Alta Floresta (MT), 2018.

### 3.2.3 Determinação do nitrogênio total

A determinação do nitrogênio total seguiu a metodologia descrita pela Embrapa (2009). Para a determinação utilizou-se 0,1 g de matéria seca foliar, sendo esta colocada em tubo de ensaio onde foi adicionado 1,0 g da mistura de indicadores (sulfato de cobre e sulfato de potássio). Posteriormente os tubos foram levados à capela de exaustão e adicionados 3 mL de ácido sulfúrico 98% (P.A) e 1 mL de peróxido de hidrogênio 35% (P.A). Logo após, o material passou por digestão à temperatura de até 350 °C com ajuste manual através do bloco digestor, sendo a temperatura elevada gradativamente até a obtenção de um líquido de cor esverdeado (Figura 4A). Após o término da digestão, os tubos foram completados com 50 mL de água destilada e o material digerido transferido para o destilador semimicro Kjeldahl modelo TECNAL. Na extremidade do destilador foi adicionado um béquer de 125 mL contendo 15 mL de ácido bórico, e no digerido adicionou-se 20 mL de NaOH 40% (P.A). A coloração da solução de ácido sulfúrico passou de vinho para verde com o término da destilação (Figura 4 B) e ao fim da destilação, realizou-se a titulação com a solução de HCl 0,01 mol L<sup>-1</sup> até obter a coloração inicial cor vinho (Figura 4 C).

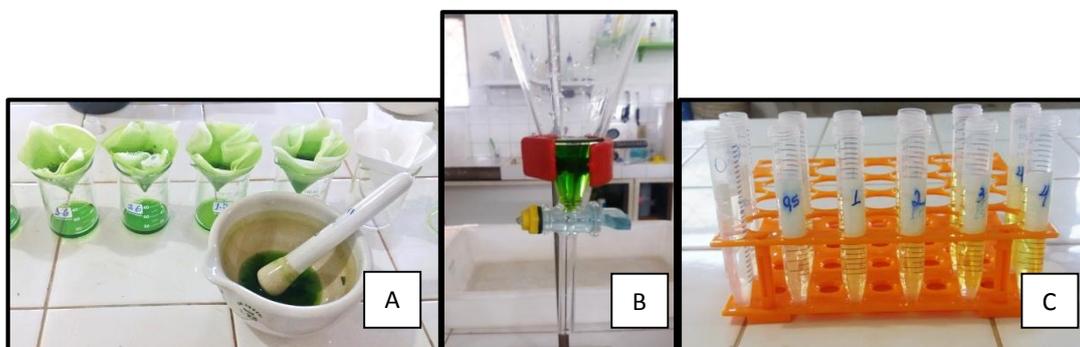


**Figura 4.** Análise de nitrogênio na matéria seca de folhas de alface. Béquer com 15 mL de ácido bórico (A), amostras após a destilação (B) e Titulação com solução de HCl 0,01 mol L<sup>-1</sup> com obtenção da cor inicial (C). UNEMAT, Alta Floresta (MT), 2018.

### 3.2.4 Determinação do teor de nitrato

O teor de nitrato foi determinado pelo método descrito por Cataldo et al. (1975), a partir do tecido fresco de folhas. Para a extração, foi utilizado 0,1 g de tecido foliar fresco picado. O material foi acondicionado em béquer com 20 mL de álcool etílico 80% e permaneceu refrigerado por 12h. Posteriormente o material foi triturado em almofariz e filtrado em quatro camadas de gaze clínica e papel filtro qualitativo Whatman® (Figura 5A). O filtrado foi transferido para funil

de separação e adicionado igual volume de clorofórmio. Após suave agitação o material permaneceu em repouso por 40 minutos para a completa separação (Figura 5B). A fração apolar foi descartada e a fração polar recolhida. O extrato foi completado para 25 mL com etanol a 80% e armazenado em geladeira. Para a determinação, alíquotas de 0,3 mL de extrato receberam 1,2 mL de solução de ácido salicílico ( $\text{HC}_7\text{H}_5\text{O}_3$ ) 5% em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado 98% (P.A) e 8,5 mL de  $\text{NaOH}$   $2 \text{ mol L}^{-1}$  (P.A) e, em seguida, foi feita a leitura da absorbância a 410 nm. Os resultados foram expressos em mg de  $\text{N-NO}_3^-$  na matéria fresca das plantas, com o auxílio de uma curva de calibração preparada a partir de soluções diluídas de  $\text{KNO}_3$  que receberam o mesmo tratamento dado às amostras (Figura 5 C).

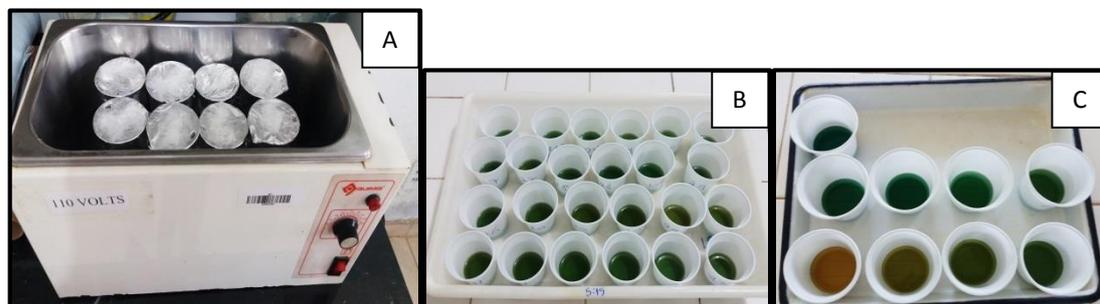


**Figura 5.** Análise do teor de nitrato na matéria fresca de folhas de alface. Extração alcoólica com tecido fresco foliar (A), funil de separação contendo extrato + clorofórmio (B) e curva de calibração preparada com soluções diluídas de  $\text{KNO}_3$  (C). UNEMAT, Alta Floresta (MT), 2018.

### 3.2.5 Determinação do teor de amônio

O teor de amônio foi determinado pelo método descrito por Weatherburn (1967). Para a extração utilizou-se 100 mg de tecido foliar seco em estufa à temperatura de  $30^\circ\text{C}$ . Em cada amostra foi adicionado 5 mL de água deionizada e o material vegetal levado ao banho-maria por 1 hora à  $100^\circ\text{C}$  e, em seguida, o extrato foi filtrado em papel filtro quantitativo Unifil® (Figura 6A). Para a determinação, retirou-se 1 mL do filtrado e transferiu-se para um recipiente, onde foi adicionado 9 mL de água destilada, 5 mL do reagente A (100 mL de hidróxido de sódio (0,3 M), 100 mL de salicilato de sódio (1,06 M) (P.A) e 100 ml de água destilada) e 2 mL de solução diclorisocianurato (P.A) (Figura 6B). Após repouso de 30 minutos, seguiu-se a leitura no espectrofotômetro a 630 nm.

Os cálculos foram feitos com auxílio de uma curva padrão preparada com soluções diluídas de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (P.A) (Figura 6 C).



**Figura 6.** Análise do teor de amônio em folhas de alface. Extração em banho-maria a 100 °C (A), amostras após extração com adição dos reagentes (B) e curva padrão preparada com soluções diluídas de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (C). UNEMAT, Alta Floresta (MT), 2018.

### 3.3 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e ao estudo de regressão polinomial, empregando o nível de significância de até 5%, utilizando o programa estatístico SISVAR<sup>®</sup> (FERREIRA, 2014).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análises morfológicas

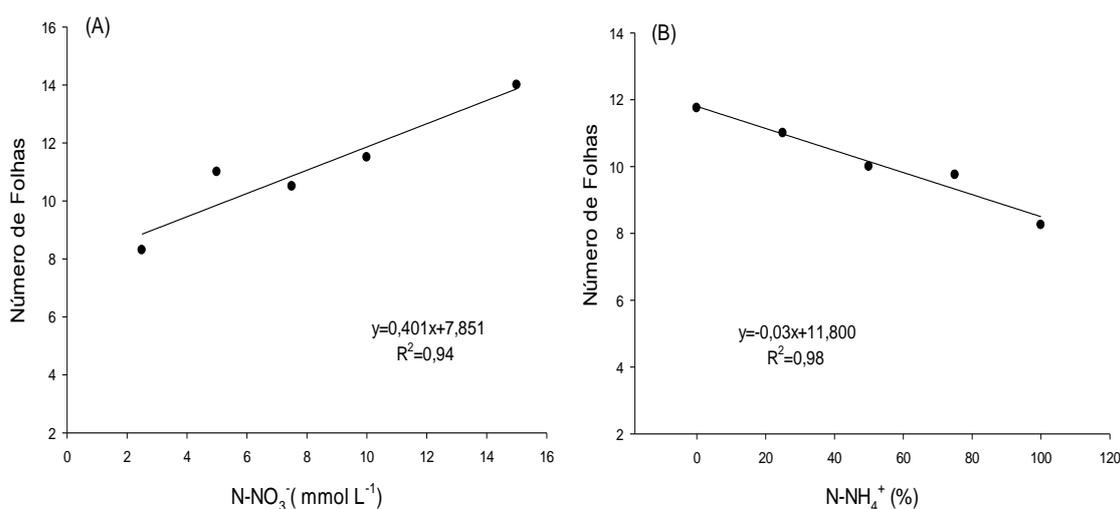
Para a concentração de N, verificou-se efeito significativo pelo teste de F, sendo que o número de folhas, comprimento da parte aérea e massa fresca da parte aérea, apresentaram diferença significativa ao nível de  $P \leq 0,01$  de significância. O diâmetro do caule, a massa seca da parte aérea, massa fresca da raiz e volume de raiz, apresentaram diferença significativa ao nível de  $P \leq 0,05$ . Já a massa seca da raiz não apresentou diferença significativa.

A análise de variância para as proporções de nitrato/amônio na solução nutritiva demonstraram diferença estatística pelo teste F, onde somente o diâmetro do caule apresentou diferença significativa ao nível de  $P \leq 0,05$ , e as demais variáveis apresentaram diferença ao nível de  $P \leq 0,01$ .

#### 4.1.1 Número de folhas por planta (NF)

Para o número de folhas houve ajuste no modelo de regressão linear onde, o aumento da concentração do nitrogênio na forma de  $\text{NO}_3^-$  contribuiu para

maior número de folhas por planta, atingindo a média de 14 folhas por planta (Figura 7A). Já o uso de nitrogênio amoniacal na solução nutritiva promoveu diminuição linear na produção de folhas por planta (Figura 7B). Observou-se que proporções superiores de amônio levaram a cultura da alface a reduzir seu rendimento, bem como a qualidade visual, ao contrário do amônio, enquanto, o nitrato em elevadas concentrações não causou toxidez para as plantas, contribuindo com maior incremento de área foliar.



**Figura 7.** Número de folhas de alface cultivada em sistema hidropônico em função de concentrações de nitrato (A) e proporções de nitrato/amônio (B) na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018.

A redução no número de folhas com a solução N-nítrica (Figura 7A) provavelmente ocorreu devido a diminuição no teor de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, já que a redução no teor de nitrogênio proporciona decréscimos na produtividade da alface. Em estudo realizado por Almeida et al. (2011), foi observado que a deficiência de nitrogênio, influenciou no crescimento das plantas que foi afetado de forma significativa, causando decréscimo na altura das plantas, área foliar e número de folhas de alface.

Em alface, quanto maior o número de folhas maior será a matéria fresca resultando em produtividade e maior interesse comercial. Segundo Mota et al. (2001) o número de folhas por planta (NF) da alface é uma característica bastante interessante, já que aquisição do produto pelo consumidor é feita por unidade e não por peso.

#### 4.1.2 Diâmetro do caule (DC) e comprimento da parte aérea (CPA)

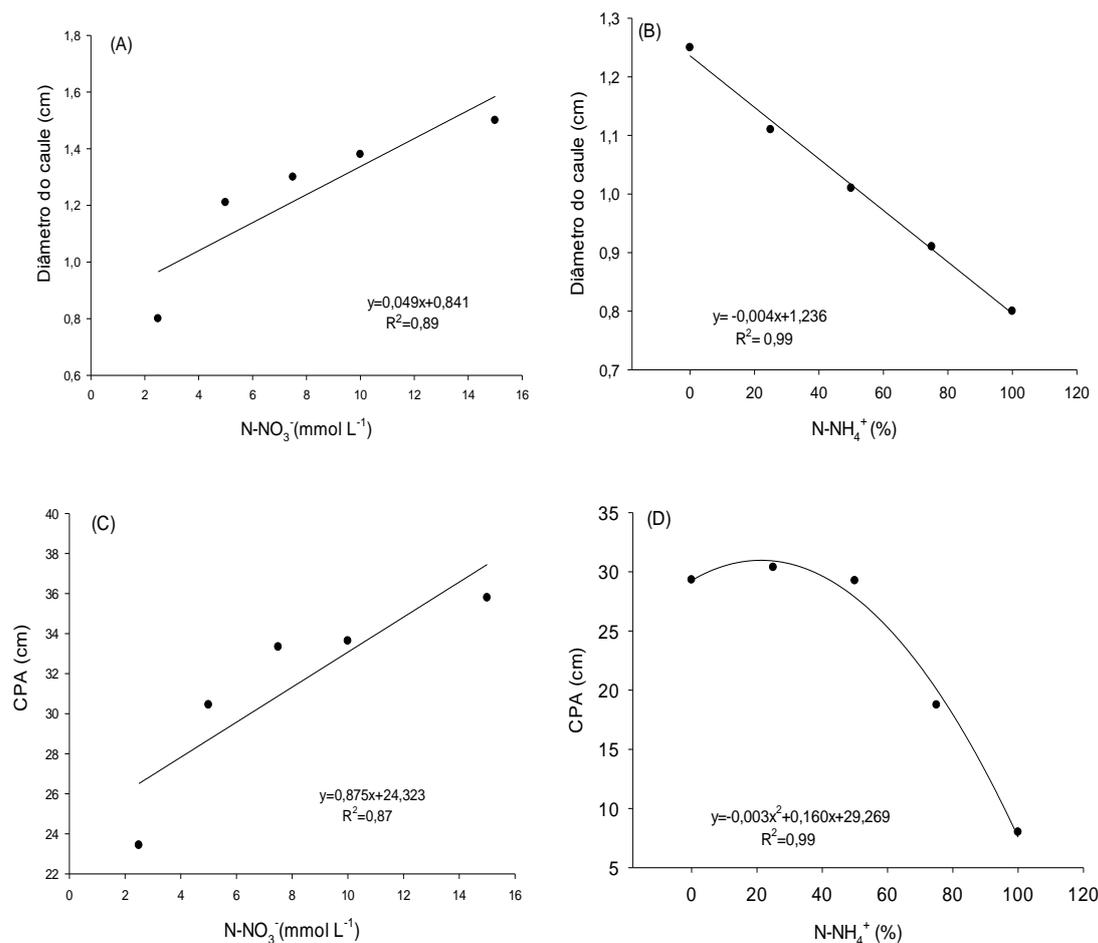
As concentrações de N-nitrato na solução nutritiva promoveram aumento linear no diâmetro do caule (Figura 8A) e também no crescimento da parte aérea (Figura 8C).

A proporção nitrato/amônio na solução, reduziu linearmente o diâmetro do caule com o aumento da concentração de amônio (Figura 8B). Já o comprimento da parte aérea, obteve maior incremento com a relação nitrato/amônio com 26% de amônio (Figura 8D).

Os resultados do presente estudo se assemelham com trabalhos de diversos autores, que também observaram o efeito negativo do amônio no crescimento das plantas e no diâmetro do caule. Trabalhos como o de Borgognone et al. (2013), Guimarães; Cairo; Neves, (2014) e Villarreal et al. (2015), respectivamente com as espécies *Solanum lycopersicum* L., *Eucalyptus urophylla* L. e *Eustoma grandiflorum* L., também verificaram o efeito negativo no aumento da concentração de amônio sobre o desenvolvimento das plantas.

Semelhanças com os resultados do presente estudo, também foram verificados por Sousa et al. (2010), que ao estudarem o efeito do nitrato e amônio sobre o crescimento de *Solanum melongena* L., constataram que as plantas responderam significativamente onde a maior altura da planta foi obtida na relação  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  de até 75:25%.

Elevadas concentrações de amônio além de influenciar negativamente no crescimento da planta, também podem inferir no teor de clorofila nas folhas, dentre outros fatores. Um estudo realizado por Jampeetong, Brix e Kantawanichkul (2012), com plantas de *Salvinia cucullata* L. sob concentrações de amônio (0,5 a 15,0 mmol L<sup>-1</sup>), revelou que concentrações acima de 5,0 mmol L<sup>-1</sup> ou 50% de amônio, induziu o aparecimento de cloroses foliares e redução do crescimento da parte aérea e das raízes, associado aos menores teores de clorofilas, carotenóides e de K nos tecidos do vegetal.



**Figura 8.** Diâmetro do caule de alface (A) e comprimento da parte aérea (C) em função de concentrações de N-nitrato da solução nutritiva e diâmetro do caule de alface (B) e comprimento da parte aérea (D) em função das proporções de nitrato/amônio na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018.

A redução do crescimento da parte aérea de algumas plantas não tolerantes ao íon amônio, ocorre devido a entrada excessiva do íon nas células das raízes, sendo assim, transportadores de baixa afinidade ocupam canais de outros cátions, provocando um fluxo do íon NH<sub>4</sub><sup>+</sup> para fora das células, o que resulta em um elevado gasto energético necessário para bombear o excesso do íon NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Com isso, o elevado consumo de ATP resulta no aumento da respiração nas raízes, retardando seu crescimento (LUCENA et al., 2016).

#### **4.1.3 Massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR) e volume de raiz (VR)**

Para a massa fresca da parte aérea a concentração de 15,0 mmol L<sup>-1</sup> de nitrato, contribuiu para o maior rendimento de massa fresca foliar (Figura 9A). Este resultado comprova a importancia de estudar a melhor concentração de N no cultivo de plantas, conforme afirmaram Broadley et al. (2000), as plantas em condições limitantes de nitrogênio apresentam redução na massa fresca de folhas.

Para a massa fresca da raiz e volume de raiz os resultados foram similares, onde o aumento de N-nitrato na solução contribuiu para maior incremento na massa fresca e no volume de raiz (Figura 9C e E).

O aumento no volume de raiz pode ser atribuído ao fato de que o suprimento de nitrato para a planta promove a ativação de genes envolvidos no desenvolvimento celular. Em estudo com suprimento de nitrato em plantas, Liu et al. (2008) observaram que plantas supridas com NO<sub>3</sub><sup>-</sup> apresentaram maior crescimento de raízes laterais acompanhado de maior expressão de ZmMHA4, assim como outros genes envolvidos na absorção de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (ZmNRT2.1), crescimento e divisão celular (expansina, ZmExpA1) e aquaporinas (ZmTIP2-3). Isso demonstra que o efeito do NO<sub>3</sub><sup>-</sup> está relacionado ao aumento da turgescência e absorção celular com consequente crescimento.

As proporções de amônio na solução nutritiva afetaram a produção de massa fresca foliar, e de raiz e o volume de raiz. Para a massa fresca da parte aérea, observa-se que o aumento da proporção NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> com maiores concentrações de amônio levou à perda de rendimento da cultura, com ponto de máximo em 95 g implementada em teores de amônio com máximo em 23%, sendo observado uma perda significativa em torno de 78% de massa fresca (Figura 9B).

Resultados semelhantes a respeito do uso da fonte amoniacal na solução, sobre desenvolvimento de alface, também foi relatado por Faquin et al. (1994) em estudo com proporção de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> de 100:0; 85:15 e 70:30 (%) na solução nutritiva, os autores encontraram os seguintes valores de fitomassa fresca da parte aérea: 302,5; 250 e 123,3 g planta<sup>-1</sup> respectivamente, revelando

perdas em rendimento da ordem de 59% a partir de 15% do N total da solução na forma amoniacal.

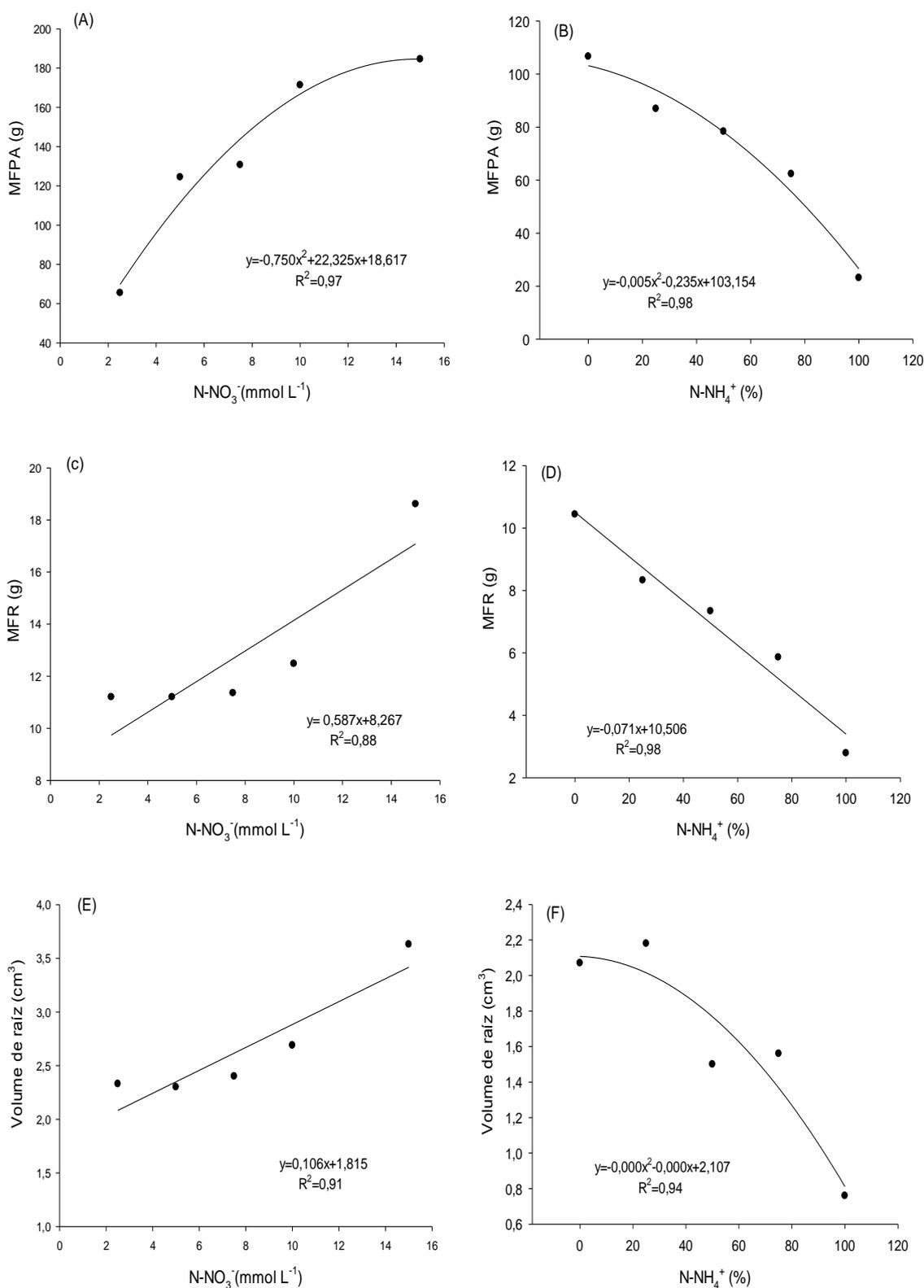
A redução no rendimento da alface com o aumento do teor de amônio na solução pode ser atribuída a diversos fatores, dentre eles o fato do íon  $\text{NH}_4^+$  ser tóxico para as células vegetais, uma vez que atua como desacoplador entre o fluxo de elétrons e a fosforilação oxidativa ou fotofosforilação (TAIZ et al., 2017).

Além de atuar como desacoplador entre o fluxo de elétrons, o excesso de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) no tecido vegetal dissipa o gradiente de prótons ou seja, absorção de cátions entre as membranas das células; e este gradiente é necessário para os processos de fotossíntese e respiração, além de ser importante na transpiração e acúmulo de metabólitos para o vacúolo, (FERREIRA, 2002).

Outro fator que o aumento do N-amônio provoca nas plantas, é o desequilíbrio entre os íons, que ocorre devido aos distúrbios nutricionais nas plantas, devido ao efeito competitivo do  $\text{NH}_4^+$  em relação aos cátions, por serem íons que competem pelos mesmos sítios de absorção (MARSCHNER, 2012).

O aumento da proporção de amônio na solução, reduziu linearmente a produção de massa fresca da raiz (Figura 9D). Para o volume de raiz, a menor concentração de amônio contribuiu para o maior incremento do volume de raiz, atingindo o volume máximo de  $2,10 \text{ cm}^3$  em até 3% de amônio (Figura 9F).

Resultados semelhantes ao do presente estudo foram observados por Tian et al. (2003), onde em pesquisa com proporções de amônio em alface, os autores demonstraram que 50% do N na forma de  $\text{NH}_4^+$  reduziu significativamente o desenvolvimento do sistema radicular da alface, tornando as plantas suscetíveis a patógenos.



**Figura 9.** Massa fresca da parte aérea (A) massa fresca da raiz (C) e volume de raiz (E) em função de concentrações de N-nitrato da solução nutritiva e massa fresca da parte aérea (B) massa fresca da raiz (D) e volume de raiz (F) em função das proporções de nitrato/amônio na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018.

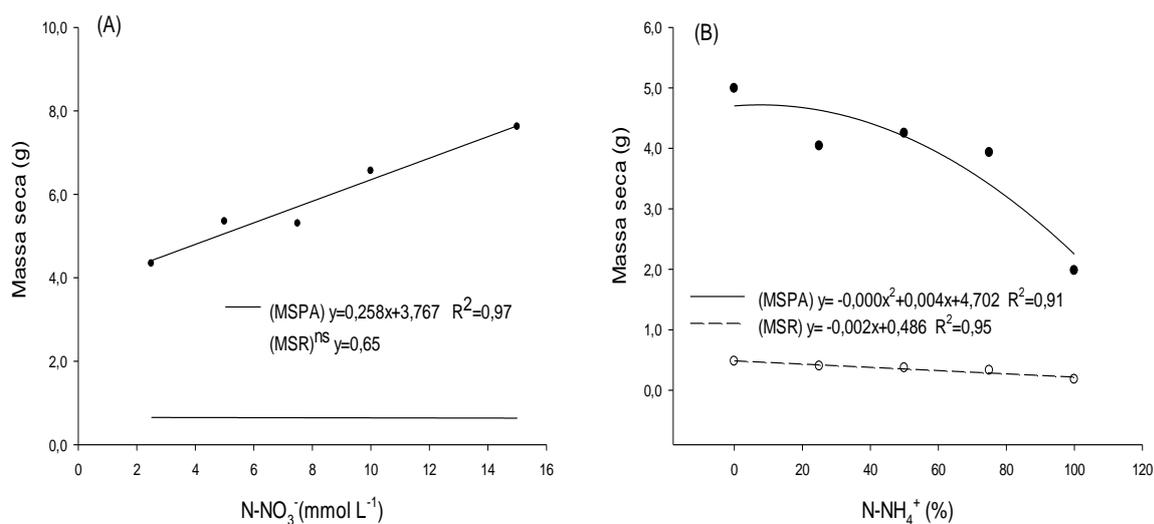
#### 4.1.4 Massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR)

O uso crescente de concentrações de N-nitrato na solução nutritiva proporcionou aumento no incremento de massa seca foliar. Já a massa seca da raiz, não apresentou diferença significativa entre as doses com média de  $y=0,65$  g massa seca (Figura 10 A).

A solução nutritiva com proporção de nitrato/amônio levou ao declínio da produção de massa seca foliar conforme o aumento da concentração de amônio na solução, apresentando o valor máximo em 7% de amônio (Figura 10B). Este fato ocorreu devido o excesso de N amoniacal causar toxidez na cultura da alface, diminuindo a biomassa fresca da parte aérea refletindo em prejuízos no acúmulo de matéria seca, sendo o excesso de nitrato tolerável pela maioria das plantas, pois são acumulados nos vacúolos não apresentando sintomas de toxicidade (LASA et al., 2001 e 2002).

Resultados similares ao do presente estudo também foram observados por Barreto et al. (2018) ao estudar proporções de  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  na cultura do tomate em hidroponia. Os autores observaram que a proporção de 100:0 e 75:25 nitrato/amônio forneceu maior acúmulo de matéria seca em plantas de tomate. Esses resultados demonstram que a tolerância pelo íon amônio pode variar entre as espécies de plantas, contudo, vale ressaltar que no presente estudo com alface cv. Americana, concentrações de amônio em 25% já proporcionaram redução na produção da matéria fresca e seca da cultura.

A solução nutritiva contendo N-amônio em altas concentrações causou efeitos negativos para a planta, seguindo a mesma tendência observada nas variáveis anteriores. Esses resultados corroboram com os de Silva et al. (2010), que estudando os efeitos dos íons amônio e nitrato no desenvolvimento do *Helianthus annuus* L. constataram que o tratamento com a proporção 100:0 ( $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ ) foi o que apresentou menor incremento na massa seca nas folhas, haste e raiz das plantas.



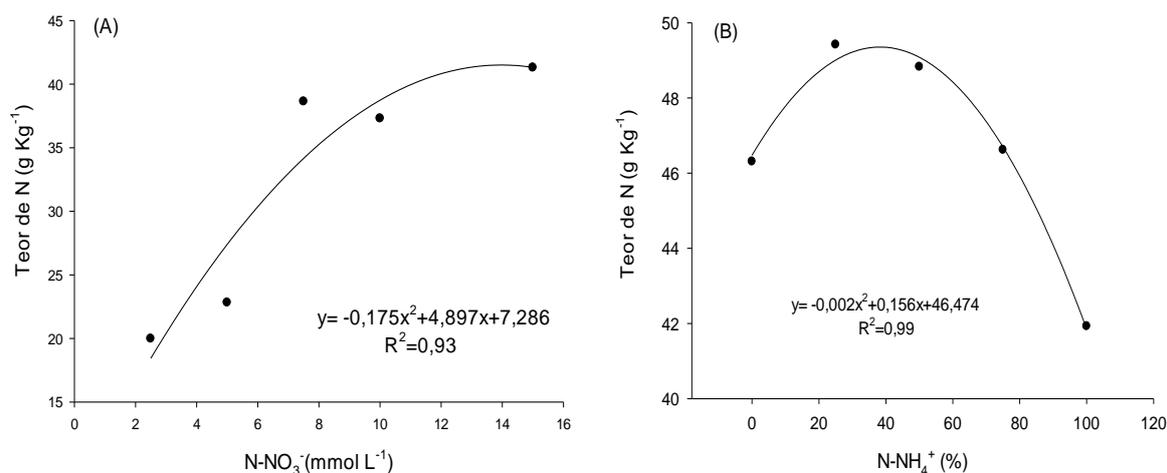
**Figura 10.** Massa seca da parte aérea e massa seca da raiz (A) em função de concentrações de N-nitrato da solução nutritiva e massa seca da parte aérea e massa fresca da raiz (B) em função das proporções de nitrato/amônio na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018.

#### 4.2 Nitrogênio total em folhas de alface

A solução nutritiva contendo somente o N-nitrato, foi verificado maior teor de N-total na matéria seca das folhas, com a concentração de 14 mmol L<sup>-1</sup> (Figura 11A). No estudo avaliando a relação de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> foi verificado que a concentração de 37% de amônio foi a que proporcionou o maior teor de N-total na massa seca de alface. Este resultado demonstrou que a proporção de amônio acima de 37% causa toxicidade onde a planta deixa de absorver o íon (Figura 11B).

Os resultados no teor de N do presente estudo estão dentro do limite considerável para a cultura, onde segundo Trani e Raij (1997) valores de 30 a 50 g kg<sup>-1</sup> de nitrogênio são considerados adequados para a alface.

O maior teor de nitrogênio foliar foi encontrado em doses de nitrogênio que também coincidiram com a máxima produção do NF, DC, MFPA e MSPA da cv. Americana. Esse fato ocorreu devido o N favorecer o crescimento vegetativo, e elevar o potencial produtivo da cultura (FILGUEIRA, 2000). Segundo Filgueira (2008), a alface por se tratar de uma hortaliça folhosa, responde muito bem em termos produtivos ao fornecimento de N, proporcionando maiores rendimentos, produção mais uniforme e de maior valor comercial.



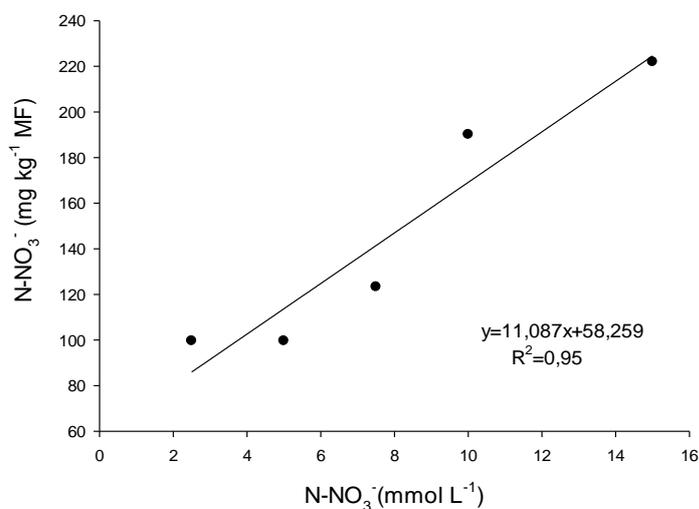
**Figura 11.** Teor de nitrogênio total (A) em função de concentrações de N-nitrato da solução nutritiva e teor de nitrogênio total (B) em função das proporções de nitrato/amônio na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018.

#### 4.3 Teor de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) em folhas de alface

O aumento da disponibilidade de N na solução nutritiva resultou em incremento dos teores de nitrato em folhas de alface, com os máximos teores foliares de nitrato obtidos abaixo do limite de risco para saúde humana.

A elevação dos níveis de N-nitrato na solução resultou em aumento linear nos teores de nitrato foliar (Figura 12). Esse resultado demonstra que a elevação na disponibilidade de N é um fator preponderante para o acúmulo de nitrato pelas plantas, reforçando o proposto na literatura por diversos autores (CHEN et al., 2004; GÜLSER, 2005; TURAN e SEVIMLI, 2005; PÔRTO et al., 2008).

Em estudo com cultivares de alface, Mondin (1996) constatou que as cultivares que atingiram os maiores pesos médios de plantas na colheita, também apresentaram os teores de nitrato mais elevados. Neste trabalho, os resultados concordam com Mondim, uma vez que a dose que proporcionou maior produção de massa fresca e massa seca da parte aérea, também apresentou o maior teor de nitrato foliar. Assim, pode-se inferir que os maiores teores de nitrato induziram a uma maior produção e teores de nitrato muito baixos reduzem a produtividade das plantas, resultando em crescimento lento, levando a uma diminuição da produção (GALIENI et al., 2015, KOVÁČIK et al., 2014, e QADIR et al., 2017).



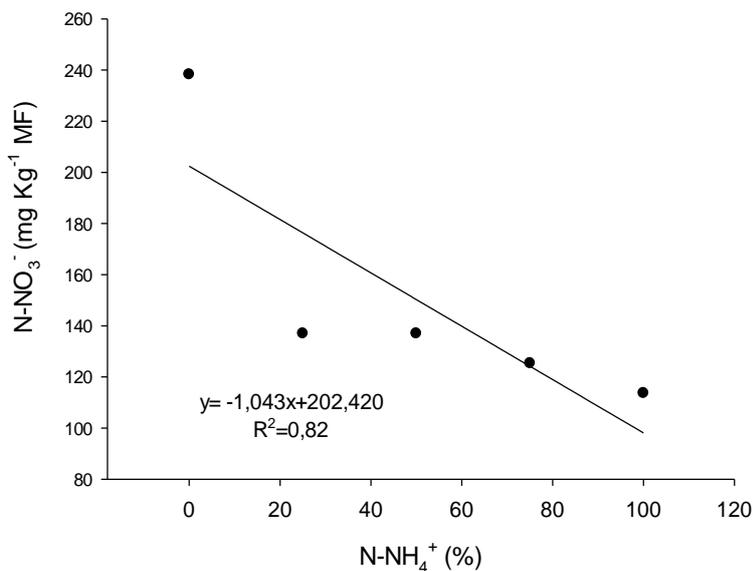
**Figura 12.** Teor de nitrato na matéria fresca de folhas de alface cultivada em sistema hidropônico em função da concentração de N-nitrato na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018.

Os teores de nitrato em alface ainda são bem divergentes entre alguns autores, esse fato ocorre, pois, além das variações que regulam o acúmulo de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> nas plantas, tais como condições fisiológicas, manejo, condições climáticas, cultivares, cultura, época do ano, horário de colheita, existe também a variação decorrente dos métodos utilizados para a análise de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

A solução nutritiva contendo amônio apresentou redução do teor de nitrato foliar com o incremento da concentração amônio (Figura 13). Observou-se que o uso da proporção de nitrato/amônio na solução nutritiva contribuiu para o menor acúmulo de nitrato nos tecidos do que a solução contendo somente uma fonte nitrogenada. Este resultado corrobora com Tian et al. (2003) e Andriolo et al. (2006) em que citam que parte do N fornecido na forma de nítrica (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) pode ser substituída pela amoniacal (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), podendo reduzir o acúmulo de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> nos vacúolos.

Segundo Marschner (1995), as folhas de alface apresentam menor acúmulo de nitrato com o fornecimento de N na forma de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, quando comparadas àquelas de nutrição exclusiva com N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, com o aumento do fornecimento de N na forma de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, a capacidade de redução do nitrato nas raízes torna-se um fator limitante e há um aumento da proporção de N-total translocado para a parte aérea na forma de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

Os teores de nitrato do presente estudo não oferecem riscos para a saúde humana, pois se encontram abaixo do limite permitido na Europa que é de 5000 mg kg<sup>-1</sup> de massa fresca para cultivos de verão. Os resultados se assemelham com o de Cometti (2003), que também encontrou teores de nitrato abaixo do estabelecido pela legislação ao estudar o acúmulo de nitrato nos vários tecidos da alface hidropônica, observando que nos limbos foliares das folhas medianas, os teores chegaram ao máximo 393 mg kg<sup>-1</sup>



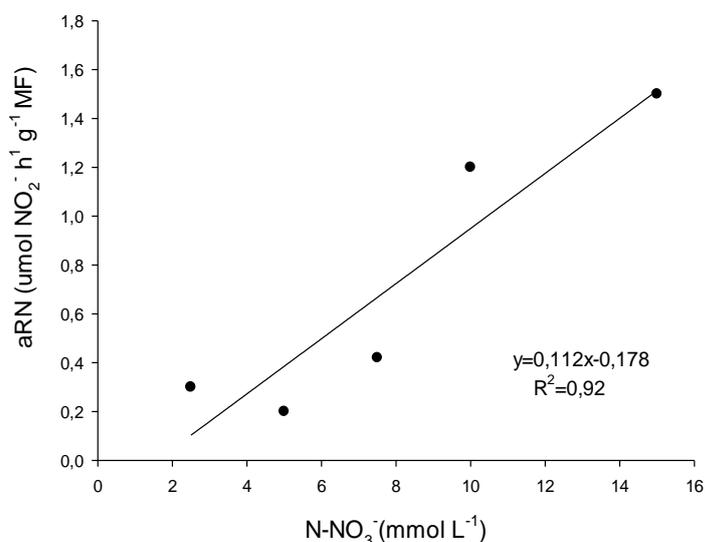
**Figura 13.** Teor de nitrato na matéria fresca de folhas de alface cultivada em sistema hidropônico em função da proporção de nitrato/amônio na solução nutritiva. UNEMAT-Alta Floresta (MT), 2018.

Do mesmo modo ao avaliar o teor de nitrato em cinco cultivares de alface hidropônica: (Mimosa Roxa, Babá de Verão, Hanson, Amanda e Itapuã), Silva (2009), observou que as concentrações de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> observadas para as cultivares atingiram o valor máximo de apenas 364 mg kg<sup>-1</sup> de matéria fresca.

#### 4.4 Atividade da enzima redutase do nitrato (RN) em folhas de alface

A análise da atividade da enzima (RN) revelou que houve diferenças quanto à forma de N usada na solução nutritiva. (Figura 14). O uso do nitrato como única fonte de N na solução nutritiva, proporcionou um aumento na atividade enzimática com o incremento da concentração N-nitrato.

Observa-se que os valores obtidos de atividade da (RN) estão relacionados com disponibilidade de nitrato na solução nutritiva, ou seja, elevadas concentrações de nitrato no meio de cultivo tendem a promover maior atividade enzimática. Essa observação já era esperada, pois a RN é uma enzima induzida pelo seu substrato, segundo Kawachi et al. (2002) a atividade dessa enzima depende, principalmente, da luz e do contínuo suprimento de nitrato, através do xilema.

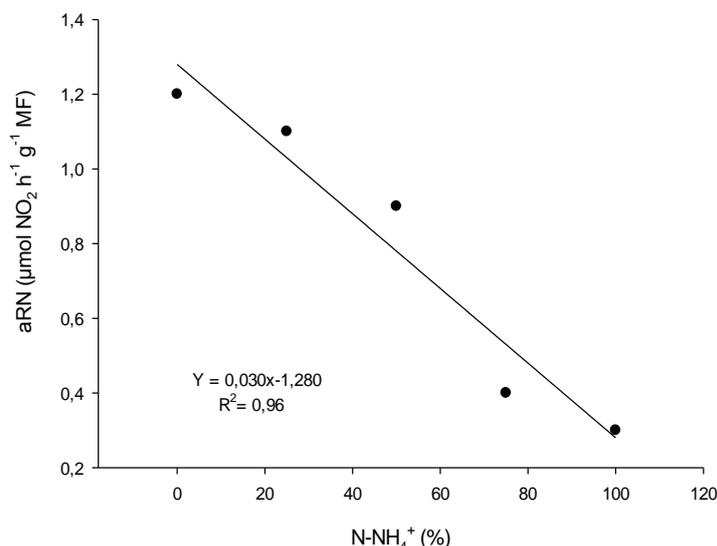


**Figura 14.** Atividade da enzima redutase do nitrato (RN) na matéria fresca de folhas de alface cultivada em sistema hidropônico em função da concentração de N-nitrato na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018.

Com o aumento na disponibilidade de nitrato para a planta, a RN, passa a desenvolver mecanismos de regulação (transcricional e pós-traducional) que propõe evitar o acúmulo de nitrito, considerado tóxico (TISCHNER, 2000; KAISER E HUBER, 2001; LILLO et al., 2003). Esse fato corrobora com os resultados do presente estudo, onde foi observado que maiores concentrações de N-nitrato na solução nutritiva além de promoverem maior atividade enzimática, também reduziram o acúmulo do íon NO<sub>3</sub><sup>-</sup> foliar.

A ausência de N-nitrato e o aumento do N-amônio na solução nutritiva levaram a redução linear na atividade da enzima redutase do nitrato (Figura 15). Os resultados permitiram inferir que a redução da concentração de N-nitrato na solução nutritiva promoveu menor absorção do nutriente na planta e inibiu a

atividade da redutase do nitrato, desfavorecendo sua ação no metabolismo da cultivar.



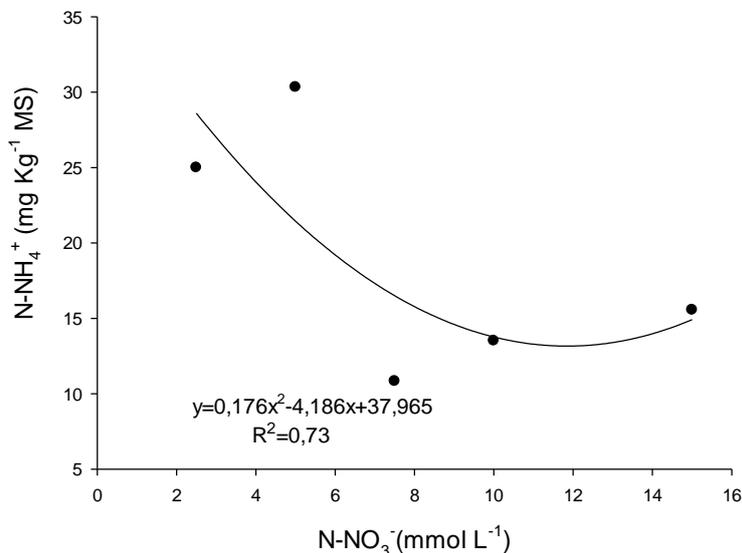
**Figura 15.** Atividade da enzima redutase do nitrato (RN) na matéria fresca de folhas de alface em função da proporção de nitrato/amônio na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018.

#### 4.5 Teor de amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) em folhas de alface

O uso de concentrações elevadas de N-nitrato na solução nutritiva contribuiu para a redução no teor de amônio no tecido foliar, na concentração de 12 mmol L<sup>-1</sup> (Figura 16). Contudo, a redução do N-nitrato na solução, contribuiu para maior acúmulo do íon amônio pela planta. Esse fator, pode estar relacionado com o aumento da concentração de amônio nas plantas é a redução no teor de açúcar (esqueletos de carbono) da planta oriundos da fotossíntese. Isso ocorre, pois, segundo Mifflin e Lea, (1977) e Pate, (1980), a assimilação do amônio depende da disponibilidade de açúcares para a formação de aminoácidos.

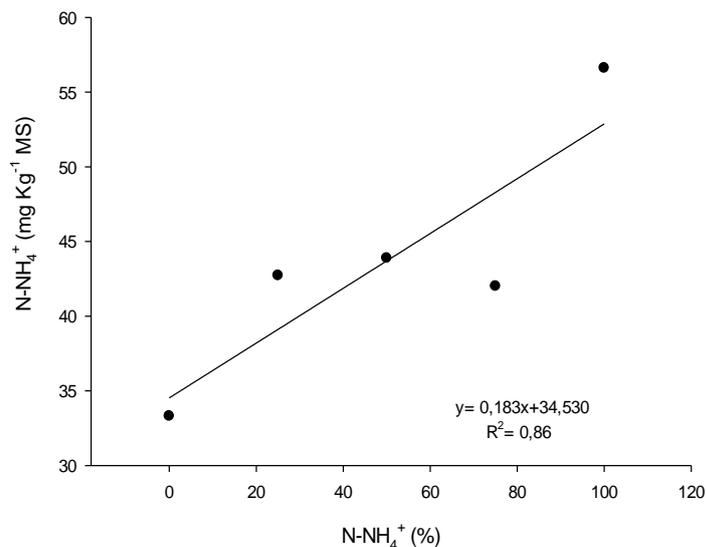
Tendo em base o exposto e com base nos resultados do presente trabalho, acredita-se que a redução no número de folhas (Figura 7A) e massa fresca foliar (Figura 9A) decorrente da restrição da concentração de N-nitrato na solução, contribuiu para a limitação da planta em realizar fotossíntese, proporcionando maior acúmulo de amônio.

Resultados semelhantes ao do presente estudo foram encontrados por Barreto et al. (2018), onde ao estudarem proporções de nitrato:amônio em tomate hidropônico, observaram que a proporção de  $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$  de 0:100 levou a redução na taxa fotossintética, clorofila e carotenóide.



**Figura 16.** Teor de amônio na matéria seca de folhas de alface em função da concentração de N-nitrato na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018.

O aumento da concentração de N-amônio na solução nutritiva contribuiu com incremento linear no teor de amônio foliar (Figura 17). Com base nos resultados do presente estudo, foi observado que o teor elevado de amônio na solução nutritiva afetou significativamente todas as variáveis analisadas, ocasionando sintomas de toxidez à cultura da alface, com isso observa-se que o uso de doses elevadas desta fonte de N na solução nutritiva não é recomendado. Contudo, a solução nutritiva contendo nitrato e amônio em concentrações adequadas, pode ser um grande aliado na redução do efeito tóxico causado por amônio, isso ocorre porque a absorção deste ânion está associada com a alcalinização da rizosfera e o estímulo da captação de cátions, amenizando alguns dos efeitos nocivos do  $\text{NH}_4^+$  (BRITTO; KRONZUCKER, 2005).



**Figura 17.** Teor de amônio na matéria seca de folhas alface em função da proporção de nitrato/amônio na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018.

Como mostrado no presente estudo, a proporção de nitrato/amônio que contribuiu com a maior produtividade da alface foi de até 22% sendo observado que concentrações acima reduziram a produtividade da cultura. Entretanto, o fato de essa cultivar apresentar menor tolerância com excesso de amônio, não exclui o fato de outras cultivares ou culturas serem tolerantes ao mesmo, conforme Hauck (2010) a tolerância a altos níveis de amônio depende da capacidade de o vegetal produzir quantidades suficientes de esqueletos de carbono para a assimilação do NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

Para Cruz et al. (2011), as respostas que as plantas apresentam quando absorvem amônio são muito amplas. Devido as diferenças entre variedades, mesmo sendo da mesma espécie as plantas podem apresentar comportamentos diferenciados sob estresse por amônio.

## 5. CONCLUSÕES

A solução nutritiva contendo fonte N-nitrato na concentração de 15,0 mmol L<sup>-1</sup> contribuiu com maior teor de massa fresca da alface, sendo esta concentração recomendada em cultivo hidropônico, contudo, por viés econômico recomenda-se a concentração de 10,0 mmol L<sup>-1</sup> que também pode ser utilizada obtendo êxito na produtividade da cultivar.

Para a proporção de nitrato/amônio na solução, recomenda-se a proporção de 100:22 % que corresponde à 10,0 mmol L<sup>-1</sup> e 2,2 mmol L<sup>-1</sup> tendo em vista que a concentração de amônio indicada contribui para a redução no teor de nitrato na planta, e concentrações de N-amônio acima, não são indicadas para alface tipo Americana por reduzir a produtividade da hortaliça provocando sintomas de toxidez.

Os teores de nitrato observados no presente estudo encontram-se abaixo do limite permitido pelo Regulamento da Comissão Europeia nº 1258/2011, não oferecendo riscos para a saúde do consumidor.

A enzima redutase do nitrato pode ser usada como auxílio em estudos de deficiência nutricional de N na alface, já que a enzima expressa maior atividade com o aumento de N-nitrato na solução nutritiva.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMI, F.S.; et al. Análise microbiológica e de nitrito e nitrato em linguiça. **Scientia Plena**, v. 11, n.5, p. 1–7, 2015.

ALEXANDER et al. Nitrate in vegetables Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. **The European Food Safety Authority Journal**, Itália, v. 6, n. 6, p. 1-79, 2008.

ALMEIDA T. B. F. et al. Avaliação nutricional da alface cultivada em soluções nutritivas suprimidas de macronutrientes. **Biotemas**, v. 24, n. 2, p. 27-36, 2011.

ANDRIOLO, J. L. **Fisiologia das culturas protegidas**. Santa Maria. UFSM. 1999. 142p.

ANDRIOLO, J. L.; GODOI, R. S.; COGO, C. M. et al. Growth and development of lettuce plants at high  $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$  ratios in the nutrient solution. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 3. p. 352-355, 2006.

BARRETO, R. F; CRUZ, F. J. R; GAION, L. A; PRADO, R. M; CARVALHO, A. R. F. Accompanying ions of ammonium sources and nitrate: ammonium ratios in tomato plants. **Journal of plant nutrition and soil science** v.181, n. 6. p. 382-387, 2018.

BORGOGNONE, D.; COLLA, G.; ROUPHAEL, Y.; CARDARELLI, M.; REA, E.; SCHWARZ, D. Effect of nitrogen form and nutrient solution pH on growth and mineral composition of self-grafted and grafted tomatoes. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 149, n. 1, p. 61-69, 2013.

BRITTO, D. T.; KRONZUCKER, H. J.  $\text{NH}_4^+$  toxicity in higher plants: a critical review. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 159, n. 6, p. 567–584, 2002.

BRITTO, D. T.; KRONZUCKER, H. J. Nitrogen acquisition, PEP carboxylase, and cellular pH homeostasis: new viewson old paradigms. **Plant Cell Environment**, Oxford, v. 28, n. 11, p. 1396-1409, 2005.

BROADLEY, M. R.; ESCOBAR-GUTIERREZ, A. J.; BURNS, A. J.; BURNS, I. G. What are the effects of nitrogen deficiency on growth components of lettuce? **New Phytologist**. v. 147, n. 3, p. 519-526, 2000.

CARMELLO, Q. A. C. **Cultivo hidropônico de plantas**. Piracicaba: Esalq, 1996. 43p.

CASTELLANE, P. D. ARAUJO, J. A. C. **Cultivo sem solo - Hidroponia**. 4<sup>a</sup> ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 43 p.

CARTAXO, J. L. S. **Riscos associados aos níveis de nitritos em alimentos: uma revisão**. 2015. 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

CATALDO, D. A.; HAROON, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.6, p.71-80, 1975.

CHEN, B.M.; WANG, Z.H.; LI, S.X.; WANG, G.X.; SONG, H.X.; WANG, X.N. Effects of nitrate supply on plant growth, nitrate accumulation, metabolic nitrate concentration and nitrate reductase activity in three leafy vegetables. **Plant Science**. v. 167, n. 3, p. 635-643, 2004.

CHOI, J. M.; LATIGUI, H.; LEE, C. W. Growth and nutrient up take responses of 'Seolhyang' strawberry to various ratios of ammonium to nitrate nitrogen in nutrient solution culture using inert media. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 10, n. 59, p. 12567-12574, 2011.

COSTA, P. C., DIDONE, E. B., SESSO, T. M., CAÑIZARES, K. A. L. & GOTO, R. Condutividade elétrica da solução nutritiva e produção da alface em hidroponia. **Scientia Agricola**. Piracicaba, v. 58, n. 3, p. 595–597. 2001.

COMETTI, N. N. **Nutrição Mineral da Alface (*Lactuca sativa* L.) em Cultura Hidropônica – Sistema NFT**. 2003. 128 f. (Tese). Curso de pós-graduação em agronomia – ciência do solo, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Instituto de Agronomia, Seropédica, RJ, 2003.

CRUZ, C.; DOMÍNGUEZ-VALDIVIA, M. D.; APARICIO-TEJO, P. M.; LAMSFUS, C.; BIO, A.; MARTINS-LOUÇÃO, M. A.; MORAN, J. F. Intra-specific variation in pea responses to ammonium nutrition leads to different degrees of tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 70, n. 3, p. 233–243. 2011.

EMBRAPA, **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2ª edição, Brasília, DF, p. 203-204, 2009.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2. Ed. Londrina: Editora Planta, 2006, 400 p.

FAQUIN, V. **Nutrição mineral de plantas**. Lavras: UFLA / FAEPE, 2005. 186 p.

FAQUIN, V.; ANDRADE, A. T.; **Nutrição mineral e diagnose do estado nutricional de hortaliças**, Lavras: UFLA/ FAEPE, 2004. 88p.

FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A. E.; VILELA, L. A. A. **Produção de alface em hidroponia**, Lavras, UFLA/FAEPE, 1996. 50 p.

FAQUIN, V.; MARQUES, E. S.; SANTOS, H. S. Crescimento e concentração de nitrato em alface sob influência da relação  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  e cloro na solução nutritiva e do horário de colheita. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS. **Anais...** 21, Petrolina: SBCS, p.152-153, 1994.

FERREIRA, V. P. **Doses e parcelamento de Nitrogênio em alface**. 1996. 63f Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

FURLANI, P. R. **Instruções para o cultivo de hortaliças de folhas pela técnica de hidroponia NFT**. 1. ed. Campinas. IAC. (Boletim técnico, 168), 1998.

FILGUEIRA, F. A. R. Asteráceas – alface e outras hortaliças herbáceas: *Novo Manual de Olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. Viçosa: UFV, p. 289-295, 2000.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**. 3. ed. Viçosa: Editora UFV. 421p. 2008.

FURLANI, P. R., BOLONHESI, L. C. P. & FANQUIN, V. **Cultivo hidropônico de plantas**. Campinas. Instituto Agrônômico. (Boletim técnico, 180), 1999. 52 p.

GALIENI, A.; DI MATTIA, C.; DE GREGORIO, M.; SPECA, S.; MASTROCOLA, D.; PISANTE, M.; STAGNARI, F. Effects of nutrient deficiency and abiotic environmental stresses on yield, phenolic compounds and antiradical activity in lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 187, p. 93-101, 2015.

GUERREIRO, M.G.; VEJA, J.M.; LOSADA, M. The assimilatory nitrate-reducing system and its regulation. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 32 p. 169-204, 1981.

GUIMARÃES, M. M. C.; CAIRO, P. A. R.; NEVES, O. S. C. Crescimento de *Eucalyptus urophylla* em Meio Hidropônico com Diferentes Proporções de Nitrato e Amônio. **Floresta e Ambiente**, v. 21, n. 1, p. 52-61, 2014.

GÜLSER F. Effects of ammonium sulphate and urea on  $\text{NO}_3^-$  and  $\text{NO}_2^-$  accumulation, nutrient contents and yield criteria in spinach. **Scientia Horticulturae**, v. 106, p. 330-340, 2005.

HAUCK, M. Ammonium and nitrate tolerance in lichens. **Environmental Pollution**, Barking, v. 158, n. 5, p. 1127–1133, 2010.

HACHIYA, T.; TERASHIMA, I.; NOGUCHI, K. Increase in respiratory cost at high growth temperature is attributed to high protein turnover cost in *Petunia x hybrida* petals. **Plant, Cell and Environmental**. v. 30, p. 1269-1283, 2007.

HACHIYA, T.; WATANABE, C.K.; FUJIMOTO, M.; ISHIKAWA, T.; TAKAHARA, K.; KAWAIYAMADA, M.; UCHIMIYA, H.; UESONO, Y.; TERASHIMA, I.; NOGUCHI, K. Nitrate addition alleviates ammonium toxicity without lessening ammonium accumulation, organic acid depletion and inorganic cation depletion in *Arabidopsis thaliana* shoots. **Plant Cell Physiology**. v. 53, n. 3, p. 577-591, 2012.

HAGEMAN, R. & REED, A. J. **Nitrate reductase from higher plants. In Methods in Enzymology (M.P. Deutscher, ed.)**. Academic Press Inc., San Diego. v. 69, p. 270-280, 1980.

HOAGLAND, D. R; ARNON, D. I. **The waterculture method for growing plants without soil**. Berkeley, California Agricultural Experimental Station, 1950. 347 p.

HUANG, L.; LU, Y.; GAO, X.; DU, G.; MA, X.; LIU, M.; GUO, J.; CHEN, Y. Ammonium-induced oxidative stress on plant growth and antioxidative response of duckweed (*Lemna minor* L.). **Ecological Engineering**, Amsterdam, v. 58, p. 355-362, 2013.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. Brasília, DF. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br> Acesso em: Julho, 2018.

JAMPEETONG, A.; BRIX, H.; KANTAWANICHKUL, S. Response of *Salvinia cucullata* to high  $\text{NH}_4^+$  concentrations at laboratory scales. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Maryland Heights, v. 79, n. 1, p. 69–74, 2012.

JAMPEETONG, A.; BRIX, H.; KANTAWANICHKUL, S. Effects of inorganic nitrogen forms on growth, morphology, nitrogen uptake capacity and nutrient allocation of four tropical aquatic macrophytes (*Salvinia cucullata*, *Ipomoea aquatica*, *Cyperus involucratus* and *Vetiveria zizanioides*). **Aquatic Botany**, Amsterdam, v. 97, n. 1, p. 10-16, 2012.

JAKSZYN, P.; GONZALEZ, C. A. Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: a systematic review of the epidemiological evidence. **World Journal of Gastroenterology**. China, v. 12, p. 4296–4303, 2006.

JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v.43, n.6, p.1274–1279, 1971.

KAISER, W. M.; HUBER, S. C. Correlation between apparent activation state of nitrate reductase (NR), NR hysteresis and degradation of NR protein. **Journal of Experimental Botany**. v. 48, p. 1367-1374, 1997.

KAISER, W. M.; HUBER, S. C. Pos-translational, regulation of nitrate reductase mechanism, physiological relevance and environmental triggers. **Journal of Experimental Botany**. v. 52, p. 1981-1989, 2001.

KAWACHI, T. Y. Role of xylem sap nitrate in regulation of nitrate reductase gene expression in leaves of barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 48, n. 1, p. 79-85, 2002.

KONNERUP, D.; BRIX, H. Nitrogen nutrition of *Canna indica*: Effects of ammonium versus nitrate on growth, biomass allocation, photosynthesis, nitrate

reductase activity and N uptake rates. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v. 92, n. 2, p. 142–148, 2010.

KOPPEN, G., PEEL, M. C., FINLAYSON, B. L., MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrol. Earth System Science*, v. 11, ISSN 1027-5606, (2007), p. 1633-1644.

KOVÁČIK, J.; KLEJDUS, B.; BABULA, P.; JAROSOVA, M. Variation of antioxidants and secondary metabolites in nitrogen-deficient barley plants. **Plant Physiology**. v. 171, p. 260–268, 2014.

KROHN, N. G. Teores de nitrato em folhas de alface em função do horário de coleta e do tipo de folha amostrada. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 216-219, 2003.

LASA, B.; FRECHILLA, S.; LAMSFUS, C.; APARICIO-TEJO, P. M. The sensitivity to ammonium nutrition is related to nitrogen accumulation. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 91, n. 2, p.143-152, 2001.

LASA, B.; FRECHILLA, S.; APARICIO-TEJO, P. M.; LAMSFUS, C. Role of glutamate dehydrogenase and phosphoenolpyruvate carboxylase activity in ammonium nutrition tolerance in roots. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 40, n. 11, p. 969–976, 2002.

LILLO, C.; MEYER, C.; RUOFF, P. The nitrate reductase circadian cycle system. The central clock dogma contra multiple oscillatory feedback loops. **Plant Physiology**. v. 125, p. 1554-1557, 2001.

LILLO, C.; LEA, U. S.; LEYDECKER, M. T.; MEYER, C. Mutation of the regulatory phosphorylation site of tobacco nitrate reductase results in constitutive activation of the enzyme in vivo and nitrite accumulation. **Plant journal**. v. 35, p. 566-573, 2003.

LIU, J.; HAN, L.; CHEN, F.; BAO, J.; ZHANG, F.; MI, G. Microarray analysis reveals early responsive genes possibly involved in localized nitrate stimulation of lateral root development in maize (*Zea mays* L.). **Plant Science**, v. 175, p. 272-282, 2008.

LOPES, M. S.; ARAUS, J. L. Comparative genomic and physiological analysis of nutrient response to  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$  and  $\text{NO}_3^-$  in barley seedlings. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 134, n. 1, p. 134–150, 2008.

LUCENA, R. D.; SILVA, B. K. K. Concentrações de nitrogênio em plantas de alface (*Lactuca sativa* Linnaeus) cultivadas em sistemas hidropônicos. In: VII Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental, 2016, Campina Grande-PB, **Annais...** Paraíba, 2016. p. 1-10.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. Editora CERES Ltda, São Paulo, 2006, 638p.

MARCHI, L. et al. Glutamate dehydrogenase isoenzyme 3 (GDH3) of *Arabidopsis thaliana* is less thermos table than GDH1 and GDH2 isoenzymes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 83, p. 225-231, 2014.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3. ed. Oxford: Elsevier, 2012. 643 p.

MARTINEZ, H. E. P. **O uso de cultivo hidropônico de plantas em pesquisa**. Viçosa: UFV, 2002. 61p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2 ed. New York: Acad. Press, 1995. 889 p.

MANTOVANI, J. R; FERREIRA, M. E; CRUZ, M. C. P. Produção de alface acúmulo de nitrato em função da adubação nitrogenada. **Horticultura Brasileira**, v. 23, p. 758-762, 2005.

MENSINGA, T. T.; SPEIJERS, G. J.; MEULENBELT, J. Health implications of exposure to environmental nitrogenous compounds. **Toxicological Reviews**, Estados Unidos, v. 22, n.1, p. 41–51, 2003.

MIFLIN, B. J.; LEA, P. J. Amino acid metabolism. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 28, p. 299-329, 1977.

MONDIN, M. **Efeito de sistemas de cultivo na produtividade e acúmulo de nitrato em cultivares de alface**. 1996. 88f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.

MOTA, J. H. et al. Efeito do cloreto de potássio via fertirrigação na produção de alface americana em cultivo protegido. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.3, p. 542-549, 2001.

NASCIMENTO, T. S.; et al. Metemoglobinemia: do diagnóstico ao tratamento. **Revista Brasileira Anestesiologia**, v. 58, n. 6, p. 651-664, 2008.

NEVES, C. S. V. J.; CARVALHO, S. K. C.; NEVES, P. M. O. J. Porcentagem de frutificação, período de desenvolvimento dos frutos e unidades térmicas para maracujá amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 2, p. 128-130, 1999.

NETO, B. E.; BARRETO, P. L. **As técnicas de hidroponia**. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica, Recife, vols. 8 e 9, p.107-137, 2011/2012.

PATE, J. S. Transport of nitrogen. **Annual Review of Plant Physiology**, Australia, v. 31, p. 313-340, 1980.

PÔRTO, M. L.; ALVES, J. C.; SOUZA, A.P.; ARAUJO, R.C.; ARRUDA, J. A. Nitrate production and accumulation in lettuce as affected by mineral nitrogen supply and organic fertilization. **Horticultura Brasileira**. Paraíba, v. 26, n. 2, p. 227-230, 2008.

PRADO, R. M. Nitrogênio. **Nutrição de plantas**. Jaboticabal: Editora UNESP, 2008. cap. 4, p. 83-120.

QADIR, O.; SIERVO, M.; SEAL, C. J.; BRANDT, K. Manipulation of contents of nitrate, phenolic Acids, chlorophylls, and carotenoids in lettuce (*Lactuca sativa* L.) via contrasting responses to nitrogen fertilizer when grown in a controlled environment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. V. 65, p. 10003–10010, 2017,

SALA, F. C.; COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfaceicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 187-194, 2012.

SANTOS, O. S. dos. **Soluções nutritivas. Hidroponia da alface**. Santa Maria, RS: UFSM, p. 72-85, 1998.

SARRUGE, J.R. Soluções nutritivas. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.1, n.3, p.231-233, 1975.

SILVA, S. P. Produtividade e concentração de nitrato em cultivares de alface conduzidas em sistema hidropônico, nos municípios de Altamira e Belém, No estado do Pará. 2009, 101 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2009.

SILVA, P. C. C.; COUTO, J. L.; SANTOS, A. R. Efeito de íons amônio e nitrato no desenvolvimento do girassol em solução nutritiva. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 17, n. 1, p. 104-114, 2010.

SOARES, I. **Alface: cultivo hidropônico**. Fortaleza: Editora UFC. 2002. 50p.

SOUSA, V. F. L.; OLIVEIRA, F. A.; OLIVEIRA, F. R. A.; CAMPOS, M. S.; MEDEIROS, J. F. Efeito do Nitrato e Amônio Sobre o Crescimento da Berinjela. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v.5, n.3, p. 80 - 88 julho/setembro de 2010.

SUINAGA, F. A.; BOITEUX, L. S.; CABRAL, C. S.; RODRIGUES, C. da S. **Métodos de avaliação do florescimento precoce e identificação de fontes de tolerância ao calor em cultivares de alface do grupo varietal crespa.** Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 4 p. (Embrapa Hortaliças. Comunicado Técnico, 89), 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 820 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal.** 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TRANI, P.E.; RAIJ, B. van. Hortaliças. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de Adubação e Calagem para o Estado de São Paulo**, 2 ed. rev. ampl. Campinas: Instituto Agronômico & Fundação IAC, 1997. 285p. (Boletim Técnico, 100).

TAKAHASHI, H. W.; HIDALGO, P. C.; FADELLI, L.; CUNHA, M. E. T. Composição e manejo da solução nutritiva visando à diminuição do teor de nitrato nas folhas de alface hidropônica. **Horticultura Brasileira.** v. 25, p. 6-9, 2007.

TIAN, X.; LI, S.; WANG, Z. Response of lettuce to different nitrogen forms. **Ying Yong Sheng Tai Xue Bao.** v.3, n.14, p.377-381, 2003.

TISCHNER, R. Nitrate uptake and reduction in higher and lower plants. **Plant, Cell and Environment,** v. 23, p. 1005-1024, 2000.

TURAN, M; SEVIMLI, F. Influence of different nitrogen sources and levels on ion content of cabbage (*Brassica oleraceavar capitata*). **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science.** v. 33, p. 241-249, 2005.

TURAZI, C. M. V.; JUNQUEIRA, A. M. R.; OLIVEIRA, A. S.; BORGIO, L. A. Acúmulo de nitrato em alface em função da adubação, horário de colheita e tempo de armazenamento. *Horticultura Brasileira*, v. 24, p 65-70, 2006.

VACULÍKOVÁ, M.; VACULÍK, M.; SIMKOVÁ, L.; FIALOVÁ, I.; KOCHANOVÁ, Z.; SEDLÁKOVÁ, B.; LUXOVÁ, M. Influence of silicon on maize roots exposed to antimony e grow than dantioxidative response. *Plant Physiology and Biochemistry*, Issy les Moulineaux, v. 83, p. 279-284, 2014.

VILLARREAL, M. R.; AGUILAR, V. L. A.; RANGEL, S A.; TORRES, R. V.; MENDOZA, B. A. Tolerance of lisianthus to high ammonium levels in rockwool culture. *Journal of Plant Nutrition*, New York, v. 38, n. 1, p. 73-82, 2015.

RODRIGUES, A. B.; MARTINS, M. I. E. G. & ARAÚJO, J. A. C. Avaliação econômica da produção de alface em estufa. *Informações econômicas*, SP, v. 27, n. 3, p. 27 – 35, 1997.

TISCHER, R. Nitrate uptake and reduction higher and lower plants. *Plant, Cell and Environment*. v. 23, p. 1005-1024, 2000.

VAN EYSINGA, J. P. N. L. R. Nitrate and glasshouse vegetables. *Fertilizer Research*. v. 5, n. 2, p.149-156, 1984.

VIANA, E. M.; KIEHL, J. C. Doses de nitrogênio e potássio no crescimento do trigo. *Bragantia*, Campinas, v. 69, n. 4, p. 975-982, 2010.

WEATHERBURN, M. W. Phenol hipochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry*. V. 39: 971-974. 1967.

## APÊNDICE



**APÊNDICE 1.** Hidroponia do tipo floating com alface tipo Americana sobre doses de nitrato (frente) e proporção de nitrato/amônio (atrás) na solução nutritiva. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018.



**APÊNDICE 2.** Concentração de nitrato na solução nutritiva em hidroponia no desenvolvimento da alface tipo Americana. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018.



**APÊNDICE 3.** Proporção de nitrato/amônio na solução nutritiva em hidroponia no desenvolvimento da alface tipo Americana. UNEMAT- Alta Floresta (MT), 2018.