



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGROECOLOGIA -
MESTRADO PROFISSIONAL

CAIO FIGUEIREDO GASPAROTTO

Malhas de sombreamento e adubação nitrogenada na produção e
teor de nitrato em alface.

Maringá
2018

CAIO FIGUEIREDO GASPAROTTO

Malhas de sombreamento e adubação nitrogenada na produção e teor de nitrato em alface.

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroecologia, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Moacir Bonato

Maringá
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

G249m Gasparotto, Caio Figueiredo
Malhas de sombreamento e adubação nitrogenada na
produção e teor de nitrato em alface / Caio
Figueiredo Gasparotto. -- Maringá, 2018.
44 f. : il. color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Moacir Bonato.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de
Pós-Graduação em Agroecologia - Mestrado
Profissional, 2018.

1. Agricultura orgânica - Alface. 2. Malha -
Cobertura. I. Bonato, Carlos Moacir, orient. II.
Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências
Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agroecologia
- Mestrado Profissional. III. Título.

CDD 21.ed. 635.3

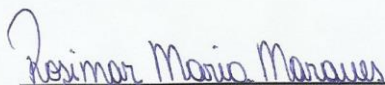
Mariza Nogami - CRB 9/1569

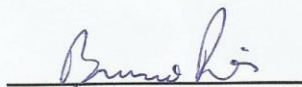
CAIO FIGUEIREDO GASPAROTTO

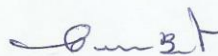
Malhas de sombreamento e adubação nitrogenada na produção e teor de nitrato em alface

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroecologia, para obtenção do título de mestre.

APROVADO em 02 de março de 2018


Prof.ª. Dr.ª. Rosimar Maria Marques


Prof. Dr. Bruno Reis



Prof. Dr.. Carlos Moacir Bonato
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Inicialmente agradeço a minha família, meus pais Maria da Graça Figueiredo Gasparotto e Mario Luiz Gasparotto, e minha irmã Bruna Figueiredo Gasparotto, por toda a dedicação e amor que me deram em toda a minha vida;

À minha namorada, Isabella Tormena Ferraz, que sempre esteve ao meu lado me apoiando e ajudando em todas as situações.

Ao Professor Dr. Carlos Moacir Bonato, pela paciência e orientações na pesquisa.

Aos meus amigos Samireille Silvano Messias, Nayara Regina Campanenute Soares, Larissa Zubek, Marina Berg Von Lide, Lucas de Moura Andrade e Henrique Santi Dias, por todos os esforços que dispuseram em prol desta dissertação.

Malhas de sombreamento e adubação nitrogenada na produção e teor de nitrato em alface.

RESUMO

A agricultura orgânica está em crescimento desde a última década, no entanto mesmo com esse avanço, ainda são escassos os trabalhos científicos que embasam empiricamente os resultados obtidos frente ao sistema de produção orgânico. Neste sistema de produção é comum a utilização de diferentes malhas com a prospecção do aumento da produtividade, em especial para a produção de olerícolas, apesar de haverem poucos estudos para avaliar o comportamento e a eficiência destas na capacidade de produção e qualidade das culturas. A partir de tais considerações, esta pesquisa teve como objetivo o estudo da produtividade e qualidade de alface crescida sob diferentes malhas (coberturas), sistema de produção orgânico com diferentes tipos de adubação orgânica nitrogenada e de adubação convencional nitrogenada, assim observando a influência do nitrogênio. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, sendo as plantas de alface crescidas sob as malhas vermelha e preta, bem como sem malha. Cada parcela do experimento conteve as malhas sob as quais foram cultivadas as plantas de alface tanto em sistema orgânico quanto convencional. Com auxílio de um espectroradiômetro foi estudada a refletância, transmitância, absorvância e irradiância das malhas.

Palavras chave: agricultura orgânica, alface, malha.

Shading meshes and nitrogen fertilization in the production and nitrate content in lettuce.

ABSTRACT

Organic agriculture has been growing since the last decade, but even with this advance, there are still few scientific papers that empirically support the results obtained with the organic production system. In this production system, it is common to use different meshes with the prospect of increasing productivity, especially for the production of oil plants, although there are few studies to evaluate their behavior and efficiency in production capacity and crop quality. Based on these considerations, this research has the objective of studying the productivity and quality of lettuce grown under different meshes (coverages), organic production system with different types of organic nitrogen fertilization and conventional nitrogen fertilization, thus observing the influence of nitrogen. The experiment was conducted in a greenhouse, with lettuce plants grown under red and black meshes, as well as without mesh. Each portion of the experiment contained the meshes under which lettuce plants were grown in both organic and conventional systems. With the aid of a spectroradiometer, the reflectance, transmittance, absorbance and irradiance of the meshes were studied.

Keywords: organic agriculture, lettuce, knitting.

LISTA DE TABELAS

Tabela 01.	Análise de macro e micronutrientes do solo.....	25
Tabela 02.	Efeito das diferentes malhas no teor de pigmentos cloroplastídicos de alface (<i>Lactuca sativa</i> – cultivar Stella).....	33

LISTA DE FIGURAS

Figura 01.	Valores médios de biomassa fresca utilizando fatorial em função dos tratamentos com adubações nitrogenadas e as malhas utilizadas.....	30
Figura 02.	Valores médios de biomassa seca utilizando fatorial em função dos tratamentos com adubações nitrogenadas e as malhas utilizadas.....	30
Figura 03.	Incidência de radiação em função do período do dia em plantas de alface crescidas sobre diferentes malhas de sombreamento sob casa de vegetação.....	31
Figura 04.	Gráfico do índice Spad obtidas em alface em função de diferentes malhas utilizadas e das adubações em três períodos 09 (a), 16 (b) e 23 (c) de novembro de 2016, indicando a diferença, em percentagem, em relação à primeira análise.....	32
Figura 05.	Gráfico de espectro em distintos comprimentos de ondas em diferentes sombreamentos.....	34
Figura 06.	Acúmulo de nitrato no tecido vegetal em mg por grama de biomassa fresca, em cada tipo de malha.....	35

SUMÁRIO

RESUMO.....	
ABSTRACT	
1. Introdução	11
1.1. Adubação nitrogenada	14
1.2. Nitrato na saúde humana.....	19
1.3. Fotossíntese.....	20
1.4. Características da luz	22
1.5. Alface.....	23
2. Material e métodos	25
2.1. Localização do experimento.....	25
2.2. Delineamento experimental	26
2.3. Irradiância e avaliação das características espectrais das malhas.....	26
2.4. Avaliação do índice SPAD e determinação da clorofila <i>a</i> , clorofila <i>b</i> , e carotenóides.....	27
2.5. Colheita das amostras para determinação de biomassa fresca e biomassa seca da parte aérea.....	28
2.6. Determinação do nitrato.....	29
3. Resultados.....	29
3.1. Biomassa fresca da parte aérea.....	29
3.2. Biomassa seca da parte aérea.....	30
3.3. Irradiância.....	31
3.4. Spad.....	31

3.5. Extração de clorofila a, clorofila b e carotenoides.....	33
3.6. Características espectrais da malha.....	33
3.7. Determinação de nitrato	34
4. Discussão.....	36
5. Conclusão.....	37
6. Referências.....	38

1. Introdução

Dentre as diversas questões a serem discutidas referente à agricultura brasileira, a qualidade dos alimentos é uma das quais merece destaque, uma vez que tem sido desconsiderada. O foco das atenções tem se voltado para a potencialização da produtividade que é o que mais tem sido encontrado em sistemas de produção convencionais. Em busca de lucro na produção ocorre um intenso uso de insumos por grande parte dos agricultores, devido ao pensamento equivocado de que quanto maior a utilização de insumos, maior a produção.

Diante do quadro que o Brasil encontra-se atualmente como um dos maiores consumidores de agrotóxicos do mundo, o que tem como consequência intoxicações causadas por estas substâncias, e o aumento tanto dentre os trabalhadores rurais, frente à exposição a esses produtos, quanto entre pessoas que se contaminam por meio da ingestão de alimentos contaminados (PIGNATI, 2011).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o uso intensivo de agrotóxicos pode causar a degradação dos recursos naturais como solo, água, flora e fauna, em alguns casos de forma irreversível, portanto insustentável, levando a desequilíbrios biológicos e ecológicos. No que diz respeito à população, chama a atenção o consumo de alimentos com dosagem de agrotóxicos acima do limite máximo autorizado, bem como com ingredientes ativos que sequer são autorizados (ANVISA, 2012). Resulta disso que os agrotóxicos que atacam o sistema imunológico do corpo humano provocam diversas alterações genéticas podendo provocar doenças, como o câncer, dado que bloqueiam a absorção de nutrientes, debilitando os organismos, provocando o aumento do estresse e também alterações comportamentais (PINHEIRO, 1998; CHABOUSSOU, 2012).

O sistema convencional é um dos sistemas de produção agrícola no país, cujo processo de trabalho está baseado no emprego de adubos químicos e agrotóxicos. Do ponto de vista social, ecológico e econômico este mostra-se como um modelo insustentável, bem como faz-se necessário considerar suas implicações frente a epidemia de pragas e doenças nos monocultivos, que são consequentes deste modo de produção.

Atualmente a agricultura orgânica é representada por uma fusão de diferentes correntes alternativas, dentre elas a agricultura biodinâmica, natural, permacultura e agroecológica. Essas alternativas representam a busca de uma nova prática agrícola, que, no entanto, é moldada em função do processo social em que está inserida, determinando

diferentes modos de encaminhamento tecnológico e de inserção no mercado (ASSIS & ROMEIRO, 2002).

O sistema orgânico é uma metodologia de produção agrícola que dispensa o uso de insumos químicos e se caracteriza por um processo que leva em conta a relação solo/planta/ambiente com o intuito de preservar o meio ambiente, a saúde dos homens e dos animais (MEIRELLES & RUPP, 2014). O planejamento do uso da terra é fundamental na agricultura orgânica, pois o solo não é somente considerado um meio para a sustentação da planta e fornecedora de nutrientes, mas como abrigo de uma rica fauna e flora. O processo produtivo deve ser planejado com o objetivo de causar o menor impacto possível no ecossistema local (PENTEADO, 2010).

Segundo a legislação brasileira

“sistema orgânico de produção agropecuária: todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não-renovável, empregando, sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes, em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização, e a proteção do meio ambiente; (Decreto Nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007).”

A produção orgânica representa excelente oportunidade aos pequenos agricultores, pois embora utilizem mais mão-de-obra e apresentem menor produtividade que os sistemas convencionais, mostram desempenho econômico sempre melhor, traduzido por menores custos efetivos, maiores relações custo-benefício e maiores rendas efetivas (CARMO & MAGALHÃES, 1998).

Com o crescente interesse do consumidor por novidades na área alimentar, o mercado das hortaliças destinadas ao consumo in natura sofre suas influências. A procura cada vez maior por alimentos limpos, livres de resíduos de agrotóxicos e com a sua produção em harmonia com o ambiente é uma realidade que se constata no mundo todo,

refletindo diretamente no crescimento do mercado de produtos orgânicos (VIEIRA et al., 2009).

Uma cultura que é de extrema importância na produção de orgânicos é a da alface (*Lactuca sativa* L.), que se constitui enquanto uma hortaliça tradicionalmente cultivada por pequenos produtores, o que lhe confere grande importância econômica e social. Aliado a isso, a grande necessidade de adubação orgânica da cultura (NAKAGAWA et al., 1993) faz dessa hortaliça um importante fomento à agricultura orgânica. Por ser uma cultura folhosa consumida in natura, a procura pela alface orgânica cresce no mercado, a cada dia, visto que é a hortaliça folhosa mais produzida e consumida no Brasil, de baixo valor calórico, sendo boa fonte de vitaminas e de sais minerais (OHSEM, et al., 2001). Assim, se torna intensa a atividade em torno da cultura, considerando sua alta demanda e consumo.

Embora este seja um mercado de grande fluxo, a qualidade da alface é contestável, uma vez que estudos apontam problemas relacionados a diversos insumos utilizados em sua produção, particularmente o nitrato (NO_3^-) devido ao seu potencial toxicológico para a saúde humana. No entanto, se faz necessária a realização de pesquisas que melhor esclareçam os problemas relacionados às consequências desse elemento voltado para o consumo humano, bem como sejam capazes de nortear futuras decisões políticas com relação a esta problemática (ARLÓ et al., 2015; ZAGO et al, 1999).

A luz é um fator ambiental de fundamental importância para as plantas devido à ação direta ou indireta na regulação do crescimento e desenvolvimento vegetal. As adaptações sofridas pelas plantas na maquinaria fotossintética em resposta às condições de luminosidade ambiental refletem em seu crescimento global (ENGEL & POGGIANI, 1991). Ela influencia a anatomia foliar nos primeiros estádios de desenvolvimento, quanto na fase adulta, pois a folha é um órgão bastante plástico e a estrutura interna adapta-se às condições de luz do ambiente. A influência da luz sobre a anatomia foliar pode ser avaliada de acordo com a intensidade, qualidade e quantidade da luz (BOARGMAN, 1977).

A luz que incide nos sistemas de cultivo, normalmente condiz com as necessidades em termos quantitativos, mas a qualidade não é levada em consideração. Ao manejar o espectro luminoso incidente sobre a cultura, geralmente são usadas malhas de diferentes cores, dessa maneira ocorre a fragmentação da luz direta que se converte em difusa. A intensidade e composição desta influenciam as plantas na taxa de crescimento celular, na acumulação e composição de pigmentação, na diferenciação dos plastídeos e

em outras alterações fisiológicas dependentes da luz. (ALMEIDA & MUNDSTOCK, 1998)

A utilização de malhas de sombreamento nos cultivos em locais de temperatura e luminosidade elevadas conduz as hortaliças de folhas dentro de uma variação adequada de luminosidade, reduzindo a intensidade da energia radiante com melhor ajuste na sua distribuição (PINHEIRO et al., 2012). Elas promovem proteção física (pássaros, granizo, insetos, radiação excessiva), modificam o ambiente (umidade, sombreamento, temperatura) (PÉREZ et al., 2006), e aumentam a proporção relativa de luz difusa (dispersa) assim como absorve diversas bandas espectrais, afetando a qualidade da luz.

Com base no elucidado o objetivo deste trabalho foi o estudo de diferente tipos de adubação orgânica e convencional nitrogenada para a observação do nitrogênio e nitrato na cultura, e da utilização de malhas termorrefletoras coloridas (preta e vermelha), que tem a finalidade de atender as prioridades das plantas em relação com a qualidade da luz. O uso destas tem por resultado a proteção física e a filtragem de luz, nas regiões espectrais do visível, ultravioleta (UV) e vermelho-distante, podendo promover transformações na produtividade, qualidade e velocidade de maturação, e ainda são agentes influenciadores na temperatura e umidade pela dispersão de radiação difusa.

1.1. Adubação Nitrogenada

O nitrogênio é um dos nutrientes mais importantes para as culturas, sendo que geralmente são necessárias altas doses de adubações. Este elemento mineral serve como constituinte de muitos componentes da célula vegetal, incluindo aminoácidos e ácidos nucleicos, de forma que a deficiência de nitrogênio rapidamente inibe o crescimento vegetal. Se tal deficiência persiste, a maioria das espécies mostra clorose (amarelecimento das folhas) sobretudo nas folhas mais velhas (TAIZ E ZEIGER, 2013).

Tratando-se deste componente algumas preocupações merecem destaque, dentre elas: a contaminação de águas subterrâneas e dos mananciais e o aumento dos teores de nitrato (NO_3^-) nos alimentos, principalmente nas hortaliças e frutas com consumo in natura, como a alface, espinafre e repolho que tendem a acumular o nitrato em seus tecidos. O nitrato é uma forma de ocorrência natural do nitrogênio, se encontra em inúmeros lugares como no solo, no ar, na água e também em alimentos provenientes da carne, leite, produtos lácteos, grãos, frutas, bebidas alcoólicas e principalmente nos vegetais. A concentração de nitrato é um importante indicador de qualidade dos vegetais,

já que, em média, mais de 85 % da ingestão diária de nitrato na dieta humana é proveniente dos vegetais, representando 300 a 940 mg g⁻¹ do consumo diário estimado de nitrato. A redução do conteúdo de nitrato irá agregar um maior valor ao produto vegetal, melhorando às suas propriedades nutricionais e terapêuticas (GANGOLLI et. al., 1994; MENSINGA et al., 2003; SANTAMARIA, 2006).

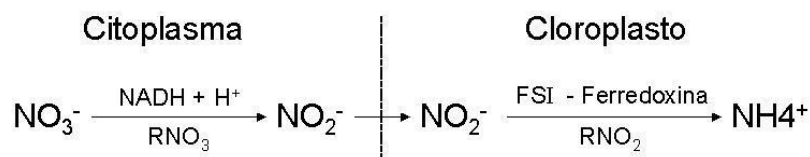
Existem vários fatores que influenciam o acúmulo de nitrato nos vegetais, entre eles fatores genéticos, ambientais (umidade atmosférica, conteúdo de água no substrato, temperatura, irradiância, fotoperíodo) e das práticas agrícolas (doses e forma de fornecimento de nitrogênio, disponibilidade de outros nutrientes, uso de herbicida, etc.), sendo que destes fatores pode-se apontar o fornecimento de nitrogênio e regime de luz como os fatores de maior influência no acúmulo de nitrato nos vegetais (CANTLIFFE, 1973; SANTAMARIA et al., 2001;UMAR & IQBAL, 2006;).

Woese et al. (1997) realizaram uma revisão com estudos que compararam os sistemas de produção convencional e orgânico, sendo que 41 destes abordavam da questão do conteúdo de nitrato em vegetais indicando a existência de claras evidências que confirmam que vegetais cultivados em sistema orgânico, ou que ao menos receberam adubação orgânica, exibiram menores níveis de nitrato.

Existem diferentes mecanismos na planta que regulam a atividade/concentração da nitrato redutase. Um dos motivos para sua regulação é evitar o acúmulo de nitrito, que é extremamente tóxico para células vegetais. A expressão genética para a nitrato redutase é rapidamente induzida pelas presenças de: nitrato, luz, sacarose e citocinina. A presença do molibdênio também é um importante elemento na assimilação do nitrato pela planta, devido a este nutriente ser um importante cofator da redutase do nitrato. Plantas desenvolvidas sob condições de baixa luminosidade (ex., em casa de vegetação durante o inverno) apresentam concentrações de nitrato maiores que plantas que se desenvolveram sob condições de alta luminosidade (ex., em cultivo aberto durante o verão) (KRAPP et al., 1998; LILLO, 2008; NEELY et al., 2010; MARSCHNER, 2011).

Para ser metabolizado pela planta, formando aminoácidos, proteínas e outros compostos nitrogenados, o nitrato (NO₃⁻) absorvido pelas raízes necessita ser reduzido para amônio (NH₄⁺). Esta redução, na maioria das plantas ocorre nas folhas e em duas etapas: a primeira no citoplasma, onde o NO₃⁻ passa para NO₂⁻ e é mediada pela enzima Redutase do Nitrato (RNO₃); a segunda nos cloroplastos, em que o NO₂⁻ passa para NH₄⁺, mediada pela Redutase do Nitrito (RNO₂). No primeiro estágio, o agente redutor é o NAD(P)H, e no segundo estágio, nos cloroplastos, o agente redutor é a ferredoxina, cujos

elétrons são originados no fotossistema I (FSI) da fase de reações luminosas da fotossíntese:



Absorção e redução do NO_3^- na planta.

Vários fatores afetam a redução e o conseqüente acúmulo de nitrato nas plantas. Nos fatores ambientais, o suprimento de NO_3^- às plantas e a intensidade luminosa são os mais importantes. O sistema de cultivo ou a adubação pode também afetar o teor de nitrato nas hortaliças. Encontram-se na literatura muitos trabalhos comparando sistemas de produção de alface (convencional, orgânico e hidropônico) no acúmulo de nitrato na cultura.

Miyazawa (MIYAZAWA et al., 2000; MIYAZAWA et al., 2001) realizaram um levantamento de teores de nitrato em folhas de alface produzida nos três sistemas de produção citados, cujas amostras foram coletadas de produtores da região de Londrina-PR. Os resultados mostram que, mais de 70% das amostras da alface hidropônica apresentaram teores de NO_3^- entre 6.000 a 12.000 mg kg^{-1} de matéria seca (MS) de folhas e apenas 3% tinham teores inferiores a 3.000 mg kg^{-1} de MS. No sistema orgânico, apenas 25% das amostras apresentaram teores superiores a 3.000 mg kg^{-1} de NO_3^- na MS; o sistema convencional apresentou resultados intermediários, com 42% das amostras entre 3.000 e 6.000 mg kg^{-1} de MS.

De acordo com a avaliação do Scientific Committe on Food - SCF (1997) a cultura da alface foi uma das apontadas com maior fonte de nitrato na alimentação e em resposta ao SCF, em 1997 o European Commission's Scientific Committe on Food (ECF), em acordo com o European Member States, estipularam limites para nitrato em alface e espinafre (EC Regulation No. 194/97).

Assim os níveis máximos de nitrato em vegetais foram constituídos pela primeira vez na UE em 1997 pelo Regulamento (CE) nº 194/978 da Comissão. Desde então, o Regulamento foi modificado várias vezes e os níveis máximos atuais são estabelecidos no anexo, seção 1, do Regulamento (CE) n.º 1881/20062 da Comissão, de 19 de

Dezembro de 2006, que fixa os teores máximos para certos contaminantes nos gêneros alimentícios.

O regulamento relativo ao nitrato é aplicado aos cinco produtos alimentares seguintes: Espinafres frescos, espinafres conservados, congelados, alface fresca (alface aberta e protegida), e alimentos à base de cereais processados e alimentos para bebês e crianças pequenas. Todos os níveis máximos são expressos em mg de nitrato / kg de peso fresco.

Ficaram definidos os máximos teores permitidos de nitrato na União Europeia (UE), por espinafre é de 2.500 a 3.000 mg kg⁻¹ de produto fresco; em alface de 3.500 a 4.500 mg kg⁻¹ de peso fresco e no espinafre congelado de 2.000 mg kg⁻¹ de produto processado (Boink e Speijers, 2001). De acordo com a Food and Agriculture Organization (FAO), para os humanos, o Índice de Máxima Ingestão Diária Admissível para o nitrato e nitrito é de 5 mg kg⁻¹ e de 0,2 mg kg⁻¹ de peso corporal, respectivamente. Porém, infelizmente, em certos países a legislação de regulamentação dos limites para conteúdo de nitrato em vegetais ainda é inexistente, como é o caso do Brasil, Uruguai e também dos Estados Unidos (ARLÓ et al., 2013; GÜNES et al., 1995; SANTAMARIA, 2006; ZAGO et al, 1999).

De acordo com o Banco de Dados Agregados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no Brasil 3,69 milhões de toneladas de adubos nitrogenados foram entregues ao consumidor até o final de 2013. Do total do nitrogênio aplicado, apenas 40-50% é utilizado pela cultura, o restante é perdido no sistema solo-planta e pode resultar em problemas ambientais, incluindo a poluição da água e do ar (FAO, 2008; SYLVESTER- BRADLEY & KINDRED, 2009 e IBGE, 2013).

A toxicidade do nitrato em humanos por si é baixa mas de 5 a 10% do NO₃⁻ ingerido na alimentação é convertido a nitrito (NO₂⁻) na saliva bucal ou por redução gastrintestinal (Boink e Speijers, 2001). O nitrito entrando na corrente sanguínea oxida o ferro (Fe²⁺ + Fe³⁺) da hemoglobina, produzindo a metahemoglobina: **NO₂⁻ + metHb(Fe³⁺) + NO₃⁻ > oxyHb(Fe²⁺)**

A hemoglobina nesta forma é inativa e incapaz de transportar o O₂ para a respiração normal das células dos tecidos, causando a chamada metahemoglobinemia (Wright e Davison, 1964), e as células sofrem por anoxia. Leifert et al. (1999) destacam que em pessoas adultas, esse processo é reversível devido à ação da enzima Redutase da Metahemoglobina (RM) e com a participação do agente redutor NADH (Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo):

O nitrito pode combinar com aminas formando nitrosaminas, as quais são mutagênicas e cancerígenas (MAYNARD et al., 1976). De acordo com Leifert et al. (1999), em sua última revisão sobre o efeito do nitrato sobre a saúde humana, pouco evidenciou a formação de altos níveis de nitrosaminas a partir de nitrito e aminas no sistema gastrointestinal de humanos. De acordo com Mengel e Kirkby (2001) no trato digestivo humano, ocorre síntese de nitrosaminas a partir do nitrito, porém a quantidade produzida é muito baixa na ordem de 1:20.000. Leifert et al. (1999) citam que os resultados de estudos epidemiológicos para estabelecer a relação entre a ingestão de nitrato e câncer gastrointestinal são conflitantes e contraditórios.

A planta constitui estruturas que regulam a concentração e a atividade da nitrato redutase, estas estruturas têm a função de evitar o acúmulo de nitrito, pois é extremamente tóxico para as células vegetais. O acúmulo de nitrato nos tecidos vegetais acontece quando tem o desequilíbrio entre a absorção e a assimilação desse íon, sendo que as quantidades excedentes são estocadas nos vacúolos para serem assimiladas posteriormente (ANDRIOLO, 1999). Os fatores que afetam o acúmulo de nitrato nas plantas são de origem genética, ambiental, da forma de fornecimento do nitrogênio (quantidade e proporção) e da quantidade de molibdênio fornecido, pois este elemento é um cofator da redutase do nitrato, tornando significativo na assimilação do nitrato pela planta. Entre as variáveis genéticas, as cultivares de alface de folhas lisas apresentam uma maior tendência a acumularem mais nitrato que as de folhas crespas (OHSE, 1999).

Plantas desenvolvidas em baixa condições de luminosidade, apresentam concentrações de nitrato maiores que plantas que se desenvolveram sob condições de alta luminosidade (KRAPP et al., 1998; LILLO, 2008; NEELY et al., 2010; MARSCHNER, 2011).

O nitrogênio composto em glutamato e glutamina pode ser utilizado para síntese de outras aminas, como aminoácidos, ureídeos, amidas, peptídeos, proteínas, ácidos nucleicos ou em distintos componentes que contem nitrogênio.

Nos fatores ambientais, destaca-se a intensidade de radiação luminosa e a temperatura do ar que afetam a fotossíntese. A irradiância elevada diminui o acúmulo de nitrato, demonstrou-se isso por meio de plantas cultivadas com circunstâncias naturais de luz, durante as estações do ano, ou nas experiências sob radiação controlada, conforme CARDENAS-NAVARRO et al. (1999). A redutase do nitrato é uma enzima induzível. A luz pode, então, influenciar o metabolismo do nitrato também por meio de efeitos sobre a síntese dessa enzima (OHSE, 1999).

1.2. Nitrato na saúde humana

A toxicidade dos nitratos é principalmente atribuível à sua redução a nitrito e ao seu comparecimento na corrente sanguínea, devido a oxidação da hemoglobina a metahemoglobina. A metahemoglobinemia é uma condição clínica causada pela conversão excessiva da hemoglobina em metahemoglobina, que impossibilita de ligar-se e transportar oxigênio, isso se deve a ocorrência de altas concentrações de nitrato, principalmente no consumo de vegetais e água, afetando de forma intensa recém-nascidos e adultos (ALONSO, L. V.).

O cultivo convencional, no caso das culturas folhosas, é capaz de apresentar problemas relacionados ao uso de altas doses de adubos solúveis (principalmente nitrogenados) que aliado à intensa aplicação de agrotóxicos, podem levar a produtos de qualidade contestável, apresentando resíduos dos diversos insumos utilizados que são potencialmente tóxicos para a saúde humana.

A metahemoglobinemia infantil, é popularmente conhecida como a doença dos bebês azuis, crianças pequenas são mais susceptíveis que os adultos à formação de metemoglobina devido à causas como: a ingestão total de líquidos por kg de peso corporal é aproximadamente 3 vezes maior que a do adulto; a secreção gástrica ácida é incompleta e faz com que o pH estomacal fique entre 5 e 7, o que concede a adaptação de bactérias redutoras de NO_3^- à parte alta do trato gastrointestinal e com isso o nitrito resultante é absorvido; a hemoglobina fetal (hemoglobina F) é mais facilmente convertida à metemoglobina do que a adulta (hemoglobina A) e as crianças pequenas tem consideráveis quantidades da hemoglobina F; as crianças menores, por deficiência de algumas enzimas, tem maior dificuldade para reduzir a metemoglobina (NILDA,1981).

Isso é resultante devido ao mecanismo bioquímico de oxidação da hemoglobina pelo nitrito, juntamente com transformação da oxiemoglobina em hidróxido de metemoglobina e redução da água, conforme a equação: $\text{NO}_2^- + 2\text{Hb}^{++} \cdot \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} > \text{NO}_3^- + 2\text{Hb}^{+++} \cdot \text{OH} + \text{O}_2$.

Outro problema que pode aparecer em humanos são os compostos N-nitrosos, considerados carcinogênicos e sua relação com o câncer gastrointestinal é o enfoque de diversos estudos (GANGOLLI et al., 1997; KOBAYASHI, 2015). Estes compostos se devem a redução do nitrato para nitrito e conseqüentemente revertido para ácido nitroso (ocorrem em circunstâncias elevadamente ácidas no trato gastrointestinal), com isso acarreta na formação de nitrosaminas ($\text{R}_1\text{R}_2\text{N}-\text{N}=\text{O}$) e nitrosamidas ($\text{R}_1\text{COR}_2\text{N}-\text{N}=\text{O}$).

Estudos indicaram um coeficiente de correlação entre mortalidade devido a câncer gástrico e ao teor de consumo de nitrato de 0,88. Segundo trabalho realizado por Guliset al. (2002) os autores constataram relação positiva entre os níveis de nitrato e a incidência de linfoma e câncer de colón, com um maior risco entre mulheres.

1.3. Fotossíntese

A fotossíntese é de extrema importância no desenvolvimento do mundo, sem ela não existiria uma cadeia alimentar e conseqüentemente vida, eis o único procedimento biológico que consegue aproveitar a energia proveniente do sol.

Mesmo com o conhecimento de ampla parte dos complexos fotossintéticos, a compreensão do convertimento de energia luminosa nos cloroplastos de plantas e microalgas, são necessários ainda estudos sobre a dinâmica da fotossíntese. O aparato fotossintético é uma máquina molecular flexível que pode moldar-se a flutuações metabólicas e de luz em questão de minutos (EBERHARD et al., 2008 e HOHMANN-MARRIOTT & BLANKENSHIP, 2011).

Os cloroplastos são estruturas características das células vegetais e ausentes nas células animais. É um grupo de organelas envolvidas por dupla membrana, designadas como plastídeos, que são ricas em glicosilglicerídeos, contêm clorofila e suas moléculas associadas e constituem o sítio da fotossíntese. Os cloroplastos exibem um terceiro sistema de membranas chamado de tilacoide, que são dispostos em pilhas interconectadas denominadas de granum.

Na membrana do tilacoide encontram-se organelas que contém a pigmentação de clorofila, sendo responsáveis pelo fenômeno biológico da fotossíntese. Variados elementos do aparelho fotossintético ficam em localizadas em áreas diferentes dos grana (plural de granum) e das lamelas (membranas adjacente do grana) do estroma, que é o compartimento fluido que circunda os tilacoides. As ATPsintases do cloroplasto se encontram nas membranas dos tilacoides, no decorrer das reações de transferência de elétrons dissipam o gradiente de prótons desenvolvido, e conseqüentemente sintetizam o ATP.

A estrutura dos cloroplastos possuem características semelhantes à de uma mitocôndria, apresentando dupla membrana, DNA próprio, forma esférica ou ovoide, tamanho e quantidade variando conforme o tipo celular e origem endossimbionte,

realizam sua própria síntese proteica, com isso acabam sendo organelas semi-autônomas (TAIZ & ZEIGER, 2006).

A luz proveniente do sol na fotossíntese é primeiramente retida pelos pigmentos ativos encontrados no cloroplasto, estes podem ser clorofilas, carotenoides e ficobilinas. Estes apresentam demasiadas funções, como absorção da luz, transferência de energia para excitação dos centros de reação, contribuição na estabilização e regulação do aparato fotossintético, entre outras funções.

Pigmentos naturais como as clorofilas são os mais presentes nas plantas, ocorrem nos cloroplastos das folhas e em distintos tecidos vegetais. As diferenças aparentes na cor do vegetal são devido à presença e à distribuição variável de outros pigmentos associados como os carotenoides, os quais sempre acompanham as clorofilas (ELBE, 2000). A clorofila relaciona-se diretamente com a atividade fotossintética nas plantas. Assim, o estado nutricional das plantas está relacionado com a qualidade e a quantidade de clorofila.

O teor de clorofilas nas folhas é influenciado por diversos fatores bióticos e abióticos, estando diretamente relacionado com o potencial de atividade fotossintética das plantas (TAIZ; ZEIGER, 2002). Portanto, sua quantificação é relevante no estudo de práticas culturais e de manejo, visando aumentar o potencial fotossintético e o rendimento das espécies vegetais.

A absorção de clorofila é intensa, porém se restringe a determinadas faixas próximas das extremidades do espectro visível (≈ 430 e ≈ 680 nm). A clorofila *b* que retêm a luz nas faixas espectrais de 460 e 650 nm e os carotenoides nas faixas de 400 a 500 nm, são designados pigmentos acessórios, eles ampliam a faixa de luz que pode ser utilizada na fotossíntese (GREEN & PARSON, 2003).

Os carotenoides são encontrados em todos os organismos fotossintéticos, estas protegem a clorofila do excesso de luz tanto direta e indiretamente. Estes estão embebidos nas membranas dos tilacoides e normalmente encontram-se associados a pigmentos proteicos, das antenas e dos centros de reação, sendo sua absorção de luz solar repassada para à clorofila. No espectro de luz de 450–550nm, colaboram com a absorção nesta faixa. Uma pequena parte, dos mais de 800 tipos de carotenoides conhecidos, estão envolvida na fotossíntese (GREEN& PARSON, 2003).

Durante a fase da fotossíntese ocorrem reações de oxirredução, as moléculas de água sofrem oxidação e os elétrons livres irão repor a deficiência das moléculas de clorofila excitadas pela luz. Os elétrons liberados pelas clorofilas pela ação da luz são transferidos em

reações através de agentes oxidantes até ao NADP^+ que é reduzido para NADPH . Estas reações de oxirredução espontâneas liberam a energia que é utilizada na fosforilação do ADP formando ATP.

Os produtos gerados são utilizados na fixação de CO_2 no ciclo de Calvin e na redução do nitrogênio (nitrito – amônio), servindo como agente redutor. Os complexos fotoquímicos são constituídos em dois fotossistemas I e II (PSI e PSII), esses fotossistemas solicitam uma absorção contínua de luz. No fotossistema I absorve preferencialmente a luz no comprimento de onda acima de 680 nm (vermelho-distante, centro de reação P700) e é responsável pela redução do $\text{NADP}^+ + 2\text{e}^- + \text{H}^+$, já no fotossistema II absorve na faixa do vermelho com comprimento de onda de 680nm (centro de reação P680). O PSII necessita de fótons mais energéticos do que o PSI para a excitação das suas moléculas de clorofila, com a excitação são capazes de oxidar a água, que fornece um elétron para o centro de reação P680. O elétron resultante é conduzido pela cadeia transportadora de elétrons para o centro de reação P700 do PSI, que reduz o $\text{NADP}^+ + \text{H}^+$ para NADPH . O centro do PSII, suas clorofilas e as proteínas da cadeia transportadora de elétrons associadas, se encontram predominantemente nas lamelas granais, e o PSI e adjuntos, bem como a enzima conhecida como fator de ligação que catalisa a formação do ATP, encontram-se quase exclusivamente nas lamelas do estroma e nas margens das lamelas granais (ALLEN & FORSBERG, 2001; TAIZ & ZEIGER, 2006).

Esta estrutura biológica citada é de indispensável compreensão da regulação das demais vias metabólicas, em que dependem intrinsecamente dos produtos da fotossíntese. Com isso a luz, tanto na sua quantidade e qualidade, é vital na produção e qualidade vegetal.

1.4. Características da luz

A luz exhibe propriedades tanto de partículas como de ondas. A onda é eletromagnética transversal, onde os campos magnético e elétrico variam perpendicularmente à direção da propagação da onda. O fóton é denominada a partícula de luz que contém uma quantidade de energia chamada quantum, como o seu conteúdo de energia não é de maneira contínua, acabam emitindo em forma de “pacotes”, denominado quanta (TAIZ & ZEIGER, 2006).

A irradiância é o fluxo radiante solar que incide na dimensão do terreno por área de superfície, a sua medida é realizada em watts por metro quadrado ($W m^{-2}$). Quando a radiação eletromagnética (REM) alcança a superfície dos materiais, em parte é absorvida (absorbância), ocorre interações entre a energia eletromagnética com a energia que está nos átomos e moléculas dos objetos terrestres. A parte que não é absorvida acaba se refletindo, os objetos contem diferentes composições e conseqüentemente tem absorções e reflectâncias diferentes. A reflectância é a razão da quantidade de energia radiante que é emitida ou refletida em uma unidade de área no terreno (radiância), pela potência de energia que incide por unidade de área (irradiância), avaliada no mesmo instante de tempo. A irradiância e radiância são densidade de fluxo, o valor dessa razão é tornada adimensional, sendo expresso em porcentagem (MENESES, 2012).

Com isso podem afetar elementos térmicos do infravermelho e também absorver bandas espectrais que influenciam na qualidade da luz (STAMPS, 2009; PÉRES et al, 2006).

1.5. Alface

A alface (*Lactuca sativa*) pertence à família das Asteraceae que se originou de espécies silvestres de regiões de clima temperado, no sul da Europa e na Ásia Ocidental. As variedades comumente cultivadas são *Lactuca sativa* var. capitata (alface repolhuda), *Lactuca sativa* var. longifolia (alface romana), *Lactuca sativa* var. crispata (alfaces crespas ou frisadas) e a *Lactuca sativa* var. latina (alface galega). A cultura é anual, herbácea, muito delicada, folhas grandes e de consistência variada em função de variedades. As folhas podem ser lisas ou crespas e a coloração verde-clara, verde-escura ou roxa. Podem ser repolhuda com formação de cabeça ou solta, sem formação de cabeça. O sistema radicular é superficial e ramificado exigindo solos de textura média, rico em matéria orgânica e com boa disponibilidade de nutrientes (FILGUEIRA, 2003; SOUZA et al., 2005).

A alface é cultivada em todas as regiões brasileiras e é a principal salada consumida pela população, tanto pelo sabor e a qualidade nutricional quanto pelo reduzido preço para o consumidor (RESENDE et al., 2007).

O Brasil possui uma área de aproximadamente 35.000 hectares plantados com alface, caracterizados pela produção intensiva, pelo cultivo em pequenas áreas e por

produtores familiares, gerando cerca de cinco empregos diretos por hectare (COSTA e SALA, 2005).

De acordo com o último censo agropecuário realizado pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) em 2006, a região Sul foi responsável por 14 % da produção de alface a nível nacional (considerando a produção brasileira estimada em 525.602 toneladas), sendo que na região Sul, o Estado do Paraná (PR) foi responsável por 38 % da produção dessa hortícola.

Atualmente, a alface se destaca por ser a folhosa mais consumida no Brasil e a 3ª hortaliça em maior volume de produção, perdendo apenas para a melancia e o tomate, segundo a Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas (ABCSEM). De acordo com a entidade, a alface movimenta anualmente, em média, um montante de R\$ 8 bilhões apenas no varejo, com uma produção de mais de 1,5 milhão de toneladas ao ano.

Por ser originário de regiões de clima temperado, seu melhor desenvolvimento se dá sob clima ameno durante a fase vegetativa, sendo que a fase reprodutiva ocorre em temperaturas mais elevadas e dias longos. Com base nisso temperaturas elevadas podem reduzir a fase vegetativa e ocasionar o pendoamento precoce, tornando as folhas leitosas e amargas, perdendo seu valor comercial. O avanço dos trabalhos de melhoramento genético possibilitou sua produção em todos os períodos do ano, sendo recomendado as cultivares mais rústicas, adaptadas as condições locais, que possuam sistema radicular bem desenvolvido com boa capacidade de exploração do solo para os cultivos orgânicos (RESENDE et al., 2007).

As variedades de alface atualmente disponíveis no mercado de sementes são agrupadas em cinco tipos morfológicos principais, com base na formação de cabeça e tipo de folha. São exemplos de variedades: repolhuda lisa (cultivares Elisa, Maravilha de Verão, Rainha de Maio, Stella entre outras); repolhuda crespa ou americana (cultivares América Delícia, Grandes Lagos, Lucy Brown, Tainá, entre outras); solta lisa (cultivares Babá, Regina, Vitória de Verão, entre outras); solta crespa (cultivares Brisa, Elba, Hortência, Vera, entre outras); solta crespa roxa (cultivares Quatro Estações, Veneza Roxa, Vermelha Ruby, entre outras); e a romana (cultivares Branca de Paris, Ideal Cos e Romana Balão) (HENZ & SUINAGA, 2009).

A maior influência climática, nos processos fisiológicos das plantas de alface, é a temperatura do ar, podendo acelerar ou retardar as reações metabólicas (VIEIRA & CURY, 1997). Entretanto outros fatores como a umidade relativa do ar e a luz, podem

afetar diretamente as interações com a fotossíntese, a produção de matéria seca e o índice de área foliar (JOLLIET, 1994).

2. Material e métodos

2.1. Localização do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com cobertura de polietileno de baixa densidade transparente de 150 μ , na Universidade Estadual de Maringá, no campus do município de Maringá – PR, com coordenadas geográficas 23°24'12'' de latitude sul e 51°56'31'' de longitude oeste, altitude 550 metros (Google Earth®, 2016), cujo clima é classificado por Köppen como subtropical (Cfa).

Para o experimento utilizou-se semente de variada de alface lisa Stella, semeadas em bandeja de polietileno expandido de 128 células. Após 25 dias as plantas germinadas nas bandejas foram transplantadas para os vasos de 4,0 L, sendo estes compostos de solo proveniente de uma propriedade com certificação orgânica.

O solo utilizado foi coletado da camada arável (0 a 20 cm) de uma área de produção hortícola orgânica e apresentou seguinte caracterização química e granulométrica:

Tabela 01: Análise de macro e micronutrientes do solo

Elementos	Resultado	Elementos	Resultado
pH em CaCl ₂	6,70 mol L ⁻¹	Soma de Bases	13,46 cmolc dm ⁻³
pH em H ₂ O	7,5 mol L ⁻¹	Capacidade de troca de cátions	15,65 cmolc dm ⁻³
pH em SMP	7,10 mol L ⁻¹	Enxofre (S)	5,23 mg dm ⁻³
Carbono (C)	35,78 g.dm ⁻³	Cobre (Cu)	7,44 mg dm ⁻³
Fosforo (P)	753,59 mg dm ⁻³	Zinco (Zn)	46,85 mg dm ⁻³
Potássio (K ⁺)	0,97 cmolc dm ⁻³	Ferro (Fe)	86,75 mg dm ⁻³
Cálcio (Ca ⁺²)	8,82 cmolc dm ⁻³	Manganês (Mn)	109,9 mg dm ⁻³
Magnésio (Mg ⁺²)	3,68 cmolc dm ⁻³	Sódio (Na ⁺)	32,76 mg dm ⁻³
Hidrogênio +Alumínio	2,19 cmolc dm ⁻³	Boro (B)	1,88 mg dm ⁻³

2.2. Delineamento Experimental

Os tratamentos foram constituídos de adubações orgânicas (torta de mamona) e convencionais (ureia) com diferentes doses em relação à análise de solo. As doses foram definidas em relação a necessidade de nitrogênio na cultura a partir da análise de solo feita: abaixo da recomendação (67,5 mg N de torta de mamona e 67,5 mg N de ureia), dose recomendada (135 mg N de torta de mamona e 135 mg N de ureia) e uma dose acima da recomendação (202,5 mg N de torta de mamona e 202,5 mg N de ureia). A testemunha não recebeu nenhum tipo de adubação nitrogenada.

Foram utilizadas duas malhas como cobertura (preta e vermelha a 30% de sombreamento), sendo a testemunha sem cobertura dentro da casa de vegetação.

Os tratamentos foram dispostos em blocos casualizados com distribuição fatorial 3x7, sendo que as três malhas (vermelha, preta e testemunha) correspondem ao fator 3 e as adubações (orgânica e convencional com três diferentes doses e a testemunha com quatro repetições) ao fator 7. As adubações foram realizadas individualmente, em cada vaso misturando-se o nitrogênio ao solo no momento do transplante.

As malhas de sombreamento (preta e vermelha) foram dispostas de maneira a ter 2 metros de comprimento, 1 metro de altura e 0,90 metros de largura. Foram utilizadas quatro repetições para cada tratamento, sendo a unidade experimental representada por uma planta de alface cultivada em vaso de 5 litros, totalizando 84 plantas no experimento.

Os dados obtidos foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. Independentemente da significância das interações foram realizados todos os desdobramentos. As variáveis respostas em função dos dias após a semeadura foram analisadas por meio de regressão a 5% de probabilidade.

2.3. Irradiância e avaliação das características espectrais das malhas

Foram realizadas análises da irradiância da luz nos diferentes microambientes (dentro da casa de vegetação, sob as diferentes malhas [preta e vermelha] e sem malha). Para essas análises empregou-se o radiômetro, instrumento medidor da radiação (Modelo HD2302.0) solar incidente à superfície (em lux; mol; Wm^{-2}). Esta é a principal fonte de energia utilizada nos processos químicos, físicos e biológicos que ocorrem na superfície da Terra, uma vez que o saldo de radiação é a quantidade de energia disponível para os processos de evapotranspiração e aquecimento do ambiente (do ar, do solo e da água). As leituras foram obtidas a partir do nível em que os vasos ficaram do solo -

aproximadamente 15 cm, para analisar a luz incidente nas plantas, tanto nos ambientes sombreados como no ambiente sem cobertura. As leituras de radiância foram obtidas a cada hora a partir do horário de 08:30 até 17:30.

A vegetação tem sido um meio muito pesquisado na área de Ciências Agrárias por intermédio de análises de reflectância (Vigneau et al., 2011; Silva et al., 2012). Por meio desta técnica, aspectos qualitativos de produtos agrícolas têm sido investigados, como o estado nutricional das plantas (Chen et al., 2010; Gianquinto et al., 2011; Pacumbaba & Beyl, 2011) e existência de doenças (Jones et al., 2010). Com isso, realizou-se análises da qualidade espectral da luz nos diferentes microambientes (fora e dentro da casa de vegetação, sob as diferentes malhas [preta e vermelha] e sem malha, foram obtidas com auxílio do espectrorradiômetro FieldSpec®3 e do adaptador RCR (Remote Cosine Receptor) da ASD. As leituras foram obtidas a partir da mesma metodologia do radiômetro.

2.4. Avaliação do índice SPAD e determinação da clorofila *a*, clorofila *b*, e carotenoides

A avaliação do verde da folha de forma rápida e com baixo custo tornou-se mais fácil com os recentes avanços e aperfeiçoamento dos medidores portáteis (Blackmer & Schepers, 1995; Guimarães *et al.*, 1999) possibilitando a sua utilização como critério de avaliação do estado de nitrogênio das plantas. Um destes medidores portáteis é o SPAD-502 (Soil Plant Analysis Development), que apresenta facilidade de operação, permite avaliações *in situ* e que pode assim ser utilizado como ferramenta auxiliar na tomada de decisão sobre a adubação nitrogenada. O instrumento SPAD-502 avalia, quantitativamente, a intensidade do verde da folha medindo as transmissões de luz a 650 nm, onde ocorre absorção de luz pela molécula de clorofila e a 940 nm, onde não ocorre absorção. Com estes dois valores, o equipamento calcula um número ou índice SPAD que, normalmente, é altamente correlacionado com o teor de clorofila da folha (Markwell *et al.*, 1995; Guimarães *et al.*, 1999) e pode identificar deficiência de N além de ter potencial de identificar situações onde a aplicação adicional de N não seja necessária. Índices SPAD obtidos em folhas de diversas espécies apresentaram correlação positiva com a suficiência de N (Piekielak & Fox, 1992; Blackmer & Schepers, 1995; Guimarães *et al.*, 1999; Shapiro, 1999) podendo ser considerado um índice para avaliar o estado de nitrogênio das plantas. Recentemente, foi demonstrado a potencialidade do SPAD-502

para avaliar a resposta de diversas espécies à aplicação do nitro- gênio (Hoel & Solhaug, 1998; Wu *et al.*, 1998; Sainz-Rozas & Echeverria, 1998; Madakadze *et al.*, 1999; Carreres *et al.*, 2000; Sandoval-Villa *et al.*, 2000).

Com base nos dois valores de transmissão (650 E 940 nm) é calculado o valor SPAD (Soil Plant Analysis Development). A avaliação foi feita calculando-se a média de 4 folhas analisadas aleatoriamente em pontos, por planta de cada um dos tratamentos.

Outro método utilizado para determinação das clorofilas e de carotenóides obteve-se a partir do processo de extração com base em Rodriguez- Amaya et al. (1976), com algumas modificações (CAMPOS et al., 2003). Cada amostra de alface foi retirada dois discos foliares de área conhecida. As amostras foram colocadas em frascos contendo 10 ml de acetona (80%) e uma pitada com carbonato de cálcio.

Os extratos obtidos foram filtrados em funil, utilizando-se papel de filtro. A extração com acetona foi realizada até a obtenção do resíduo. As amostras foram lidas em espectrofotômetro (Varian - Cary 50 Probe) nos comprimentos de onda de 647 e 663 nm e 470. Com as leituras, calcularam-se os teores das clorofilas *a*, *b* e total (WITHAM; BLAYDES; DEVLIN, 1971), e dos carotenoides (LICHTENTHALER; WELLBURN, 1983), conforme as equações;

$$Cl\ a = [(12,7 * A_{663} - 2,69 * A_{645}) * V] / 1000 * W$$

$$Cl\ b = [(22,9 * A_{645} - 4,68 * A_{663}) * V] / 1000 * W$$

$$Cl\ total = [(A_{652} * 1000) * (V / 1000 * W)] / 34,5$$

$$Car = [(1000 * A_{470} - 3,27 * Cl\ a - 104 * Cl\ b) / 229] / 1000 * W$$

em que:

A = absorvância no comprimento de onda indicado

V = volume final (ml) do extrato (pigmentos + solução extratora)

W = matéria fresca (g) do material vegetal utilizado.

2.5. Colheita das amostras para determinação de biomassa fresca e biomassa seca da parte aérea

A colheita iniciou-se 60 dias após o transplântio, sendo as plantas cortadas próximo à superfície do solo, todas no mesmo horário da manhã (08:00h). As partes

aéreas das plantas foram encaminhadas imediatamente após cada colheita e pesadas em balança analítica (GEHAKA AG200) para obtenção de biomassa fresca.

Logo após a obtenção da biomassa fresca, as partes aéreas das plantas de cada tratamento foram colocadas em sacos diferentes, e posteriormente inseridas em estufa de circulação forçada por 96 horas. Após às 96 horas ocorreu a determinação de biomassa seca, aproximadamente 5 dias depois da colheita. A biomassa seca obteve-se após secagem em estufa (FANEM modelo 002 CB a 70°C) até obtenção da massa constante. Os valores foram expressos em grama (g).

2.6. Determinação de nitrato

Para a análise de nitrato foram utilizadas 35,8 mg de biomassa seca em 25 mL de água de osmose reversa. A extração foi realizada agitando o tubo por 1 minuto, seguidos de 15 minutos de repouso em banho-maria a 60°C, modificada de Cataldo et al., 1975. Após a extração, o homogenato foi filtrado em papel filtro quantitativo faixa azul. A análise do nitrato foi realizada utilizando-se um sistema de injeção de fluxo (FIA="Flow Injection Analyses") através da reação com sulfanilamida e N-naftil (Zagatto et al., 1981). A leitura da absorbância em 410nm em espectrofotômetro. Os resultados foram convertidos em teores de $N-NO_3^-$ com auxílio de curva de calibração preparada a partir de soluções diluídas de $NaNO_3$, 0, 50, 100, 200, 400, 800 e 1600 $mg L^{-1}$, que receberam o mesmo tratamento das amostras.

3. Resultados

3.1. Biomassa fresca da parte aérea

Os resultados obtidos com as variáveis analisadas referentes às diferentes malhas (preta, vermelha e sem malha) mostraram que o tratamento sem malha apresentou maior acúmulo de biomassa fresca, diferindo dos tratamentos com malhas (Figura 1).

As análises referentes às adubações nitrogenadas (testemunha, ureia (U) (67,5, 135, 202,5 mg) e torta de mamona (Tm) (67,5, 135, 202,5 mg)) observou-se que o tratamento com ureia 202,5 mg sem malha obteve maior acúmulo de biomassa fresca, diferindo dos demais tratamentos sem a malha. Ainda os tratamentos testemunha; U 135 mg; Tm 67,5 mg; Tm 135 mg; Tm 202,5 na malha vermelha apresentaram maior biomassa fresca diferindo do tratamento ureia 67,5 mg na malha vermelha (Figura 1).

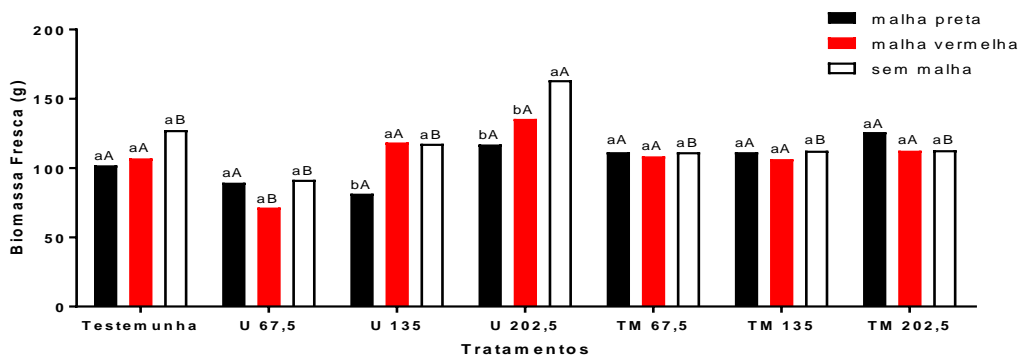


Figura 01: Valores médios de biomassa fresca em função dos tratamentos com adubações nitrogenadas as malhas de cobertura utilizadas. As médias seguidas pela mesma letra em minúsculo não diferem estatisticamente entre as malhas, na mesma adubação, enquanto as médias seguidas pela mesma letra em maiúsculo não diferem estatisticamente entre as adubações da mesma malha. Foi aplicado o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. CV%=20,11.

3.2. Biomassa seca da parte aérea

Considerando as variáveis de biomassa seca, observou-se que o tratamento sem malha também obteve maior acúmulo de biomassa seca na testemunha e no tratamento U 202,5 mg de N, diferindo dos tratamentos com malhas. Ainda o acúmulo de biomassa seca na malha vermelha foi superior ao da malha preta. (Figura 2).

As análises referentes às adubações nitrogenadas (testemunha, 67,5, 135, 202,5 mg de N) demonstraram que os tratamentos testemunha e U 202,5 mg de N no tratamento sem malha obtiveram maior acúmulo de biomassa seca, diferindo dos demais tratamentos com adubação no tratamento sem malha.

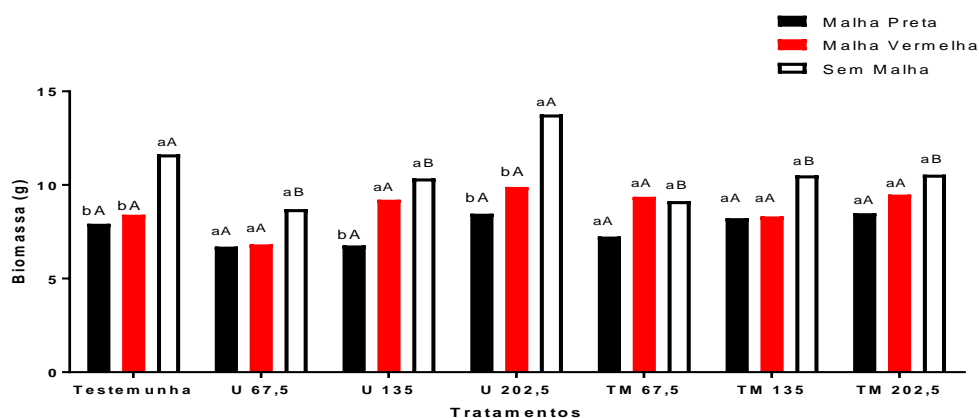


Figura 02: Valores médios de biomassa seca em função dos tratamentos com adubações

nitrogenadas e as malhas utilizadas. As médias seguidas pela mesma letra em minúsculo não diferem estatisticamente entre as malhas, na mesma adubação, enquanto as médias seguidas pela mesma letra em maiúsculo não diferem estatisticamente entre as adubações da mesma malha. Scott knott a 5% de probabilidade. CV%=20,11.

3.3. Irradiância

Em decorrência ao longo do dia, observa-se a oscilação de incidência de luz nos horários subsequentes, onde há maior pico de incidência de luz solar entre as 11 horas e as 13h da tarde, conseqüentemente o tratamento sem malha por não possuir nenhuma cobertura, diferenciou dos outros tratamentos. Com isso pode-se observar a variação de irradiação de luz no transcorrer do dia.

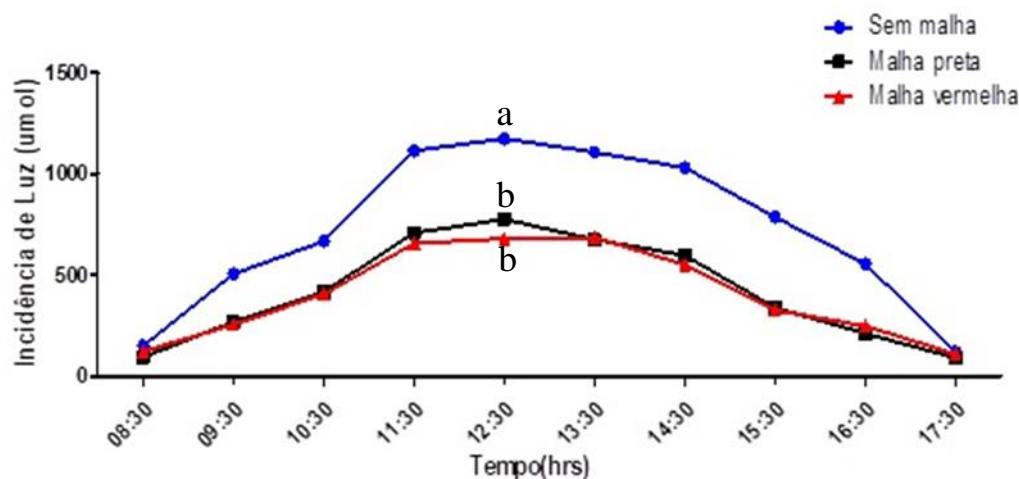


Figura 03: Incidência de radiação em função do período do dia em plantas de alface crescidas sobre diferentes malhas de sombreamento sob casa de vegetação. (*médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. CV%= 19,44.)

3.4. Spad

As análises mostraram que, em geral, houve uma diminuição do índice Spad em decorrência dos dias. Essa diminuição se apresenta maior nos tratamentos com malha preta e vermelha. Na primeira medição do dia 09, o tratamento sem malha apresentou um maior índice Spad na testemunha e nas demais adubações, exceto na adubação U 202,5 mg de N que não houve diferença. Na segunda medição realizada no dia 16, o tratamento sem malha em todas as adubações, obteve um maior índice spad referente aos demais. Na

última medição realizada no dia 23, o tratamento sem malha teve um maior índice em todos as adubações, exceto na adubação U 135 mg de N que o tratamento malha vermelha, obteve maior índice em relação ao tratamento sem malha e a malha preta (FIGURA 4).

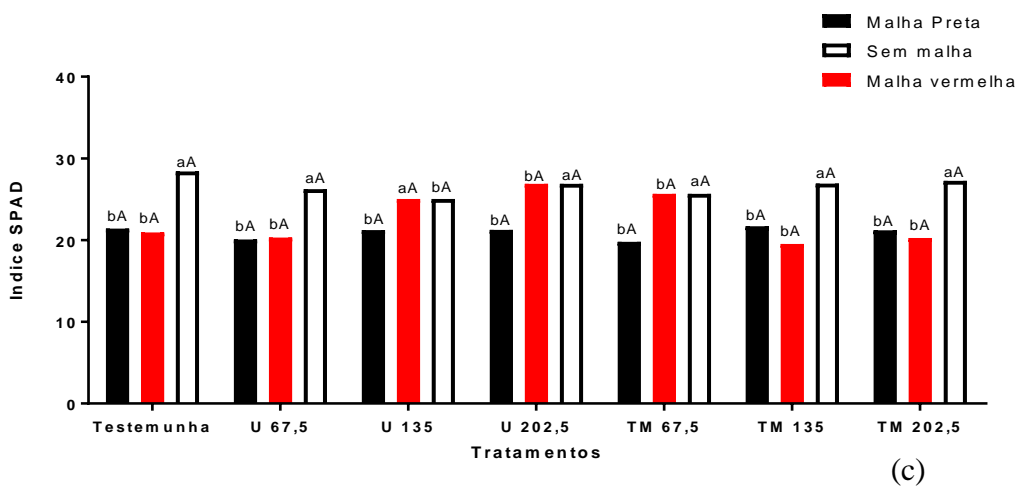
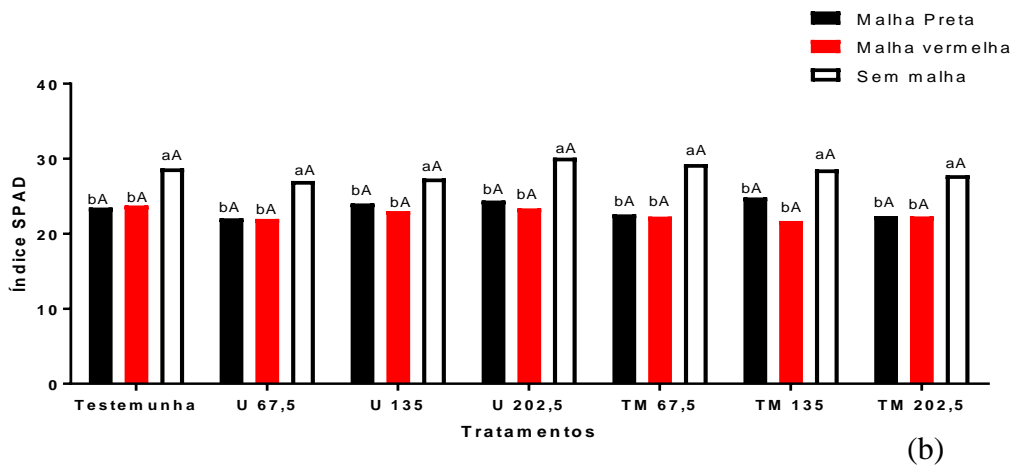
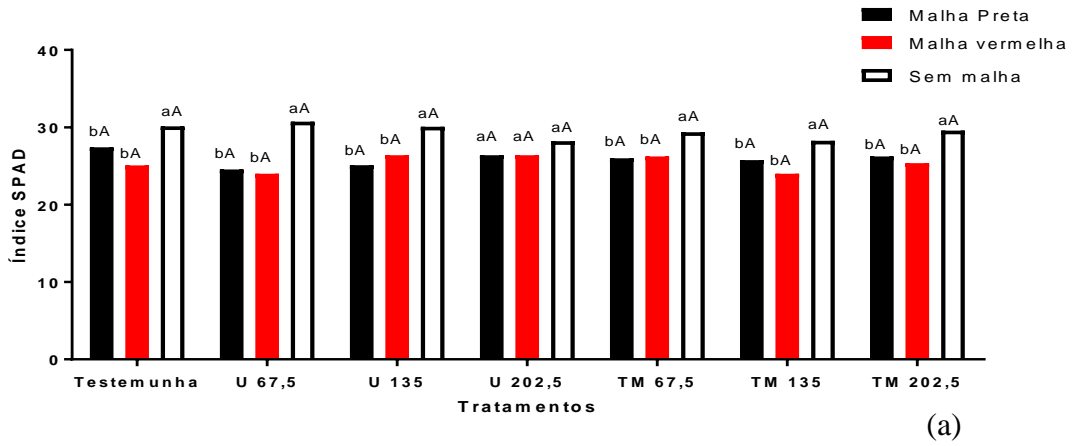


Figura 04: Índice Spad obtidas de folhas de alface sob diferentes malhas utilizadas e de adubações em três períodos 09 (a), 16 (b) e 23 (c) de novembro de 2016. As médias seguidas pela mesma letra em minúsculo não diferem estatisticamente entre as malhas, na mesma adubação, enquanto as médias seguidas pela mesma letra em maiúsculo não diferem estatisticamente entre as adubações da mesma malha. Scott knott a 5% de probabilidade. CV%=20,11

3.5. Extração de clorofilas *a* e *b* e carotenoides.

Observou-se que o teor de carotenoides total foi maior nas plantas cultivadas sem malha, e apresentou diferença em relação as malhas de sombreamento. As plantas cultivadas a pleno sol produziram maiores quantidades de carotenoides, os quais funcionam como moléculas fotoprotetoras devido a rápida dissipação dos estados excitados da clorofila (GARCÍA-PLAZAOLA et al., 1999; TAIZ & ZEIGER, 2004).

Tabela 02. Efeito das diferentes malhas no teor de pigmentos cloroplastídicos de alface (*Lactuca sativa*- cultivar Stella).

Tratamentos	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total	Clorofila a/b	Carotenoides
Malha Preta	4251.6 a ^{ns}	3272.6 a ^{ns}	7524.2 a ^{ns}	1,3	2540.7 b*
Malha Vermelha	3952.2 a ^{ns}	2959.2 a ^{ns}	6911.5 a ^{ns}	1,3	2313.6 c*
Sem malha	4423.8 a ^{ns}	3315.9 a ^{ns}	7739.7 a ^{ns}	1,3	2844.1 a*

*médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. CV%= 7,15.

3.6. Características espectrais das malhas

Dentre as malhas localizadas no interior da casa de vegetação, a sem malha apresentou valores maiores de irradiância como podemos observar na Figura 5, no comprimento de onda de 470 nm (região de espectro azul em que atuam os carotenoides) 647nm (absorção da clorofila a), e no comprimento 663nm (absorção da clorofila b), obtiveram resultados significativos.

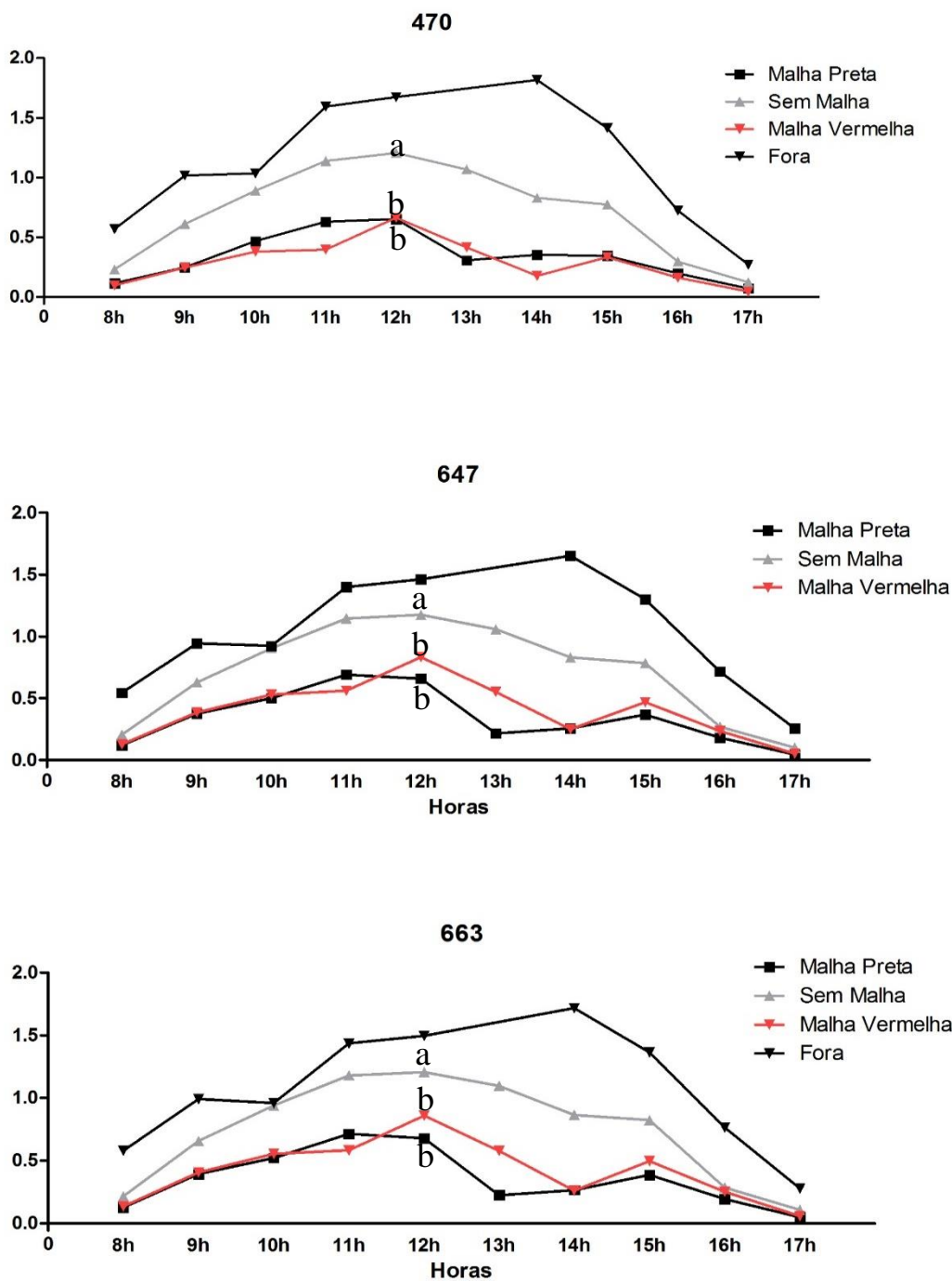


Figura 05: Espectro de luz em diferentes comprimentos de ondas com diferentes sombreamentos. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3.7. Determinação de nitrato

Os resultados obtidos com as variáveis analisadas referente às diferentes malhas (preta, vermelha e sem malha) demonstraram que o tratamento malha preta obteve maior acúmulo

de nitrato (mg g^{-1}), diferindo dos tratamentos sem malha e malha vermelha. Entretanto, os diferentes níveis de adubações não diferiram entre si no que tange o acúmulo de nitrato.

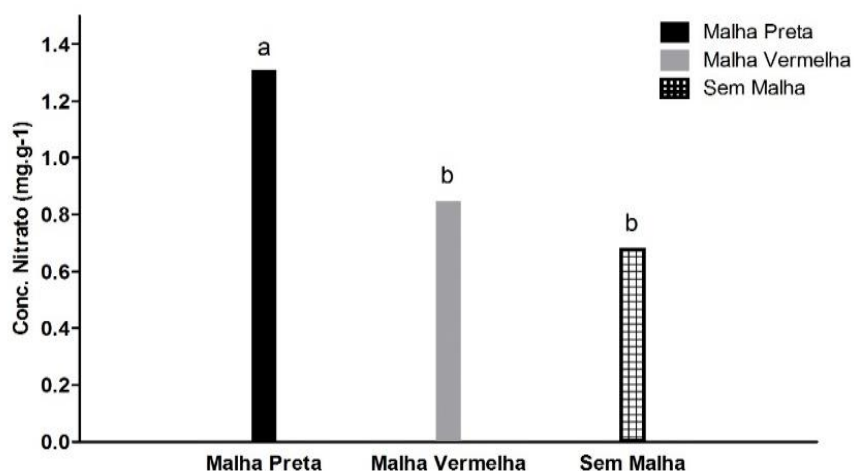


Figura 06. Acúmulo de nitrato no tecido vegetal em mg por grama de biomassa fresca, em cada tipo de malha.

A intensidade luminosa parece ser, dentre os fatores ambientais, o de influência marcante no acúmulo de nitrato em plantas. O acúmulo de nitrato que ocorre quando as plantas são submetidas a baixas intensidade luminosa é bem documentado (WRIGHT e DAVISON, 1964). A explicação para o acúmulo, que ocorre na ausência de luz ou baixa intensidade luminosa, é que nessas condições, haveria nos cloroplastos, um fluxo de elétrons, via ferredoxina, suficiente para a redutase do nitrito reduzir o NO_2^- a NH_4^+ , com consequente acúmulo de NO_2^- . Este acúmulo de NO_2^- (em baixas concentrações, pois é fitotóxico), promoveria uma inibição na atividade da redutase do nitrato no citoplasma, acumulando assim, o NO_3^- absorvido (FAQUIN e ANDRADE, 2004). Os testes comprovaram que existe diferença entre os cultivos com malha preta, sem malha e com malha vermelha. No tratamento malha preta o acúmulo de nitrato no tecido vegetal foi maior. Assim, é necessário a realização estudos mais aprofundados, visto que altos teores de nitrato nos alimentos consumidos diariamente podem ser prejudiciais à saúde humana, principalmente para aqueles que já apresentam condições renais fragilizadas (LOPES DA LUZ et al., 2008). No que tange aos diferentes níveis de adubações, não apresentaram diferenças reais nos níveis de nitrato, entretanto, para o aumento de biomassa os tratamentos sem adubação nitrogenada, U 202,2 mg de N e Tm 202,5 mg de N demonstraram um melhor desempenho. Segundo estes dados, conclui-se que somente o substrato utilizado seria suficiente para a obtenção de uma produtividade satisfatória.

4. Discussão

Diante do apresentado no trabalho, os resultados adquiridos permitem algumas ponderações. As malhas vermelhas e pretas diminuíram a produtividade, em relação à sem malha, pois este apresentou maior acúmulo de biomassa fresca e biomassa seca. No tratamento sem malha, obteve-se maior irradiação total do que os tratamentos sombreados, a taxa fotossintética das plantas foram maiores e com essas condições atingiu-se maior acúmulo de biomassa. Entretanto, o aumento de biomassa não significa necessariamente melhor qualidade da cultura.

Os valores obtidos da irradiação mostram que o tratamento sem malha, por não possuir nenhuma cobertura, diferenciou-se dos demais tratamentos. Assim pode-se observar a variação de irradiação de luz ao longo do dia e a devida importância da utilização das malhas para a diminuição da quantidade de luz incidente, evitando consequências com o excesso de luz solar nas plantas.

Os resultados avaliados referentes aos pigmentos cloroplastídicos, o teor de carotenoides total foi maior nas plantas cultivadas sem malha, e mostrou diferença em relação às malhas de sombreamento, as plantas a pleno sol produziram maiores quantidades de carotenoides, devido à rápida dissipação dos estados excitados da clorofila (GARCÍA-PLAZAOLA et al., 1999; TAIZ & ZEIGER, 2004).

O teor de clorofila na folha é utilizado para predizer o nível nutricional de nitrogênio (N) em plantas, devido ao fato de a quantidade desse pigmento correlacionar-se positivamente com teor de N na planta (HURTATO et al., 2011).

Estudos mostram que há forte relação entre os teores de clorofila, medidos pelo índice Spad, e o teor de nitrogênio. Os resultados apresentados demonstraram em que há uma diminuição no índice, devido as consequências do consumo de nitrogênio disponível no solo. Nos dias 09 e 16 o tratamento sem malha apresentou um maior índice em relação aos demais tratamentos e na maioria das adubações e testemunha, na medição do dia 23 demonstrou resultado semelhante aos dias anteriores, exceto na adubação U 135 mg de N que malha vermelha apresentou um maior índice a malha preta e sem malha. Os resultados superiores apresentados pelo tratamento sem malha em relação aos demais, é consequência de uma maior quantidade de luz disponível, pois promove maior produção de clorofila devido ao nitrogênio disponível. O que é justificado devido ao fato desse elemento fazer parte da molécula de clorofila (Malavolta et al., 1997).

No tratamento malha preta, o acúmulo de nitrato no tecido vegetal foi maior em

comparação aos demais. O acúmulo de nitrato que ocorre quando as plantas são submetidas a baixa intensidade luminosa é bem documentado (WRIGHT e DAVISON, 1964). A explicação para o acúmulo, que ocorre na ausência de luz ou baixa intensidade luminosa, é que nessas condições, haveria nos cloroplastos, um fluxo de elétrons, via ferredoxina, suficiente para a redutase do nitrito reduzir o NO_2 a NH_4 , com consequente acúmulo de NO_2^- . Este acúmulo de NO_2^- (em baixas concentrações, pois é fitotóxico), promoveria uma inibição na atividade da redutase do nitrato no citoplasma, acumulando assim, o NO_3^- absorvido (FAQUIN e ANDRADE, 2004).

Uma das possibilidades de minimizar o acúmulo de nitrato, consiste em manter elevada intensidade de radiação luminosa durante o ciclo da cultura, no entanto, porém, essa prática é onerosa e de difícil aplicação comercial (OHSE, 2000). A atividade da enzima redutase do nitrato depende do molibdênio, devendo se evitar que sua disponibilidade fique muito baixa, pois com isso a velocidade de assimilação do nitrato diminui, induzindo também a acumulação, pois nos sistemas biológicos além do molibdênio ser constituinte de pelo menos três enzimas catalisadoras de reações, e três destas enzimas (redutase do nitrato, nitrogenase e oxidase do sulfato) são encontradas em plantas (GUPTA; LIPSETT, 1981). A função mais importante do molibdênio nas plantas está relacionada com o metabolismo do nitrogênio. A redutase do nitrato ou nitrato redutase é uma flavoproteína que possui Mo como grupo prostético e cuja síntese é induzida pela presença de Mo e NO_3^- no meio (MALAVOLTA, 1980). Esta enzima catalisa a redução biológica no NO_3^- a NO_2^- , que é o primeiro passo para a incorporação do nitrogênio, como NH_2 , em proteínas (DECHEN et al., 1991). Outra alternativa é a utilização do eficiente suprimento de molibdênio às plantas que é outra maneira de manter a assimilação normal do nitrato. Sabe-se que em plantas cultivadas organicamente proporcionam teor de substâncias antioxidantes maiores do que plantas obtidas em adubação convencional, o que pode ser mais benéfico à saúde dos consumidores do que plantas obtidas pelo sistema convencional.

5. Conclusão

Os dados de irradiância mostraram que as malhas reduziram a intensidade total da luz que chegaram até as plantas de alface;

Apenas disponibilizar doses de nitrogênio para cultura não é o suficiente para o desenvolvimento da cultura, visto que o tratamento testemunha obteve um acúmulo de biomassa maior ou semelhante em relação aos demais.

Com essa pesquisa mostra-se nitidamente que dependendo da época do ano, não é necessário a utilização de malhas de sombreamento para a cultura, evitando assim o acúmulo de nitrato na cultura da alface e é de importância certificar-se de que a luminosidade seja suficiente para otimizar a produtividade.

6. Referências

ALMEIDA, L.P.de.; ALVARENGA, A.A.de.; CASTRO, E.M.de.; ZANELA, S.M.; VIEIRA, C.V. Crescimento inicial de plantas de *Cryptocaria aschersoniana* Mez. submetidas a níveis de radiação solar. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.34, n.1, p-83-88, 2004. ALONSO, L. V. et al. Methaemoglobinaemia in an infant after eating vegetable puree. **Emergencias**, n. 19, p. 283-285, 2007.

ALTIERI, M. **Agroecologia, a dinâmica produtiva da agricultura sustentável**. 3. ed. Porto Alegre, RS: Ed. UFRGS, 2001.

ARLÓ, L.; BERETTA, A.; PERDOMO, C. H. A Quick Test Based on Cataldo's Method to Determine Nitrate in Fresh Tissue Extracts. **Journal of Plant Nutrition**., v. 38, p. 1-12, 2015.

AZEVEDO, P. F. **Nova economia institucional**: referencial geral e aplicações para a agricultura. *Agricultura em São Paulo*, vol. 47, 2000. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/publicacoes/asp-1-00.htm>>.

BARANSKI, M. et al. Higher antioxidant and lower cadmium concentrations and lower incidence of pesticide residues in organically

grown crops: a systematic literature review and meta-analyses. **British J. Nut.**,v. 112, p. 794-811, 2014.

BELTRÃO, N. E. M. Agricultura orgânica e seu potencial como estratégia de produção. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DO INHAME E DO TARO, 2.,2002, João Pessoa. Anais... João Pessoa, 2002, p. 71-94.

BENINNI, E.R.Y.; TAKAHASHI, H.W.; NEVES, C.S.V.J.; FONSECA, I.C.B. **Teor de nitrato em alface cultivada em sistemas hidropônico e convencional**. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.20, n. 2., p. 183-186, 2002.

BUAINAIN, A. M.; ROMEIRO, A. R.; GUANZIROLI, C. Agricultura familiar e o novo mundo rural. *Sociologias*, Porto Alegre, v. 5, n. 10, p. 312-347, 2003.

BUTLER, A. Nitrites and nitrates in the human diet: Carcinogens or beneficial hypotensive agents? **J. Ethnopharmacology**, v. 167, p. 105-107, 2015.

CANTLIFFE, D. J. Nitrate Accumulation in Table Beets and Spinach as Affected by Nitrogen, Phosphorus, and Potassium Nutrition and Light Intensity. **Agron.J.**,v. 65, p. 563-565, 1973.

CARLINI, C. R.; GROSSI-DE-SÁ, M. F. Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. **Toxicon**, v. 40, p. 1515-39, 2002.

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

CHABOUSSOU, F. **Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos: a teoria da Trofobiose**. 2. ed. São Paulo, SP: Expressão Popular, 2012. 318 p.

CORRÊA, A. D.; SIQUEIRA-BATISTA, R.; QUINTAS, L. E. M. Similia similibus curentur: notação histórica da medicina homeopática. **Ver. Ass. Med. Brasil.**, v. 43, p. 347-351, 1997.

DERAL – Departamento de Economia Rural; SEAB – Secretaria do Estado e da Agricultura e do Abastecimento. **Olericultura – Análise da Conjuntura Agropecuária**, out. 2013. Disponível em :<http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/olericultura_2013_14.pdf

DU, S.; ZHANG, Y; LIN, X. Accumulation of Nitrate in Vegetables and Its Possible Implications to Human Health. **Agric. Sci. China**, v. 6, p. 1246-1255, 2007.

EBERHARD, S.; FINAZZI, G.; WOLLMAN, F. The Dynamics of Photosynthesis. **Annu. Rev. Genet.**. v. 42, p. 463-515, 2008.

EC (European Commission), Commission Regulation (EC). Regulamentação nº 194/97, de 31 de janeiro de 1997. Estabelece níveis máximos para alguns contaminantes em alimentos. **Official J. Eur. Commun.** Europa, v. 31 p.48-50, 1997.

EC (European Commission), Commission Regulation (EC). Regulamentação nº 563/2002 de 2 abril de 2002. Altera a Regulamentação (EC) nº 466/2001 e estabelece níveis máximos para alguns contaminantes em alimentos. **Official J. Eur. Commun.** Europa, v. 86, p.5-6 2002.

EFSA (Europe Food Safety Authority). **Nitrate in vegetables Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain**.

ELBE, J. H. von. Colorantes. In: FENNEMA, O. W. (Ed.). **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Wisconsin, 2000. p. 782-799.

FACHIN, V. Nutrição Mineral de Plantas. -- Lavras: UFLA / FAEPE, 2005. Disponível em: <<http://www.dcs.ufla.br/site/index.php?id=140&menu=m19&t=prof-valdemar-faquin>>.

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

FAO, U. N. Current world fertilizer trends and outlook to 2011/12. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Roma, Itália: 2008.

FILHO, J. P. A. **Uso de agrotóxicos no Brasil: controle social e interesses corporativos**. Fapesp, 2002.

FiBL – Research Institute of Organic Agriculture; IFOAM – International Federation of Organic Agriculture Movements. **The world of organic agriculture**. Statistics & Emerging Trends 2015. Frick, Suíça: FiBL, 2015. Disponível em: <<https://www.fibl.org/fileadmin/documents/shop/1663-organic-world-2015.pdf>>.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2. ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2005. 412 p.

GANGOLLI, S. D. et al. Nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. **Eur. J. of Pharmacol.: Environ. Toxicol. Pharmacol.**, v. 292, p. 1-38, 1994.

GREEN, B. R.; PARSON, W. W. (Ed.). **Advances in Photosynthesis and Respiration. Light-Harvesting Antennas in Photosynthesis**. Urbana, Illinois: Springer-Science+Business Media, B.V. 2003. v. 13, 513 p.

GÜNES, A; INAL, A.; AKTAS, M. Reducting nitrate content of NFT grown winter onion plants (*Allium cepa* L.) by partial replacement of NO₃ with amino acid in nutrient solution. **Scientia Horticulturae**, v. 65, p. 203-208, 1996.

GUPTA, U.C.; LIPSETT, J. Molybdenum in soils, plants, and animals. **Advances in Agronomy**, v.34, p.73-115, 1981.

HENZ, G. P.; SUINAGA, F. **Tipos de Alface Cultivados no Brasil**. Comunicado Técnico 75. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2009.

HURTADO, S. M. C. et al. Clorofilômetro no ajuste da adubação nitrogenada em cobertura para o milho de alta produtividade. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 6, p. 1011-1017, 2011.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2006. Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação**. Rio de Janeiro: Censo Agropec./IBGE, p. 1-777, 2006. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil_2006/Brasil_censoagro2006.pdf>.

INCA (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER). Câncer no estômago. Disponível em: http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=329. Acesso em 25/08/2017.

JOLLIET, O. Hortitrans, a model for predicting and optimizing humidity and transpiration in greenhouses. **Journal of Agricultural Engineering Resouces**, v. 58, p. 23-37, 1994.

JONES, J. A. et al. Dietary intake and bio-activation of nitrite and nitrate in newborn infants. **Pediatric research**, v. 77, p. 173-181, 2014.

J Sci Food Agric 86 (Journal of the Science of Food and Agriculture). Nitrate in vegetables: toxicity, conteúdo, intake and EC regulation. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/227786255_Nitrate_in_vegetables_Toxicity_content_intake_and_EC_regulation>. Acesso em 30/08/2017.

KESZEI, A. P. et al. Dietary N-nitroso compounds, endogenous nitrosation, and the risk of esophageal and gastric cancer subtypes in the Netherlands Cohort Study. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 97, p. 135-146, 2013.

KIM, S. I. et al. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, p. 293-303, 2003.

KOBAYASHI, J.; OHTAKE, K.; UCHIDA, H. NO-Rich Diet for Lifestyle-Related Diseases. **Nutrients**, v. 7, p. 4911-4937, 2015.

KRAPP, A. et al. Expression studies of Nrt2: 1Np, a putative high-affinity nitrate transporter: evidence for its role in nitrate uptake. **The Plant Journal**, v. 14, p. 723-731, 1998.

LAGO, A.; LENGLER, L.; CORONEL, D. A.; SILVA, T. N. Agricultura familiar de produtos orgânicos: um olhar sob a ótica do marketing. *Revista de Extensão Rural*, v. 13, p. 96-119, 2006.

LARSSON, K. et al. Estimated dietary intake of nitrite and nitrate in Swedish children. **Food Additives and Contaminants**, v.28, p. 659-666, 2011.

LILLO, C. Signalling cascades integrating light-enhanced nitrate metabolism. **Biochem. J.**, v. 415, n. 1, p. 11-19, 2008.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. 1997. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2.ed. Piracicaba: Potafos, 319p.

MANTOVANI, J. R. et al. Comparação de procedimentos de quantificação de nitrato em tecido vegetal. **Pesq.agropec. bras.**, v. 40, p. 53-59, 2005.

MARSCHNER, H. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. Waltham: Academic Press, 2011.

MENESES, P. R. Princípios de Sensoriamento Remoto. In: MENESES, P. R.; ALMEIDA, T (Org.). **Introdução ao Processamento de Imagens de Sensoriamento Remoto**. Brasília: CNPq, 2012. p. 1-33.

MESINGA, T. T.; SPEIJERS, G. J. A.; MAULENBELT, J. Health implications of exposure to environmental nitrogenous compounds. **Toxicol.Rev.**,v. 22, p. 41-51, 2003.

MIRVISH, S. S. Gastric cancer and salivary nitrate and nitrite. **Nature**, v. 315, p. 461-462, 1985.

MIYAZAWA, M., KHATOUNIAN, C. A.; ODENATH-PENHA, L. A. Teor de nitrato nas folhas de Alface produzida em cultivo convencional, orgânico e hidropônico. **Agroecologia Hoje**, II, N.7, p. 23, 2001.

NAVES, V.L.; ALVARENGA, A.A.; OLIVEIRA, L.E.M. Comportamento estomático de mudas de três espécies florestais submetidas a diferentes níveis de radiação fotossinteticamente ativa. *Ciência e Prática*, Lavras, v.18, n.4, p.408-414,1994.

NAKAGAWA, J.; PROCHNOW, L. I.; BÜLL, L. T.; VILLAS BOAS, R. L. Efeitos do bagaço, decomposto por ação de biofertilizante, na cultura da alface. *Científica*, v. 21, nº 1, p. 169-177, 1993.

OHSEM, S. et al.. Qualidade de cultivares de alface produzidos em hidroponia. *Scientia Agrícola*, v. 58, p. 181–185, 2001.

PARDO-MARÍN, O. et al. Monitoring programme on nitrates in vegetables and vegetable-based baby foods marketed in the Region of Valencia, Spain: levels and estimated daily intake. **Food Additives and Contaminants**, v. 27, p. 478-486, 2010.

PAULL, J. A Century of Synthetic Fertilizer: 1909-2009. **Journal of Bio-Dynamics Tasmania**, v. 94, p. 16-21, 2009.

PAULL, J. Attending the First Organic Agriculture Course: Rudolf Steiner's Agriculture Course at Koberwitz, 1924. **European Journal of Social Sciences**, v. 21, p. 64-70, 2011.

PENTEADO, S.R Agricultura orgânica - Piracicaba : ESALQ – Série Produtor Rural, 2001.

PÉREZ M. et al.The radiation spectrum through ornamental net houses and its impact on the climate generated. **Acta Hort.**, v. 7; p. 631-636, 2006.

PINHEIRO, R.R. et al. Efeitos de diferentes malhas de sombreamento na emergência e produção de mudas de rúcula. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v. 8, p. 757-766, 2012.

RESENDE, F. V. et al. **Cultivo de alface em sistema orgânico de produção**. Circular Técnica 56.Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2007.

REYES R. Intoxicaciones en animales por nitratos y nitritos. *ICA Informa*, v.22, p.32-35, 1988.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. PiraRoxa: cultivar de alface crespa de cor vermelha intensa. **Horticultura Brasileira**, v. 23, p.158-159, 2005.

SANTAMARIA, P. et al. Ways of reducing rocket salad nitrate content. **Acta Hort.**,v. 548, p. 529-536, 2001.

SANTAMARIA, P. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. **J. Sci. of Food Agric.** v.86, p. 10-27, 2006.

SCF (Scientific Committee on Food).Assesment of dietary intake of nitrates by the population in the European Union, as a consequence of the consumption of vegetables. In: EC (European Comission). **Reports on tasks for scientific cooperation: report of experts participating in Task 3.2.3**. Bruxelas: EC, 1997. p. 34.

SILVA, F. Q. P. O. ; FOSCACHES, C. A. L; LIMA FILHO, D. O. O perfil do consumidor de produtos orgânicos na cidade de Campo Grande-MS. In: Semead Seminários em Administração – Sustentabilidade Ambiental nas organizações, 13., 2010, Anais... São Paulo, p. 1-20.

SOUZA, A. P. O.; ALCÂNTARA, R. L. C. Produtos orgânicos: um estudo exploratório sobre as possibilidades do Brasil no mercado internacional. In: ENEGEP- Encontro Nacional de Engenharia de Produção, São Paulo, SP. **Anais...** São Paulo, SP: USP, 2000. (CD-ROM).

SOUZA, P. A. et al. Características químicas de alface cultivada sob efeito residual da adubação com composto orgânico. **Horticultura Brasileira**, v. 23, p. 754-757, 2005.

SPEIJERS, G. J. A. Nitrate, toxicological evaluation of certain food additives and contaminants in food. **WHO Food Additives Series**. v. 35, 3658-3662; 325-360, 1996.

SPEIJERS, G. J. A.; VAN DEN BRANDT, P. A. Nitrite (and potencial endogenous formation of N-nitroso compounds)..**Net, WHO Food Additives Series: 50**. 2003. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je05>>. Acesso em: 10 fev. 2016.

STAMPS, R.H. Use of colored shade netting in horticulture.**Hort Science**, v. 33, p. 239-241, 2009.

STERTZ, S. C. **Qualidade de hortícolas convencionais, orgânicas e hidropônicas na região metropolitana de Curitiba, Paraná**. Curitiba, PR: UFPR, 2004. Originalmente apresentada como tese de doutorado em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, 2004.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; KINDERED, D. R. Analysing nitrogen responses of cereals to prioritize routes to the improvement of nitrogen use efficiency.**J. Exp. Bot.**, v. 60, p. 1939–1951, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed. Trad.SANTARÉM, E. R. et al. Porto Alegre, RS: ARTMED, 2004. 719 p.

UMAR, S. A.; IQBAL, M. Nitrate accumulation in plants, factors affecting the process, and human health implications.A review.**Agron. Sustain. Dev.**,v. 27, p. 45-57, 2007.

VALDES, A. et al. Determinação de nitrato em vegetais. Comparação de quatro métodos analíticos (em Espanhol). **Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias**, v. 36, p. 21-28, 2004.

VIEIRA, V. C. R.; CURY, D. M. L. Graus-dias na cultura do arroz. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROMETEOROLOGIA, Piracicaba, SP. **Anais...** Piracicaba, SP: SBA, 1997. p. 47-49.

VIEIRA, M. A.; NOMURA, M. ENGEL, D. Horticultura orgânica nos assentamentos das regiões de Uberlândia e Araguari. Disponível em: <http://www.simposioreformaagraria.propp.ufu.br/trabalhos/grupo2/7.doc>.

VILELA, A.E.; RAVETTA, D.A. The effect of radiation on seedling growth and physiology in four species of *Propolis L.* (Mimosaceae). *Journal of Arid Environmental*, London, v.44, n.4, p.415-423, 2000.

WOESE, K. et al. A Comparison of Organically and Conventionally Grown Foods—Results of a Review of the Relevant Literature. **J. Sci. Food Agric.**, v. 74, p. 281-293, 1997.

WRIGHT, M.J.; DAVISON, K.L. Nitrate accumulation in crops and nitrate poisoning in animals. *Advance in Agronomy*, New York, v. 16, p.197-274.1964.