

LAÉRCIO BORATTO DE PAULA

ATIVIDADE DA REDUTASE DO NITRATO E TEORES DE NUTRIENTES E DE  
AÇÚCARES EM VARIEDADES DE CENOURA FERTILIZADAS  
COM DOSES DE NITROGÊNIO

Tese apresentada à Universidade  
Federal de Viçosa, como parte das  
exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Fitotecnia, para  
obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2003

LAÉRCIO BORATTO DE PAULA

ATIVIDADE DA REDUTASE DO NITRATO E TEORES DE NUTRIENTES E DE  
AÇÚCARES EM VARIEDADES DE CENOURA FERTILIZADAS  
COM DOSES DE NITROGÊNIO

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA EM: 31 julho de 2003.

---

Prof. Vicente Wagner Dias Casali  
(Conselheiro)

---

Prof. Glauco Vieira Miranda

---

Dr. Sanzio Mollica Vidigal

---

Dr<sup>a</sup> Maria Aparecida N. Sedyama

---

Prof. Paulo Roberto Gomes Pereira  
(Orientador)

Ao Pai eterno, senhor da criação.

Aos meus pais Antenor e Cecília, gratidão e respeito.

À minha irmã Kênia, esteio e amizade.

À minha esposa Renata, amor e partilha.

Aos meus filhos Guilherme e Heloísa, razão da minha vida.

## **AGRADECIMENTO**

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao seu Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade de realizar o Curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Professor Paulo Roberto Gomes Pereira, pela paciência, pelo estímulo e pela confiança.

Aos Professores Vicente Wagner Dias Casali, Paulo Roberto Mosquim, Fernando Finger e Fernando Reis, pela colaboração.

Aos funcionários Domingos, Itamar, Mara, Geraldo, Antônio, Carlos Raimudo e Assis, pelo auxílio e pela amizade.

À minha colega Rosilene, pela ajuda inestimável.

Aos meus amigos André, Dilermando, Adriana e João, pelos momentos agradáveis.

À comunidade viçosense, pelo convívio tranqüilo.

A todos que colaboraram para o êxito deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

LAÉRCIO BORATTO DE PAULA, filho de Antenor de Paula e Cecília Boratto de Paula, nasceu em Barbacena, MG, em 25 de janeiro de 1969.

Em 1986, concluiu o Curso de Técnico em Agropecuária pela Escola Agrotécnica Federal de Barbacena, em Barbacena, MG.

Em 1992, graduou-se Engenheiro-Agrônomo pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG.

Em 1997, concluiu o Curso de Mestrado em Fitotecnia, na área de Nutrição Mineral e Adubação de Plantas, pela UFV.

Em setembro de 1997, iniciou, nessa mesma Universidade, o Curso de Doutorado em Fitotecnia, na área de Nutrição Mineral e Adubação de Plantas, submetendo-se à defesa de tese em julho de 2003.



	Página
4.1.1. Experimento de inverno .....	30
4.1.2. Experimento de verão .....	44
4.2. Experimento de campo .....	63
RESUMO E CONCLUSÕES .....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
APÊNDICE .....	82
APÊNDICE A .....	83

## RESUMO

PAULA, Laércio Boratto de, D. S., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2003. **Atividade da redutase do nitrato e teores de nutrientes e de açúcares em variedades de cenoura fertilizadas com doses de nitrogênio.** Orientador: Paulo Roberto Gomes Pereira. Conselheiros: Vicente Wagner Dias Casali, Paulo Cezar Rezende Fontes e Paulo Roberto Mosquim.

Com o objetivo de avaliar a atividade da enzima redutase do nitrato, teores de nutrientes e de açúcares nas variedades de cenoura Nantes e Brasília, estas foram cultivadas com doses crescentes de N. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com três ou quatro repetições. No primeiro experimento em casa de vegetação, usaram-se cinco doses de N: 0, 100, 200, 300 e 400 mg/dm<sup>3</sup>. Os teores de nitrato e N-org na parte aérea aumentaram linearmente com as doses aplicadas nas duas variedades. Na raiz, observou-se comportamento quadrático, evidenciando possível mecanismo de regulação de absorção do nitrato. A atividade da redutase desse nutriente não diferiu entre as variedades e respondeu linearmente às doses; os teores de K, Ca e Mg foram maiores em 'Nantes'. No segundo experimento, em casa de vegetação, empregaram-se quatro doses de N: 0, 150, 300 e 450 mg/dm<sup>3</sup>, em quatro repetições. Os maiores teores de nitrato na raiz foram obtidos na variedade Brasília, estatisticamente comprovados nas doses de 150 e 300 mg/dm<sup>3</sup>. O aumento de nitrato na raiz foi

linear, e, na parte aérea, ajustou-se o modelo quadrático, com o teor máximo obtido na dose estimada de 337,5 mg/dm<sup>3</sup> de N. A atividade da redutase do nitrato não diferiu entre variedades. Na 'Nantes', houve maiores teores de K, Mg e de açúcares redutores, enquanto a 'Brasília' exibiu maiores teores de açúcares solúveis totais e não-redutores. No experimento de campo, foram utilizadas sete doses de N: 0, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 kg/ha e quatro repetições. A variedade Nantes apresentou, na análise de variância, maior peso de matéria fresca na raiz. Os teores de macronutrientes e da atividade da redutase do nitrato não diferiram entre as variedades. Os maiores teores de K e de açúcares redutores encontrados em 'Nantes' podem ajudar a justificar a menor presença de nitrato em razão de sua substituição parcial na função osmótica.

## ABSTRACT

PAULA, Laércio Boratto de, D. S., Universidade Federal de Viçosa, July 2003.  
**Nitrate reductase activity and nutrient contents and sugars in carrot varieties fertilized with nitrogen doses.** Adviser: Paulo Roberto Gomes Pereira. Committee members: Vicente Wagner Dias Casali, Paulo Cezar Rezende Fontes, and Paulo Roberto Mosquim.

With the aim of an evaluation of the nitrate reductase enzyme activity as well as the nutrient and sugar contents in the carrot varieties Nantes and Brasília, these varieties were cultivated under increasing N doses. The experimental design of randomized blocks was carried out in three or four replications. In the first, a greenhouse experiment, five N doses (0, 100, 200, 300, and 400 mg/dm<sup>3</sup>) were applied. The contents of nitrate and of organic N in the aerial part increased linearly with the applied doses in the two varieties. A square behavior was observed in the roots, pointing to a possible regulation mechanism of nitrate absorption. The reductase activity of this nutrient did not differ among the varieties and responded linearly to the doses; the K, Ca, and Mg contents were greater in 'Nantes'. In the second greenhouse experiment, four N doses (0, 150, 300, and 450 mg/dm<sup>3</sup>) were applied in four replications. The highest nitrate root contents were observed in the Brasília variety, statistically evidenced by doses of 150 and 300 mg/dm<sup>3</sup>. The increase in radical nitrate was linear, and in the aerial part, the square model was adjusted, with a

maximum content obtained by the estimated dose of 337,5 mg/dm<sup>3</sup> of N. The nitrate reductase activity did not differ between the varieties. 'Nantes' presented higher K, Mg, and reducing sugar contents, while 'Brasília' showed higher total soluble and non-reducing sugar contents. In the field experiment, seven N doses (0, 15, 30, 45, 60, 90, and 120 kg/ha) were used in four replications. In the variance analysis, the Nantes variety presented a higher root fresh matter weight. The contents of macronutrients and the nitrate reductase activity did not differ between the varieties. The highest contents of K and of reducing sugars were found in 'Nantes', and can help explain the lower nitrate contents in consequence of their partial substitution through the osmotic function.

## 1. INTRODUÇÃO

A cenoura (*Daucus carota* L.) é uma das espécies de hortaliças de cultivo mais difundido no mundo. Sua grande importância nutricional, principalmente devido ao elevado teor de provitamina A, aliada ao seu alto rendimento e fácil comercialização, torna a cenoura bem aceita por consumidores e produtores.

A qualidade nutricional do produto agrícola tem se tornado uma das preocupações mais presentes na sociedade atual, cada vez mais consciente e exigente. Entre os critérios qualitativos da cenoura, como os teores de  $\beta$ -caroteno, açúcar, vitaminas e ácidos orgânicos, destaca-se, como ponto negativo, o conteúdo de nitrato (EVERS, 1989).

O nitrato é a principal forma de nitrogênio absorvido pelas plantas. O uso de doses abusivas de fertilizantes nitrogenados, associadas a fatores genéticos e ambientais, pode ocasionar o acúmulo de nitrato nos vegetais.

A presença excessiva de nitrato em vegetais pode constituir ameaça à saúde humana, especialmente em crianças. No organismo, o nitrato é reduzido a nitrito, que pode reagir com a hemoglobina e impedir o transporte de oxigênio, podendo também reagir com aminas, produto cuja ação carcinogênica, mutagênica e teratogênica é bastante conhecida.

O acúmulo de nitrato em cenoura, segundo SCHARPF (1991), pode diferir, entre outros, de acordo com o cultivar, o órgão da planta, a sua idade e o uso de adubos nitrogenados. PEREIRA e TORRES (1997) constataram

grandes diferenças na quantificação dos teores de nitrato em raízes de vários genótipos de cenoura comercializados no Brasil.

As diferenças no acúmulo de nitrato entre cultivares podem estar relacionadas à capacidade fotossintética e síntese de solutos orgânicos, como ácidos e açúcares, os quais substituem o nitrato em seu papel de regulador osmótico (VAN DER LEIJ et al., 1998). O conhecimento desse mecanismo pode ajudar nos programas de melhoramento, visando à obtenção de variedades mais produtivas e de melhor qualidade nutricional.

O nitrogênio, mais do que qualquer outro nutriente, altera a composição da planta (MARSHNER, 1995). Dada a sua importância, faz-se necessário o manejo correto de fertilizantes nitrogenados na agricultura, seja no intuito de interferir na qualidade nutricional do vegetal ou de promover maior economicidade nos custos do produto. Para facilitar e otimizar esse manejo, pesquisas têm sido direcionadas, entre outras, ao maior conhecimento dos processos metabólicos, ou conjunto de transformações pelo qual o N passa até a sua utilização pela planta (SECHLEY et al., 1992).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade da enzima redutase do nitrato e os teores de nutrientes e de açúcares em raízes e parte aérea de duas variedades de cenoura cultivadas com doses crescentes de nitrogênio.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

O N, elemento absolutamente essencial às plantas, está presente em dois dos mais importantes componentes da matéria viva, ácidos nucleicos e proteínas. Seu conteúdo na matéria seca normalmente está na faixa de 1 a 5% dag/kg de matéria seca, podendo, eventualmente, estender-se de 0,25 a 7,5% (MARSCHNER, 1995).

O nitrato e o amônio são as principais fontes de nitrogênio inorgânico absorvido pelas plantas. Dependendo do respectivo nível disponível, o  $\text{NO}_3^-$  pode ser armazenado na raiz, transferido para a folha, onde é armazenado em vacúolos, ou ser reduzido na raiz e, ou, nas folhas (SECHLEY et al., 1992). O acúmulo de nitrato em vacúolos é de considerável importância para o balanço de cátion-ânion na osmorregulação e qualidade dos vegetais (MARSCHNER, 1995).

O desbalanço entre o suprimento e a demanda por nitrato pode proporcionar o acúmulo desse íon nas plantas (MAYNARD et al., 1976). O alto conteúdo de nitrato em vegetais é considerado qualidade negativa (REININK et al., 1994), apresentando risco à saúde humana (BURNS, 1996).

Nitratos, em si, não representam o maior problema do ponto de vista toxicológico, mas sim os nitritos que se formam a partir da redução dos nitratos (LARA e TAKAHASHI, 1982). Em pessoas, 5 a 10% do nitrato ingerido é convertido em nitrito pela redução gastrointestinal ou por meio da saliva.

Uma vez formados, os nitritos podem, em certas condições, reagir com grupos aminas e amidas, formando as chamadas nitrosaminas. Muitos desses compostos, testados em animais de laboratório, foram carcinogênicos, hepatotóxicos, mutagênicos e teratogênicos (GREENWOOD e HUNT, 1986; SANTAMARIA e ELIA, 1997).

Outros riscos toxicológicos inerentes a ingestão de nitratos são a possível ocorrência de metaemoglobinemia, a queda da pressão sangüínea e a hipertrofia da zona adrenal glomerular. A metaemoglobina é formada pela reação do nitrito com o ferro presente na hemoglobina (MAYNARD, 1976); como consequência, o transporte de oxigênio ao tecido é prejudicado. É importante ressaltar que bebês são mais suscetíveis ao acúmulo de metaemoglobina que crianças mais velhas e adultas em razão do maior pH no estômago, o que facilita a redução do nitrato a nitrito.

Em 1973, a Organização das Nações Unidas para Alimentos e Agricultura (FAO) e a Organização Mundial de Saúde (OMS), por intermédio de um grupo de peritos em aditivos alimentares (JECFA), estipularam que a ingestão diária aceitável (ADI) do  $\text{NO}_3^-$  seria 0 a 3,65 mg/kg de peso corpóreo. Do  $\text{NO}_2^-$ , a ADI seria de 0 a 0,13 mg/kg.

Em 1992, a Comissão Científica Européia para Alimentos estabeleceu taxa ainda menor de ADI para  $\text{NO}_2^-$ , 0 a 0,07 mg/kg de peso corpóreo (SANTAMARIA e ELIA, 1997).

Diversos países impuseram níveis máximos de nitrato em vegetais como alface, endívia, espinafre e beterraba (REININK et al., 1994). Na União Européia, o limite máximo de  $\text{NO}_3^-$  em espinafre e alface é, respectivamente, de 2.500-3.000 mg/kg e 2.500-4.500 mg/kg de produto fresco. A cenoura também teve restrições. Na Rússia, o limite tolerável é até 250 e 400 mg/kg de matéria fresca no inverno e no verão, respectivamente, enquanto na Áustria esse limite estende-se até 1.500 mg/kg de matéria fresca (SCHARPF, 1991). No Brasil não há restrições legais nesse sentido. Tais limites, ao serem estabelecidos, levam em consideração a ADI da ONU e a composição do nitrato na dieta típica de cada país.

Para SECHLEY et al. (1992), existe uma proteína permease que permite a absorção seletiva do  $\text{NO}_3^-$  do meio. De acordo com PADGETT e LEONARD (1993), acredita-se que o nitrato seja transportado ativamente para dentro da

célula por uma ou mais proteínas envolvidas na membrana plasmática. Embora se assumam a existência de proteínas carreadoras específicas de  $\text{NO}_3^-$ , nenhuma delas foi ainda isolada em plantas superiores (WARNER e KLEINHOLS, 1992).

Segundo CRAWFORD (1995), as plantas desenvolveram um sistema de transporte de  $\text{NO}_3^-$  ativo, regulado e multifásico, com o intuito de funcionar eficientemente em face da variação externa desse íon. A energia que proporciona a absorção de nitrato é derivada de gradiente de prótons mantido por  $\text{H}^+$ .ATPase na membrana plasmática.

Por causa do impedimento da absorção de nitrato por inibidores de proteínas e da síntese de RNA, provavelmente o nitrato induz algum sistema de transporte específico (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Segundo SECHLEY et al. (1992), é clara a existência de dois processos envolvidos na absorção de  $\text{NO}_3^-$ : um processo ativo, de alta afinidade, que atua quando os níveis externos de nitrato são baixos, e outro de baixa afinidade, que atua quando os níveis de  $\text{NO}_3^-$  são altos.

Esse processo bifásico de absorção de  $\text{NO}_3^-$  com respeito à sua concentração externa tem sido visto em várias espécies de plantas superiores, conforme SIDDIQI et al. (1991). Se a concentração de  $\text{NO}_3^-$  for baixa, o sistema de transporte tem alta afinidade por esse íon (sistema HATS, devido à expressão inglesa “high affinity transport system”). Os valores de  $K_m$  desse sistema situam-se na faixa de 10 a 100  $\mu\text{mol m}^{-3}$ , e a absorção de  $\text{NO}_3^-$  é termodinamicamente ativa; há também alto nível de sensibilidade a inibidores metabólicos.

Mediante altas concentrações de  $\text{NO}_3^-$ , um segundo sistema de transporte surge na absorção. Esse sistema, chamado de LATS (“low affinity transport system”), evidencia-se ser passivo, além de constitutivo; possui um baixo nível de sensibilidade a inibidores metabólicos.

No esquema proposto por REDINBAUGH e CAMPBELL (1991), o  $\text{NO}_3^-$  do meio externo é transportado até a epiderme por fluxo de massa e, então, translocado via simplasto ou apoplasto até a endoderme. A partir daí segue via simplasto, sendo liberado no xilema e translocado à parte aérea, onde será assimilado ou armazenado. A atividade de deslocamento intracelular do  $\text{NO}_3^-$  pode requerer algum translocador no tonoplasto que seja diferente do

transportador de  $\text{NO}_3^-$  da membrana plasmática, segundo esses mesmos autores.

Para ALEKHINA et al. (1988), os processos de admissão de nitrato na raiz e o carregamento nos vasos do xilema são controlados separadamente, embora exista uma íntima e inevitável correlação entre eles.

IMSANDE e TOURAINÉ (1994) afirmaram que em plantas superiores, dois tipos de variação têm sido observados na absorção de nitrato: o primeiro em resposta a modificações temporais de fatores ambientais, como a intensidade luminosa e temperatura; o segundo ocorre durante a ontogênese. Os mecanismos que regulam o funcionamento do sistema de absorção têm sido alvo de muitos estudos.

Ensaio feitos por PADGETT e LEONARD (1993), em células de milho, indicaram que os produtos finais da assimilação do nitrato, os aminoácidos, regulam a taxa de absorção deste. Os aminoácidos agiriam, então, como sinais reguladores.

A função dos aminoácidos na absorção de nitrato pode ser estudada pela imersão de cotilédones de plantas jovens em solução concentrada de aminoácidos (IMSANDE e TOURAINÉ, 1994). Estes mesmos autores, citando Muller e Touraine (1992), afirmaram que os aminoácidos Arg, Ala, Asn e Gli inibem fortemente a absorção de nitrato, enquanto Glu, Met e Asp são fracos inibidores. Já His, Ile, Sev, Val, Phe e Leu não tem efeito ou estimulam levemente a absorção.

Para FERRARIO-MÉRY et al. (1998), o metabolismo do N e do C são co-regulados em plantas superiores. Uma alta taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$  favorece também a de N e vice-versa. Não obstante, é possível observar correlação positiva entre o suprimento de carboidratos da raiz e a absorção de nitrato.

Outro possível mecanismo de regulação da absorção do nitrato é o controle do pH intracelular por ácidos orgânicos (IMSANDE e TOURAINÉ, 1994). Ainda na linha de regulação, IVASHIKINA e FEYZIEV (1998) observaram uma correlação positiva entre absorção de  $\text{NO}_3^-$  e de cátions, especialmente  $\text{K}^+$ , indicando que diferentes cátions podem promover mudanças no potencial de membranas e, com isso, alterar o fluxo passivo de  $\text{NO}_2^-$  através do plasmalema.

Antes de ser incorporado em estruturas orgânicas, o nitrato absorvido pela planta deve ser reduzido a amônia. A importância da redução e assimilação do nitrato na vida da planta é similar à redução e assimilação do CO<sub>2</sub> na fotossíntese (MARSCHNER, 1995).

A primeira etapa consiste na redução do nitrato a nitrito e é catalisada pela enzima redutase do nitrato (RN). A ação dessa enzima é considerada a etapa-chave no processo de assimilações do nitrato (SHANKAR e SRIVASTAVA, 1998). Corroborando essa afirmação, SAGI e LIPS (1998) consideraram que a atividade da RN é limitante do crescimento, desenvolvimento e síntese de proteínas das plantas. Para SRIVASTAVA (1980), a atividade dessa enzima pode servir como índice que afere o “status” de N na planta e correlaciona-se muito freqüentemente com crescimento e produção.

Segundo LAWLOR (2002), o incremento na atividade da redutase do nitrato, por unidade de área foliar, é potencialmente um caminho para se aumentar a quantidade total de nitrato reduzido, pois a enzima é induzida por nitrato, e sua regulação é complexa, oferecendo a possibilidade de alterar a taxa de redução do nitrato.

Nas plantas superiores, a redutase do nitrato é uma enzima complexa que contém duas subunidades idênticas, com a massa molecular variando de 100 a 120 kDa (TAIZ e ZEIGER, 1991). Assume-se que a enzima seja um dímero (MARSCHNER, 1995), embora haja, em abóboras, tendência para que formem um tetrâmero (HOFF et al., 1992). Ambas as formas têm atividades específicas similares (WARNER e KLEINHOLS, 1992).

Cada subunidade da redutase no nitrato pode funcionar separadamente e contém três grupos prostéticos: a flavina adenina dinucleotídio (FAD), o citocromo b<sub>557</sub> (Cit b) e uma pterina com cadeia lateral de Mo ligado por pontes de C (MoCo). Cada grupo prostético representa um centro redox (redução/oxidação), que catalisa a transferência de dois elétrons do NAD (P) H para o NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Segundo Warner (1987), citado por SIVASANKAR e OAKS (1996), tanto o NADH quanto o NADPH podem servir como doador de elétrons da redução de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. De acordo com PIGAGLIO et al. (1999), na completa reação de redução de nitrato a nitrito os elétrons são passados do NADH para o domínio do FAD e, então, ao Cit b e MoCo até a passagem ao NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Para

HOFF et al. (1992), a redutase do nitrato tem dois sítios ativos, um de doação de elétrons pelo NAD (P) H, em que o FAD é reduzido, e outro de redução do nitrato, no domínio do MoCo.

Em adição à redução do nitrato dependente de NAD (P) H, a RN, segundo WARNER e KLEINHOLS (1992) e RICHHARIA et al. (1997), tem também a atividade de diaforese, que inclui a redução de aceptores de elétrons dependentes de NAD (P) H, como o citocromo c ou ferrocianeto. Nessa mesma linha, LAYZELL (1990) afirmou que o RN catalisa também reações parciais, em que os elétrons são passados via uma ou duas das regiões da enzima. As reações seriam de desidrogenase, em que os elétrons do NADH passam pelo domínio FAD e reduzem citocromo c, ferricianida, azul de metileno ou citrato férrico, e as reações de redutase, que usam elétrons doados pelo FADH e passados pelo Cit b ou MoCo para reduzir o nitrato (ou outro substrato) no sítio ativo da região do Mo.

Segundo SECHLEY et al. (1992), a separação física dos constituintes celulares significa que a redutase do nitrato está localizada no citossol. Fedorova et al. (1994), citados por SIVASANKAR e OAKS (1996), usando técnicas bioquímicas e imunocitoquímicas e de fracionamento de célula, verificaram que a RN está presente no citoplasma da parte aérea e da raiz, enquanto OAKS (1993) confirmou a presença da RN no citossol das células do mesófilo foliar do milho. MARSCHNER (1995) relatou que a redutase do nitrato está presente nas células do mesófilo e ausente nas da bainha do feixe.

Segundo HOFF et al. (1992), três tipos de RN chamados de isoformas são reconhecidos em organismos eucariontes: a redutase do nitrato NADH específica (EC 1.6.6.1), contida na maioria das plantas superiores; a redutase do nitrato NAD (P) H específica (EC 1.6.6.2), expressa em raízes e tecidos de armazenamento de algumas monocotiledôneas (REDINBUGH e CAMPBELL, 1991); e a redutase do nitrato NADPH específica, presente em fungos.

Análises genéticas e moleculares têm revelado, segundo SIVASANKAR e OAKS (1996), que a maioria das plantas tem dois ou mais genes estruturais para a redutase do nitrato. A única exceção conhecida, em que há apenas um gene estrutural para a RN, está na *Nicotiana plumbaginifolia*.

Com relação à estrutura primária da redutase do nitrato, HOFF et al. (1992) tecem algumas considerações. A seqüência nucleotídica completa dos

genes da RN de várias plantas superiores (tomate, arroz, feijão e milho, por exemplo) tem sido obtida. Os genes seqüenciados contêm um, dois ou três íntrons, todos de tamanho variado, estando localizados na região do gene que codifica o grupo MoCo. O processo de clonagem e seqüenciamento dos genes da RN permite apontar que a ligação da região do co-fator molibdênio é a metade N terminal da RN, a ligação da região heme (Cit b) é a parte central e a ligação da região FAD é a porção C – terminal da proteína. Segundo NUSSAUME et al. (1995), a porção N- terminal da RN varia de 60 (soja e feijão) a 99 (espinafre) aminoácidos. Esses mesmos autores, citando Rouzé e Caboche (1992), afirmaram que as regiões da RN são largamente hidrofílicas e compartilham de significativa extensão acídica.

Segundo GLAAB e KAISER (1996), a redutase do nitrato assimilatória (EC 1.6.6.1) é regulada em nível de transcrição/translação e por modulação pós-translacional. De acordo com FERRARIO-MÉRY et al. (1998), a regulação em nível de transcrição segue ajustes no longo prazo de adaptação de atividade enzimática, enquanto a modulação pós-transcricional é mais importante em aclimações de curto prazo. Ambas permitem a resposta metabólica às flutuações no suprimento e na demanda.

Segundo PIGAGLIO et al. (1999), a expressão do gene da RN é altamente regulada na transcrição por muitos fatores endógenos e do meio, como hormônio, luz, fonte de N e carboidratos. No entanto, a regulação pós-translacional permite a modulação da atividade enzimática no curto prazo em resposta a transições luz/escuro, variações na atividade fotossintética, nível de CO<sub>2</sub>, pH intracelular ou disponibilidade de O<sub>2</sub>.

A modulação pós-translacional da RN é mediada em parte pelo mecanismo envolvendo a reversível fosforilação/desfosforilação (GLAAB e KAISER, 1996). A primeira etapa da inativação da RN é a fosforilação de resíduos de serina, catalisada pela proteína cinase dependente de Ca/Mg. Essa fosforilação, por si, não inativa a RN, o que só ocorre após a ligação de uma proteína inibitória ao fosfo-RN.

Essa proteína inativante, ou inibitória, foi identificada como proteína 14-3-3, da família de proteínas altamente conservadas, cujas funções precisas ainda são desconhecidas (FERRARIO-MÉRY et al., 1998; Moorhead et al., 1996, citados por ROUBY et al., 1998), mas que exercem função clara na

regulação pós-translacional da RN e outras enzimas (SAGI e LIPS, 1998). De acordo com KAISER et al. (2002), a fosforilação é catalisada por proteínas cinase, duas das quais pertencem à família CDPK (proteínas cinase dependentes de Ca) e uma à SNF1-cinase (sacarose não-“fermentante”).

Para KAISER e HUMBER (1997), a proteína cinase e a fosfatase que participam desse processo podem ser estimuladas por algum sinal desconhecido, que pode ser físico (pH, força iônica) ou metabólico. PIGAGLIO et al. (1999) acrescentaram que o íon Mg exerce importante função no mecanismo de inativação da RN, sendo necessário tanto na etapa de fosforilação quanto na manutenção da RN na forma inativa.

De maneira geral, a fosforilação da proteína de RN não somente controla sua atividade catalítica, como também age como sinal da degradação, com o fosfo-RN provavelmente sendo o melhor substrato de degradação que a forma fosforilada (KAISER e HUMBER, 1997). De acordo com TAIZ e ZEIGER (1998), a regulação da atividade da redutase do nitrato por meio da fosforilação/desfosforilação aciona controle mais rápido do que o obtido pela síntese ou degradação da enzima (minutos *versus* horas).

A redutase do nitrato, segundo Remmber e Campbell (1986), citados por SOUZA (1994), é um dos melhores exemplos de enzima vegetal induzida por substrato, no caso o  $\text{NO}_3^-$ . Isso implica que a atividade da RN, a quantidade de proteína RN e o acúmulo do RNA mensageiro da RN aumentam em resposta ao nitrato. Seu efeito parece ser em nível de transcrição (REDINBAUGH e CAMPBELL, 1991). Segundo HOFF et al. (1992), a cinética do processo de indução do nitrato na atividade da RN compreende a fase log inicial, seguida da fase com aumento exponencial, estabelecimento do nível de equilíbrio.

A síntese da redutase do nitrato, de acordo com MEGURO e MAGALHÃES (1982) e RICHHARIA et al. (1997), é controlada por fatores genéticos ambientais, como nutrição mineral, luz, temperatura e disponibilidade de água.

A redutase do nitrato, segundo MARSCHNER (1995), é regulada por modos e níveis diferentes, a saber: síntese e degradação de enzimas, inativação reversível e concentração de substrato e complementos.

KAISER e BEHNISCH (1995) citaram que a redutase do nitrato NADH pode ser rapidamente modulada em resposta a condições do meio.

A luz é um dos fatores ambientais que modulam o nível da redutase do nitrato (ROUBY et al., 1998). Segundo WARNER e KLEINHOLFS (1992), a luz tem forte influência sobre a proteína RN, em sua atividade e no acúmulo de seu mRNA.

PETROVIC et al. (1991) mostraram, em genótipos de beterraba, que a luz afeta não somente a assimilação primária de nitrogênio, mas também sua absorção e acúmulo nas plantas. Tal comportamento seria causado, primariamente, por diferentes atividades da redutase de nitrato.

Em trabalho mais antigo, SRIVASTAVA (1980) propôs algumas hipóteses a respeito do mecanismo de indução/ativação do RN pela luz: a) a luz aumenta a absorção de nitrato e, com isso, a atividade da RN; b) a luz interfere indiretamente na RN por sua atuação na fotossíntese; c) a luz pode aumentar a atividade da RN por induzir a síntese protéica; e d) a luz atua na regulação de inibidores e ativadores específicos da RN.

Em comparação com a plena luminosidade, plantas cultivadas em baixa luminosidade podem conter concentrações de nitrato várias vezes maiores (MARSCHNER, 1995). PETROVIC e CASTORI (1990), estudando genótipos de beterraba açucareira, constataram que genótipos com alta atividade de redutase do nitrato têm baixo conteúdo de  $\text{NO}_3^-$  e vice-versa.

Entre os fatores que podem reprimir a redutase do nitrato está a glutamina. LI et al. (1995), testando essa hipótese em milho, verificaram que a inclusão de glutamina provocou significativa diminuição na atividade da RN e no acúmulo de seu mRNA na raiz. Na parte aérea, entretanto, a adição de glutamina teve pouco ou nenhum efeito na RN. De acordo com HOFF et al. (1992), o efeito da glutamina pode estar no decréscimo do nível de nitrato pela inibição do transporte desse elemento do citoplasma aos espaços extracelulares ou aos vacúolos.

FOYER et al. (1998) constataram que, em folhas de milho, a transcrição do gene do RN é específica e rapidamente inibida pelo estresse hídrico. Trabalhando com o tabaco, FERRARIO e MERY et al. (1998) verificaram que o estresse hídrico inicialmente causa decréscimo na estabilidade da proteína RN. Acrescentam que o RNA mensageiro da RN é muito mais estável na condição de estresse do que a atividade da RN.

VIÉGAS et al. (1999), estudando o efeito do estresse salino sobre a atividade da redutase do nitrato em cajueiro, constataram que a atividade da RN “in vivo” (ensaio em tecido intacto) foi reduzida à metade após um dia de tratamento com NaCl, enquanto a atividade “in vitro” (feita em preparação isolada) não foi alterada significativamente. Pelos resultados, o efeito do NaCl sobre a atividade da RN foi mais osmótico do que de toxicidade direta dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , suportando a hipótese de que a diminuição na transpiração, associada à queda do fluxo de nitrato na planta, foi responsável pela diminuição na atividade da RN. RICHHARIA et al. (1997) constataram, em plântulas de arroz, que a enzima RN é sensível, tanto “in situ” quanto “in vitro”, aos efeitos da salinidade provocada pelo NaCl.

Ferrari et al. (1973), citados por HOG et al. (1983), propuseram a existência de reservas de nitrato nas células da planta: uma pequena reserva metabólica, que serviria como substrato da RN; e uma ampla reserva de nitrato nos vacúolos, indisponível à redução do nitrato.

Para quantificar essa reserva metabólica, empregam-se testes para avaliar a atividade da redutase do nitrato (HERNANDEZ et al., 1995). Como exemplo, têm-se o teste “in vivo”, que é baseado no acúmulo de nitrito no meio externo; e o método “in situ”, derivado do teste “in vivo” e que difere deste por manter a integridade da estrutura celular da parte aérea, por meio de uma incubação em meio gasoso e da raiz por uma incubação em meio líquido, sem surfactantes ou álcool (SOUSSANA et al., 1989).

Segundo MARSCHNER (1995), a atividade máxima da redutase do nitrato ocorre quando a taxa de expansão foliar é máxima, declinando rapidamente a partir de então. WALLACE (1995) atestou que os maiores níveis de redutase na raiz são vistos na zona apical, enquanto nas regiões maduras, basais, os níveis são baixos. LEWIS et al. (1982) constataram que a atividade da RN tornou-se progressivamente menor e menos reproduzível, seja na raiz, seja na parte aérea, com o aumento da idade em cevada.

A distribuição da redução do nitrato é dependente, em grande parte, do genótipo da planta (CABA et al. 1995). ABDIN et al. (1992) observaram significantes diferenças (de 2 a 3 vezes) na atividade da redutase do nitrato entre genótipos de trigo. Análises bioquímicas revelaram que, nos genótipos com alta atividade da RN, a enzima é mais ativa, há altas taxas de síntese da

enzima RN e altos níveis de equilíbrio do mRNA da RN. Um dos fatores responsáveis pela baixa atividade da RN em alguns genótipos parece ter sido a disponibilidade de NADH. Foi proposto que as diferenças genotípicas não se devem somente a fatores bioquímicos, mas também a diferenças moleculares.

A segunda enzima envolvida na redução do nitrato é a redutase do nitrito (NiR), que transforma nitrito em amônia, etapa em que seus elétrons estão envolvidos. A nitrito redutase é um polipeptídeo monomérico de cerca de 60-63 kDa e que contém dois grupos prostéticos: um agrupamento ferro-enxofre e um grupo heme especializado (TAIZ e ZEIGER, 1991). Nas folhas, a NiR localiza-se nos cloroplastos; nos tecidos não-verdes e na raiz, situa-se nos proplastídios. Seu doador de elétrons é a ferredoxina reduzida ou alguma proteína similar (MARSCHNER, 1995).

Na maioria das espécies, a raiz e a parte aérea são capazes de reduzir o nitrato (KOLEK e KOZINKA, 1992). Porém, a proporção da redução irá depender de fatores como o nível de suprimento de nitrato, a espécie e a idade (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Em geral, quando o suprimento externo de nitrato é baixo, alta proporção de nitrato é reduzida na raiz. Aumentando o suprimento, eleva-se a proporção de nitrato translocado até a parte aérea, onde será reduzido (MARSCHNER, 1995).

A participação da assimilação de nitrato em cada órgão da planta varia amplamente entre as espécies (ASLAM e UFFAKER, 1982). Segundo ANDREWS (1986), espécies perenes, de climas temperados, e leguminosas anuais, crescendo em baixas concentrações externas de nitrato, assimilam a maior parte do nitrato nas raízes, enquanto espécies tropicais e subtropicais o fazem em grande proporção na parte aérea.

A taxa de absorção do cátion acompanhante também pode afetar a proporção da redução na planta. Com o potássio como acompanhante, a translocação deste e do nitrato até a parte aérea é rápida, ocasionando a baixa redução de  $\text{NO}_3^-$  na raiz. Todavia, quando o cálcio ou o sódio é o cátion acompanhante, a redução do nitrato na raiz é consideravelmente maior (Ruffy et al., 1981; Foster e Jeschke, 1993, citados por MARSCHNER, 1995; IVASHIKINA e FEYZIEV, 1998).

O acúmulo de nitrato em vegetais tem sido alvo de pesquisa por vários anos. Para REININK e GROENWOLD (1987), esse acúmulo é complexo, com sub-processos que se interagem como absorção, transporte, redução do nitrato e a ação como agente osmótico. Tal acúmulo depende de muitos fatores ambientais, como o suprimento de N, água, intensidade luminosa e temperatura (BLOM-ZANDSTRA e EENINK, 1986). À parte disso, pode-se afirmar, também, que a diversidade genotípica pode provocar a variação no acúmulo de  $\text{NO}_3^-$  (EVERS, 1994). Nesse aspecto, WEIMIN et al. (1998) ressaltaram que existe ampla variação genética entre espécies e entre cultivares. GONZALES et al. (1999) concluíram que o nível de acúmulo de  $\text{NO}_3^-$  depende do potencial genético.

A resposta genotípica ao N muitas vezes correlaciona-se com a atividade da enzima redutase do nitrato (KLIMASHEVSKY, 1990; CABA et al., 1995). Para OSTREM e COLLINS (1983), a variação no acúmulo de nitrato pode ser atribuída a diferenças genotípicas na sua absorção, redução e utilização pela planta. BLOM-ZANSTRA e EENINK (1986) associaram o acúmulo à reduzida capacidade de redução do  $\text{NO}_3^-$  e à baixa atividade da redutase do nitrato.

O acúmulo de  $\text{NO}_3^-$  pode significar uso ineficiente de nitrogênio aplicado. A exploração da variabilidade genética entre cultivares merece importante consideração (VILLAGARCIA et al., 1998). A relevância no aprimoramento de variedades que usam N mais eficientemente é fator que merece destaque.

SCHARPF (1991) classificou as espécies vegetais como baixas acumuladoras de nitrato ( $< 500 \text{ mg NO}_3^- \text{ kg}$  de matéria fresca), médias acumuladoras ( $500\text{-}2.000 \text{ mg NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$  de MF), faixa na qual se inclui a cenoura, e altas acumuladoras ( $2.000\text{-}5.000 \text{ mg NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$  de MF), que seriam as folhosas em geral.

As diferenças nos teores de nitrato entre cultivares são comuns. Em cenoura, SCHARPF (1991) constatou, em estudo com 19 cultivares, que o conteúdo de nitrato variou de 86 a 733  $\text{mg K}^{-1}$  de matéria fresca, uma variação de 852%. PRUGAR e PECHOVÁ (1985) relataram variação de 57 a 840  $\text{mg de NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$  de MF em 11 genótipos de cenoura. Por fim, Evers (1989), citado por EVERS (1994), mencionou variação de 45 a 710  $\text{mg de NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$  de matéria

fresca entre cultivares de cenoura. Essas variações no acúmulo de  $\text{NO}_3^-$  entre genótipos de *Daucus carota* são expressivas e contundentes.

O nitrato, além de ser a principal fonte nitrogenada da síntese de aminoácidos e proteínas, exerce importante função osmótica em várias espécies de plantas. Essa função é exercida pelo nitrato acumulado nos vacúolos que, além disso, atua na balança de cátions e ânions e influencia a qualidade dos vegetais, pelo seu óbvio e indesejado acúmulo (MARSCHNER, 1995).

O nitrato presente no vacúolo toma parte na manutenção do turgor celular e crescimento da planta pela redução do potencial osmótico da seiva vascular (McCALL e WILLUMSEM, 1998). O nitrato disponível na planta é movido dentro e fora da célula, visando manter a pressão de turgor no nível desejado, como mecanismo de ajuste da planta (TAIZ e ZEIGER, 1998).

Para VAN DER LEIJ et al. (1998), o nitrato armazenado no vacúolo serve como osmótico e como reserva de N para assimilação. A maneira com que  $\text{NO}_3^-$  se torna disponível ainda não é bem conhecido, e os fatores que afetam a taxa de remobilização não foram de todo identificados. A dissipação do gradiente de pH imposto pelo  $\text{NO}_3^-$  pode significar que o antiporte de proteínas e  $\text{NO}_3^-$  são responsáveis pela sua absorção até o vacúolo, e o simporte facilitaria a liberação.

Mac Robbie (1976), citado por McINTYRE (1997), sugeriu que o nitrato pode ter função específica na promoção osmótica da expansão foliar. Esse autor relatou que, em espécies em que a redução do nitrato ocorre preferencialmente nas folhas, o  $\text{NO}_3^-$ , antes da redução e possivelmente em combinação com o K, pode exercer uma significativa contribuição para impulsionar a expansão foliar.

A concentração de nitrato muda significativamente com a variação da intensidade luminosa. BLOM-ZANDSTRA e LAMPE (1985) afirmaram que, em condições de reduzida fotossíntese (baixa luminosidade), a planta pode acumular ativamente o nitrato compensando osmoticamente a baixa produção de osmóticos orgânicos. Esses mesmos autores constataram que a variação na concentração de  $\text{NO}_3^-$  foi amplamente compensada pela mudança na concentração de ácidos orgânicos e açúcares para a manutenção da eletroneutralidade.

CARRASCO et al. (1994) afirmaram que o acúmulo de nitrato é estimulado pela falta de carboidratos em baixa intensidade luminosa para manter o potencial osmótico da célula. O nitrato agiria, então, como substituto osmótico para manutenção do turgor celular.

SOUZA (1994) levantou a hipótese de que o armazenamento de nitrato no vacúolo possa ser a alternativa que evita a competição entre as reduções de  $\text{NO}_3^-$  e de  $\text{CO}_2$ , em limitada disponibilidade de fótons decorrentes da condição de baixa irradiância.

Para Behr e Wiebe (1988), citados por McCALL e WILLUMSEM (1998), a função osmótica do nitrato não é específica, com a ressalva de que pode ser substituído por outro osmótico. McCALL e WILLUMSEM (1998) concluíram que, quando a disponibilidade de  $\text{NO}_3^-$  é reduzida, sua função osmótica pode ser substituída pelo cloreto e por açúcares. A limitação de N reduz consideravelmente o conteúdo de nitrato na planta ao “forçá-la” a usar outro osmótico na osmorregulação.

INAL et al. (1998), conduzindo experimentos sobre o efeito de várias razões de  $\text{NO}_3^-/\text{Cl}$  no acúmulo de nitrato em cenoura, constataram que os íons de Cl podem substituir, ainda que parcialmente, o nitrato em suas funções osmóticas.

Para JONES e GORHAN (1983), a faixa de soluto acumulado pelas plantas reflete, em parte, a disponibilidade de nutrientes, mas também suas estratégias de crescimento e, possivelmente, o balanço de energia, carbono e nitrogênio. A regulação osmótica pode ser parte do metabolismo geral integrado da planta e não função quase independente.

A cenoura é uma das hortaliças de maior importância econômica e nutricional do mundo. Em Minas Gerais, ocupava, em meados de 2000/2001, cerca de 5.500 ha (crescimento de 140% de área de 1990 a 2000), empregando diretamente 19 mil pessoas (AGROPECUÁRIO, 2001).

De acordo com LECLERC e MILLER (1992), a cenoura é o vegetal que tem o maior nível de betacaroteno, precursor da vitamina A. Kansanelakelaitos (1993), citado por EVERS (1994), citou o valor médio de 7.600 mg/100 g de matéria fresca de betacaroteno em cenoura. FREEMAN e SIMON (1983) afirmaram que essa hortaliça era a maior fonte vegetal de próvitamina A na dieta americana.

A vitamina A e os carotenóides afetam diversos aspectos da saúde humana. O consumo desses alimentos tem sido associado com significativa redução na incidência de câncer. Deve-se destacar que a deficiência de vitamina A pode provocar a xerofthalmia, uma doença dos olhos, que em 1990 afligia cerca de um milhão de crianças (de 6 meses a 6 anos, especialmente). Essa mesma deficiência pode também ocasionar a deterioração das células do epitélio da mucosa, o que aumentaria de duas a três vezes o risco de infecção respiratória e diarreia.

O cultivo atual de hortaliças tem como uma de suas premissas obter produtos de alta qualidade, seja esta externa (forma, cor etc.), seja interna (teor de açúcar, proteínas, vitaminas etc.). Critérios negativos de qualidade nutricional, como o conteúdo de nitrato, resíduos de pesticida, metais pesados, ácido oxálico etc., têm sido alvo de preocupações e de busca para sua redução (EVERS, 1989).

O controle do conteúdo de nitrato tem se tornado essencial na cenoura (GUTEZEIT e FINK, 1999) especialmente quando o produto é direcionado para a alimentação infantil. Essa preocupação é crescente, tanto por parte dos produtores quando da indústria de processamento (GUTEZEIT, 2001), visto os efeitos prejudiciais do  $\text{NO}_3^-$  na saúde humana.

Sabe-se que o genótipo e a quantidade de N aplicado na forma de fertilizante influenciam decisivamente o conteúdo de  $\text{NO}_3^-$ . WARNCKE (1996) afirmou que as cenouras podem acumular mais nitrogênio do que o necessário para a máxima produção e que esse “consumo de luxúria” é favorecido pelo rápido desenvolvimento de seu sistema radicular. No entanto, devem-se também salientar diferenças genotípicas no que diz respeito a aspectos nutricionais positivos, como o acúmulo de açúcares, componentes osmoticamente ativos na cenoura (STEINGROVER, 1983). Para LESTER et al. (1982) existem cultivares de cenoura que proporcionam alto acúmulo de açúcares livres (HSL, ou “high sugar accumulating cultivar/line”) e também baixo acúmulo de açúcares (LSL, ou “low sugar accumulating cultivar/line”). Essa diferença, segundo eles, seria dada por habilidade dos cultivares HSL em permanecer fotossinteticamente ativos por mais tempo, o que acarretaria maior acúmulo de açúcares. Como ponto pacífico, sabe-se que a glicose, a frutose e

especialmente a sacarose são os açúcares mais abundantes nessa hortaliça (ALABRAN e MABROUK, 1973; EVERES, 1989; ROSENFELD et al., 1998).

O melhoramento qualitativo do vegetal, embora seja tarefa complexa, deve e tem sido alvo de busca incessante. Para tal, é fundamental, entre inúmeros outros fatores, aprofundar-se no conhecimento fisiológico da planta (SECHLEY et al., 1992) e otimizar o uso de fertilizantes (EVERS, 1989; GUTEZEIT, 2001), que irão, em última instância, afetar a composição nutricional desse vegetal.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

Foram conduzidos três experimentos, dois em casa de vegetação e um em campo.

#### **3.1. Experimentos em casa de vegetação**

##### **3.1.1. Experimento de inverno**

No primeiro experimento, conduzido no período de 22/06 a 06/10 de 2000, a temperatura média máxima foi de 36 °C e a mínima, de 13 °C. O solo usado foi coletado na região da Viçosa, em Viçosa, MG, e identificado como Argissolo Vermelho-Amarelo. Posteriormente, foi secado ao ar e passado em peneira com malha de 4,0 mm, sendo a amostra coletada caracterizada química e fisicamente (Quadro 1).

Os tratamentos resultaram do esquema fatorial 2 x 5, formado por duas variedades de cenoura: Nantes e Brasília e por cinco doses de nitrogênio: 0, 100, 200, 300 e 400 mg de N/dm<sup>3</sup> de substrato. O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados, com três repetições. A unidade experimental constituiu de 30 vasos de 10 dm<sup>3</sup> cada preenchidos com 9 dm<sup>3</sup> de substrato, feito com a mistura solo:areia na proporção de 5:1. Amostras do substrato foram coletadas e caracterizadas quimicamente (Quadro 2).

Quadro 1 – Características químicas e físicas dos solos utilizados nos experimentos

CARACTERÍSTICA	SOLOS	
	VIOLEIRA	HORTA NOVA
pH em água (1:2,5)	4,6	5,6
P disponível (mg/dm <sup>3</sup> ) <sup>1/</sup>	2,4	3,1
K disponível (mg/dm <sup>3</sup> ) <sup>1/</sup>	24	10
Ca trocável (mol c/dm <sup>3</sup> ) <sup>2/</sup>	0,3	0,58
Mg trocável (mol c/dm <sup>3</sup> ) <sup>2/</sup>	0,1	0,21
Al trocável (mol c/dm <sup>3</sup> ) <sup>2/</sup>	0,8	0,00
H + Al (mol c/dm <sup>3</sup> ) <sup>3/</sup>	5,4	1,32
CTC total (mol c/dm <sup>3</sup> )	5,86	2,14
Saturação de bases (%)	8	38,3
Matéria orgânica (dag/kg) <sup>4/</sup>	4,56	1,27
Argila (%) <sup>5/</sup>	17	61
Silte (%)	10	11
Areia grossa (%)	47	12
Areia fina (%)	26	16
Classificação textural	Franco-arenosa	Muito argilosa
Equivalente da umidade (1%)	24,00	34,00
Densidade aparente (g/cm <sup>3</sup> ) <sup>6/</sup>	1,22	1,14

1/ - Extrator Mehlich 1.

2/ - Extrator KCl 1 mol/L (DEFELIPO e RIBEIRO, 1981).

3/ - Extrator Ca (OAc)<sub>2</sub> 0,5 mol/l pH 7,0 (VETTORI, 1969).

4/ - Método Walkley e Black (DEFELIPO e RIBEIRO, 1981).

5/ - Método da pipeta, dispersão NaOH 1 mol/L (EMBRAPA, 1974).

6/ - Método da proveta.

Quadro 2 – Características químicas dos substratos (solo:areia ;5:1) utilizados nos experimentos em casa de vegetação

CARACTERÍSTICA	SOLO DA VIOLEIRA + AREIA 5:1	SOLO HORTA NOVA + AREIA 5:1
pH em água (1:2,5)	4,5	5,6
P disponível (mg/dm <sup>3</sup> ) <sup>1/</sup>	0,4	3,6
K disponível (mg/dm <sup>3</sup> )	18	8
Ca trocável (mol c/dm <sup>3</sup> )	0,11	0,8
Mg trocável (mol c/dm <sup>3</sup> )	0,03	0,2
Al trocável (mol c/dm <sup>3</sup> )	0,8	0,0
H + Al (mol c/dm <sup>3</sup> )	8,3	1,8
CTC total (mol c/dm <sup>3</sup> )	8,44	2,82
Saturação de bases (%)	2,3	36

1/ - Extrator Mehlich 1.

2/ - Extrator KCl 1 mol/L (DEFELIPO e RIBEIRO, 1981).

3/ - Extrator Ca (OAc)<sub>2</sub> 0,5 mol/L pH 7,0 (VETTORI, 1969).

No preparo dos substratos solo e areia, eles foram misturados manualmente, 50 dias antes do plantio. Na mistura foram aplicados, por vaso, 18 g de calcário dolomítico na relação Ca:Mg, de 2:1. Simultaneamente ao calcário, foram colocados, por dm<sup>3</sup> de substrato, 500 mg de P, 175 mg de K, 60 mg de S, 0,813 mg de B, 3,364 mg de Mn, 0,15 mg de Mo, 4 mg de Zn, 1,556 mg de Fe e 1,329 mg de Cu, na forma dos seguintes sais, respectivamente: H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, MnCl<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O, (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>, ZnSO<sub>4</sub>, FeCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O e CuSO<sub>4</sub> 5 H<sub>2</sub>O.

Os nutrientes foram aplicados na forma de solução, utilizando-se de 200 mL por vaso, em todas as parcelas. Na mistura, também aplicou-se 1/3 da dose estipulada de N nos respectivos tratamentos, tendo-se adotado a uréia como a fonte nitrogenada. Os 2/3 restantes de N foram aplicados oito dias antes do plantio.

No dia 22/06, procedeu-se à semeadura das variedades Brasília e Nantes. Os níveis de umidade do solo foram mantidos a 90% da capacidade de campo, com base no peso dos vasos determinado a cada três dias pelo critério do equivalente de umidade do substrato (Quadro 2).

As operações de escarificação e controle de plantas daninhas foram realizadas manualmente quando necessário. Após o desbaste definitivo, deixaram-se três plantas por vaso, dispostas em vértices triangulares.

Aos 104, 105 e 106 dias após o plantio, procedeu-se à coleta, amostrando-se uma planta por vaso, na qual foi avaliada a atividade da redutase do nitrato. Aos 107 dias após o plantio, coletaram-se as plantas restantes, visando à determinação de nitrato, nitrogênio orgânico, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ferro, manganês, cobre e zinco.

### **3.1.1.1. Determinação da atividade da enzima redutase do nitrato (ARN)**

A determinação foi feita “in vivo”, baseada em metodologia de JAWORSKI (1971), com modificações introduzidas no Laboratório de Fisiologia Vegetal da UFV.

Num prazo de três dias, procedeu-se à avaliação do experimento, sendo trabalhado um bloco por dia. Cada bloco foi levado até o referido laboratório, e no horário preestabelecido (de acordo com testes anteriores), das 13 às 14 horas, coletou-se uma planta por vaso. Cada cenoura foi dividida em parte aérea e raiz e lavada em água corrente e secada.

Na parte aérea, escolheram-se a 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> folhas mais novas, completamente desenvolvidas e com pecíolos, que foram, então, destacadas. A partir daí, selecionaram-se o 4<sup>o</sup>, 5<sup>o</sup>, 6<sup>o</sup> e 7<sup>o</sup> folíolos das duas folhas, sendo seccionados e pesados até obter 150 mg. Na raiz, as amostras foram retiradas da porção mediana, cortando-se seis fatias, de aproximadamente 5 mm, com ajuda de um micrótopo. Excluiu-se o cilindro central da raiz e seccionou-se o restante até obter 300 mg. O cilindro central, segundo indicações extraídas de SCHARPF (1991), parece ser região de baixa atividade da redutase do nitrato, sendo por isso excluída. As quantidades pesadas, 150 e 300 mg, foram estipuladas de acordo com o resultado de ensaios prévios.

A técnica de avaliação da ARN consistiu na infiltração e incubação da amostra em 10 mL do meio de tampão fosfato ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  e  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 0,1 M (pH 7,5), nitrato de potássio 0,05 M, propanol 2% e quatro gotas de Triton x 100 a 5%. Após a imersão, as amostras foram transferidas ao dessecador a vácuo e submetidas à infiltração sob vácuo por três minutos, com dois

intervalos de um minuto. Em seguida, os frascos de incubação foram levados ao banho-maria, a 30 °C, em sala escura. Nos tempos previamente ajustados (obtidos em testes anteriores com amostras de cenoura), de 10 e 20 minutos para a raiz e de 50 e 75 minutos para a folha, retiraram-se alíquotas de 1 mL, adicionando a cada uma 0,3 mL de sulfanilamida 1%, 0,3 mL de Naftil etilenodiamino e 3,4 mL de água. Decorridos 60 minutos de reação, efetuaram-se as leituras em espectrofotômetro a 540 nm. A atividade da enzima foi expressa em termos de produção de nitrito.

### **3.1.1.2. Determinação dos teores de macro e micronutrientes**

Aos 107 dias após a semeadura, colheram-se as cenouras, separando parte aérea e raiz. Após a lavagem das raízes em água deionizada, fez-se a secagem em estufa com ventilação forçada, a 65 °C, até peso constante. Em seguida, foi moído em moinho tipo Wiley e passado em peneira de 20 mesh. Procedeu-se, então, à mineralização via úmida, usando digestão sulfúrica na determinação do N-orgânico por meio do reagente de Nessler (JACKSON, 1958) e digestão nítrico-perclórica para determinação do P por calorimetria (BRAGA e DEFELIPO, 1974), S por turbidimetria (BLANCHAR et al., 1965), Ca, Mg, Fe, Zn, Mn e Cu por espectrofotometria de absorção atômica e K por fotômetro de chama.

O nitrato foi determinado em amostras de folhas e raízes secas e moídas, de acordo com CATALDO et al. (1975).

### **3.1.2. Experimento de verão**

O segundo experimento em casa de vegetação foi conduzido de 01/02 a 23/05 de 2001, na temperatura média máxima de 40 °C e mínima de 16 °C. O solo utilizado foi coletado em encosta de barranco no local chamado de “Horta Nova”, pertencente à UFV. Após a secagem ao ar e peneiragem em malha de 4,0 mm, o solo teve amostras caracterizadas química e fisicamente (Quadro 1).

Os tratamentos resultaram do esquema fatorial 2 x 4, formado por duas variedades: Nantes e Brasília e quatro doses de nitrogênio: 0, 150, 300 e 450 mg de N por dm<sup>3</sup> de substrato. O delineamento experimental adotado foi de

blocos casualizados, com quatro repetições. A unidade experimental consistiu de 32 vasos, cada um preenchido com 9 dm<sup>3</sup> de substrato, sendo este composto de cinco partes de solo e uma parte de areia. O substrato teve amostras caracterizadas quimicamente (Quadro 2).

A mistura solo:areia foi preparada 30 dias antes do plantio, sendo colocada em vasos de polietileno rígido no volume total e individual de 9 dm<sup>3</sup>. No preparo da mistura, aplicaram-se, por vaso, 5,62 g de calcário dolomítico. Por dm<sup>3</sup> de substrato, adicionaram-se, via solução de 200 mL, em todos os tratamentos 500 mg de P, 190 mg de K, 60 mg de S, 0,813 mg de B, 3,364 mg de Mn, 0,15 mg de Mo, 4 mg de Zn, 1,556 mg de Fe e 1,329 mg de Cu, na forma dos respectivos sais: H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, MnCl<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O, (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>, ZnSO<sub>4</sub>, FeCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O e CuSO<sub>4</sub> 5 H<sub>2</sub>O. Aos 15 dias antes do plantio, aplicou-se metade da dose estipulada de N, sendo usada a uréia como fonte nitrogenada. Após a veiculação da solução nitrogenada (25 mL/vaso) procedeu-se a um novo revolvimento do solo.

No dia 01/02, efetuou-se a semeadura das variedades Nantes e Brasília. Depois do desbaste definitivo, realizado 40 dias após o plantio (DAP), deixaram-se três plantas por vaso, dispostas em vértices triangulares.

Após 42 DAP foi realizada a adubação nitrogenada de cobertura, que correspondeu à metade das doses estipuladas por tratamento. As operações de escarificação e controle de plantas daninhas foram feitas quando necessário. Com a finalidade de combater a doença chamada de “queima das folhas”, promoveu-se à aplicação do fungicida Manzate, do grupo dos ditiocarbamatos, pó molhável com 80% de Maneb (etileno bis-ditiocarbamato de Mn) e 2% de Zn, por duas vezes, num prazo de 25 dias, com a primeira aplicação feita aos 50 DAP. Os níveis de umidade do substrato foram mantidos de 85 a 90% da capacidade de campo, com base no peso dos vasos determinados a cada três dias.

Aos 106, 109, 110 e 111 dias após o plantio, procedeu-se à coleta de uma planta por vaso, na qual se avaliou a atividade da redutase do nitrato. Aos 106 DAP, coletaram-se duas plantas por vaso, visando à avaliação de açúcares solúveis totais, açúcares redutores e não-redutores, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N orgânico, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Cu e Zn.

### **3.1.2.1. Determinação da atividade da enzima redutase do nitrato**

A determinação “in vivo” da atividade da redutase do nitrato (ARN) foi baseada na metodologia de JAWORSKI (1971). Cada bloco do experimento foi avaliado separadamente, sendo um por dia. A coleta da cenoura foi efetuada das 13 às 14 horas, sendo cada planta colhida identificada e imediatamente colocada em gelo. Após essa fase, cada planta foi levada ao laboratório. As etapas de seccionamento, pesagem, infiltração e incubação seguiram os mesmos passos do item 1.1.a. A diferença esteve no tempo de incubação da folha que, nesse caso, foi de 50 a 70 minutos, estabelecidos de acordo com ensaios prévios.

### **3.1.2.2. Determinação dos teores de açúcares solúveis totais, redutores e não-redutores**

Aos 106 dias após o plantio, coletaram-se duas cenouras por vaso, que foram identificadas, colocadas em gelo e levadas ao laboratório. A planta foi, então, separada em raiz e parte aérea, sendo as raízes lavadas em água deionizada. De uma planta, coletaram-se fatias de aproximadamente 10 mm da porção central da raiz, inclusive cilindro central, as quais foram picadas separadamente, pesando-se 500 mg. Essas amostras foram imersas em etanol 80% fervente, em frascos individuais, e colocadas na geladeira.

Posteriormente, as amostras foram trituradas em almofariz, com etanol 80%, e colocadas em banho-maria a 80 °C por 30 minutos. Em seqüência, efetuaram-se a filtração, nova imersão em banho-maria por 30 minutos e, de novo, uma filtração até a deposição total do resíduo. As amostras foram, então, levadas para um evaporador rotativo, onde o álcool foi evaporado, sendo a amostra resultante completada ao volume de 20 mL. Desse montante, coletaram-se três alíquotas de 1,5 ml cada, que foram centrifugadas. Ao final, verteu-se o sobrenadante em três outras cubetas. Essas amostras formaram o extrato bruto.

Na determinação dos teores de açúcares solúveis totais, coletou-se uma alíquota de 0,25 ml do extrato bruto, acrescentando-se 1,25 mL de água. Dessa amostra, coletou-se 0,1 mL, que foi adicionado a 0,4 mL de água e

2,5 mL de solução de antrona. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 620 nm. A glicose foi utilizada como padrão.

Na determinação dos teores de açúcares redutores, coletaram-se alíquotas de 0,06 ml de extrato bruto, acrescentando 0,44 ml de água e 0,5 ml de solução de Nelson. Em seguida, foi colocada em banho-maria por 20 minutos. Adicionaram-se à amostra 3,5 ml de água e 0,5 ml de solução arsenomolibdica. As leituras das absorbâncias foram, então, efetuadas em onda de 540 nm.

Os níveis de açúcares não-redutores foram determinados mediante a subtração dos teores de açúcares solúveis totais pelos teores de açúcares redutores.

### **3.1.2.3. Determinação dos teores de macro e micronutrientes**

Após a coleta da amostra destinada à determinação de açúcar e da lavagem das raízes em água deionizada, o restante do material foi secado em estufa, moído e peneirado. Fez-se, então, a determinação de  $\text{NO}_3^-$ , N orgânico, P, Ca, K, Mg, S, Fe, Zn, Mn e Cu. As metodologias foram as mesmas utilizadas no item 1.1.b.

## **3.2. Experimento em campo**

O experimento foi realizado na Horta Nova da Universidade Federal de Viçosa, no período de 03/07 a 04/11 de 2001. O solo, classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo, teve suas amostras caracterizadas química e fisicamente (Quadro 3).

Os tratamentos, no esquema fatorial 2 x 7, foram constituídos de duas variedades: Nantes e Brasília e sete doses de nitrogênio: 0, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 kg de N por ha. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições.

A área experimental, de 560 m<sup>2</sup>, constituiu-se de 28 parcelas de 20 m<sup>2</sup> cada. A parcela consistiu de quatro canteiros, cada um com 5,0 m de comprimento, 0,9 m de largura e 0,15 m de altura, feitos por encanteirador mecanizado. Dos quatro canteiros por parcela, adotaram-se os centrais como a

Quadro 3 – Características químicas e físicas das amostras de solo da Horta Nova da UFV. Experimento de campo

CARACTERÍSTICA	VALOR MÉDIO
pH em água (1:2,5)	6,0
P disponível (mg/dm <sup>3</sup> ) <sup>1/</sup>	26,2
K disponível (mg/dm <sup>3</sup> ) <sup>1/</sup>	81
Ca trocável (mol c/dm <sup>3</sup> ) <sup>2/</sup>	2,7
Mg trocável (mol c/dm <sup>3</sup> ) <sup>2/</sup>	0,5
Al trocável (mol c/dm <sup>3</sup> ) <sup>2/</sup>	0,0
H + Al (mol c/dm <sup>3</sup> ) <sup>3/</sup>	3,1
CTC total (mol c/dm <sup>3</sup> )	6,51
Saturação de bases (%)	52
Argila (%) <sup>4/</sup>	35
Silte (%) <sup>4/</sup>	12
Areia grossa (%)	33
Areia fina (%)	20
Classificação textural	Argilo-arenosa
Matéria orgânica (dag/kg) <sup>5/</sup>	3,1

1/ - Extrator Mehlich 1.

2/ - Extrator KCl 1 mol/L (DEFELIPO e RIBEIRO, 1981).

3/ - Extrator Ca (OAc)<sub>2</sub> 0,5 mol/L pH 7,0 (VETTORI, 1969).

4/ - Método da pipeta, dispersão NaOH 1 mol/L (EMBRAPA, 1974).

5/ - Método Walkley e Black (DEFELIPO e RIBEIRO, 1981).

área útil. Das quatro fileiras por canteiro, espaçadas entre si 20 cm, utilizaram-se duas fileiras no plantio da 'Nantes' e as outras duas fileiras, no plantio da 'Brasília', caracterizando parcelas subdivididas.

Na área, aplicaram-se e incorporaram-se, de acordo com a recomendação da COMISSÃO DE FERTILIDADE DE SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS (1999), 160 kg/ha de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (superfosfato simples) e 80 kg/ha de K<sub>2</sub>O (cloreto de potássio). Após 30 dias da emergência das plantas, aplicaram-se mais 80 kg/ha de K<sub>2</sub>O. Dois dias antes do plantio, promoveu-se a aplicação de um terço das doses estipuladas de N, utilizando a uréia como fonte nitrogenada. A aplicação deu-se com a uréia diluída em água. O restante de N foi aplicado 45 dias após o plantio na forma de uréia, diluída em água.

No plantio, usou-se uma semeadeira manual, passada em sulcos de 1 a 2 cm, confeccionados manualmente. O espaçamento final foi de 20 x 5 cm. A irrigação foi feita por meio de aspersores, ligados, três a quatro vezes por semana, de acordo com a necessidade.

O controle de plantas daninhas foi feito aos 11 e aos quatro dias antes do plantio, com uso dos herbicidas Roundup (nome técnico: *Glyphosate*) e Eptano (nome técnico: EPTC), respectivamente. Após o plantio, promoveram-se duas capinas manuais, realizadas juntamente com os desbastes aos 20 e aos 45 dias após o plantio.

Passados 119 e 120 dias do plantio procedeu-se à colheita, sendo colhidos dois blocos por dia. Em cada parcela útil foram coletadas 12 plantas, consideradas competitivas, por variedade (24 plantas por parcela). Após essa coleta, as plantas foram separadas em raiz e parte aérea e as raízes, lavadas em água corrente e secadas com papel-toalha. Parte aérea e raiz foram pesadas, sendo a raiz também medida. Seis plantas por parcela (três de cada variedade) foram identificadas, ensacadas e secadas em estufa com ventilação forçada (65 °C), moídas em moinho tipo Wiley e peneiradas em malha de 20 mesh. Parte dessa amostra foi mineralizada, usando-se digestão sulfúrica na determinação do N orgânico (JACKSON, 1958). O nitrato também foi dosado seguindo a mesma metodologia descrita no item 1.1.a.

Aos 121 e 122 dias após o plantio, procedeu-se à avaliação da atividade da redutase do nitrato. Foram coletadas, por parcela útil e no horário das 12h30

às 13 h, quatro plantas (duas por variedade), que foram identificadas e colocadas em gelo e levadas ao laboratório. Por dia, avaliaram-se dois blocos.

A determinação “in vivo” da atividade da enzima redutase do nitrato seguiu os mesmos passos do item 1.1.a de escolha, seccionamento, pesagem, infiltração, incubação e retirada de alíquotas.

Os resultados foram interpretados estatisticamente, por meio de análises de variância e de regressão. As análises de variância e os ajustes das equações de regressão foram efetuados com a utilização do programa SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas), desenvolvido por EUCLYDES (1983).

Os critérios de escolha dos modelos de regressão foram: significado biológico e maior coeficiente de determinação, significância dos coeficientes de regressão até o limite de 5% de probabilidade pelo teste t, nos modelos linear, quadrático e cúbico.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Experimentos em casa de vegetação

#### 4.1.1. Experimento de inverno

A produção de massas fresca e seca da raiz e parte aérea das variedades Nantes e Brasília (Quadro 4) não se ajustaram aos modelos estatísticos testados. A pequena quantidade de amostra coletada pode ter ocasionado a grande variação da unidade experimental, prejudicando a obtenção de dados mais conclusivos sobre essas variáveis.

Quadro 4 – Massa fresca (MF) e massa seca (MS) na raiz e parte aérea, em g/planta, das variedades de cenoura, em função das doses de N

Doses mg/dm <sup>3</sup>	Raiz				Parte Aérea			
	MF		MS		MF		MS	
	Nantes	Brasília	Nantes	Brasília	Nantes	Brasília	Nantes	Brasília
0	60,00	50,00	6,71	5,15	11,67	18,33	1,50	2,90
100	71,67	43,33	8,34	4,92	16,67	15,00	2,67	2,43
200	53,33	58,33	4,99	6,34	13,33	20,00	2,19	3,20
300	60,00	55,00	6,33	6,01	18,33	20,00	2,95	3,24
400	23,33	25,00	2,80	2,83	20,00	11,67	3,24	1,90

Quadro 5 – Teor de matéria seca da raiz (TMSR) e da parte aérea (TMSP) das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N

Doses mg/dm <sup>3</sup>	TMSR (%)		TMSP (%)	
	Nantes	Brasília	Nantes	Brasília
0	11,18	10,30	12,68	15,82
100	11,64	11,62	16,02	16,20
200	9,36	10,87	16,43	16,00
300	10,55	10,93	16,09	16,20
400	12,00	11,32	16,20	16,28

Os teores de N-orgânico e nitrato na parte aérea da cenoura (Quadros 6 e 7) tiveram resposta linear positiva com o incremento das doses (Figuras 1 e 2). Constatou-se, de maneira geral, que a variedade Brasília apresentou maiores teores de N, orgânico e nitrato, na parte aérea do que a variedade Nantes, embora esse comportamento tenha sido estatisticamente comprovado pela análise de variâncias somente na dose de 300 mg/dm<sup>3</sup> (Quadro 8)

A variedade Brasília é considerada de verão e, no caso, as condições climáticas do experimento realizado no inverno podem não ter estimulado a redução do nitrato, por exemplo, a atuar com a eficiência esperada em razão, basicamente, da insuficiência de intensidade luminosa e da temperatura. Esse maior acúmulo de nitrato em variedades de verão já foi constatado por TORRES (1995).

Embora o N inorgânico possa acumular-se como nitrato, o orgânico predomina em proteínas de alto peso molecular (JONES JUNIOR et al., 1991), o que causaria teores de nitrogênio orgânico bem maiores que de nitrato (Quadros 6 e 7).

Na raiz, não se constatou diferença estatística nos teores de nitrogênio orgânico e N-nitrato (Quadro 9 e Figura 3).

Quadro 6 – Teores de nitrogênio orgânico (N-org) e nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e avaliação da atividade da enzima redutase do nitrato (ARN) na raiz e parte aérea da variedade Nantes, em função das doses de N

Doses mg/dm <sup>3</sup>	Raiz			Parte Aérea		
	N-org.	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	ARN	N-org.	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	ARN
	dag/kg MS	MS	μmol NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /g MF/h	dag/kg	MS	μmol NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /g MF/h
0	0,992	0,031	ND	1,735	0,027	0,464
100	0,988	0,026	0,074	2,380	0,217	1,503
200	0,864	0,040	0,096	2,667	0,264	2,225
300	0,951	0,026	0,112	2,220	0,228	1,622
400	1,401	0,041	ND	3,085	0,568	2,281

MF = matéria fresca.

h = hora.

MS = matéria seca.

ND = não detectado.

Quadro 7 – Teores de nitrogênio orgânico (N-org) e nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e avaliação da atividade da enzima redutase do nitrato (ARN) na raiz e parte aérea da variedade Brasília, em função das doses de N

Doses mg/dm <sup>3</sup>	Raiz			Parte Aérea		
	N-org.	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	ARN	N-org.	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	ARN
	dag/kg MS	MS	μmol NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /g MF/h	dag/kg	MS	μmol NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /g MF/h
0	0,793	0,046	ND	1,524	0,037	0,608
100	0,822	0,026	0,087	2,471	0,280	0,903
200	0,848	0,026	0,082	2,502	0,298	1,930
300	1,114	0,042	ND	3,163	0,540	1,243
400	1,176	0,066	0,144	3,038	0,397	1,773

MF = matéria fresca.

h = hora.

MS = matéria seca.

ND = não detectado.

Variedade	Equação	
Nantes	$Y = 1,8796 + 0,002519*x$	$R^2 = 0,66$
Brasília	$Y = 1,7975 + 0,003714*x$	$R^2 = 0,83$

\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,05$ ).

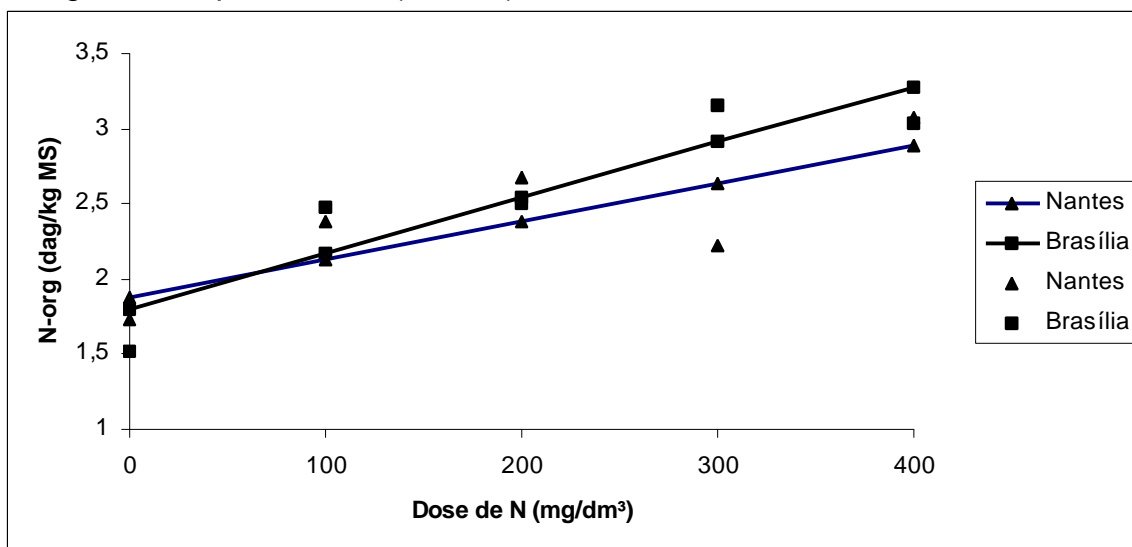


Figura 1 – Estimativa dos teores de nitrogênio orgânico (N-org) na parte aérea das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N.

Variedade	Equação	
Nantes	$Y = 0,00422 + 0,0001093*x$	$R^2 = 0,79$
Brasília	$Y = 0,1145 + 0,00098*x$	$R^2 = 0,71$

\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,05$ ).

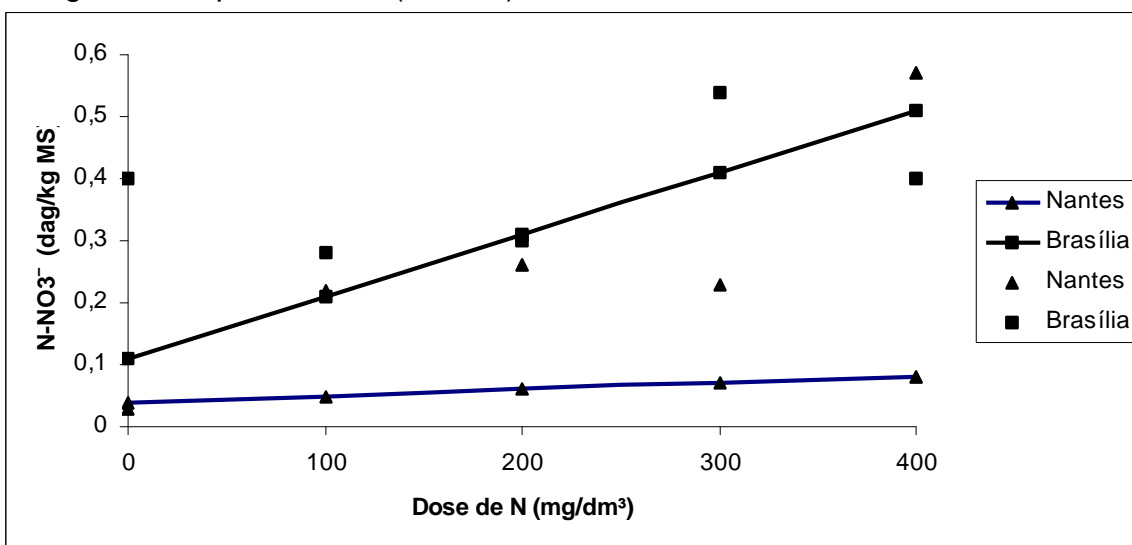


Figura 2 – Estimativa dos teores de nitrogênio como  $N-NO_3^-$  na parte aérea das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N.

Quadro 8 – Resultado do contraste entre as variedades Nantes e Brasília, quanto aos teores de nitrogênio orgânico (N-org) e nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) na parte aérea da cenoura, considerando-se o desdobramento das doses de N

Variedades	Doses N (mg/dm <sup>3</sup> )				
	0	100	200	300	400
N-org (dag/kg ms)					
Nantes	1,735 a	2,380 a	2,517 a	2,200 b	3,085 a
Brasília	1,527 a	2,471 a	2,502 a	3,164 a	3,038 a
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (dag/kg ms)					
Nantes	0,027 a	0,217 a	0,264 a	0,228 b	0,568 a
Brasília	0,037 a	0,280 a	0,298 a	0,540 a	0,397 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste F (P<0,05).

Quadro 9 – Resultado do contraste entre as variedades Nantes e Brasília, quanto aos teores de nitrogênio orgânico (N-org), nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), potássio, fósforo, cálcio, magnésio, enxofre, ferro, cobre, manganês e zinco na raiz da cenoura

Variedade	dag/kg MS							mg/kg MS			
	N-org	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	K	P	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Mn	Zn
Nantes	1,04a	0,03a	1,65a	0,33a	0,29a	0,13a	0,14a	134,8a	4,8a	83,4a	36,9a
Brasília	0,95a	0,04a	1,59a	0,27b	0,26b	0,10b	0,13a	143,0a	5,5a	78,7a	43,9a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste F (P<0,05).

Variedade	Equação	
	$Y = 0,91599 - 0,001229*x + 0,000005*x^2$	$R^2 = 0,96$

\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,05$ ).

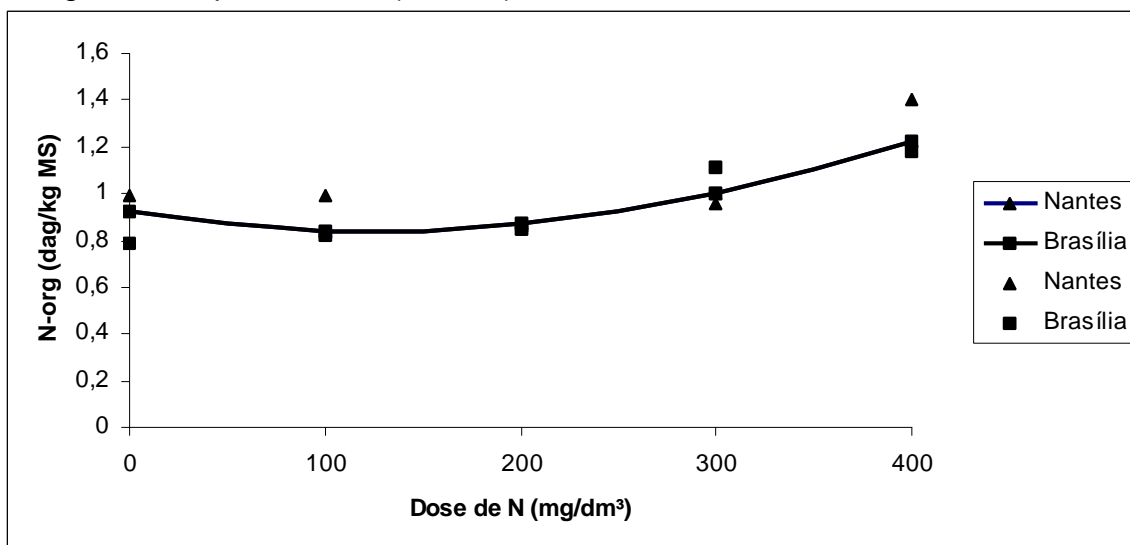


Figura 3 – Estimativa dos teores de nitrogênio orgânico (N-org) na raiz da cenoura, em função das doses de N.

Quadro 10 – Resultado do contraste entre as variedades Nantes e Brasília, quanto aos teores de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ferro, cobre, manganês e zinco na parte aérea da cenoura

Variedades	dag/kg MS								
	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Mn	Zn
Nantes	0,19a	2,69a	2,64a	0,51a	0,23a	670a	7,3b	10,1a	43,5a
Brasília	0,20a	2,43b	2,17b	0,45b	0,25a	719a	10,9a	86,5a	34,6a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste F ( $P < 0,05$ ).

Na raiz, em ambos os teores de N-org e  $N-NO_3^-$  o modelo de regressão que melhor se ajustou foi o quadrático (Figuras 3 e 4). Em N-org, o valor máximo de 0,84 dag/kg de matéria seca foi obtido na dose estimada de 122,9 mg/dm<sup>3</sup>, enquanto no  $N-NO_3^-$  o valor mínimo (0,028 dag/kg) de matéria seca foi obtido na dose estimada de 155 mg/dm<sup>3</sup>. O aumento dos teores de nitrato a partir dessa dose estimada sinalizou decréscimo na capacidade de

redução da raiz, possivelmente ocasionado pelo aumento da oferta de N, situação prevista por MARSCHNER (1995) e TAIZ e ZEIGER (1998).

A esse possível mecanismo de regulação de absorção pode-se acrescentar um mecanismo de transferência de nitrato para a parte aérea. De fato, no experimento se observou o aumento linear de  $\text{NO}_3^-$  na parte aérea (Figura 4).

Variedade	Equação	
	$Y = 0,03741 - 0,000124*x + 0,0000004*x^2$	$R^2 = 0,90$

\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,05$ ).

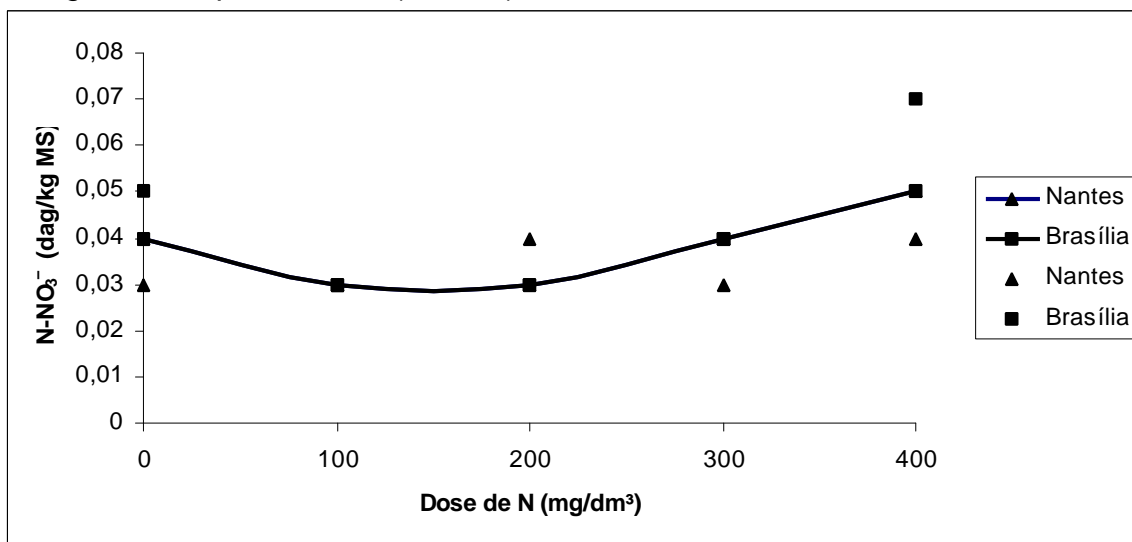


Figura 4 – Estimativa dos teores de nitrogênio como  $\text{N-NO}_3^-$  na raiz da cenoura, em função das doses de N.

É possível concluir que o teor de N na parte aérea acompanhou, positivamente, o incremento das doses de fertilizantes nitrogenados, enquanto que na raiz, a partir de doses estimadas bem próximas, o comportamento foi semelhante. A falta de mecanismo perceptível de regulação, ou de sua indicação, na parte aérea pode significar que o aporte de N ainda não tenha atingido nível prejudicial à planta. A cenoura é muito eficiente em utilizar o nitrogênio disponível no solo (WARNCKE, 1996), o que certamente contribuiu para a “insaturação” da cultura após as doses de N.

Na avaliação da atividade da enzima redutase do nitrato, embora não se tenha verificado, pela análise de variância, nenhuma diferença estatística entre os cultivares (Quadro 11), na parte aérea o valor médio foi de cerca de 23% maior em 'Nantes'. Em condições de inverno, com menor temperatura e intensidade luminosa, 'Nantes', por ser uma variedade adaptada a essa situação, pode ter sido favorecida. A variedade Brasília, adaptada ao cultivo de verão, necessitaria de maior temperatura para se desenvolver mais satisfatoriamente. A falta de condições climáticas mais adequadas certamente afetou a atividade da enzima redutase do nitrato, contribuindo para o acúmulo de nitrato.

Quadro 11 – Resultado do contraste entre as variedades Nantes e Brasília, quanto à atividade da enzima redutase do nitrato na raiz (ARNR) e parte aérea (ARNP) da cenoura

Variedades	ARNR	ARNP
	μmol NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /g MF/h	
Nantes	0,056a	1,619a
Brasília	0,062a	1,251a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste F (P<0,05).

MF = matéria fresca.

h = hora.

A atividade da enzima redutase do nitrato foi maior na parte aérea do que na raiz (Figuras 5 e 6). O processo de redução de N demanda muita energia da célula. Segundo TAIZ e ZEIGER (1998), isso talvez explique por que a redução ocorre principalmente nas células do mesófilo, onde a energia do sol é armazenada na fotossíntese. De acordo com MALAVOLTA et al. (1997), cerca de 20% da energia luminosa capturada na fotossíntese é utilizada na redução de nitrato a amônio.

Variedade	Equação	
	$Y = 0,00101 + 0,01219 \cdot vx - 0,000457 \cdot x$	$R^2 = 0,89$

\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,05$ ).

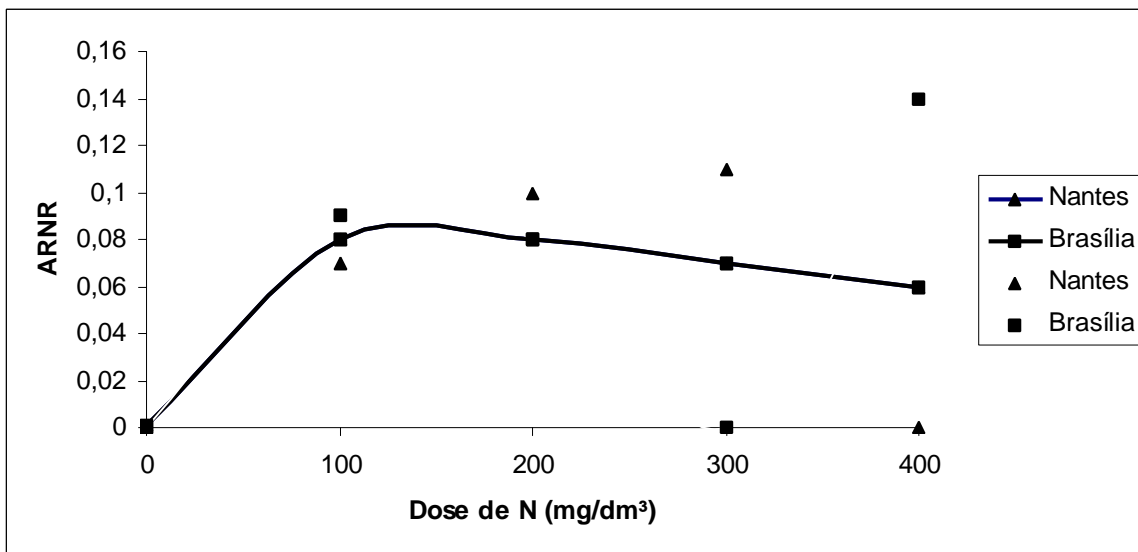


Figura 5 – Estimativa da atividade da enzima redutase do nitrato na raiz da cenoura (ARNP), em micromol de  $\text{NO}_2^-$  por grama de matéria fresca por hora, em função das doses de N.

Variedade	Equação	Domínio
	$Y = 0,772967 + 0,00331 \cdot x$	$R^2 = 0,65$

\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,05$ ).

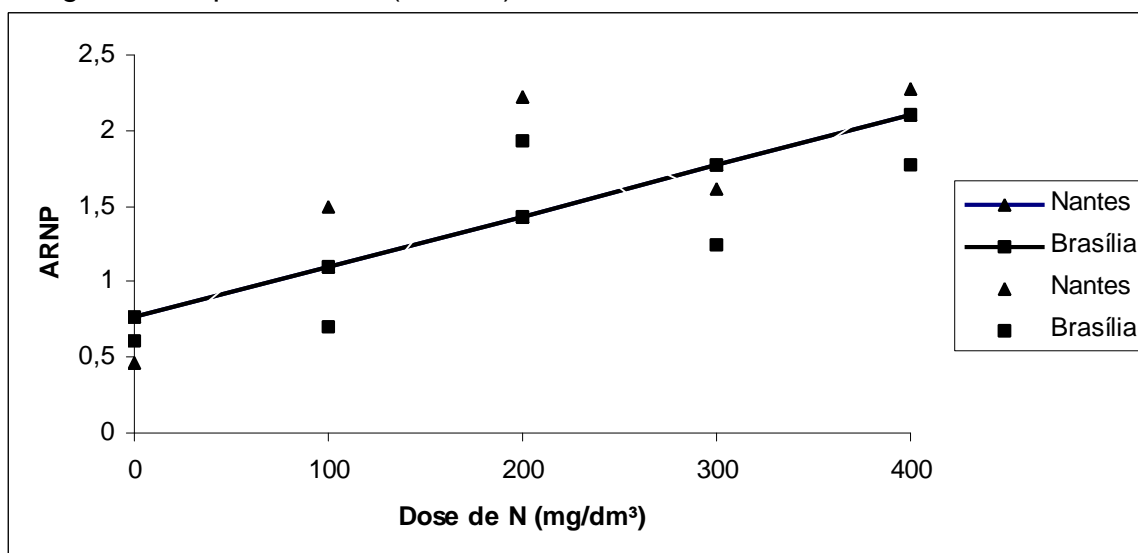


Figura 6 – Estimativa da atividade da enzima redutase do nitrato na parte aérea da cenoura (ARNR), em micromol de  $\text{NO}_2^-$  por grama de matéria fresca por hora, em função das doses de N.

Segundo KOLEK e KOZINKA (1992), a presença de nitrato em cada tecido pode indicar a distribuição da redutase do nitrato na raiz. Em cenoura, especificamente, a parte interna, ou cilindro central, da raiz apresenta teores de nitrato bem maiores que na parte externa (SCHARPF, 1991), sinalizando uma presença mais acentuada da redutase do nitrato nessa região.

Houve resposta linear positiva na atividade da redutase do nitrato na parte aérea, refletindo incremento na atuação com o aumento da disponibilidade de N (Figura 6).

Na raiz, observou-se comportamento raiz-quadrático, com o valor mínimo de atividade da redutase do nitrato alcançado na dose estimada de 3,65 mg/dm<sup>3</sup>. Esse fato é compreensível, levando-se em consideração que a redutase do nitrato é induzida pelo seu próprio substrato (SOUZA,1994). A partir da dose estimada de 177 mg/dm<sup>3</sup>, observa-se o decréscimo na atividade dessa enzima (Figura 6), o que ajudaria a explicar a concomitante elevação dos teores de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> na raiz, verificado a partir da dose estimada de 155 mg/dm<sup>3</sup>, valores bem próximos.

Quadro 12 – Equações de regressão dos teores de nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), nitrogênio orgânico (N-org), fósforo, potássio, cálcio e magnésio, em dag/kg de matéria seca, e de ferro, cobre, manganês e zinco, em mg/kg de matéria seca, na raiz da cenoura

Elementos	Variedades	Equações	R <sup>2</sup>
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=0,0374-0,00012*X+0,0000004*X^2$	0,90
N-org	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=0,916-0,00123*X+0,000005*X^2$	0,96
P	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=Y=0,2936$	
K	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=Y=1,595$	
Ca	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=Y=0,2541$	
Mg	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=Y=0,1264$	
S	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=0,1293+0,000038*X$	0,76
Fe	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=Y=132,43$	
Cu	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=5,786+0,4039**X-0,0278**X^2$	0,99
Mn	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=53,67+5,0687*vX+0,4483*X$	0,94
Zn	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=36,24+1,8241*vX+0,0911*X$	0,98

\* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t.

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste t.

Quadro 13 – Equações de regressão dos teores de nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), nitrogênio orgânico (N-org), fósforo, potássio, cálcio e magnésio, em dag/kg de matéria seca; e de ferro, cobre, manganês e zinco, em mg/kg de matéria seca, na parte aérea da cenoura

Elementos	Variedades	Equações	R <sup>2</sup>
N-org	Nantes	$\hat{Y} = 1,8796 + 0,00252 * X$	0,66
	Brasília	$\hat{Y} = 1,70975 + 0,00372 * X$	0,83
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nantes	$\hat{Y} = 0,0422 + 0,00109 * X$	0,79
	Brasília	$\hat{Y} = 0,1145 + 0,00098 * X$	0,71
P	Nantes e Brasília	$\hat{Y} = 0,1429 + 0,0025 * X$	0,67
K	Nantes e Brasília	$\hat{Y} = 2,786 - 0,0046 * X + 0,000012 * X^2$	0,78
Ca	Nantes e Brasília	$\hat{Y} = Y = 0,2201$	
MG	Nantes e Brasília	$\hat{Y} = 0,4481 + 0,00045 * X$	0,62
S	Nantes e Brasília	$\hat{Y} = Y = 0,2286$	
Fe	Nantes e Brasília	$\hat{Y} = 764,7 - 2,1684 * X + 0,00031 * X^2$	0,79
Cu	Nantes e Brasília	$\hat{Y} = 8,888 + 0,00105 * X$	0,60
Mn	Nantes e Brasília	$\hat{Y} = 176,77 - 0,4923 * X$	0,79
Zn	Nantes e Brasília	$\hat{Y} = 36,24 + 1,8241 * X + 0,0911 * X$	0,98

\* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t.

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste t.

Quadro 14 – Equações de regressão da atividade da enzima redutase do nitrato na raiz (ARNR) e parte aérea (ARNP) em μmol NO<sub>2</sub><sup>-</sup> por grama de matéria fresca por hora, das variedades Nantes e Brasília

Variedades	Equações	R <sup>2</sup>
ARNR	Nantes e Brasília $\hat{Y} = 0,001 + 0,0122 * X - 0,00046 * X$	0,89
ARNP	Nantes e Brasília $\hat{Y} = 0,77297 + 0,0033 * X$	0,65

\* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t.

De acordo com os resultados apresentados (Quadros 15 e 16), os teores de Cu, Zn e Mn nas duas variedades são considerados suficientes para a cultura, conforme JONES JUNIOR et al. (1991). Os teores de P em ambas as variedades são considerados baixos a suficientes, de acordo com esses mesmos autores (Figura 7), e os teores de Fe, considerados altos.

Quadro 15 – Teores de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ferro, manganês, cobre e zinco na raiz e parte aérea da variedade Nantes, em função das doses de N

Doses mg/dm <sup>3</sup>	Raiz								
	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Mn	Cu	Zn
	dag/kg MS					mg/kg MS			
0	0,322	1,688	0,278	0,144	0,127	67	43	6	34
100	0,344	1,874	0,297	0,139	0,127	185	50	7	42
200	0,288	1,420	0,270	0,107	0,146	177	62	6	43
300	0,331	1,585	0,304	0,121	0,150	100	91	4	40
400	0,383	1,709	0,289	0,136	0,152	143	168	2	23
Parte Aérea									
0	0,161	2,285	2,624	0,534	0,222	598	157	8	54
100	0,162	2,722	2,695	0,569	0,235	635	192	5	51
200	0,199	2,474	2,633	0,531	0,256	305	ND	7	72
300	0,163	2,494	3,040	0,652	0,236	738	ND	7	39
400	0,252	2,928	2,222	0,583	0,222	1076	ND	7	ND

Quadro 16 – Teores de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ferro manganês, cobre e zinco na raiz e parte aérea da variedade Brasília, em função das doses de N

Doses mg/dm <sup>3</sup>	Raiz								
	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Mn	Cu	Zn
	dag/kg MS					mg/kg MS			
0	0,234	1,482	0,229	0,102	0,136	134	63	6	38
100	0,261	1,585	0,258	0,108	0,132	136	56	7	47
200	0,247	1,358	0,275	0,099	0,124	216	55	6	45
300	0,265	1,544	0,251	0,097	0,141	53	129	4	39
400	0,334	2,019	0,267	0,099	0,134	174	88	4	49
Parte Aérea									
0	0,144	2,598	1,899	0,374	0,244	862	144	9	33
100	0,184	2,474	2,015	0,361	0,233	706	186	11	31
200	0,169	2,143	2,211	0,451	0,262	881	101	10	57
300	0,189	2,143	2,296	0,513	0,264	404	ND	11	26
400	0,297	2,804	2,444	0,517	0,235	740	ND	11	24

Variedade	Equação	
	$Y = 0,14287 + 0,000246 \cdot x$	$R^2 = 0,67$

\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,05$ ).

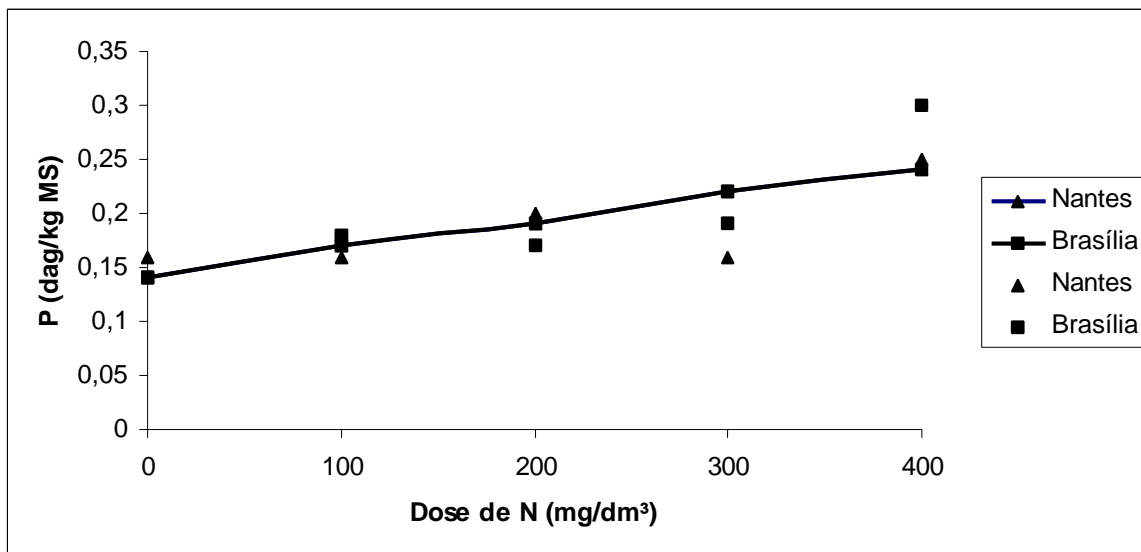


Figura 7 – Estimativa dos teores de fósforo na parte aérea da cenoura, em função das doses de N.

A absorção de ferro pode ter sido favorecida pela maior disponibilidade, facilitada pela falta de quelatos e complexos orgânicos. Esses elementos podem reter o Fe e, conseqüentemente, reduzir a sua oferta. O P, por sua vez, pode ter tido sua absorção diminuída pela maior presença de Fe (MALAVOLTA et al., 1997).

Na variedade Nantes, os teores de K, Ca e Mg foram estatisticamente maiores na parte aérea (Figuras 8 e 9), e os de P, Ca e Mg o foram na raiz, com relação à variedade Brasília.

A função osmorreguladora e o maior teor de potássio podem justificar, em parte, a menor presença de nitrato na variedade Nantes. Na planta de cenoura, os principais componentes osmoticamente ativos, segundo STEINGRÖVER (1983), são o potássio, os açúcares solúveis, os ácidos orgânicos e o nitrato. Assim, é viável a hipótese de que o  $\text{NO}_3^-$  tenha sua função osmótica e, conseqüentemente, seu teor minimizados pela maior presença de K.

Variedade	Equação	
	$Y = 2,786 - 0,0046*x + 0,000012*x^2$	$R^2 = 0,78$

\* Significativo pelo teste T (P<0,05).

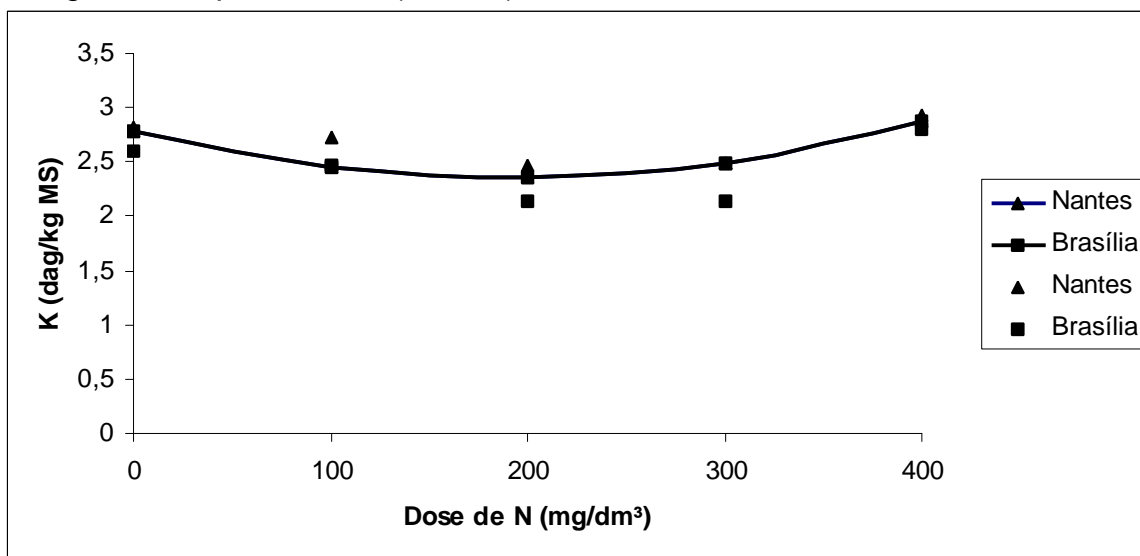


Figura 8 – Estimativa dos teores de potássio na parte aérea da cenoura, em função das doses de N.

Variedade	Equação	
	$Y = 0,4481 + 0,000448*x$	$R^2 = 0,62$

\* Significativo pelo teste T (P<0,05).

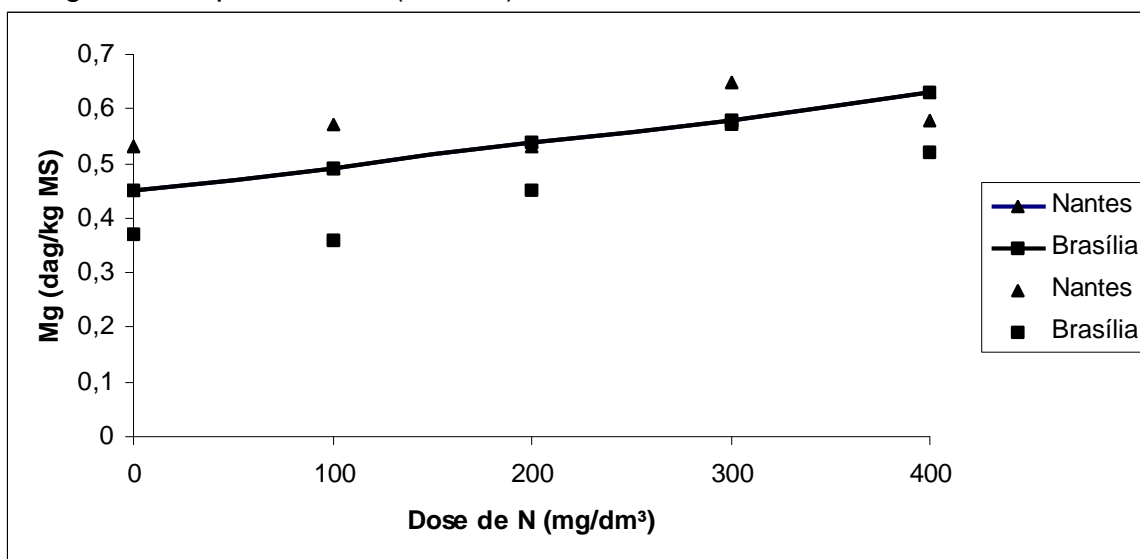


Figura 9 – Estimativa dos teores de magnésio na parte aérea da cenoura, em função das doses de N.

Os teores de K encontrados são considerados, segundo JONES JUNIOR et al. (1991), baixos a suficientes para 'Nantes' e baixos para 'Brasília'. Houve resposta quadrática dos teores de K na parte aérea, com ponto de mínimo obtido na dose estimada de 191,66 mg/dm<sup>3</sup> de N (Figura 9).

Quanto aos teores de Ca, foram considerados suficientes a altos em 'Brasília' e altos em 'Nantes' (JONES JUNIOR et al., 1991). De acordo com esses mesmos autores, os teores de Mg são considerados suficientes a altos em 'Nantes' e suficientes em 'Brasília' (Figura 9).

#### 4.1.2. Experimento de verão

A produção de massas fresca e seca da raiz e parte aérea das variedades Nantes e Brasília (Quadro 17) não se ajustaram aos modelos estatísticos testados. A variação na unidade experimental, decorrente da quantidade de amostra coletada, contribuiu para esse fato.

Quadro 17 – Massa fresca (MF) e massa seca (MS) da raiz e parte aérea em g/planta, das variedades de cenoura, em função das doses de N

Doses mg/dm <sup>3</sup>	Raiz				Parte Aérea			
	MF		MS		MF		MS	
	Nantes	Brasília	Nantes	Brasília	Nantes	Brasília	Nantes	Brasília
0	34,79	34,96	3,21	3,13	7,21	6,33	1,01	0,83
150	53,28	35,85	5,33	3,15	9,97	7,15	1,61	1,22
300	52,93	39,57	4,65	3,54	10,47	7,97	1,57	1,18
450	51,58	41,50	4,70	3,55	10,29	10,31	1,65	1,30

Quadro 18 – Teor de matéria seca da raiz (TMSR) e parte aérea (TMSP) das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N

Doses Mg/dm <sup>3</sup>	TMSR (%)		TMSP (%)	
	Nantes	Brasília	Nantes	Brasília
0	9,23	8,96	14,01	13,11
150	10,00	8,79	16,15	17,06
300	8,78	8,94	14,99	14,80
450	9,11	8,55	16,03	12,61

Ao contrário do observado no experimento de inverno, os teores de N-orgânico e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> na parte aérea (Figuras 10 e 11) não diferiram estatisticamente pela análise de variância, embora tenham sido maiores na variedade Brasília (Quadros 19, 20, 21, 22, 23 e 24).

Variedade	Equação	
	$Y = 1,3629 + 0,2121^{**}vx - 0,0045^{**}x$	R <sup>2</sup> = 0,99

\*\*Significativo pelo teste T (P<0,01).

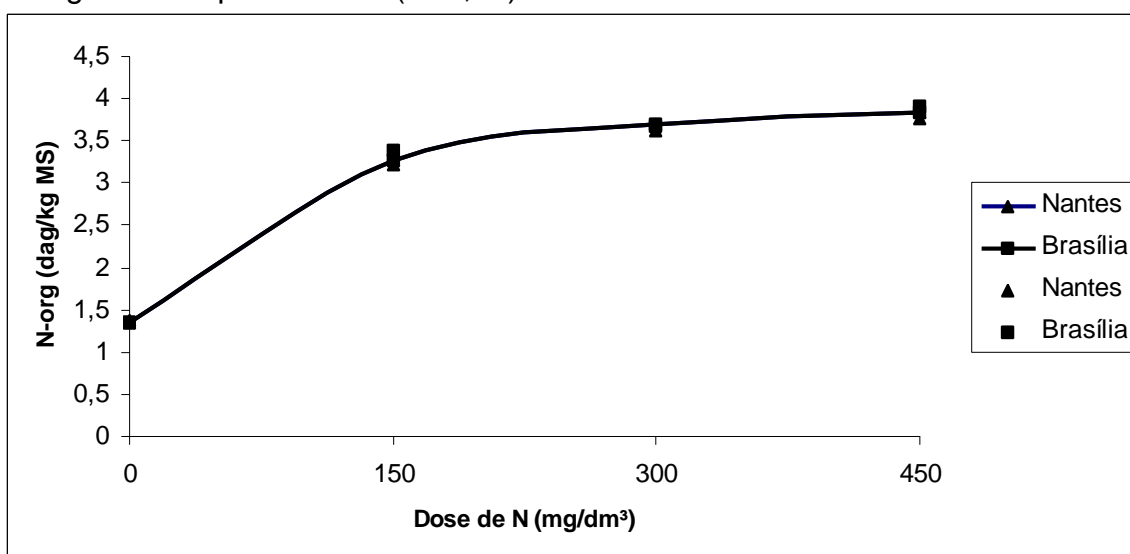


Figura 10 – Estimativa dos teores de nitrogênio orgânico (N-org) na parte aérea da cenoura, em função das doses de N.

Variedade	Equação	
	$Y = 0,0264 + 0,0027^{**}x - 0,000004^{**}x^2$	$R^2 = 0,99$

\*\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,01$ ).

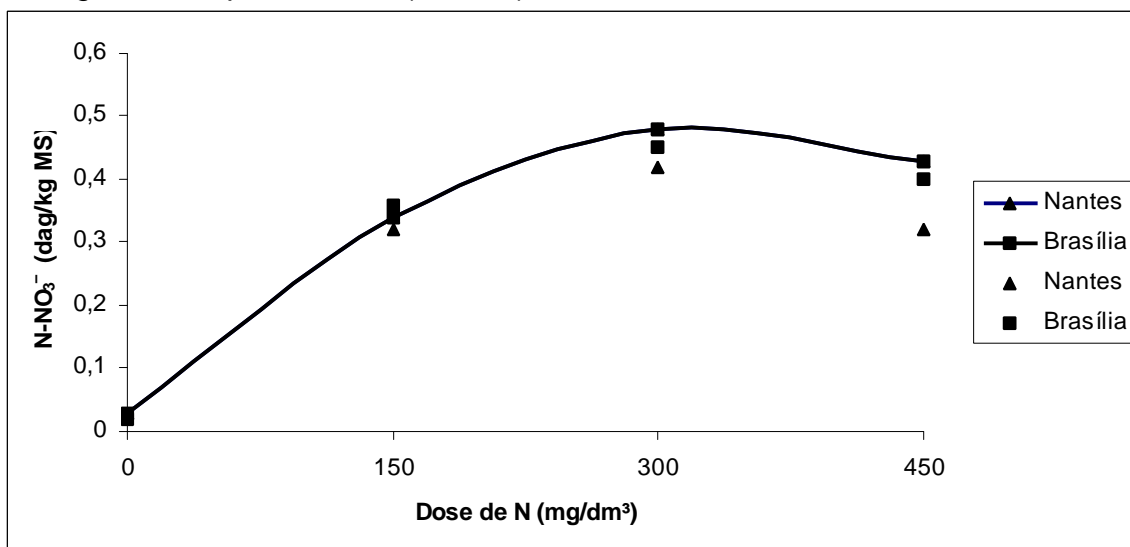


Figura 11 – Estimativa dos teores de nitrogênio como  $N-NO_3^-$  na parte aérea da cenoura, em função das doses de N.

Quadro 19 – Teores de nitrogênio orgânico (N-org), nitrato ( $N-NO_3^-$ ), açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR) e açúcares não-redutores (ANR) e avaliação da atividade da enzima redutase do nitrato (ARN) na raiz da variedade Nantes, em função das doses de N

Doses mg/dm³	N-org	$N-NO_3^-$	AST	ANR	AR	ARN
	dag/kg MS					
0	0,497	0,064	54,22	11,90	42,33	0,018
150	1,609	0,119	72,82	10,22	62,60	0,029
300	2,548	1,159	55,39	15,70	39,69	ND
450	2,366	0,242	61,25	16,31	44,94	0,162

MS = matéria seca.  
 MF = matéria fresca.  
 h = hora.  
 ND = não detectado.

Quadro 20 – Teores de nitrogênio orgânico (N-org) e nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e avaliação da atividade da enzima redutase do nitrato (ARN) na parte aérea da variedade Nantes, em função das doses de N

Doses (mg/dm <sup>3</sup> )	N-org	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	ARN
	dag/kg MS		μmol NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /g MF/h
0	1,370	0,031	0,459
150	3,219	0,317	1,193
300	3,319	0,416	1,143
450	3,768	0,318	0,767

Quadro 21 – Teores de nitrogênio orgânico (N-org), nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR) e açúcares não-redutores (ANR) e avaliação da atividade da enzima redutase do nitrato (ARN) na raiz da variedade Brasília, em função das doses de N

Doses mg/dm <sup>3</sup>	N-org	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	AST	AR	ANR	ARN
	dag/kg MS		mg/g MF			Umol NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /g MF/h
0	0,324	0,095	68,89	3,099	65,80	0,033
150	1,491	0,215	63,42	6,843	56,574	0,0002
300	1,628	0,309	66,69	6,416	60,276	0,161
450	2,458	0,269	67,09	3,719	63,376	0,085

MS = matéria seca.  
MF = matéria fresca.  
h = hora.

Quadro 22 – Teores de nitrogênio orgânico (N-org) e nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e avaliação da atividade da enzima redutase do nitrato (ARN) na parte aérea da variedade Brasília, em função das doses de N

Doses (mg/dm <sup>3</sup> )	N-org	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	ARN
	dag/kg MS		μmol NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /g MF/h
0	1,351	0,016	1,344
150	3,377	0,359	1,968
300	3,685	0,449	0,894
450	3,908	0,403	0,619

Quadro 23 – Resultado do contraste entre as variedades Nantes e Brasília, quanto aos teores de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, manganês, cobre e zinco na raiz da cenoura

Variedade	P	K	Ca	Mg	S	Mn	Cu	Zn
	dag/kg ms					mg/kg ms		
Nantes	0,290a	1,298a	0,265a	0,170a	0,150a	158,8a	9,71a	45,12a
Brasília	0,281a	1,028b	0,250a	0,129b	0,144a	109,4a	7,08b	47,25a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste F (P<0,05).

Quadro 24 – Resultado do contraste entre as variedades Nantes e Brasília, quanto aos teores de nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), nitrogênio orgânico (N-org), potássio, enxofre, ferro, manganês, cobre e zinco na parte aérea da cenoura

Variedade	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-org	K	S	Fe	Mn	Cu	Zn
	dag/kg ms				mg/kg ms			
Nantes	0,271a	2,994a	2,446a	0,250a	910,3a	659,2a	9,08a	75,62a
Brasília	0,307a	3,080a	1,959b	0,243a	1324,7a	964,7a	8,77a	64,12a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste F (P <0,05).

Para N-orgânico, o modelo raiz quadrático foi o que melhor se ajustou, com o ponto de mínima obtido na dose estimada de 4,86 mg/dm<sup>3</sup>.

Na raiz, os teores de nitrato, de acordo com o modelo de regressão obtido (Figura 13), mostraram-se maiores na variedade Brasília em relação a 'Nantes', corroborando resultados observados por TORRES (1999). Pela análise de variância, esse comportamento foi constatado nas doses de 150 e 300 mg/dm<sup>3</sup> de N (Quadro 25 e 26)

A hipótese para esse maior acúmulo de nitrato em variedades de verão é de que a enzima redutase do nitrato, bem como a atividade fotossintética, só atuaria em sua capacidade plena se as condições de temperatura e intensidade luminosa, entre outras, fossem altas, compatíveis com as

Quadro 25 – Resultado do contraste entre as variedades Nantes e Brasília, quanto aos teores de nitrogênio orgânico (N-org), nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), ferro, açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR) e açúcares não-redutores (ANR) da raiz e aos teores de fósforo, cálcio e magnésio na parte aérea, considerando-se o desdobramento das doses de N

Variedades	Doses de N (mg/dm <sup>3</sup> )			
	0	150	300	450
N-org (dag/kg MS)				
Nantes	0,497a	1,609a	2,548a	2,366a
Brasília	0,324a	1,491a	1,628b	2,458a
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (dag/kg Ms)				
Nantes	0,064a	0,119b	0,159b	0,242a
Brasília	0,095a	1,215a	0,309a	0,269a
Fe (mg/kg MS)				
Nantes	94,75a	60,25a	62,0a	51,0a
Brasília	47,00b	61,00a	90,0a	88,0a
AST (mg/g MF)				
Nantes	54,223b	72,822a	55,389b	61,252a
Brasília	68,889a	63,417b	66,692a	67,095a
AR (mg/g MF)				
Nantes	11,896a	10,224a	15,103a	16,31a
Brasília	3,099b	6,843b	6,416b	3,719b
ANR (mg/g MF)				
Nantes	42,327b	62,598a	39,687b	44,942b
Brasília	65,80a	56,574a	60,276a	63,376a
P (dag/kg MS)				
Nantes	0,344a	0,231b	0,225a	0,223a
Brasília	0,274b	0,314a	0,255a	0,233a
Ca (dag/kg MS)				
Nantes	1,940b	1,671a	1,899a	1,720b
Brasília	2,558a	1,757a	1,856a	2,098a
Mg(dag/kg MS)				
Nantes	0,392b	0,604a	0,632a	0,536a
Brasília	0,550a	0,534a	0,529b	0,593a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste F (P<0,05).

condições climáticas típicas do verão e, conseqüentemente, da variedade. Como se sabe, isso nem sempre ocorre, o que estimularia, entre outros, o acúmulo de nitrato. A importância da maior atividade fotossintética está na maior produção de carboidratos, que substituiriam, ainda que parcialmente, o nitrato em sua função osmótica.

Constatou-se aumento linear nos teores de N-org e N- NO<sub>3</sub><sup>-</sup> na raiz, à medida que se incrementaram as doses de N (Figuras 12 e 13). Não se evidenciou nenhum tipo de regulação na absorção e, ou, transferência de nitrato na raiz, talvez por causa do aporte insuficiente de N para promover esses mecanismos.

Variedade	Equação	
Nantes	$Y = 0,7732 + 0,0044*x$	$R^2 = 0,82$
Brasília	$Y = 0,4941 + 0,0044*x$	$R^2 = 0,92$

\* Significativo pelo teste T (P<0,05).

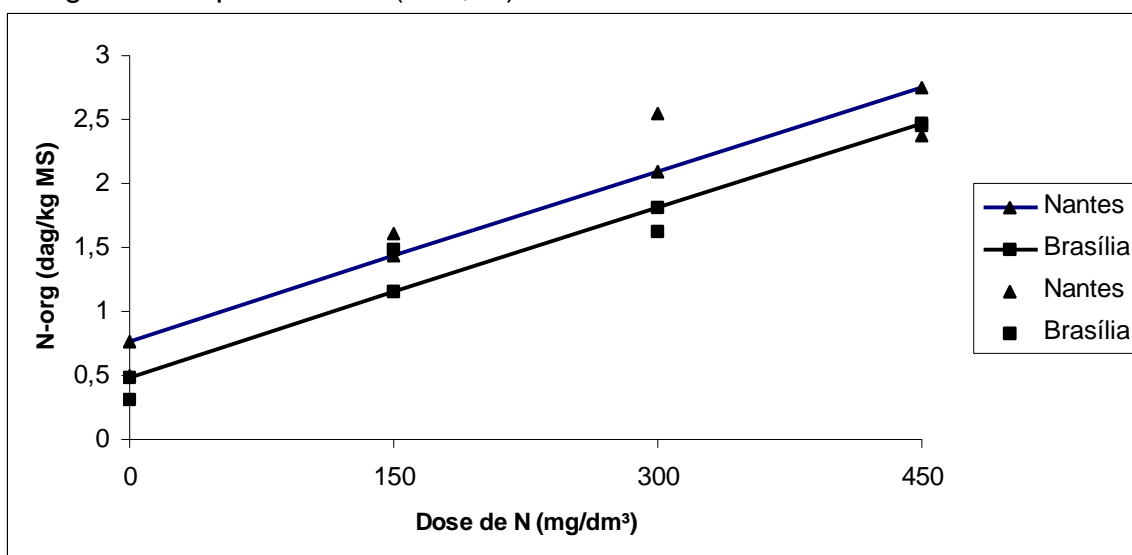


Figura 12 – Estimativa dos teores de nitrogênio orgânico (N-org) na raiz das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N.

Variedade	Equação	
Nantes	$Y = 0,0604 + 0,0004^{**}x$	$R^2 = 0,98$
Brasília	$Y = 0,13 + 0,0004^*x$	$R^2 = 0,73$

\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,05$ ).

\*\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,01$ ).

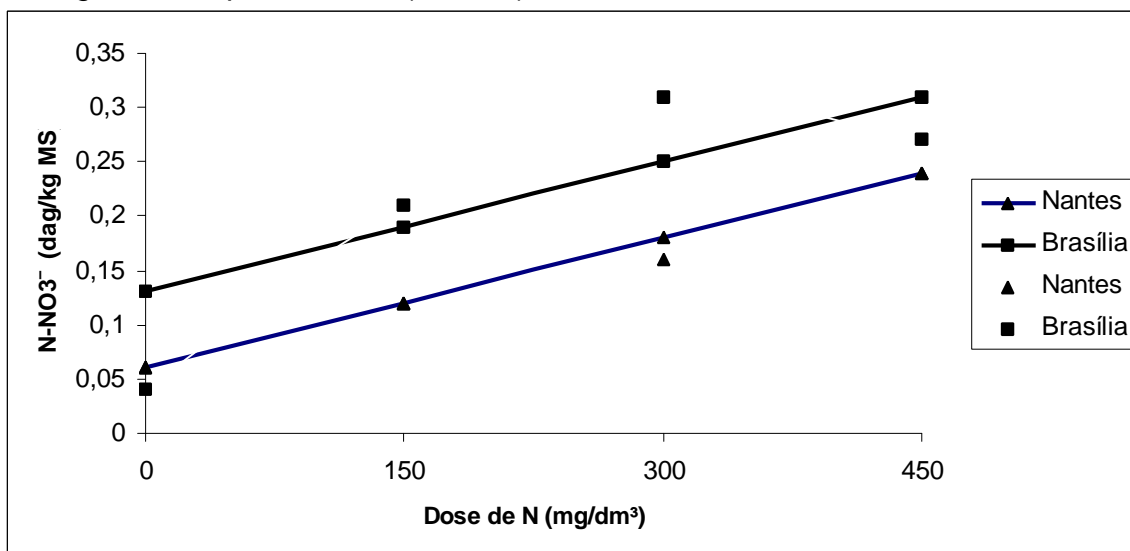


Figura 13 – Estimativa dos teores de nitrogênio como  $N-NO_3^-$  na raiz das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N.

O modelo que melhor se ajustou aos teores de nitrato na parte aérea, em ambas as variedades, foi o quadrático, sendo o valor máximo de 0,482 dag/kg de matéria seca obtido na dose estimada de 337,5 mg/dm<sup>3</sup> de N (Figura 11). Esse comportamento pode indicar que a planta tenha regulado a absorção e, ou, a transferência de nitrato na parte aérea.

Os teores de N foram maiores no experimento de verão, em comparação com o de inverno, possivelmente pelo pequeno aumento das doses e pela elevação da temperatura. O incremento dos processos que demandam açúcar (respiração e síntese de proteínas) advindos desse acréscimo de temperatura pode, simultaneamente, levar a menor quantidade de solutos orgânicos disponíveis para a regulação (ABROL, 1990). Com isso, mais nitrato pode permanecer disponível, substituindo esses solutos na osmorregulação, o que aumenta seus teores.

Na variedade Nantes houve, estatisticamente, maiores teores de K na parte aérea (como no experimento de inverno) e na raiz (Quadros 23 e 24). O modelo de regressão raiz quadrático, em ambas as variedades, foi o de melhor ajuste (Figura 14)

Variedade	Equação	
	$Y = 2,2746 - 0,035^{**}vx - 0,0017^{**}x$	$R^2 = 0,99$

\*\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,01$ ).

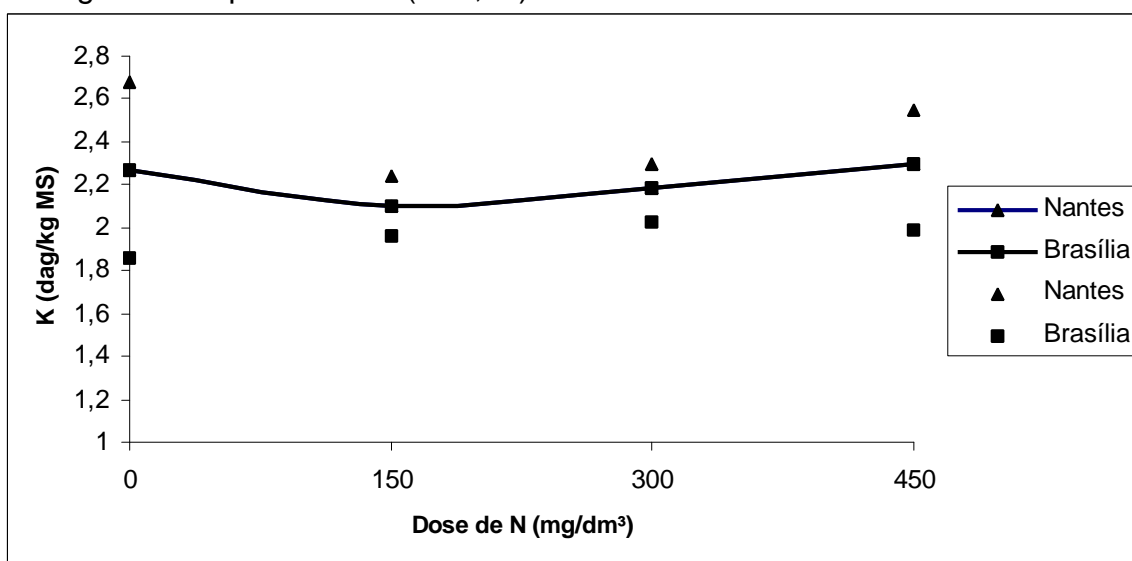


Figura 14 – Estimativa dos teores de potássio na parte aérea da cenoura, em função das doses de N.

O fato de 'Nantes' possuir maiores teores de K indica que esse elemento pode ter exercido funções osmóticas mais amplas na variedade, substituindo parcialmente o nitrato em seu eventual papel osmótico e, conseqüentemente, diminuindo seu teor. O K, segundo KOLEK e KOZINKA (1992), é a principal substância osmoticamente ativa nas plantas, sendo, na planta de cenoura, essa função também notória (STEINGRÖVER, 1983).

Os teores de P, Zn e Cu em ambas as variedades, assim como de Ca em 'Nantes' e de Mg em 'Brasília', são considerados suficientes (JONES JUNIOR et al., 1991). Já os teores de Fe e Mn nas duas variedades e de Ca

em 'Brasília' e de Mg em 'Nantes', segundo esses mesmos autores, são considerados altos (Quadros 26 e 27 e Figuras 15 e 16).

Quadro 26 – Teores de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ferro, manganês, cobre e zinco na raiz e parte aérea da variedade Nantes, em função das doses de N

Doses mg/dm <sup>3</sup>	Raiz					Fe	Mn	Cu	Zn
	P	K	Ca	Mg	S				
	dag/kg MS					mg/kg MS			
0	0,284	1,430	0,287	0,183	0,142	94	81	7	33
150	0,298	1,166	0,233	0,192	0,148	60	165	7	69
300	0,314	1,383	0,281	0,169	0,163	62	217	7	19
450	0,254	1,213	0,260	0,136	0,145	51	172	7	59
Parte Aérea									
0	0,344	2,685	1,940	0,392	0,242	918	784	8	37
150	0,231	2,236	1,671	0,604	0,212	1631	912	9	43
300	0,226	2,298	1,899	0,632	0,279	607	613	9	105
450	0,224	2,546	1,721	0,536	0,265	485	326	9	117

Quadro 27 – Teores de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ferro, manganês, cobre e zinco na raiz e parte aérea da variedade Brasília, em função das doses de N

Doses mg/dm <sup>3</sup>	Raiz					Fe	Mn	Cu	Zn
	P	K	Ca	Mg	S				
	dag/kg MS					mg/kg MS			
0	0,250	1,104	0,287	0,146	0,144	47	63	9	32
150	0,326	0,965	0,244	0,198	0,138	61	121	10	66
300	0,281	1,042	0,238	0,126	0,143	90	128	10	38
450	0,261	0,949	0,229	0,069	0,153	88	127	10	53
Parte Aérea									
0	0,274	1,864	2,568	0,551	0,230	2206	1020	7	68
150	0,314	1,957	1,757	0,534	0,224	947	842	10	38
300	0,255	2,034	1,856	0,529	0,255	713	935	9	65
450	0,233	1,989	2,098	0,593	0,264	1433	1060	10	78

Variedade	Equação	
Nantes	$Y = 0,3434 + 0,0137*vx + 0,0004*x$	$R^2 = 0,99$
Brasília	$Y = 0,2749 + 0,0088*vx + 0,0005*x$	$R^2 = 0,89$

\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,05$ ).

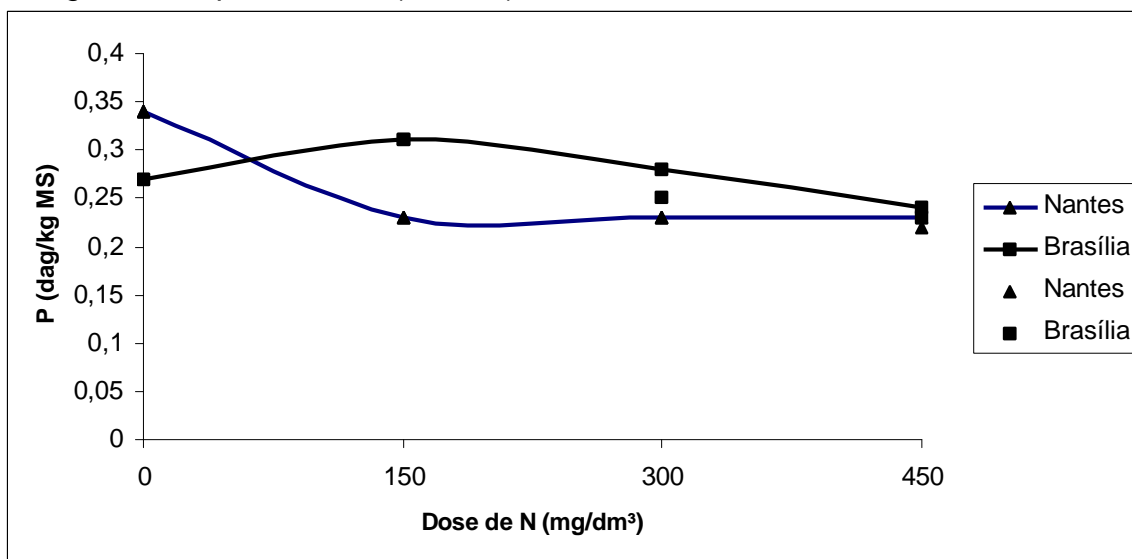


Figura 15 – Estimativa dos teores de fósforo na parte aérea das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N.

Variedade	Equação	
Nantes	$Y = Y' = 1,8724$	
Brasília	$Y = 2,5576 + 0,125*vx + 0,0049*x$	$R^2 = 0,99$

\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,05$ ).

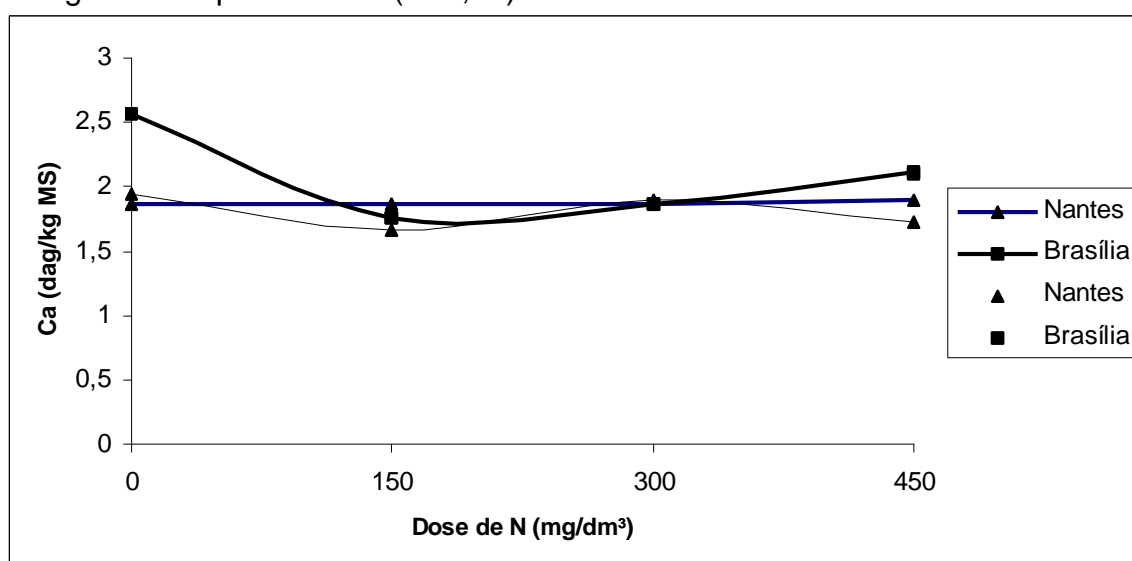


Figura 16 – Estimativa dos teores de cálcio na parte aérea das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N.

Na variedade Nantes, notou-se que, de maneira geral, os teores de Mg foram maiores que em Brasília (Figura 17). Esse acréscimo de magnésio pode ter beneficiado a variedade Nantes em acumular mais açúcares redutores (glicose e frutose). Em todas as doses, os teores desses açúcares foram significativamente maiores em 'Nantes' que na variedade Brasília (Quadro 25).

Segundo MALAVOLTA et al. (1997), quase todas as enzimas fosforilativas, que formam uma ponte entre o ATP/ADP e a molécula da enzima, dependem da presença de Mg. A transferência de energia desses dois compostos é fundamental, entre outros, assim como as reações de síntese de compostos orgânicos (carboidratos, lipídios e proteínas).

Variedade	Equação	
Nantes	$Y = 0,3897 + 0,0344 \cdot vx - 0,0013 \cdot x$	$R^2 = 0,97$
Brasília	$Y = 2,5576 + 0,125 \cdot vx + 0,0049 \cdot x$	

\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,05$ ).

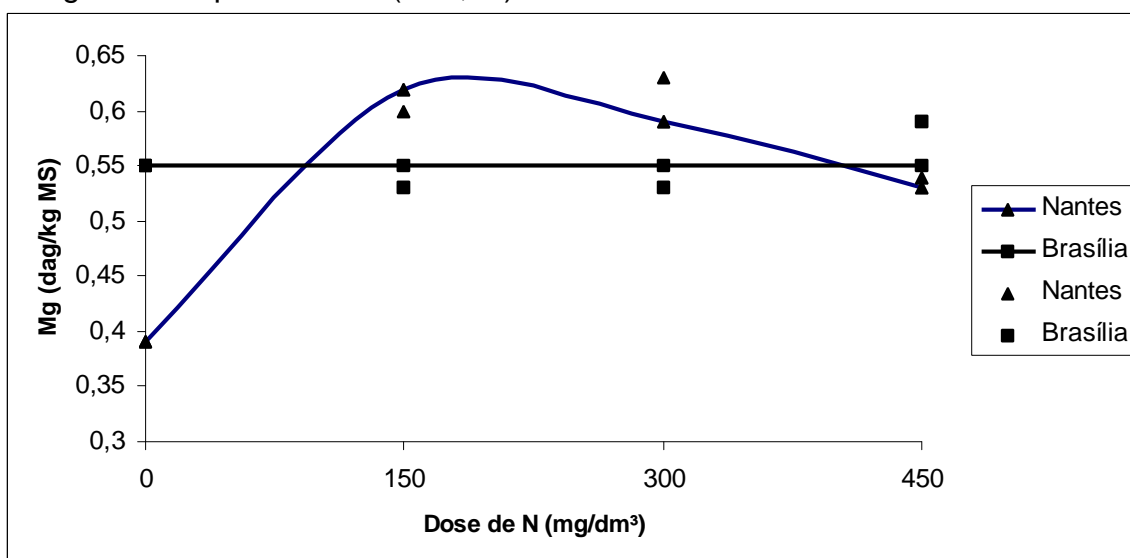


Figura 17 – Estimativa dos teores de magnésio na parte aérea das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N.

Quadro 28 – Equações de regressão de teores de nitrogênio orgânico (N-org), nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, em dag/kg de matéria seca, e de ferro, cobre, manganês e zinco, em mg/kg de matéria seca, na raiz da cenoura

Elemento	Variedades	Equações	R <sup>2</sup>
N-org	Nantes	$\hat{Y}=0,7732+0,0044*X$	0,82
	Brasília	$\hat{Y}=0,4941+0,0044*X$	0,92
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nantes	$\hat{Y}=0,0604+0,0004**X$	0,98
	Brasília	$\hat{Y}=0,13+0,0004**X$	0,73
P	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=0,2729+0,0004*X-0,0000009*X^2$	0,99
K	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=Y= 1,2596$	
Ca	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=Y= 0,2768$	
Mg	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=0,1642+0,0079** \vee X-0,0005**X$	0,99
S	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=Y= 0,1430$	
Fe	Nantes	$\hat{Y}= 86,425-0,08633*X$	0,76
	Brasília	$\hat{Y}= 48,70+0,10133*X$	0,87
Cu	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=8,033+117,525/X$	0,89
Mn	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=71,425+0,6403**X-0,001033$	0,99

\* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t.

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste t.

Quadro 29 – Equações de regressão de teores de nitrogênio orgânico (N-org), nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, em dag/kg de matéria seca, e de ferro, cobre, manganês e zinco, em mg/kg de matéria seca, na parte aérea da cenoura

Elemento	Variedades	Equações	R <sup>2</sup>
N-org	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=1,3629+0,2121^{**}vX-0,005^{**}X$	0,99
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=0,0264+0,0027^{**}X-0,000004^{**}X^2$	0,99
P	Nantes	$\hat{Y}=0,3434-0,0137*vX-0,0004*X^2$	0,99
	Brasília	$\hat{Y}=0,2749+0,0088*vX-0,0005*X$	0,99
K	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=2,2746-0,0350^{**}vX+0,0017^{**}X$	0,99
Ca	Nantes	$\hat{Y}=Y= 1,8724$	0,99
	Brasília	$\hat{Y}=2,5576-0,125*vX+0049*X$	
Mg	Nantes	$\hat{Y}=0,3897+0,00344* v x-0,0013*X$	0,97
	Brasília	$\hat{Y}=Y= 1,5534$	
S	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=Y= 0,2265$	
Fe	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=Y= 1483,24$	
Cu	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=Y= 7.959$	
Mn	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=921,525-0,4869^{**}X$	0,95
Zn	Nantes e Brasília	$\hat{Y}=43,55+0,117*X$	0,78

\* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t.

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste t.

Quadro 30 – Equações de regressão de teores de açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR) e açúcares não-redutores (ANR) na raiz em mg/g de matéria fresca, e de valores da atividade da enzima redutase do nitrato na raiz (ARNR) e parte aérea (ARNP) da cenoura, em  $\mu\text{mol}$  do  $\text{NO}_2^-$  por grama de matéria fresca por hora

	Variedades	Equações	R <sup>2</sup>
AST	Nantes	$\hat{Y} = 52,7862 + 2662,51 * X$	0,76
	Brasília	$\hat{Y} = 69,0214 - 816,768 ** / X$	0,99
AR	Nantes	$\hat{Y} = Y = 10,7250$	0,97
	Brasília	$\hat{Y} = 3,0644 + 0,7285 * v X - 0,0324 * X$	
ANR	Nantes	$\hat{Y} = 38,1103 + 3036,49 * X$	0,66
	Brasília	$\hat{Y} = 65,8399 - 1418,28 ** / X$	0,99
ARNR	Nantes e Brasília	$\hat{Y} = 0,0248 - 0,0074 * v X + 0,0006 * X$	0,98
ARNP	Nantes e Brasília	$\hat{Y} = 0,9113 + 0,1321 * v X - 0,0068 * X$	0,94

A atividade da redutase do nitrato não diferiu significativamente entre as variedades, seja na raiz, seja na parte aérea (Quadro 32). Apesar disso, verificaram-se, em algumas doses, maiores teores de  $\text{NO}_3^-$  na 'Brasília', indicando que, além da atividade da redutase do nitrato, existem outros fatores que atuam no acúmulo do nitrato, como diferenças na capacidade fotossintética (BLOM-ZANDSTRA e EENINK, 1986). Essa diferença pode levar à síntese, em níveis distintos, de carboidratos, o que, por sua vez, provocaria o acúmulo diferenciado do nitrato atuante na osmorregulação, ou seja, maiores níveis de carboidratos, menores níveis de nitrato.

Houve redução na atividade da redutase do nitrato, comparando-se ao experimento de inverno, provavelmente pelas condições climáticas desfavoráveis (Figuras 19 e 20). Essa redução pode ter colaborado para o aumento dos teores de nitrato no experimento de verão.

Quadro 31 – Resultado do contraste entre as variedades Nantes e Brasília, quanto à atividade da enzima redutase do nitrato na raiz (ARNR) e parte aérea (ARNP) da cenoura

Variedades	ARN	ARNP
	$\mu\text{mol NO}_2^-/\text{g MF/h}$	
Nantes	0,052a	0,890a
Brasília	0,070a	1,206a

Média seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste F ( $P < 0,05$ ).

Variedade	Equação	
	$Y = 0,0248 - 0,014 * vx - 0,0006 * x$	$R^2 = 0,98$

\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,05$ ).

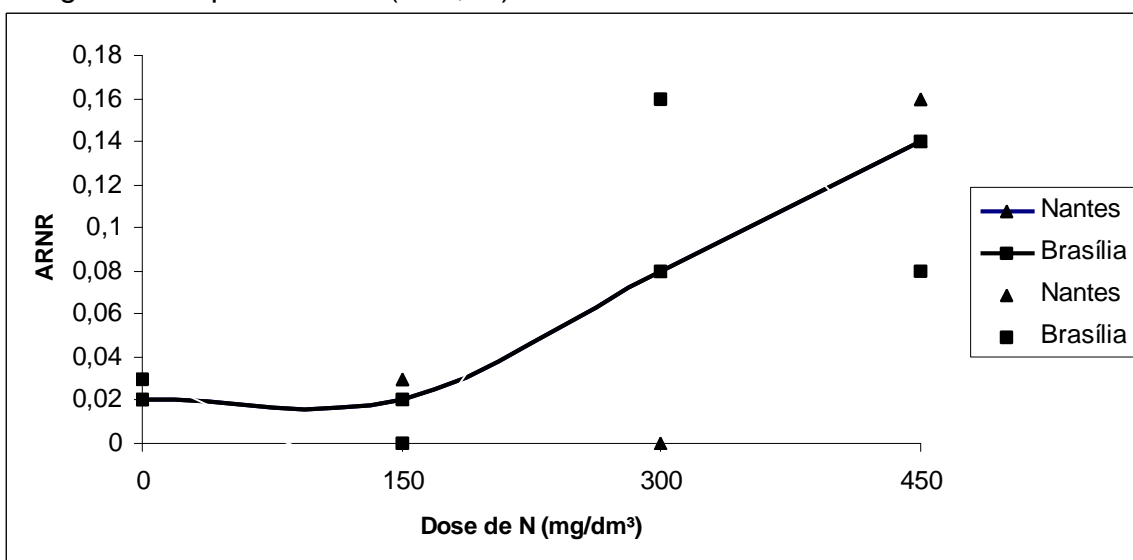


Figura 18 – Estimativa da atividade da enzima redutase do nitrato na raiz da cenoura (ARNR), em micromol de  $\text{NO}_2^-$  por grama de matéria fresca por hora, em função das doses de N.

Variedade	Equação	
	$Y = 0,9113 - 0,1321 \cdot vx - 0,0068 \cdot x$	$R^2 = 0,94$

\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,05$ ).

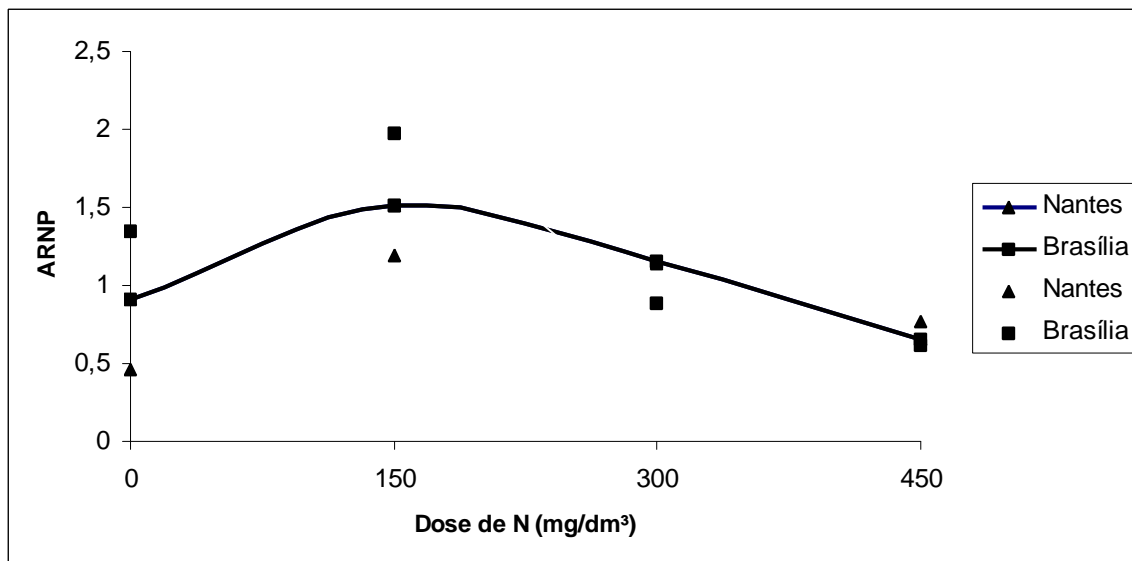


Figura 19 – Estimativa da atividade da enzima redutase do nitrato na parte aérea da cenoura (ARNP), em micromol de  $\text{NO}_2^-$  por grama de matéria fresca por hora, em função das doses de N.

Os açúcares são componentes osmoticamente ativos em cenoura, ressaltando-se que sua participação no potencial osmótico desta planta aumenta, gradualmente, com o tempo (STEINGROVER, 1983).

Os teores de açúcares totais encontrados na raiz (Quadros 21 e 22) são semelhantes aos estimados nessa espécie por FREEMAN e SIMON (1983), de 44 a 78 mg/g de MF. Os mesmos autores estimaram que a glicose, frutose e sacarose constituem 95% dos açúcares livres em cenoura. Para EVERS (1989), esses açúcares perfazem 91% do total em cenoura, sendo a sacarose o açúcar mais abundante. ROSENFELD et al. (1998) também estimaram que a glicose e a frutose perfazem 25 a 50% do açúcar total em cenoura, afirmando que o conteúdo de sacarose é maior quando as condições de fotossíntese são favoráveis.

Na variedade Nantes, os teores de açúcares redutores foram maiores, estatisticamente, em todas as doses de N estudadas (Quadro 25 e Figura 20). Esse fato pode estar relacionado com o menor teor de nitrato nessa variedade,

Variedade	Equação	
Nantes	$Y = Y' = 10,725$	
Brasília	$Y = 3,0644 + 0,7285 \cdot vx + 0,0324 \cdot x$	$R^2 = 0,97$

\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,05$ ).

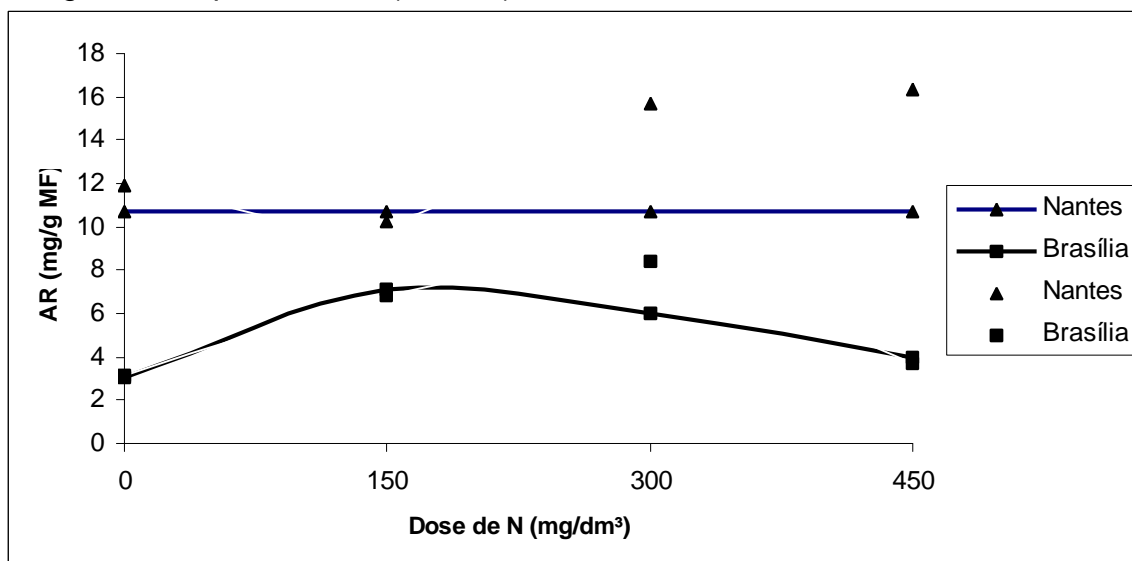


Figura 20 – Estimativa de teores de açúcares redutores na raiz (AR) das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N.

já que o nitrato pode estar sendo substituído pela glicose e frutose em sua função osmótica. Devido a esse fato, BLOM-ZANDSTRA e LAMPE (1985) constataram relação inversa entre a concentração de  $\text{NO}_3^-$  e o acúmulo de açúcares e ácidos orgânicos.

Na variedade Brasília, na maioria das doses houve maiores teores de açúcares solúveis totais e não-redutores (Quadro 25 e Figuras 21 e 22).

A presença de altas concentrações de açúcar redutor na raiz de cenoura pode ser devida ao aumento da quantidade ou da atividade da enzima envolvida na hidrólise de açúcar, no caso da invertase, ou à redução da atividade de uma enzima inibidora (FREEMAN e SIMON, 1983).

Segundo LESTER et al. (1982), de maneira geral, cultivares com alta concentração de açúcar livre diferem de cultivares com baixo acúmulo pela maior longevidade de seu ciclo, o que resultaria no prolongamento da atividade fotossintética e, conseqüentemente, no maior acúmulo de açúcar.

Variedade	Equação	
Nantes	$Y = 52,7862 + 2662,5^*/x$	$R^2 = 0,76$
Brasília	$Y = 6930214 - 816,768^{**}/x$	$R^2 = 0,99$

\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,05$ ).

\*\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,01$ ).

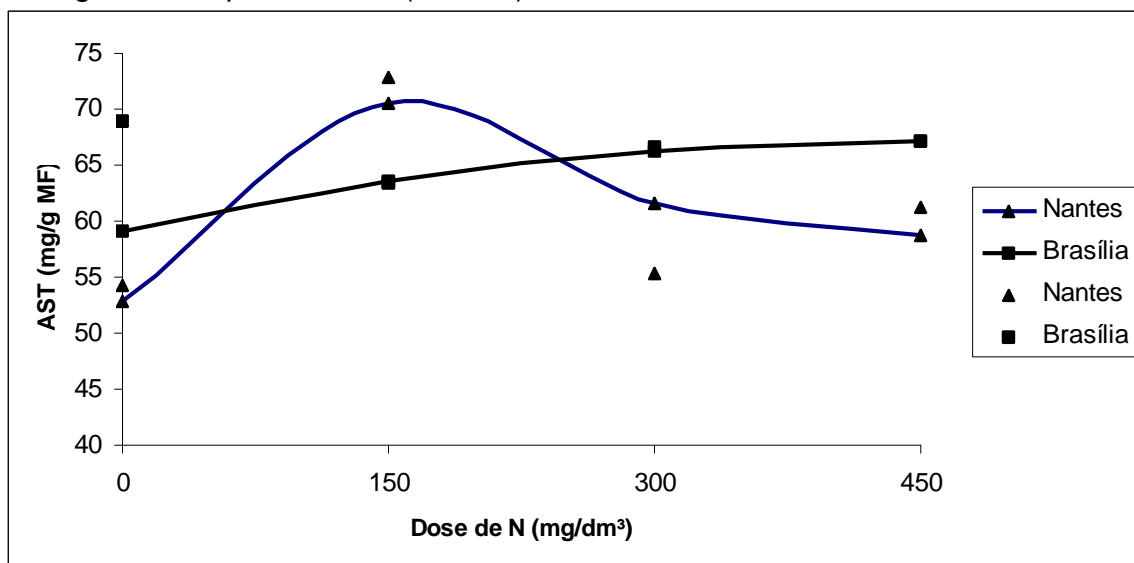


Figura 21 – Estimativa de teores de açúcares solúveis totais na raiz (AST) das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N.

Variedade	Equação	
Nantes	$Y = 38,1103 + 3036,49^*/x$	$R^2 = 0,66$
Brasília	$Y = 65,8399 + 1418,28^{**}/x$	$R^2 = 0,97$

\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,05$ ).

\*\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,01$ ).

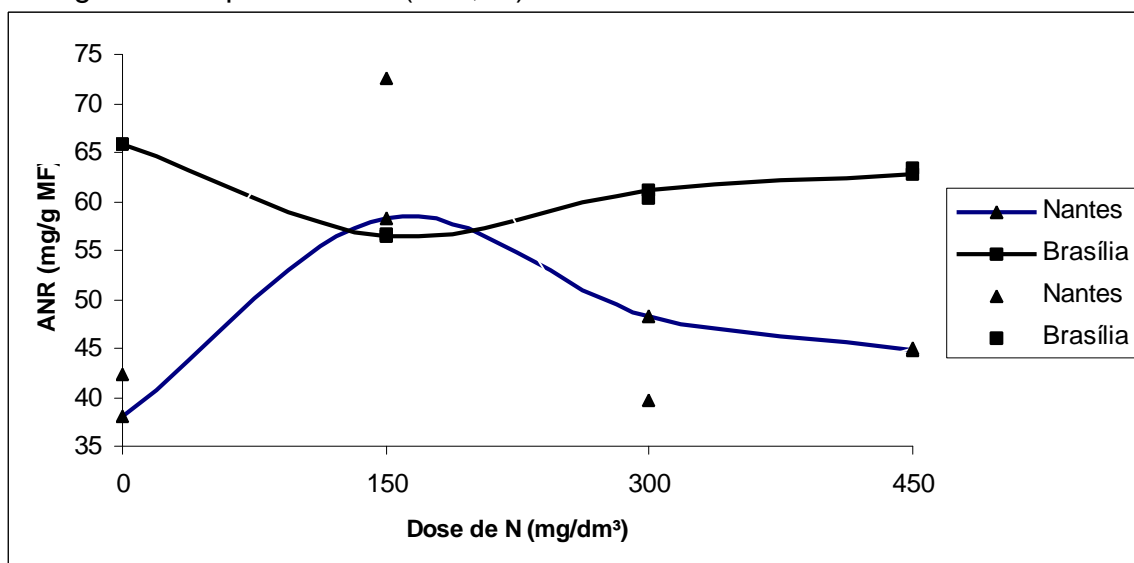


Figura 22 – Estimativa de teores de açúcares não-redutores na raiz (ANR) das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N.

## 4.2. Experimento de campo

Na produção de massa fresca de raiz das variedades Nantes e Brasília (Quadro 32), ajustou-se o modelo raiz quadrático (Figura 23), em que se notou, de maneira geral, o acréscimo de produção à medida que se aumenta a dose de N. Não se ajustou o modelo estatístico à produção de massa seca de raiz.

No comprimento da raiz, em ambas as variedades, o modelo estatístico que melhor se ajustou também foi o raiz quadrático, com o valor máximo de 15,2 cm, obtido na dose estimada de 76,64 kg/ha de N (Figura 24).

Os teores de nitrogênio orgânico não diferiram entre as variedades (Quadros 34 e 35) e foram menores aos valores encontrados por PAULA (1997). Na raiz, o modelo quadrático foi o que melhor se ajustou com a dose mínima estimada em 9,51 kg/ha de N (Figura 25). O aumento no teor de N orgânico compatibilizou-se com o incremento nas doses de N.

Quadro 32 – Massa fresca (MF) e massa seca (MS), em g/planta, e comprimento (CR), em cm/planta, da raiz da cenoura das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N

Doses kg/ha	MF		MS		CR	
	Nantes	Brasília	Nantes	Brasília	Nantes	Brasília
0	74,37	59,58	8,88	6,23	13,80	12,10
15	93,33	85,21	9,63	8,96	14,60	14,80
30	91,46	94,06	9,01	10,10	14,30	16,10
45	100,31	92,91	11,13	9,85	14,80	15,60
60	97,98	85,52	10,01	8,98	14,30	14,80
90	115,83	95,00	12,06	10,22	15,00	14,90
120	107,08	99,79	10,99	10,71	15,20	15,50

Variedade	Equação	
	$Y = 67,9286 - 5,5915^{**}vx - 0,21291*x$	$R^2 = 0,99$

\* Significativo pelo teste T (P<0,05).

\*\* Significativo pelo teste T (P<0,01).

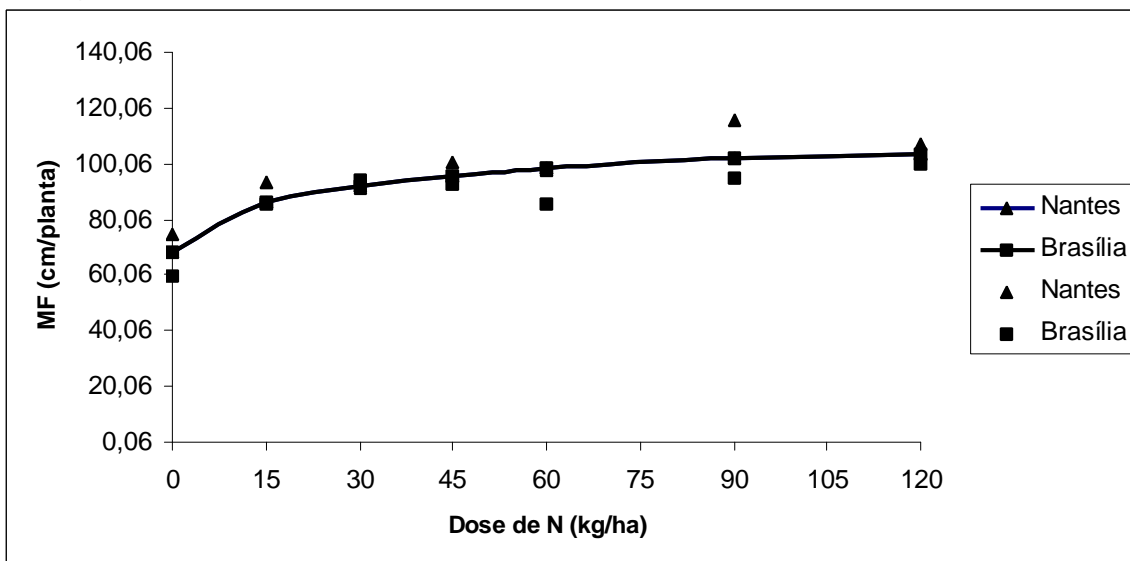


Figura 23 – Estimativa dos teores de massa fresca da raiz (MFR) das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N.

Variedade	Equação	
	$Y = 13,0798 + 0,48534*vx - 0,02772*x$	$R^2 = 0,83$

\* Significativo pelo teste T (P<0,05).

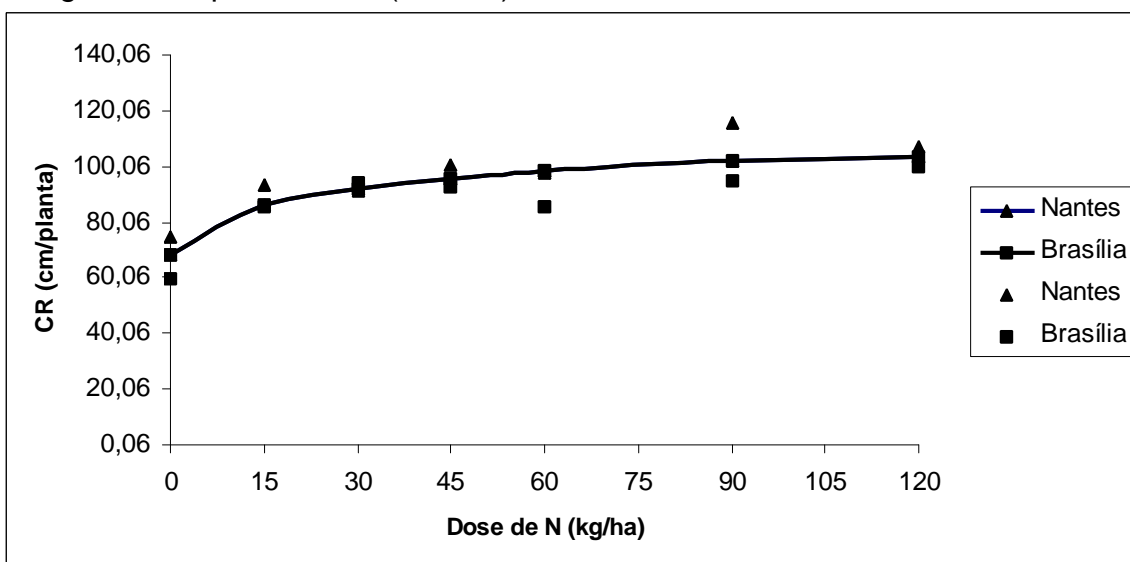


Figura 24 – Estimativa do comprimento da raiz (CR) das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N.

Quadro 33 – Resultado do contraste entre as variedades Nantes e Brasília, quanto aos teores de nitrogênio orgânico (N-org), fósforo, potássio, cálcio e magnésio, em dag/kg de matéria seca, massa fresca (MF) e massa seca (MS), em g/planta, e ao comprimento (CR), em cm/planta, da raiz da cenoura

Variedade	N-org	P	K	Ca	Mg	MF	MS	CR
Nantes	0,915a	0,329a	3,791a	0,361a	0,170a	97,18a	10,25a	14,60a
Brasília	0,867a	0,319a	3,916a	0,360a	0,164a	87,47b	9,29a	14,80a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste F (P<0,05).

Quadro 34 – Resultado do contraste entre as variedades Nantes e Brasília, quanto aos teores de nitrogênio orgânico (N-org), fósforo, potássio, cálcio e magnésio, em dag/kg de matéria seca, e à atividade da enzima redutase do nitrato (ARN), em  $\mu\text{mol}$  de  $\text{NO}_2^-$  por grama de matéria fresca por hora, na parte aérea da cenoura

Variedade	N-org	P	K	Ca	Mg	ARN
Nantes	1,342a	0,263a	3,936a	0,701a	0,404a	0,095a
Brasília	1,317a	0,271a	3,874a	0,669a	0,370a	0,119a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste F (P<0,05).

Variedade	Equação	
	$Y = 0,70152 - 0,001122*x + 0,000059**x^2$	$R^2 = 0,98$

\* Significativo pelo teste T (P<0,05).

\*\* Significativo pelo teste T (P<0,01).

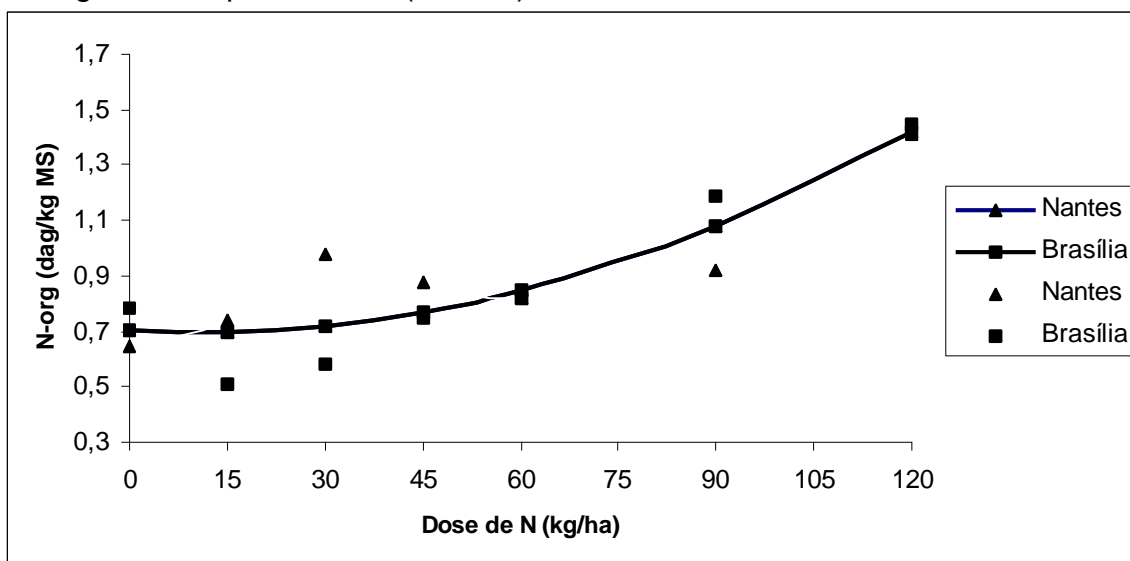


Figura 25 – Estimativa dos teores de nitrogênio orgânico (N-org) na raiz da cenoura, em função das doses de N.

Os teores de nitrato na parte aérea (Quadros 35 e 36) ficaram abaixo daqueles encontrados nos experimentos em casa de vegetação. Em experimentos com vasos, o N encontra-se em ambiente fechado, tendo as raízes uma disponibilidade maior desse elemento. Em campo, as raízes tiveram acesso a teores mais restritos de N, elemento de alta mobilidade no solo e que, num sistema aberto, rapidamente se move para locais mais distantes da raiz.

Na variedade Brasília, porém, houve queda nos teores estimados de  $\text{NO}_3^-$  (Figura 26 e Quadro 38) entre as doses de 45 e 60 kg/ha de N, evidenciando-se possível mecanismo de regulação de absorção e, ou, transferência de nitrato à parte aérea.

A atividade da redutase do nitrato foi muito inferior àquela observada nos experimentos em casa de vegetação, provavelmente pelos baixos teores de N encontrados (Quadro 38). A redutase do nitrato é um dos melhores exemplos de enzima vegetal induzida pelo substrato, no caso o nitrato. Sua atividade aumenta em resposta à presença do próprio nitrato (SOUZA, 1994).

Quadro 35 – Teores de nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), nitrogênio orgânico (N-org), fósforo, potássio, cálcio e magnésio na raiz e parte aérea da variedade Nantes, em função das doses de N

Doses kg/ha	Raiz					
	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-org	P	K	Ca	Mg
dag/kg MS						
0	0,034	0,655	0,31	3,43	0,33	0,15
15	0,031	0,738	0,33	3,61	0,36	0,15
30	0,036	0,981	0,33	3,59	0,35	0,18
45	0,040	0,879	0,29	4,11	0,38	0,16
60	0,035	0,819	0,35	4,01	0,38	0,19
90	0,036	0,921	0,36	3,92	0,33	0,18
120	0,029	1,412	0,33	3,87	0,39	0,18
Parte Aérea						
0	0,141	1,469	0,23	3,49	0,71	0,40
15	0,120	1,368	0,25	3,86	0,66	0,39
30	0,089	1,217	0,22	4,13	0,78	0,41
45	0,125	1,281	0,30	3,97	0,63	0,45
60	0,143	1,390	0,31	4,12	0,69	0,37
90	0,149	1,261	0,26	4,00	0,70	0,40
120	0,085	1,407	0,27	3,98	0,75	0,41

Quadro 36 – Teores de nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), nitrogênio orgânico (N-org), fósforo, potássio, cálcio e magnésio na raiz e parte aérea da variedade Brasília, em função das doses de N

Doses kg/ha	Raiz					
	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-org	P	K	Ca	Mg
dag/kg MS						
0	0,029	0,780	0,36	3,63	0,37	0,14
15	0,037	0,512	0,30	4,02	0,31	0,17
30	0,033	0,584	0,32	3,71	0,41	0,16
45	0,033	0,733	0,32	3,94	0,35	0,18
60	0,039	0,820	0,34	4,00	0,38	0,17
90	0,041	0,188	0,35	4,18	0,40	0,18
120	0,042	1,455	0,31	3,93	0,31	0,15
Parte Aérea						
0	0,101	1,341	0,25	3,78	0,58	0,36
15	0,142	1,519	0,31	3,64	0,67	0,38
30	0,143	1,284	0,21	3,68	0,63	0,45
45	0,130	1,309	0,29	4,11	0,72	0,31
60	0,119	1,293	0,22	3,99	0,70	0,34
90	0,102	1,178	0,32	4,07	0,66	0,37
120	0,086	1,297	0,30	3,85	0,12	0,38

Variedade	Equação	
Nantes	$Y = Y' = 0,118836$	
Brasília	$Y = 0,10358 + 0,01453^{**}vx - 0,001511^{**}x$	$R^2 = 0,99$

\*\* Significativo pelo teste T ( $P < 0,01$ ).

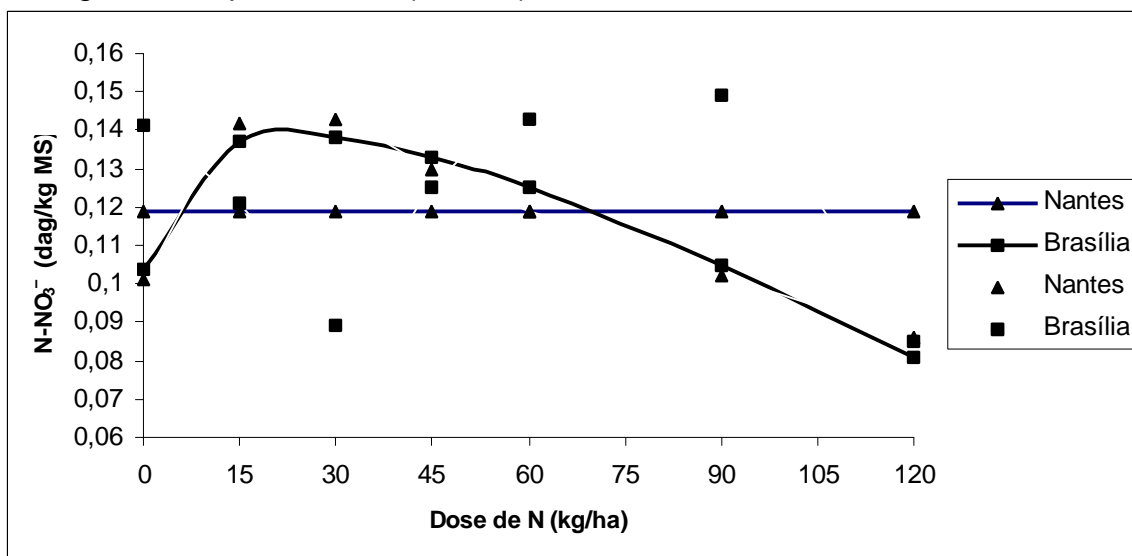


Figura 26 – Estimativa dos teores de nitrogênio como  $N-NO_3^-$  na parte aérea das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N.

Quadro 37 – Resultado do contraste entre as variedades Nantes e Brasília, quanto aos teores de nitrato ( $N-NO_3^-$ ) na raiz e parte aérea da cenoura, considerando-se o desdobramento das doses de N

Variedade	Doses de N (kg/ha)						
	0	15	30	45	60	90	120
$N-NO_3^-$ – raiz (dag/kg MS)							
Nantes	0,340a	0,031a	0,036a	0,040a	0,035a	0,036a	0,029b
Brasília	0,029a	0,037a	0,033a	0,033a	0,039a	0,041a	0,042a
$N-NO_3^-$ – parte aérea (dag/kg MS)							
Nantes	0,141a	0,120a	0,089b	0,125a	0,143a	0,149a	0,085a
Brasília	0,101a	0,142a	0,143a	0,130a	0,119a	0,102a	0,086a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste F ( $P < 0,05$ ).

Quadro 38 – Valores da atividade da enzima redutase do nitrato (ARN) na parte aérea da cenoura das variedades Nantes e Brasília, em função das doses de N

Doses kg/ha	ARN $\mu$ Mol $\text{NO}_2^-$ / g MF/h	
	Nantes	Brasília
0	0,063	0,112
15	0,079	0,050
30	0,152	0,115
45	0,088	0,146
60	0,091	0,202
90	0,158	0,046
120	0,032	0,169

MF = matéria fresca.

h = hora.

A colheita, realizada após o ciclo de 120 dias, com folhas já senescentes, certamente contribuiu, também, com a verificação dessa baixa atividade da redutase do nitrato. A taxa dessa atividade declina rapidamente após a máxima expansão foliar (MARSCHNER, 1995). De acordo com LEWIS et al. (1982), com o aumento da idade, a atividade da redutase do nitrato torna-se progressivamente menor e menos reproduzível. A causa aparente dessa queda de atividade seria a menor eficiência na tradução do mRNA na proteína redutase do nitrato nas folhas velhas em relação às folhas jovens.

Não houve diferenças estatísticas entre as variedades quanto aos teores de K, P, Ca e Mg (Quadros 34 e 35). Os teores de P e Mg, tanto em Nantes, quanto em 'Brasília', foram considerados suficientes, de acordo com JONES JUNIOR et al. (1991). Para esses autores, os teores de Ca são considerados baixos e os de K, suficientes a altos.

## RESUMO E CONCLUSÕES

Este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade da enzima redutase do nitrato e os teores de nutrientes e de açúcares em raízes e partes aéreas de duas variedades de cenoura, Nantes e Brasília, cultivadas com doses crescentes de nitrogênio.

Foram efetuados três experimentos, dois em casa de vegetação e um em campo, com as variedades Nantes (de inverno) e Brasília (de verão).

Em casa de vegetação, a unidade experimental consistiu de vasos preenchidos com a mistura solo:areia (5:1), no total de 9 dm<sup>3</sup>, utilizando-se três plantas por vaso. No primeiro experimento, realizado de julho a outubro de 2000, foram adotadas cinco doses de N: 0, 100, 200, 300 e 400 mg/dm<sup>3</sup>. Utilizou-se o delineamento de blocos casualizados, com três repetições. Ao final do ciclo, avaliou-se, em uma planta, a atividade da enzima redutase do nitrato e nas demais plantas, tanto na raiz quanto na parte aérea, os teores de macro e micronutrientes, bem como as massas fresca e seca.

Os teores de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e N-org na parte aérea, em ambas as variedades, aumentaram linearmente com as doses, enquanto na raiz o comportamento foi quadrático, com possível mecanismo de regulação de absorção e, ou, transferência do nitrato.

A atividade da enzima redutase do nitrato foi maior na parte aérea (folhas e pecíolos) e não diferiu entre as variedades. A atividade da enzima teve resposta linear, respondendo positivamente ao aumento de N.

Na variedade Nantes houve maiores teores de K, Ca e Mg na parte aérea e de P, Ca e Mg na raiz. O maior teor de K em Nantes pode ter causado a menor presença de nitrato, pela substituição parcial do K na função osmótica do N.

No segundo experimento em casa de vegetação, realizado de fevereiro a maio de 2001, foram aplicadas quatro doses de N: 0, 150, 300 e 450 mg/dm<sup>3</sup>. Utilizou-se o delineamento de blocos casualizados com quatro repetições. Ao final do ciclo, avaliaram-se, tanto na raiz quanto na parte aérea, a atividade da redutase do nitrato e os teores de macro e micronutrientes. Na raiz, avaliaram-se também os teores de açúcares solúveis totais, redutores e não-redutores.

Os teores de N-org e de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, na parte aérea, ajustaram-se ao modelo quadrático, com o valor máximo na dose estimada de 337,5 mg/dm<sup>3</sup>. Na raiz, os teores de nitrato aumentaram linearmente. Na variedade Brasília, os teores de nitrato na raiz foram maiores, sendo estatisticamente superiores nas doses de 150 e 300 mg/dm<sup>3</sup>. As diferenças observadas nos teores de N- NO<sub>3</sub><sup>-</sup> entre as variedades podem ser devidas à regulação de absorção do nitrato.

A atividade da redutase do nitrato não diferiu estatisticamente entre as variedades. Tal fato indica que o acúmulo de nitrato não se deve somente a variações na capacidade de diminuição do nitrato, pela atividade dessa enzima, nos cultivares.

Os teores de Mg, K e açúcares redutores foram maiores em Nantes. Provavelmente, esses elementos substituíram parcialmente o nitrato em suas funções osmóticas, causando, assim, diminuição de seu teor nessa variedade.

Os teores de açúcares solúveis totais e não-redutores foram maiores na variedade Brasília, o que não ocasionou menores teores de nitrato.

No experimento em campo, realizado de julho a novembro de 2001, foram aplicadas ao solo sete doses de N: 0, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 kg/ha. As parcelas consistiram de quatro canteiros, com 5 m de comprimento, 0,9 m de largura e 0,15 m de altura. O delineamento experimental foi de blocos casualizados, com quatro repetições. Ao final do ciclo, avaliaram-se a atividade da redutase do nitrato e os teores de macronutrientes, tanto na raiz quanto na parte aérea.

Na variedade Nantes houve maior massa fresca na raiz. Tanto na massa quanto no comprimento da raiz, o comportamento foi raiz-quadrático.

As doses de N não influenciaram os teores dos nutrientes das variedades.

A atividade da redutase do nitrato não foi perceptível na raiz e sim baixa na parte aérea.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDIN, M. Z.; KUMAR, P. A.; ABROL, Y.P. Biochemical basis of variability in nitrate reductase activity in wheat (*Triticum aestivum*) genotypes. **Plant Cell Physiology**, v.33, n.77, p.951-956, 1992.

ABROL, Y. P. **Nitrogen in higher plants**. RSP. New York: John Willey and sons, 1990. 492 p.

AGROPECUÁRIO – **Suplemento do jornal Estado de Minas**, p. 8, 2001.

ALABRAN, D. M.; MABROUK, A. F. Carrot flavor. Sugars and free nitrogenous compounds in fresh carrots. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 21, n. 2, p. 205-208, 1973.

ALEKHINA, N. D.; KHARITONASHVILI, E. V.; KLYUIKOVA, A. I. Changes of nitrate content in wheat plants as a function of growth temperature conditions. **Soviet Plant Physiology**, v. 35, n. 2, p. 236-243, 1988.

ANDREWS, M. The partitioning of nitrate assimilation between root and shoot of higher plants. **Plant Cell and Environment**, v. 9, p. 511-519, 1986.

ASLAM, M.; HUFFAKER, R. C. In vivo nitrate reduction in roots and shoots of barley (*Hordeum vulgare*) seedlings in light and darkness. **Plant Physiology**, v. 70, p. 1009-10013, 1982.

BLANCHARD, R. W.; REHM, G.; CALDWELL, A. C. Sulfur in plant material by digestion with nitric and perchloric acid. **Soil Science Society America Proceedings**, v. 29, n. 1, p. 71-72, 1961.

BLOM-ZANDSTRA, M.; EENINK, A. H. Nitrate concentration and reduction in different genotypes of lettuce. **Journal American Society Horticultural Science**, v. 11, n. 6, p. 908-911, 1986.

BLOM-ZANDSTRA, M.; LAMPE, J. E. M. The role of nitrate in osmoregulation of lettuce (*Lactuca sativa*) grown at different intensities. **Journal of Experimental Botany**, v. 36, n. 168, p. 1043-1052, 1985.

BLOM-ZANDSTRA, M.; HATTUM, J.; KOOT, H. T. M. Relationship of nitrate and tonoplast ATPase activity in vacuoles and tonoplast vesicles from lettuce. **Plant Science**, v. 87, p. 133-141, 1992.

BRAGA, J. M.; DEFELIPO, B. V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extrato de solos e plantas. **Revista Ceres**, v. 21, p. 73-85, 1974.

BURNS, I. Nitrogen supply, growth and development. **Acta Horticultural**, v. 428, p. 21-30, 1996.

CABA, J. M.; LUCH, C.; LIGERO, F. Distribution of nitrate reductase activity in *Vicia faba*: effect of nitrate and plant genotype. **Physiologia Plantarum**, v. 93, p. 677-682, 1995.

CARRASCO, G. A.; BURRAGE, S. W.; KAZAKIDOU, D. Nitrate accumulation in red chicory (*Cichorium intybus* L.) grown at a low level of light intensity. **Acta Horticulturae**, v. 361, p. 274-281, 1994.

CATALDO, D. A.; HAROON, M.; SCHARDER, M.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitrification of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 6, n. 1, p. 71-81, 1975.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS **Recomendação do uso de corretivos e fertilizantes no solo do estado de Minas Gerais**. 5ª aproximação. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema Gráfica e Editora, 2000.

CRAWFORD, N. M. Nitrate: nutrient and signal for plant growth. **The Plant Cell**, v. 7, p. 859-868, 1995.

DEFELIPO, B. V.; RIBEIRO, A. C. **Análise química do solo (metodologia)**. Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1981, 17 p. (Boletim de extensão, 29).

EMBRAPA, Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. **Manual de métodos de análises de solo**. Rio de Janeiro: 1974. Não paginado.

EUCLYDES, R. F. **Sistema para análises estatísticas e genéticas (SAEG)** – Manual provisório. Viçosa, MG: UFV, 1983. 74p. (Apostila).

EVERS, A. M. The role of fertilization practices in the yield and quality of carrot (*Daucus carota* L.) **Journal of Agricultural Science in Finland**, v. 61, n. 4, p. 323-360, 1989.

EVERS, A. M. The influence of fertilization and environment on some nutritionally important quality criteria in vegetables- a review of research in the nordic countries. **Journal of Agricultural Science in Finland**, v. 3, n. 2, p. 177-187, 1994.

FERRARIO-MERY, S.; VALADIER, M. H.; FOYER, C. H. Over-expression of nitrate reductase in tobacco delays drought-induced decreases in nitrate reductase activity and mRNA. **Plant Physiology**, v. 177, p. 293-302, 1998.

FOYER, C.H.; VALADIER, M. H.; MIGGE, A.; BECKER, T. W. Drought induced effects on nitrate reductase activity and mRNA and on the coordination of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves. **Plant Physiology**, v. 117, p. 283-292, 1998

FREEMAN, R. E.; SIMON, P. W. Evidence for simple genetic control of sugar type in carrot (*Daucus carota* L.). **Journal American Society Horticultural Science**, v. 108, n. 1, p. 50-54, 1983.

GLAAB, J.; KAISER, W. M. The protein kinase, protein phosphatase and inhibitor protein of nitrate reductase are ubiquitous in higher plants and independent of nitrate reductase expression and turnover. **Planta**, v. 199, p. 57-63, 1996.

GONZALES-PONCE, R.; SALAS, M. L. Differential utilization of nitrates by solanaceous species, crops (tomato and pepper) and weeds (black nightshade and thorn apple) **Journal of horticultural Science & Biotechnology**, v. 74, n. 2, p. 254-258, 1999.

GREENWOOD, D. J.; HUNT, J. Effect of nitrogen on the nitrate contents of field vegetables grown in Britain. **Journal Science Food Agricultural**, v. 37, p. 373-383, 1986.

GUTEZEIT, B.; FINK, M. Effect of cultivar and harvest date on nitrate content of carrot roots. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 74, n. 3, p. 297-300, 1999.

GUTEZEIT, B. Yield and quality of carrots as affected by soil moisture and N-fertilization. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 76, n. 6, p. 732-738, 2001.

HERNANDEZ, L. E., RAMON, A. M., CARPENA-RUIZ, R. O., GARATE, A. Evaluation of nitrate nutrition indexes in maize leaves: metabolic nitrate, total nitrate content and nitrate reductase activity. **Journal of Plant Nutrition**, v. 18, n. 5, p. 869-887, 1995.

HOFF, T.; STUMMANN, B. M.; HENNINGSEN, K. W. Structure function and regulation of nitrate reductase in higher plants. **Physiologia Plantarum**, v. 84, p. 616-624, 1992.

HOG, K.; HARTVIGSEN, M. B.; RASMUSSEN, O. S. Critical evaluation of the in vivo nitrate reductase assay for detection of two nitrate pools in wheat leaves. **Physiologia Plantarum**, v. 59, p. 141-147, 1983.

IMSANDE, J.; TOURAINE, B. N demand and the regulation of nitrate uptake. **Plant Physiology**, v. 105, p. 3-7, 1994.

INAL, A.; GÜNES, A.; ALPASPLAN, M.; DEMIR, K. Nitrate versus chloride nutrition effects in a soil-plant system on the growth, nitrate accumulation, and nitrogen, potassium, sodium, calcium and chloride contents of carrot. **Journal of Plant Nutrition**, v. 21, n. 9, p. 2001-2011, 1998.

IVASHIKINA, N. V.; FEYZIEV, Y. M. Regulation of nitrate uptake in maize seedlings by accompanying cations. **Plant Science**, v. 31, p. 25-34, 1998.

JACKSON, M. L. Nitrogen determinations for soil and plant tissue. In: JACKSON, M. L.(ed). **Soil chemical analyses**. Englewood Cliffes: Prentice Hall, 1958, p. 183-204.

JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissue. **Biochemistry and Biophysical Research Commun.**, v. 43, n. 6, p. 1274-1279, 1971.

JONES, R. G. W.; GORHAM, J. Osmoregulation. In: LANGE, O. L.; NOBEL, P. S.; OSMOND, C. B.; ZIEGLER, H. (eds). **Physiological plant ecology III: responses to the and biological environment**. Springer Verlag: [s.n.], 1983. p. 35-55.

JONES JUNIOR, J. B.; WOLF, B.; MILLS, H. A. **Plant analysis handbook: a practical sampling, preparation, analysis and interpretation guide**. Athens: Micro-Macro Publishing, 1991. 214 p.

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, n. 312, p. 1367-1374, 1997.

KAISER, W. M.; BEHNISCH, E. B. Acid base modulation of nitrate reductase in leaf tissues. **Planta**, v. 196, p. 1-6, 1995.

KAISER, W. M.; WEINER, H.; KANDBINDER, A.; TSAI, C. B.; ROCKEL, P.; SONODA, M.; PLANCHET, E. Modulation of nitrate reductase: some new insights, na unusual case and a potentially important side reaction. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 370, p. 875-882, 2002.

KLIMASHEVSKY, E. L. Physiological basis of genotypic plant distinctions in mineral nutrition. In: BASSAM, N. E. (ed). **Genetic aspects of plant mineral nutrition**. [S.I.]: Kluwer Academic Publishers, 1990, p.19-23.

KOLEK, J.; KOZINKA, V. **Physiology of the plant root system**. [S.I.]: Kluwer Academic Publishers, 1992. 361 p.

LARA, W.; TAKAHASHI, M. Y. Níveis de nitratos em hortaliças. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 42, n. 1/2, p. 53-57, 1982.

LAWLOR, D. W. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 370, p. 773-787, 2002.

LAYZELL, D. B. N<sub>2</sub> fixation, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> reduction and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> assimilation. In: DENNIS, D. T.; TURPIN, D. H. (Eds.). **Plant physiology, biochemistry and molecular biology**. [S.l.]: Longman Scientific y Technical, 1990. p. 389-406.

LECLERC, J.; MILLER, M. L. Evolution des teneurs minerales et vitaminique de la carotte au cours de la croissance et selon le mode de stockage. **Agrochimica**, v. 36, n. 1-2, p. 19-24, 1992.

LESTER, G. E.; BAKER, L. R.; KELLY, J. F. Physiology of sugar accumulation in carrot breeding lines and cultivars. **Journal American Society Horticultural Science**, v. 107, n. 3, p. 381-387, 1982.

LEWIS, O.; WATSON, E. F.; HEWITT, E. J. Determination of nitrate reductase in barley leaves and roots. **Ann. Bot.**, v. 49, p. 31-37, 1982.

LI, X. Z.; LARSON, D.I.; GLIBETIC, M.; OAKS, A. Effect of glutamine on the induction of nitrate reductase **Physiologia Plantarum**, v. 93, p. 740-744, 1995.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Avaliação do Estado Nutricional das Plantas – Princípios e Aplicações. Piracicaba, SP: POTAFOS, 1997. 203 p.

MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. 2 ed. New York: Academic Press. 1995, 889 p.

MAYNARD, D. N.; BARKER, A. V.; MINOTTI, P. L.; PECH, N. H. Nitrate accumulation in vegetables. **Advanced Agronomy**, v. 28, p. 71-118, 1976.

McCALL, D.; WILLUMSEN, J. Effects of nitrate, ammonium and chloride application on the yield and nitrate content of soil grown lettuce. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 73, n. 5, p. 698-703, 1998.

McINTYRE, G. I., The role of nitrate in the osmotic and nutritional control of plant development. **Australian Journal Plant Physiology**, v. 24, p.103-118, 1987.

MEGURO, N. E., MAGALHÃES, A. C. Atividade da redutase do nitrato em cultivares de café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 17, n. 12, p. 1725-1731, 1982.

NUSSAUME, L., VICENTZ, M., MEYER, C., BOUTIN, J. P., CABOUCHE, M. Post-transcriptional regulation of nitrate reductase by light is abolished by na N-terminal deletion. **The Plant Cell**, v. 7, p. 611-621, 1995.

OAKS, A. Primary nitrogen assimilation in higher plants and its regulation. **Canadian Journal Botany**, v. 72, p. 739-750, 1993.

OSTREM, J. A.; COLLINS, G. B. Genetic variation for nitrate concentration in *Nicotiana tabacum* L. **The Journal of Heredity**, v. 74, p. 431-434, 1983.

PADGETT, P. E.; LEONARD, R. T. Regulation of nitrate uptake by amino acids cells suspension culture and intact roots. In: BARROW, N. J. (ed). **Plant nutrition from genetic engineering to field practice**. [S.l.]: Kluwer Academic Publishers, 1993, p. 173-176.

PAULA, L. B. **Utilização de Dejetos de Suínos na Produção e Nutrição Mineral da Cenoura (*Daucus carota*)**. Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1997, 81 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Mineral e Adubação de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

PEREIRA, P. R. G.; TORRES, A. N. L. Teores de nitrato e N-orgânico em raízes de genótipos de cenoura em solo com alto nitrogênio: In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 37., 1997, Manaus, **Resumo...** Manaus: [s.n.], 1997.

PETROVIC, N.; KASTORI, R. Nitrate reductase in sugar beet genotypes supplied with different nitrate levels. In: BASSAM, N. (Ed.). **Genetics aspects of plant mineral nutrition**. [S.l.]: Kluwer Academic Publishers, 1990, p. 51-55.

PETROVIC, M.; KASTORI, R.; PETROVIC, N. effect of light quality on nitrate reductase activity in normal and mutant sugar beet plants. **Agrochimica**, v. 35, n. 5-6, p. 473-479, 1991.

PIGAGLIO, E.; DURAND, N.; MEYER, C. A conserved acidic motif in the N-terminal domain of nitrate reductase is necessary of the inactivation of the dark by phosphorylation and 14-3-3 binding. **Plant Physiology**, v. 119, p. 219-229, 1999.

PRUGAR, J., PECHOVA, B. Relation of genotypes to nitrogen cumulation in vegetables. **Vedecke Prace**, v. 13, p. 95-101, 1985.

REDINBAUGH, M. G.; CAMPBELL, W. H. Higher plant responses to environmental nitrate. **Physiologia Plantarum**, v. 82, p. 640-650, 1991.

REININK, K.; GROENWOLD, R. The inheritance of nitrate content in lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Euphytica**, v. 36, p. 733-744, 1987.

REININK, K.; NES, M.; GROENWOLD, R. Genetic variation for nitrate content between cultivars of endive (*Cichorium endiviae* L.) **Euphytica**, v. 75, p. 41-48, 1994.

RICHHARIA, A.; SHAH, K.; DUBEY, R. S. Nitrate reductase from rice seedlings: partial purification, characterization and effects of in situ and in vitro NaCl salinity. **Plant Physiology**, v. 151, p. 316-322, 1997.

ROSENFELD, H. J., SAMUELSEN, R. T., MATFORSK, P. L. The effect of temperature on sensory quality, chemical composition and growth of carrots (*Daucus carota* L.). I – Constant diurnal temperature. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 73, n. 2, p. 275-288, 1998.

ROUBY, M. B.; GONZALEZ, C. A.; KENIS, J. D. Substrates regulates the phosphorylation status for nitrate reductase. **Physiologia Plantarum**, v. 102, p. 547-552, 1998.

SAGI, M.; LIPS, H. S. The levels of nitrate reductase and MoCo in annual ryegrass an affected by nitrate and ammonium nutrition. **Plant Science**, v. 135, p. 17-24, 1998.

SANTAMARIA, P.; ELIA, A, Producing nitrate-free endive heads: effect of nitrogen form on growth, yield and ion composition of endive. **Journal American Society Horticultural Science**, v. 122, n. 1, p. 140-145, 1997.

SCHARPF, H. C. **Nutrient influences on the nitrate content of vegetable.** [S.I.]: The Fertiliser Society, 1991. 24 p. (Proceedings).

SCHEIBLE, W. R.; FONTES, A. G.; LAVERER, M.; ROBER, B. M.; CABOCHE, M.; STITT, M. Nitrate acts as a signal to induce organic and metabolism in tobacco. **The Plant Cell**, v. 9, p. 783-798, 1997.

SECHLEY, K. A.; YAMADA, T.; OAKS, A. Compartmentation of nitrogen assimilation in higher plants. **International Review of Cytology**, v. 134, p. 85-163, 1992.

SHANKAR, N.; SRIVASTAVA, H. S. Effect of glutamine supply on nitrate reductase isoforms in maize seedlings. **Phytochemistry**, v. 47, p. 701-706, 1998.

SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A. D. M.I RUTH, T.J. Studies of the uptake of nitrate in barley. **Journal of Experimental Botany**, v. 42, n. 244, p. 1455-1463, 1991.

SIVASANKAR, S.; OAKS, A. Nitrate assimilation in higher plants: The effect of metabolites and light. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 34, n. 5, p. 609-620, 1996.

SOUSSANA, J. P.; GOJON, A.; PASSAMA, L.; WAKRIM, R.; ROBIN, P. Critical avaluation of the in situ nitrate reductase assay. **Plant and Soil**, v. 120, p. 243-251, 1989.

SOUZA, V. F. **Influência d fatores na expressão da atividade da redutase do nitrato em tomateiro (*Lycopersicum esculentum* Mill).** Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1994, 166 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SRIVASTAVA, H. S. Regulation of nitrate activity in higher plants. **Phytochemistry**, v. 19, p. 725-733, 1980.

STEINGRÖVER, E. Storage of osmotically active compounds in the taproot of *Daucus carota* L. **Journal of Experimental Botany**, v. 34. n. 141, p. 425-433, 1983.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. [S.l.]: Redwood Cummings Publishing, 1991, 599 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 2 ed. Massachusetts: SINAUER Associates. Inc. Publishers, Sunderland, 1998. 792 p.

TORRES, A. N. L. **Produção e Qualidade de Variedades de Repolho e Cenoura**. Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1999, 72 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Mineral e Adubação de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

VAN DER LEIJ, M.; SMITH, S. J.; MILLER, A. J. Remobilisation of vacuolar stored nitrate in barley root cells. **Planta**, v. 205, p. 64-72, 1998.

VETTORI, E. **Métodos de Análise do Solo**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura – EPF, 1969. 24 p. ( Boletim Técnico).

VIEGAS, R. A.; MELO, R. B.; SILVEIRA, J. A. G. Nitrate reductase activity and proline accumulation in cashew in response to NaCl salt shock. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, p. 21-28, 1999.

VILLAGARCIA, M. R., COLLINS, W. W., RAPER, C. D. Nitrate uptake nitrogen use efficiency of two sweetpotato genotypes during early stages on storage root formation. **Journal American Society Horticultural Science**. v. 123, n. 5, p. 814-820, 1998.

WALLACE, W. A. A re-evaluation of the nitrate reductase content of the maize root. **Plant Physiology**, v. 55, p. 774-777, 1995.

WARNCKE, D. D. Soil and plant tissue testing for nitrogen management in carrots **Communications Soil Science Plant Analysis**, v. 27, n. 3&4, p. 597-605, 1996.

WARNER, R. L.; KLEINHOLS, A. Genetic and molecular biology of nitrate metabolism in higher plant. **Physiologia Plantarum**, v. 85, p. 245-252, 1992.

WEIMIN, Z.; SHIJUN, L.; LIHONG, G.; ZHONGYANG, H.; DABIAO, Z. Genetic diversity of nitrate accumulation in vegetables crops. **Acta Horticultural**, v. 467, p. 119-126, 1998.

## **APÉNDICE**

## APÊNDICE A

Quadro 1A – Análise de variância do contraste entre as variedades Nantes e Brasília e do efeito das doses sobre os teores de nitrogênio orgânico, nitrato e potássio na raiz (NOR, NIR e KR) e na parte aérea (NOP, NIP e KP) da cenoura, obtidos no experimento de inverno

FV	GL	Quadrados Médios					
		NOR	NIR	KR	NOP	NIP	KP
Blocos	2	0,085	0,0002	0,0343	0,1169	0,001	0,102
Doses	4	0,206	0,0006	0,195	1,6514	0,1714	0,3596
Variedade	1	0,056	0,0005	0,0287	0,1847	0,0186	0,4925
Trat x Var	4	0,03	0,0003	0,0816	0,3222	0,0447	0,0124
Resíduo	18	0,045	0,0002	0,0822	0,0768	0,0107	0,0798
CV (%)		21,20	41,60	17,60	11,30	36,20	11,00

Quadro 2A – Análise de variância do contraste entre as variedades Nantes e Brasília e do efeito das doses sobre os teores de fósforo, cálcio, magnésio e enxofre na raiz (PR, CaR, MgR e SR) e na parte aérea (PP, CaP, MgP e SP) da cenoura, obtidos no experimento de inverno

FV	GL	Quadrados Médios							
		PR	CaR	MgR	SR	PP	CaP	MgP	SP
Blocos	2	0,085	0,0002	0,0343	0,1169	0,001	0,102	0,0037	0,0022
Doses	4	0,206	0,0006	0,195	1,6514	0,1714	0,3596	0,0256	0,001
Variedade	1	0,056	0,0005	0,0287	0,1847	0,0186	0,4925	0,01005	0,0014
Trat x Var	4	0,03	0,0003	0,0816	0,3222	0,0447	0,0124	0,0064	0,0002
Resíduo	18	0,045	0,0002	0,0822	0,0768	0,0107	0,0798	0,0042	0,001
CV (%)		21,2	41,6	17,6	11,3	36,2	11,0	12,6	13,4

Quadro 3A – Análise de variância do contraste entre as variedades Nantes e Brasília e do efeito das doses sobre os teores de zinco, ferro e atividade de enzima redutase do nitrato na raiz (ZnR, FeR e ARNR) e na parte aérea (ZnP, FeP e ANRP) da cenoura, obtidos no experimento de inverno

FV	GL	Quadrados Médios					
		ZnR	FeR	ARNR	ZnP	FeP	ANRP
Blocos	2	688,9	33751	0,1057	190,60	116.659	0,3681
Doses	4	108,5	14332	0,0075	2169	109.415	2,523
Variedade	1	367,5	504	0,0003	589,60	17.472	1,014
Trat x Var	4	184,4	4224	0,0125	555,70	232.237	0,1779
Resíduo	18	620,3	6431	0,1057	702,30	406.272	0,6481
CV (%)		64,60	57,70	159,10	67,90	91,70	56,10

Quadro 4A – Análise de variância do contraste entre as variedades Nantes e Brasília e do efeito das doses sobre os teores de nitrogênio orgânico, nitrato e potássio na raiz (NOR, NIR E KR) e na parte aérea (NOP, NIP e KP) da cenoura, obtidos no experimento de verão

FV	GL	Quadrados Médios					
		NOR	NIR	KR	NOP	NIP	KP
Blocos	3	0,1762	0,0001	0,094	0,0597	0,0015	0,3736
Doses	3	6,1715	0,499	0,0942	10,392	0,2627	0,0638
Variedade	1	0,6277	0,459	0,5845	0,0594	0,0106	0,8954
Trat x Var	3	0,3909	0,0069	0,0065	0,0129	0,0033	0,1399
Resíduo	21	0,0867	0,1611	0,032	0,645	0,0039	0,0591
CV (%)		18,20	21,80	15,40	8,40	21,60	11,00

Quadro 5A – Análise de variância do contraste entre as variedades Nantes e Brasília e do efeito das doses sobre os teores de fósforo, cálcio, magnésio e enxofre na raiz (PR, CaR, MgR e SR) e na parte aérea (PP, CaP, MgP e SP) da cenoura, obtidos no experimento de verão

FV	GL	Quadrados Médios							
		PR	CaR	MgR	SR	PP	CaP	MgP	SP
Blocos	3	0,0044	0,0028	0,0006	0,0007	0,0014	0,1044	0,0144	0,001
	3	0,005	0,0037	0,0097	6,0002	0,0104	0,404	0,0205	0,0044
Variedade	1	0,0006	0,0019	0,0132	0,0003	0,0014	0,5397	0,0009	0,0003
Trat x Var	3	0,0021	0,0013	0,0009	0,0003	0,0081	0,1755	0,0291	0,0005
Resíduo	21	0,0017	0,0006	0,001	0,0003	0,0011	0,0244	0,0042	0,0004
CV (%)		14,50	9,50	21,50	11,60	12,30	8,0	11,80	8,30

Quadro 6A – Análise de variância do contraste entre as variedades Nantes e Brasília e do efeito das doses sobre os teores de açúcares totais, açúcares redutores e não-redutores na raiz (AT, AR e ANR) e atividade de enzima redutase do nitrato na raiz (ARNR) e na parte aérea (ARNP) da cenoura, obtidos no experimento de verão

FV	GL	Quadrados Médios				
		AT	AR	ANR	ARNR	ARNP
Blocos	3	116,84	2,208	99,33	0,0126	1,8602
Doses	3	83,74	19,84	124,22	0,206	1,1521
Variedade	1	251,24	579,87	1594,5	0,0024	0,7991
Trat x Var	3	226,75	29,09	369,16	0,0211	0,7135
Resíduo	21	24,38	2,814	38,24	0,0152	0,8659
CV (%)		7,70	18,10	11,30	201,60	88,70

Quadro 7A – Análise de variância do contraste entre as variedades Nantes e Brasília e do efeito das doses sobre os teores de nitrogênio orgânico e nitrato na raiz (NOR e NIR, respectivamente) e na aérea (nop e nip) e atividade da enzima redutase de nitrato (ARN) na parte aérea da cenoura (SP), obtidos no experimento de inverno

FV	GL	Quadrados Médios				
		NOR	NIR	NOP	NIP	ARN
Blocos	3	0,326	0,00026	0,046	0,0069	0,0101
Doses	6	0,594	0,00004	0,052	0,0020	0,0065
Erro A	18	0,029	0,00003	0,025	0,0012	0,0061
Variedade	1	0,032	0,00006	0,008	0,0025	0,0079
Trat x Var	6	0,101	0,00009	0,023	0,0026	0,0155
Resíduo	21	0,062	0,00004	0,039	0,0008	0,0080
CV (%)		27,9	17,8	14,9	23,5	83,8