



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



CAMILLA EMANUELLA BORBA PEREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE NANOFERTILIZANTES BASEADOS EM QUITOSANA E
MACRONUTRIENTES PARA APLICAÇÃO EM *Eruca sativa* L.**

Recife

2025

CAMILLA EMANUELLA BORBA PEREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE NANOFERTILIZANTES BASEADOS EM QUITOSANA E
MACRONUTRIENTES PARA APLICAÇÃO EM *Eruca sativa* L.**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Biológicas
da Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial para obtenção do
título de mestre em Ciências Biológicas

Área de concentração: Biotecnologia e
bioinformática

Orientadora: Prof^a Dr^a. Valesca Pandolfi

Coorientadores: Prof^a Dr. André Galembeck

Dr^a Yolice Patricia Moreno Ruiz

Recife

2025

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Pereira, Camilla Emanuella Borba.

Desenvolvimento de nanofertilizantes baseados em quitosana e macronutrientes para aplicação em eruca sativa l / Camilla Emanuella Borba Pereira. - Recife, 2024.

75f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2024.

Orientação: Valesca Pandolfi.

Coorientação: Andre Galembeck.

Coorientação: Yolice Patricia Moreno Ruiz.

Inclui referências e apêndice.

1. Fertilidade do solo; 2. Brassicaceae; 3. Absorção de nutrientes; 4. Nanomateriais. I. Pandolfi, Valesca. II. Galembeck, Andre. III. Ruiz, Yolice Patricia Moreno. IV. Título.

UFPE-Biblioteca Central

CAMILLA EMANUELLA BORBA PEREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE NANOFERTILIZANTES BASEADOS EM QUITOSANA E
MACRONUTRIENTES PARA APLICAÇÃO EM *Eruca sativa* L.**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Biológicas
da Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial para obtenção do
título de mestre em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 10/04/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Valesca Pandolfi (Orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Paulo Euzébio Cabral Filho (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Marcus Vinicius Loss Sperandio (Examinador Externo)

Universidade Federal Rural de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos a várias pessoas que desempenharam papéis essenciais ao longo da minha jornada acadêmica e pessoal.

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por Sua orientação e apoio, sem os quais não teria sido capaz de percorrer este caminho.

À minha família, especialmente à minha mãe Gilva e minha irmã Bárbara, que sempre me apoiaram em todos os meus sonhos. E mesmo nos momentos mais difíceis, quando minha confiança foi abalada, elas permaneceram persistentes, acreditando em mim e me incentivando a seguir em frente.

Expresso também minha gratidão à minha sobrinha Melissa, que é verdadeiramente a luz da minha vida.

Agradeço à minha orientadora, Valesca Pandolfi, por sua constante calma e por sempre me lembrar que a vida transcende o meio acadêmico.

Aos meus coorientadores, André Galembeck e Yolice Ruiz, que não apenas acompanharam minha jornada acadêmica, mas também desempenharam um papel crucial em minha vida desde que me acolheram em seu laboratório há cinco anos. Eles não apenas tornaram possível a realização de metas que antes pareciam inatingíveis, mas também foram fontes constantes de apoio e orientação ao longo dessa jornada.

Não posso deixar de agradecer aos meus amigos do Laboratório de Compostos Híbridos e Colóides, especialmente Maria Clara, Mônica e Lucas, que são meus confidentes tanto na vida pessoal quanto no meio acadêmico; a vida seria muito mais desafiadora sem a presença deles.

Nos momentos de dificuldade, encontrei conforto na presença dos meus colegas do grupo Biomol, que tornaram os obstáculos mais leves de suportar.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas por todo o suporte durante esse período.

Também gostaria de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida, que foi essencial para o desenvolvimento da minha pesquisa.

“Whoever could make two ears of corn, or two blades of grass, to grow upon a spot of ground where only one grew before, would deserve better of mankind, and do more essential service to his country, than the whole race of politicians put together.”
(Swift, J., 1726)

RESUMO

O uso excessivo de fertilizantes na agricultura pode resultar em diversos impactos ambientais, como eutrofização, compactação do solo e emissão de gases de efeito estufa. Estes problemas são causados pelo desperdício de nutrientes na aplicação em larga escala de NPK, com estimativas de que 50% do nitrogênio, 80-90% do fósforo e 50-90% do potássio não são efetivamente absorvidos pelas plantas. Uma estratégia promissora para otimizar a entrega de nutrientes e minimizar riscos ambientais é o desenvolvimento de nanofertilizantes (NFs) biodegradáveis. Este estudo objetivou sintetizar, caracterizar e aplicar NFs à base de quitosana para entrega de macronutrientes NPK, usando a rúcula (*Eruca sativa* L.) como modelo. Nanopartículas de quitosana foram sintetizadas por gelificação ionotrópica, com quatro concentrações de macronutrientes (NF1, NF2, NF3, NF4). Análises de Espalhamento Dinâmico de Luz indicaram um diâmetro médio de 795 nm, e o Potencial Zeta mostrou variações de carga entre -8,22 e +3,83 mV. A Espectroscopia FTIR elucidou os grupos funcionais da quitosana e indicou a ligação com o tripolifosfato de sódio (TPP). A Análise Termogravimétrica revelou maior estabilidade térmica dos NFs em comparação com a quitosana pura e nanopartículas. A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) mostrou partículas com tamanhos variando de 6 nm a 1,2 µm. Para avaliar o efeito dos NFs no crescimento vegetal, parâmetros como altura, número de folhas e teor de clorofila foram analisados. A concentração de macronutrientes foi quantificada pelo método Kjeldahl (N) e ICP-OES (P e K). Amostras de folhas foram examinadas por MEV para investigar diferenças na estrutura da superfície foliar. Os resultados revelaram melhor desempenho dos NFs em comparação com o fertilizante químico comercial (CF, Forth®), com maior taxa de crescimento das plantas, especialmente no tratamento NF1 (92% superior ao CF). Plantas tratadas com NFs apresentaram maior número de folhas e aumentos significativos no conteúdo de clorofila (8 a 29% superior ao CF). A quantificação de NPK mostrou resultados semelhantes entre plantas tratadas com NFs e CF, com plantas tratadas com CF apresentando conteúdo superior de N e K. Para o fósforo, os tratamentos NF3 e NF4 foram superiores. O estudo destaca que as plantas não necessitam de quantidades excessivas de NPK para se desenvolverem. A aplicação de nanofertilizantes permite economizar nutrientes e minimizar impactos ambientais associados à aplicação de fertilizantes comerciais, promovendo uma agricultura mais sustentável.

Palavras-chave: Fertilidade do solo. Brassicaceae. Absorção de nutrientes. Nanomateriais.

ABSTRACT

The extensive use of fertilizers in agriculture can result in various environmental impacts, such as eutrophication, soil compaction, and greenhouse gas emissions. These problems are caused by nutrient waste in large-scale NPK application, with estimates that 50% of nitrogen, 80-90% of phosphorus, and 50-90% of potassium are not effectively absorbed by plants. A promising strategy to optimize nutrient delivery and minimize environmental risks is the development of biodegradable nanofertilizers (NFs). This study aimed to synthesize, characterize, and apply chitosan-based NFs for NPK macronutrient delivery, using arugula (*Eruca sativa* L.) as a model. Chitosan nanoparticles were synthesized by ionotropic gelation, with four macronutrient concentrations (NF1, NF2, NF3, NF4). Dynamic Light Scattering analyses indicated an average diameter of 795 nm, and Zeta Potential showed charge variations between -8.22 and +3.83 mV. FTIR Spectroscopy elucidated the functional groups of chitosan and indicated binding with sodium tripolyphosphate (TPP). Thermogravimetric Analysis revealed higher thermal stability of NFs compared to pure chitosan and nanoparticles. Scanning Electron Microscopy (SEM) showed particles with sizes ranging from 6 nm to 1.2 μ m. To evaluate the effect of NFs on plant growth, parameters such as height, number of leaves, and chlorophyll content were analyzed. Macronutrient concentration was quantified by the Kjeldahl method (N) and ICP-OES (P and K). Leaf samples were examined by SEM to investigate differences in leaf surface structure. The results revealed better performance of NFs compared to commercial chemical fertilizer (CF, Forth®), with higher plant growth rates, especially in the NF1 treatment (92% superior to CF). Plants treated with NFs showed a higher number of leaves and significant increases in chlorophyll content (8 to 29% higher than CF). NPK quantification showed similar results between plants treated with NFs and CF, with CF-treated plants showing higher N and K content. For phosphorus, NF3 and NF4 treatments were superior. The study highlights that plants do not require excessive amounts of NPK to develop. The application of nanofertilizers allows for nutrient savings and minimizes environmental impacts associated with commercial fertilizer application, promoting more sustainable agriculture.

Keywords: Soil fertility. Brassicaceae. Nutrient uptake. Nanomaterials.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Variedades de rúcula. Gênero <i>Eruca</i> : Folha larga e cultivada; Gênero <i>Diplotaxis</i> : Selvática.	20
Figura 2. Disponibilização de nutrientes de acordo com o tipo de liberação.	25
Figura 3. Esquematização dos modos de aplicação e absorção de nanofertilizantes em plantas.	26
Figura 4. Synthesis of nanofertilizers using a syringe pump to add chitosan-NPK solution into a TPP solution under constant stirring, forming nanoparticles through interaction of chitosan and nutrient precursors.	32
Figura 5. Visual comparison of synthesized chitosan nanoparticles (CSNPs) and nanofertilizers (NF1, NF2, NF3, and NF4) in suspension. Note the varying degrees of precipitation at the bottom of the flasks. CSNPs, lacking incorporated nutrients, exhibit the least.	36
Figura 6. Comparison of FTIR spectra for chitosan, chitosan nanoparticles (CSNPs), and four nanofertilizer formulations (NF1, NF2, NF3, and NF4). The spectra reveal variations in peak intensities and positions, indicating differences in the chemical composition.	38
Figura 7. TGA thermograms illustrating the thermal decomposition behavior of chitosan, chitosan nanoparticles (CSNPs), and nanofertilizer formulations (NF1, NF2, NF3, and NF4). The curves depict the percentage weight remaining as the samples are heated from ambient temperature to 800 °C.	39
Figura 8. Scanning electron microscopy (SEM) images of nanofertilizers at different magnifications: (a) low magnification (scale bar: 5 µm) showing a general overview, and (b) high magnification (scale bar: 200 nm) revealing individual nanoparticles.	40
Figura 9. Elemental mapping of chitosan nanoparticles (NPs) lacking nutrient precursors, obtained via EDS. The distribution of sodium (Na, 42.6%), phosphorus (P, 34.7%), carbon (C, 12.8%), and oxygen (O, 9.9%) is shown. The overview image of the chitosan NPs has a scale bar of 25 µ. Percentages indicate the relative atomic concentrations of each element.	41
Figura 10. Scanning electron microscopy (SEM) image of the nanofertilizer NF1, accompanied by energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) elemental maps showing the distribution of nitrogen (N, 38.1%), phosphorus (P, 1.4%), potassium (K, 9.7%), and sodium (Na, 1.7%). NF1 exhibited the highest nutrient concentration.	42
Figura 11. Elemental mapping of nanofertilizer NF4, which exhibited the lowest nutrient concentration. Maps show the distribution of nitrogen (N, 20.7%), phosphorus (P, 1.0%), potassium (K, 4.5%), and sodium (Na, 6.2%).	42
Figura 12. Physiological parameters of <i>Eruca sativa</i> : a) number of leaves; b) shoot dry mass of plants treated with chitosan nanoparticles in comparison to commercial fertilizer. Only significant differences ($p < 0.05$) are shown below.	44
Figura 13. Visual comparison of <i>Eruca sativa</i> plants at the 30-day growth stage under various treatments: non-treated control (NT), chitosan nanoparticles (CSNPs), four nanofertilizer formulations (NF1, NF2, NF3, NF4), and commercial fertilizer.	45
Figura 14. Growth response of <i>Eruca sativa</i> to nanofertilizers and commercial fertilizer. (a) Plant height (cm) as a function of time (DAS) for plants treated with chitosan nanoparticles (CSNPs), nanofertilizers (NF1-NF4), a non-treated control (NT), and commercial commercial fertilizer (CF). (b) Comparison of average growth rates (cm/day) among the different fertilizer treatments.	46
Figura 15. Average SPAD index of <i>Eruca sativa</i> treated with nanoparticles. Only significant differences ($p < 0.05$) are shown below.	46
Figura 16. SEM micrographs illustrating the stomatal morphology of plants subjected to (a) the negative control and (b) NF1 treatment. The stomatal aperture in (b) is visibly more closed compared to the wider opening observed in (a), indicating a potential physiological response to NF1 treatment.	48

LISTA DE TABELAS

Table 1. Macronutrient concentrations in NFs synthesis per treatment and volume of water.....	32
Table 2 Characteristic of nanofertilizers: Hydrodynamic diameter (nm) by DLS, Polydispersity Index (PDI), surface charge (mV) by Zeta Potential (ZP), and pH.....	37
Table 3. Impact of different fertilizer treatments on <i>Eruca sativa</i> growth. Plants were treated with chitosan nanoparticles (CSNPs), four different nanofertilizer formulations (NF1-NF4), a commercial fertilizer (CF), or left untreated as a negative control (NT). Growth parameters - number of leaves (NL), plant height (PH), chlorophyll content (CFL), and shoot dry mass (SDM) - were measured before treatment application and 60 days after sowing to assess treatment effects.	43
Table 4. Comparison of nutrient uptake efficiency in <i>Eruca sativa</i> treated with nanofertilizers. This table presents the total nitrogen (N), phosphorus (P), and potassium (K) applied (mg/L) via four applications of chitosan nanoparticles (CSNPs), nanofertilizer formulations (NF1-NF4), or a commercial fertilizer (CF). The resulting N, P, and K concentrations (mg/L) in plant tissues were measured 60 days after the initial treatment.....	47

Sumário

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 GERAL	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1 NUTRIÇÃO MINERAL DE PLANTAS	15
3.1.1 Macronutrientes Primários	15
3.1.1.1 <i>Nitrogênio</i>	15
3.1.1.2 <i>Fósforo</i>	16
3.1.1.3 <i>Potássio</i>	18
3.2 RÚCULA	19
3.3 FERTILIZANTES QUÍMICOS	21
3.3.1 Impactos Ambientais do Uso Excessivo de Fertilizantes	22
3.4 NANOFERTILIZANTES	24
3.4.1 Quitosana	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5 CONCLUSÕES	55
REFERÊNCIAS	56
APÊNDICE A	69
Informações Suplementares do Artigo	69

1 INTRODUÇÃO

Os fertilizantes provêm os nutrientes necessários para o crescimento e aumento da produtividade das plantas (Khan *et al.*, 2018; Pirzadah *et al.*, 2020). Segundo a Associação Brasileira da Indústria Química, em 2020, os fertilizantes intermediários representaram quase 70% das importações de produtos químicos no Brasil, representando 28,6 milhões de toneladas de produtos importados, resultando em um investimento de aproximadamente 6,6 bilhões de dólares (Safras, 2020).

Os fertilizantes comumente disponíveis no mercado são constituídos por três macronutrientes principais: nitrogênio, fósforo e potássio (NPK), sendo essenciais para o desenvolvimento das plantas (Ajala *et al.*, 2022). De acordo com Kerbaudy (2004), o nitrogênio (N) pode ser absorvido pela planta nas formas de nitrato e amônio; o N é essencial no equilíbrio de cargas e é um elemento estrutural, visto que faz parte da estrutura de proteínas e outros compostos orgânicos da célula vegetal. Um suprimento inadequado deste nutriente influencia num crescimento retardado sendo que, nessas condições, esse macronutriente é mobilizado das folhas mais velhas para as áreas em crescimento. Por outro lado, o excesso de N acarreta a senescência precoce das folhas, podendo, ainda, levar ao crescimento excessivo da parte aérea, cuja condição é prejudicial para a maioria das gramíneas, que não sustentam essa condição, levando ao acamamento (Penckowski *et al.*, 2009). Já o fósforo (P), é um elemento estrutural dos ácidos nucleicos (DNA e RNA) e é um elemento regulador de diversas vias sintéticas. O P atua na constituição de fosfolipídios, moléculas reguladoras do crescimento e desenvolvimento das plantas, além de desempenhar um papel crucial como sinalizador de respostas celulares diante de estresse e mudanças climáticas (Xue *et al.*, 2009). Plantas com deficiência em P apresentam uma redução da parte aérea, devido ao acúmulo de amido e açúcares nas folhas e senescência precoce (Ghannoum *et al.*, 2010). O potássio (K) atua como ativador enzimático e participa do metabolismo proteico, fotossíntese e transporte de assimilados, além de ser um soluto importante para o potencial hídrico da planta. Alguns sintomas da deficiência deste nutriente incluem a diminuição da dominância apical e clorose seguida de necrose nas margens foliares (Kerbaudy, 2004; Mendes, 2007).

O uso indiscriminado e contínuo de altas quantidades de fertilizantes químicos, incluindo NPK, resulta na acumulação de minerais e promove a compactação dos solos, dificultando a penetração das raízes e diminuindo a captação de água, culminando em grande perda de produtividade (Jafar; Behzad, 2016; Lohani, 2018). O grande desperdício de nutrientes durante a sua aplicação também contribui para o alto impacto ambiental, já que aproximadamente

40–70% do nitrogênio, 80–90% do fósforo, e 50–90% do potássio não chegam até a planta (Solanki *et al.*, 2015). A volatilização (conversão dos fertilizantes em gás) e a lixiviação (carreamento do produto pela água) também são desafios quando considerada a aplicação de nutrientes em cultivos agrícolas (EMBRAPA, 2016). Desta forma, a aplicação de fertilizantes em nanoescala (nanofertilizantes) tem sido uma estratégia possível na agricultura, tornando os sistemas de produção de culturas mais eficientes, sustentáveis e ambientalmente mais seguros, reduzindo o desperdício de recursos, insumos, custos e energia (Ashraf *et al.*, 2022). Com essa proposta, inúmeros estudos têm evidenciado o uso de nutrientes eficientemente encapsulados/revestidos com nanomateriais, na forma de nanofertilizantes de liberação controlada (Pirzadah *et al.*, 2020). Nessa estratégia, a superfície que reveste os nanomateriais permite que o material se ligue mais fortemente ao destino, isso devido à alta tensão superficial em relação às superfícies convencionais. Com base nessa propriedade, os nanofertilizantes têm sido chamados de “fertilizantes inteligentes” (Cui *et al.*, 2010).

Como tendência atual, destaca-se a utilização de fertilizantes revestidos com polímeros biodegradáveis, considerados ambientalmente amigáveis, por não gerarem acúmulo de resíduos sintéticos no solo (Zhao *et al.*, 2010). Entre os polímeros biodegradáveis destacam-se a quitosana, o amido e a lignina (Fernández-Pérez *et al.*, 2008; Azeem *et al.*, 2014; Kashyap *et al.*, 2015). A quitosana tem sido explorada para encapsular fertilizantes compostos de ureia, NPK, entre outros (Wu; Liu., 2008; Jamnongkan *et al.*, 2010; Roshanravan *et al.*, 2013). É um polímero natural biodegradável que provém da desacetilação da quitina, material que pode ser obtido a partir de crustáceos, insetos e fungos, além de ser o segundo biopolímero mais abundante da terra (Kubavat *et al.*, 2020). Nanomateriais de quitosana como fertilizantes possuem propriedades intensificadoras do sistema imunológico das plantas, por meio da entrega controlada e direcionada de nutrientes às plantas (Irin; Varoni, 2014). A quitosana e seus derivados também têm sido estudados pelas suas propriedades fungicida e pesticida (Chang *et al.*, 2017, Riseh *et al.*, 2024). Por se tratar de um nanomaterial bastante acessível e por proporcionar diversos benefícios às plantas, a quitosana torna-se uma opção ideal e eficaz em diversos campos de aplicação. O presente estudo, portanto, teve o objetivo de incorporar os macronutrientes NPK em nanopartículas de quitosana, com subsequente aplicação via solo em plantas de rúcula, para atuarem como estruturas carreadoras desses macronutrientes, aumentando a eficácia nutricional e, ao mesmo tempo, diminuição dos impactos ambientais provocados pelos métodos convencionais atualmente disponíveis.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

- Melhorar o desenvolvimento das plantas por meio da utilização de nanofertilizantes à base de quitosana carregados com concentrações mínimas de NPK.

2.2. ESPECÍFICOS

- Sintetizar nanopartículas de quitosana;
- Incorporar nitrogênio, fósforo e potássio na estrutura das nanopartículas de quitosana;
- Caracterizar a estrutura, morfologia, capacidade térmica, tamanho hidrodinâmico e grupos funcionais dos nanofertilizantes;
- Aplicar nanofertilizantes à base de quitosana em plantas de *Eruca sativa*;
- Avaliar os parâmetros de crescimento das plantas tratadas;
- Comparar o desempenho das plantas tratadas com os nanofertilizantes sintetizados com o de fertilizantes comerciais;
- Quantificar o teor de macronutrientes N, P e K nas plantas.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 NUTRIÇÃO MINERAL DE PLANTAS

O desenvolvimento das plantas depende fortemente da disponibilidade de nutrientes, cuja presença adequada é fundamental para um crescimento saudável. Para garantir a produtividade das lavouras, quatorze minerais são considerados essenciais para as plantas: N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Zn, Cu, B, Cl, Mo e Ni; visto que cumprem um ou ambos os critérios de essencialidade propostos por Arnon e Stout (1939), que posteriormente foram adequados por Epstein e Bloom (2006) - 1) o elemento é um componente intrínseco da estrutura ou 2) é necessário para o metabolismo da planta, e sua ausência interfere no ciclo de vida em comparação com plantas menos privadas desse elemento.

Os nutrientes essenciais são divididos em macronutrientes e micronutrientes. Os macronutrientes são aqueles que são exigidos pelas plantas em maior quantidade e são subdivididos em primários (N, P e K) e secundários (Ca, Mg e S). Os micronutrientes, apesar de serem importantes, são exigidos em menores quantidades, são eles: Fe, Mn, Zn, Cu, B, Cl, Mo e Ni. As interações entre esses nutrientes podem surgir quando a disponibilidade de um afeta a absorção, distribuição ou função do outro (Fageria; Oliveira, 2014). Esse fenômeno é elucidado por Liebig (1843), que observou que o crescimento é influenciado pelo elemento mais escasso, denominado fator limitante.

Compreender as respostas das plantas à disponibilidade desses nutrientes e às interações biológicas é essencial para a minimização e otimização do uso de fertilizantes na agricultura (Medici *et al.*, 2019).

3.1.1 Macronutrientes Primários

3.1.1.1 Nitrogênio

De acordo com Kerbaui (2004), o nitrogênio (N) é um elemento estrutural, visto que faz parte da estrutura de proteínas e outros compostos orgânicos da célula vegetal. Apesar de cerca de 80% do ar que respiramos seja composto por nitrogênio, a sua combinação com outros elementos é necessária para que a utilização pelas plantas seja possível (Wagner, 2011).

Os fertilizantes fornecem nitrogênio solubilizado para uma rápida absorção pela cultura em crescimento. No entanto, se as formas nitrogenadas dos fertilizantes não forem absorvidas, são transformadas em nitratos. Embora o nitrogênio sob a forma de nitrato seja altamente

absorvível, está sujeito a perdas devido à erosão, lixiviação e desnitrificação. Por outro lado, o nitrogênio na forma de amônio permanece mais estável no solo, sendo menos propenso ao desperdício por lixiviação, mas ainda suscetível à volatilização (Peng *et al.*, 2015). Quando fertilizantes nitrogenados, como o nitrato de amônio ou o sulfato de amônio, são aplicados na superfície de solos alcalinos ou calcários, pode ocorrer uma reação química que resulta na perda de nitrogênio na forma de gás NH_3 , em um processo conhecido como volatilização. Essas perdas por volatilização tendem a ser significativas em temperaturas elevadas e em condições específicas de umidade (Jones *et al.*, 2020; 2007).

A presença adequada de nitrogênio resulta em folhas com uma coloração verde escura, devido à elevada concentração de clorofila (Wang *et al.*, 2021). Por outro lado, a falta desse nutriente causa clorose, que se caracteriza pela redução na quantidade deste pigmento. A clorose se manifesta inicialmente como um tom amarelado nas folhas mais antigas e, conforme a deficiência se agrava, afeta também as folhas mais jovens (Abbasi *et al.*, 2023).

O excesso de N é uma das principais causas de baixa qualidade na cultura, pois promove um crescimento vegetativo exagerado que provoca o acúmulo de açúcar nos vacúolos (Carnaúba, 1990). Estudos indicam que o excesso de nitrato, ao ser transformado em nitrito, pode ocasionar toxicidade tanto em seres humanos quanto em animais que se alimentam de plantas forrageiras (Prado *et al.*, 2020).

Ucar e colaboradores (2017) investigaram os efeitos de diferentes doses de nitrogênio no cultivo de *Stevia rebaudiana* e constataram que a suplementação de nitrogênio resultou em um aumento no conteúdo de nitrogênio e no teor de clorofila em comparação com o tratamento controle. Adicionalmente, em taxas de aplicação mais altas de nitrogênio, a adubação de cobertura com fertilizante nitrogenado aumenta o rendimento, o conteúdo proteico e a absorção de nitrogênio pelos grãos, resultando em uma qualidade superior do trigo (Mohammed *et al.*, 2011).

Trawczynski (2020) observou que, em batatas, a fertilização com nitrogênio em uma dose superior a 150 kg ha^{-1} teve um efeito positivo no conteúdo de nitratos, proteínas, nitrogênio total e na absorção de nutrientes.

3.1.1.2 Fósforo

O Fósforo (P) é um nutriente essencial para as plantas superiores e a principal fonte de obtenção deste nutriente é o solo. É um elemento regulador de diversas vias sintéticas, além de participar na otimização da absorção e utilização da água pela planta e atua como elemento

estrutural dos ácidos nucleicos (Korndorfer, 2005).

O P desempenha um papel fundamental na regulação das respostas fisiológicas e no aumento da tolerância ao estresse abiótico em plantas, tais como calor, salinidade, seca, encharcamento, alto CO₂ e toxicidade por metais pesados (Hawkesford *et al.*, 2023).

Em geral, o problema não é a baixa concentração de P no solo, e sim, a baixa disponibilidade desse P às plantas. Embora este elemento seja abundante na litosfera, a forma utilizada pelas plantas, o ortofosfato inorgânico (Pi), é insolúvel e se difunde lentamente (Paz-Ares, 2022). Esses fatores contribuem para a deficiência desse nutriente, levando à dependência de fertilizantes para suprir as necessidades das plantas. A maior parte do fósforo utilizado na produção de fertilizantes é derivada de fosfato, extraído de rochas, uma fonte não-renovável (Marschner, 2012).

Parte do fósforo aplicado é acumulada no solo em formas não lábeis devido às suas reações químicas de alta afinidade e à sua ligação aos minerais do solo e à matéria orgânica, o fósforo acumulado é conhecido como *legacy P* (Gatiboni *et al.*, 2020). A pesquisa sobre o aproveitamento do *legacy P* tem recebido considerável atenção nos últimos anos devido aos benefícios que oferece. Isso inclui economia financeira nos insumos de fertilizantes de fósforo inorgânico, bem como a redução da pressão sobre as reservas de rochas fosfáticas utilizadas para a fabricação de fertilizantes. Além disso, esse enfoque ajuda a mitigar o risco de eutrofização em corpos d'água, uma vez que a adubação convencional pode resultar no acúmulo de fósforo no solo, aumentando assim o potencial de degradação ambiental (Gatiboni *et al.*, 2020; Pavinato *et al.*, 2020).

A deficiência de fósforo por períodos prolongados pode resultar no acúmulo de antocianinas, o que faz com que a superfície foliar tenha uma coloração púrpura, especialmente na região das nervuras (Osborne *et al.*, 2002). A coloração verde escura em algumas folhas senescentes também é um indicativo de deficiência desse nutriente, que apesar de aumentar o teor de clorofila, a taxa fotossintética permanece baixa (Prado *et al.*, 2020).

Os sintomas de excesso de aplicação de fósforo em culturas não são amplamente documentados, porém, pode manifestar-se por meio de pintas vermelho-escuras nas folhas velhas. Além disso, pode influenciar negativamente na absorção de alguns micronutrientes, como o zinco (Mengel; Kirby, 1987).

De acordo com Akpinar e Ortas (2021), a aplicação crescente de P aumentou o rendimento do trigo e as concentrações de P, ferro (Fe), zinco (Zn), carbono (C) e nitrogênio (N) nos tecidos vegetais. A aplicação de longo prazo de fertilizantes fosfatados também elevou a concentração de carbono orgânico no solo.

Gazola *et al.* (2015) mediante aplicação de NPK em eucalipto, observaram que a aplicação de P impactou o crescimento em diâmetro à altura do peito (DAP), altura e volume do eucalipto e os aumentos observados com a dose mais alta em relação ao controle diminuíram com a idade da cultura. Duarte *et al.* (2016) observaram que o aumento na dose de fertilização de P e K, mesmo em doses duas e quatro vezes maiores que a recomendada, resulta em aumento na produtividade de grãos de soja.

3.1.1.3 Potássio

O potássio (K) é o macronutriente mais abundante no citoplasma e apresenta funções essenciais na planta (Peñuelas *et al.*, 2021; Ragel *et al.*, 2019). No solo, o potássio encontra-se principalmente na forma mineral, na estrutura cristalina de minerais primários, como feldspatos e mica, assim como em minerais secundários, como a illita e a vermiculita (Prado *et al.*, 2020). No entanto, embora as argilas possam atuar como reservatórios desse nutriente, se o potássio não estiver na forma iônica K^+ , não poderá ser absorvido pelas raízes (Shin, 2014). A disponibilidade do potássio no solo pode ser influenciada pela qualidade da argila em que o elemento está presente, pela temperatura, pH e os ciclos de hidratação do solo (Clarkson *et al.*, 1992; Guoju *et al.*, 2012; Kuchenbuch *et al.*, 1986).

O K não faz parte de nenhum composto orgânico na planta, então não tem função estrutural, porém, a sua função é como ativador enzimático, visto que mais de 60 enzimas dependem do K para a sua atividade normal (Johnson *et al.*, 2022). O íon K^+ desempenha um papel crucial na manutenção do turgor das plantas, especialmente quando associado a algum ânion. A elevação da concentração de K^+ nas células-guarda aumenta o potencial osmótico das células, resultando na abertura dos estômatos (Andrés *et al.*, 2014).

Nas plantas, o potássio desempenha um papel essencial na regulação do equilíbrio iônico e na manutenção do equilíbrio osmótico em condições salinas (Assaha *et al.*, 2017; Kumar *et al.*, 2020; Kumari *et al.*, 2021). O K^+ também influencia a abertura estomática durante períodos de seca e ajuda as plantas a se adaptarem ao estresse hídrico (Farahani *et al.*, 2019), além de retardar a clorose e a senescência das folhas (Weng *et al.*, 2007). Plantas que recebem um fornecimento adequado de potássio exibem níveis mais elevados de fenóis, que desempenham um papel essencial na resistência das plantas aos fatores abióticos. Além de melhorar sua resistência ao frio e a fungos (Donderalp; Dursun, 2022; Kerbauy, 2004; Kent *et al.*, 2002).

Sob deficiência severa, as folhas mais velhas sofrem clorose, ficando amareladas e

necrosadas; esta última característica deve-se ao aumento da putrescina, um composto cuja produção é intensificada durante a descarboxilação de aminoácidos básicos como a arginina e citrulina, resultante da diminuição na produção de proteínas (Cochrane; Cochrane, 2009; Cui *et al.*, 2020). Adicionalmente, Orlando Filho e colaboradores (1993) constataram que a deficiência de potássio provoca a diminuição no diâmetro e altura dos colmos.

Alguns estudos têm documentado a relação antagonica entre os íons de Mg^{2+} e K^+ , indicando que concentrações mais elevadas de K^+ resultam na inibição da absorção de Mg^{2+} . O excesso de potássio prejudica a absorção de magnésio pelas plantas ao interferir o movimento do cátion Mg^{2+} em direção à superfície das raízes (Heijden *et al.*, 2013; Hui-xia *et al.*, 2018).

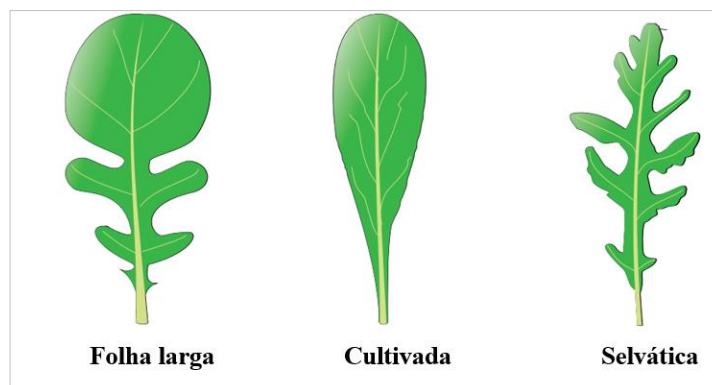
Segundo Xu *et al.* (2020), níveis ideais de potássio (K) aumentaram a acumulação e o transporte de carbono-13 das folhas para as raízes, ao mesmo tempo em que melhoraram a eficiência no uso de nitrogênio (NUE) em porta-enxertos de macieira. De acordo com Neto e colaboradores (2016), a aplicação fertigada de adubação potássica (400 kg ha^{-1} de K_2O) aumenta o teor de sólidos solúveis (SS) e a relação SS/acidez titulável dos frutos de tomateiro, contribuindo para o sabor e a qualidade do fruto. Liu *et al.* (2024) destacaram que a nutrição mineral com K desempenhou um papel crucial no desenvolvimento das raízes finas de *Sapindus mukorossi* e na melhoria da fertilidade do solo.

3.2 RÚCULA

A rúcula é uma hortaliça folhosa originária da região mediterrânea e do oeste asiático (Filgueira, 2008). Pertence à família Brassicaceae, que inclui cerca de três mil espécies de crucíferas, como repolho, alface, couve e brócolis (Avato; Argentieri, 2015; Šamec; Salopek-Sondi; 2019). Os gêneros de rúcula mais conhecidos são *Diplotaxis* e *Eruca*, dentre estes, as espécies mais utilizadas são *Diplotaxis tenuifolia* e *Diplotaxis muralis*, de ciclo de crescimento perene e *Eruca sativa*, de crescimento anual (Pignone *et al.*, 1997; Jaafar; Jaafar, 2019; Coelho *et al.*, 2021).

As espécies do gênero *Eruca* geralmente apresentam uma taxa de crescimento mais elevada, folhas maiores e florescimento precoce. Essas características resultam em uma produção de biomassa mais alta, o que difere do sistema de cultivo das espécies de *Diplotaxis*. A morfologia das folhas da espécie *D. tenuifolia*, conhecida como rúcula selvática, permite uma fácil diferenciação entre as outras espécies de rúcula, visto que as bordas das folhas são mais recortadas (Aguiar *et al.*, 2014; Nicoletti *et al.*, 2007).

Figura 1. Variedades de rúcula. Gênero *Eruca*: Folha larga e cultivada; Gênero *Diplotaxis*: Selvática.



Fonte: Adaptado de CEAGESP (2014).

No Brasil, a espécie mais consumida é a *E. sativa* Mill., que engloba as cultivares Folha Larga (Folha larga, Apreciatta, Astro, Donatella e Gigante Folha Larga) e Cultivada (Antonella e Cultivada) (Aguiar *et al.*, 2014). Além disso, é amplamente comercializada na forma de *baby leaf*, sendo colhida quando atinge entre 5 e 15 cm de altura. A principal diferença entre as variedades está no formato; na variedade folha larga, as folhas são largas e onduladas, enquanto na variedade cultivada, as folhas são largas e espatuladas (CEAGESP, 2014).

O plantio geralmente é por semeadura direta em canteiros definitivos e a colheita ocorre entre 45 e 60 dias após a semeadura. Apesar da recomendação de plantio em temperaturas amenas (entre 18 e 20°C), a rúcula tem sido cultivada ao longo de todo o ano em diversas regiões (Filgueira, 2008). Na culinária, essa hortaliça é comumente usada em saladas cruas devido à sua leve picância, uma característica que desaparece quando a rúcula é cozida (Tassi *et al.*, 2018). Considerada um alimento funcional, tornou-se uma escolha popular em dietas devido à sua riqueza em proteínas, fibras, nutrientes e vitaminas, além de conter diversos compostos como glucosinolatos, flavonoides e polifenóis (Xu *et al.*, 2014).

Na área da saúde, a rúcula tem sido empregada desde tempos antigos no tratamento de problemas digestivos, atuando como um diurético natural; e na Roma antiga, como afrodisíaco, pois se acreditava que ela auxiliava na produção seminal (Yaniv *et al.*, 1998).

Azarenko *et al.* (2014) descreveram a influência do composto erucina, um derivado de glucosinolatos encontrado na espécie *E. sativa* na inibição da proliferação de células de melanoma. Os extratos foliares de rúcula mostraram benefícios no tratamento da diabetes, exercendo efeitos sobre células musculares, adiposas e hepáticas (Hetta *et al.*, 2017). Além de

que, o óleo das sementes da rúcula é capaz de reduzir a hiperglicemia, melhorar o perfil lipídico e estimular a produção de glutathione no fígado, um antioxidante importante na proteção contra doenças (El-Missiry; El Gindy 2000).

O óleo essencial das folhas é rico em compostos contendo nitrogênio e enxofre, como os isotiocianatos e nitrilos, que aparentemente são responsáveis pelo aroma característico do óleo de *E. sativa* (Miyazawa *et al.*, 2002). A partir das sementes, é possível obter óleo com altas quantidades de ácido erúico, um ácido graxo de cadeia longa bastante relevante para a indústria, visto que é utilizado na fabricação de produtos como lubrificante, sabão e biodiesel (Jain *et al.*, 2018; Uğur *et al.*, 2010). No Paquistão, as sementes são utilizadas para produzir óleo de taramira, frequentemente utilizado em massagens e para promover a hidratação da pele (Jaafar; Jaafar, 2019).

No Brasil, entre 2009 e 2016, a área de produção de rúcula aumentou em 40% e cerca de 61 toneladas de sementes foram comercializadas (ABCSEM, 2018). Seu cultivo e consumo têm crescido significativamente desde a década de 90, contribuindo para seu alto potencial de mercado. Isso é evidenciado pelo número de mais de 2700 produtores de rúcula registrados no Brasil, com produção concentrada principalmente nas regiões Sul e Sudeste (MAPA, 2018).

3.3 FERTILIZANTES QUÍMICOS

Grande parte dos solos brasileiros é ácida e pobre em nutrientes, ou seja, apresenta uma baixa fertilidade (Bernardi *et al.*, 2002); um exemplo de solo escasso é o presente no cerrado, principal bioma da região central do Brasil, onde grande parte da produção de soja do país está concentrada (USDA, 2023). Solos com uma baixa disponibilidade de nutrientes implicam diretamente no cultivo das principais culturas de interesse nacional como cana-de-açúcar, milho, trigo e soja, que são responsáveis por consolidar o país no ranking mundial dos maiores produtores e exportadores de commodities agrícolas (FAO, 2022). O setor agrícola, por sua vez, contribui com cerca de 20% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional (Stabile *et al.*, 2019; FAO, 2018).

Para que a alta produção de insumos seja mantida, a utilização de fertilizantes faz-se necessária para atender as exigências nutricionais das plantas (Bernardi *et al.*, 2002), visto que eles provêm os nutrientes necessários para o aumento da produtividade e desenvolvimento vegetal (Pirzadah *et al.*, 2020; Nasir *et al.*, 2018). Esses agroquímicos contêm os macronutrientes fundamentais para o desenvolvimento adequado das plantas, sendo o

nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) os principais (Zewdie; Reta, 2021).

Embora haja uma alta demanda de utilização por fertilizantes no país, a produção nacional ainda não atende às necessidades de forma adequada. Isso se deve, em parte, às limitações da indústria de produção de fertilizantes, uma vez que o país enfrenta escassez de insumos. Portanto, é necessário recorrer à importação, o que acarreta uma certa dependência internacional (BNDES, 2017). No Brasil, o potássio é o nutriente mais aplicado, representando 38% do total, seguido pelo fósforo, com 33%, e pelo nitrogênio, com 29% (INPI, 2023). A alta necessidade da utilização de fertilizantes não é estritamente brasileira, de acordo com a International Fertilizer Association (2020), a demanda global por fertilizantes NPK totalizou 190 milhões de toneladas em 2018. Isso se deve principalmente à necessidade de aumentar a produtividade para alimentar uma população mundial em crescimento

De acordo com o Statista (2023), o Brasil ficou em primeiro lugar na lista dos maiores importadores mundiais de fertilizantes em 2022, ao investir aproximadamente 25 bilhões de dólares em importação. Apesar do alto investimento, a eficiência no uso de nutrientes por meio de fertilizantes ainda é considerada baixa, com apenas 30–40% do nitrogênio, 15 a 20% do fósforo e 50 a 55% do potássio sendo aproveitados (Adhikari; Ramana, 2019).

O Decreto Nº 10.605 foi criado para desenvolver o Grupo de Trabalho Interministerial, com o objetivo de fortalecer políticas destinadas a promover a competitividade na produção e distribuição de fertilizantes de forma sustentável, conforme previsto no Plano Nacional de Fertilizantes (PNF) (Brasil, 2021). O objetivo do PNF é fortalecer políticas para aumentar a competitividade na produção e distribuição de fertilizantes no Brasil de maneira sustentável (Caligaris *et al.*, 2022).

Por fim, uma outra iniciativa fortalece os esforços do Brasil para reduzir sua dependência internacional do mercado de fertilizantes. Embora a Petrobrás tenha sido, por um período, o maior produtor mundial de fertilizantes nitrogenados, a falta de competitividade e viabilidade econômica levou a empresa a se retirar definitivamente desse segmento em 2018 (Tamarindo; Pires, 2021). No entanto, em 2023, houve uma mudança significativa de curso, pois a empresa retomou a construção da fábrica de fertilizantes UFN3 em Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, que estava paralisada desde 2014 e reinvestiu no setor. A conclusão da construção está prevista para 2026; essa reviravolta traz uma nova perspectiva para a produção de fertilizantes nitrogenados no país (Petrobrás, 2023).

3.3.1 Impactos Ambientais do Uso Excessivo de Fertilizantes

Os fertilizantes desempenham um papel crucial na garantia do fornecimento alimentar para uma população mundial em crescimento (Sameh *et al.*, 2021). No entanto, o aumento no uso destes agroquímicos não apenas impulsiona a produção de alimentos, mas também acarreta consequências negativas para a saúde do solo, aumenta a emissão de gases de efeito estufa e contamina os corpos d'água (Wang *et al.*, 2018).

Estes impactos ambientais ocorrem desde a fase de produção até a aplicação dos fertilizantes (Gao; Serrenho, 2023). A produção de amônia (NH_3) pelo método Haber-Bosch, no qual o hidrogênio e o nitrogênio reagem a altas temperaturas, representa aproximadamente 1% das emissões globais de gases do efeito estufa (Schiffer; Manthiram, 2017). A liberação dos gases ocorre na etapa inicial, durante a extração e combustão de combustíveis fósseis como carvão e óleo (Gao; Serrenho, 2023).

A volatilização de amônia representa até 14% da perda total de nitrogênio, portanto, é uma das principais vias de perda deste elemento. Além disso, a amônia neste estado não é apenas um precursor indispensável das partículas finas atmosféricas, como também estimula a eutrofização da água e acidificação do solo após a deposição atmosférica, causando efeitos prejudiciais no ar, água e solo (Ti *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2022).

A volatilização deste composto está diretamente relacionada às emissões de gases de efeito estufa, como a emissão de óxido nitroso (N_2O) na agricultura (Wang *et al.*, 2023). Em termos de toxicidade, o N_2O é terceiro gás mais potente, superado apenas pelo dióxido de carbono e pelo metano, e desempenha um papel crucial no aquecimento global (Ming *et al.*, 2016; Griffis *et al.*, 2017). Estudos indicam que o aumento do N_2O se deve à aplicação dos fertilizantes nitrogenados, que estimulam os microrganismos do solo a converterem o nitrogênio mais rapidamente (Croteau *et al.*, 2012).

O uso excessivo de fertilizantes químicos também contribui para a compactação do solo, resultando na redução da porosidade, o que aumenta a densidade aparente do solo e a resistência à penetração das raízes. Esse fenômeno ocorre quando os fertilizantes são aplicados em quantidades superiores às recomendadas, juntamente com o cultivo intensivo (Massah; Azadegan, 2016).

O aumento na disponibilidade de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, provenientes desses fertilizantes, promove o desenvolvimento de florações de microalgas (Anderson *et al.*, 2008). Essas florações, caracterizadas por seu odor e sabor desagradáveis, reduzem significativamente a clareza e a qualidade da água. A densidade das florações limita a penetração da luz, prejudicando a visibilidade dos predadores aquáticos que dependem da luz para caçar suas presas. Além disso, os altos índices de fotossíntese resultantes da eutrofização

podem elevar o pH a níveis extremos. À medida que as florações morrem, a decomposição microbiana consome o oxigênio de maneira significativa, levando à hipóxia e formação de zonas mortas, como o Golfo do México, onde os níveis de oxigênio são insuficientes para sustentar a vida (Akinawo *et al.*, 2023; Chislock *et al.*, 2013). Nos últimos 50 anos, essas áreas hipóxicas aumentaram significativamente, passando de aproximadamente 10 casos documentados em 1960 para pelo menos 169 em 2007, totalizando cerca de 415 zonas mortas no mundo (Diaz *et al.*, 2004; National Geographic Society, 2022).

3.4 NANOFERTILIZANTES

De acordo com Bryukhovelskiy e colaboradores, nanopartículas são estruturas de até 1.000 nanômetros que possuem propriedades coloidais. No entanto, segundo a *International Organization for Standardization* (2005), para serem consideradas nanopartículas, é necessário ter até 100 nanômetros. Apesar de não existir uma definição específica em relação ao tamanho, há um consenso de que qualquer material em escala maior (*bulk*) que tiver o seu tamanho reduzido, tem sua relação superfície/volume aumentada, o que implica no aumento das suas propriedades físico-químicas (Huang *et al.*, 2020). Assim, as nanopartículas estão sendo amplamente adotadas em virtude de suas dimensões na escala nanométrica, elevada área superficial e fenômenos quânticos associados (Joudeh; Link, 2022).

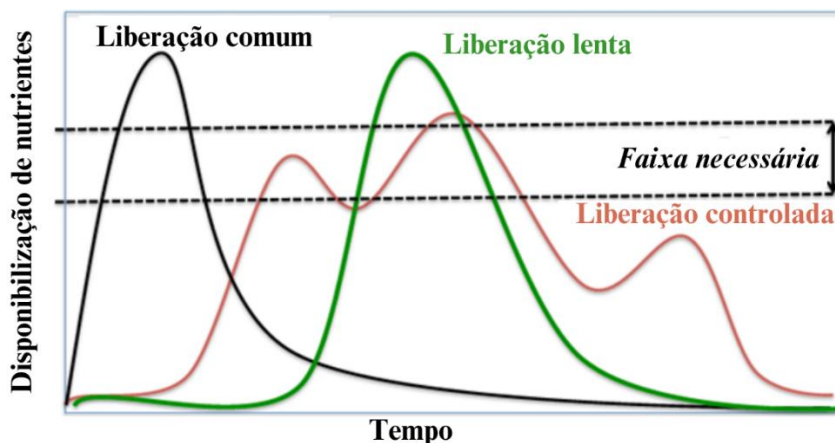
Com o intuito de mitigar o desperdício de nutrientes decorrente da aplicação excessiva de fertilizantes, é essencial explorar novas tecnologias que reduzam os impactos ambientais, minimizem a quantidade de nutrientes utilizados e, ao mesmo tempo, melhorem sua eficácia. Para isso, nanofertilizantes estão sendo sintetizados como uma alternativa sustentável ao uso de fertilizantes químicos para uma produção sustentável (Khatri; Bhateria, 2023).

A utilização de nanofertilizantes (NFs) proporciona uma melhoria na nutrição das plantas, resultando em um aumento da produtividade das culturas e oferecendo suporte às plantas contra estresses bióticos e abióticos. Os NFs podem conter macronutrientes como nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e enxofre; e micronutrientes, incluindo ferro, zinco e cobre (Carmona *et al.*, 2021; Cieshi *et al.*, 2019; Cota-Ruiz, 2020; Gao *et al.*, 2023; Khalifa; Hasaneen, 2018; Meselhy *et al.*, 2021).

Além disso, os NFs podem ser liberados de duas maneiras: controlada e lenta (Haydar *et al.*, 2024). Quando a taxa de liberação do nanofertilizante é influenciada por condições externas, como temperatura, umidade do solo e pH, e isso afeta diretamente a liberação do composto, caracteriza-se como NF de liberação controlada. Por outro lado, os NFs de liberação lenta funcionam com uma liberação retardada ao longo do tempo ou por períodos mais longos.

Embora haja variação nas curvas de liberação de nutrientes (**Figura 2**), a melhor abordagem para o cultivo é a combinação dos três tipos de sistemas de liberação (Ribeiro; Carmo, 2019).

Figura 2. Disponibilização de nutrientes de acordo com o tipo de liberação.

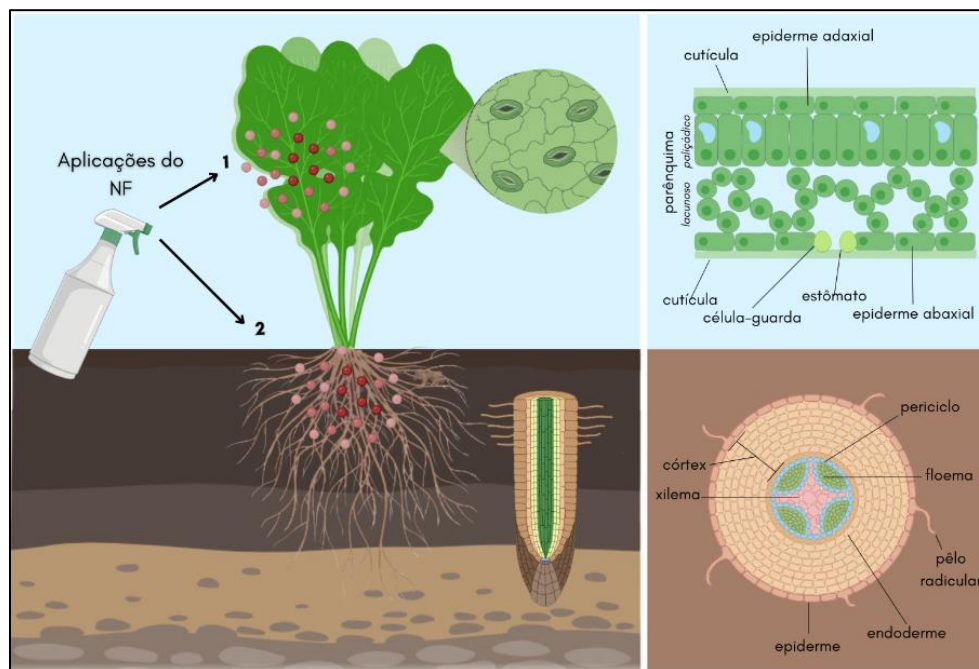


Fonte: Adaptado de Ribeiro e Carmo (2019).

Os nanofertilizantes são empregados em várias culturas, como soja, pepino, morango, cana-de-açúcar, entre outras, resultando em aumento da biomassa, altura das plantas, maiores níveis de nutrientes como K, Ca, Mg, Fe, Mn e Si, além de maior teor de clorofila (Elsheery *et al.*, 2020; Lu *et al.*, 2020; Sheykhabglou *et al.*, 2010; Yousefi; Esna-Ashari, 2017).

De acordo com Babu *et al.* (2022), os nanofertilizantes aplicados em dose ótima nas folhas das plantas ou em partes expostas são rapidamente e eficientemente absorvidos, sendo posteriormente transportados para diversas partes da planta. Ainda não se tem total compreensão sobre como as nanopartículas atravessam a membrana das plantas, embora seja reconhecido que o transporte a longas distâncias pode ocorrer através do xilema (das raízes para as folhas), e do floema (das folhas para as raízes). Quando aplicadas nas folhas, as nanopartículas primeiro atravessam a cutícula, uma barreira natural que evita a perda de água e protege a planta (Figura 3). Os estômatos são considerados a principal rota para a absorção foliar de nanopartículas. Gao e colaboradores (2023) recentemente observaram que a absorção das nanopartículas é mais eficiente quando o nanofertilizante é aplicado na superfície abaxial das folhas. As raízes das plantas também são capazes de absorver nanopartículas por meio dos pêlos radiculares. Após ingressarem na raiz, as nanopartículas atravessam a parede celular e adentram o espaço intercelular. A transferência de nanopartículas entre as raízes ocorre exclusivamente através dos canais do xilema (Yadav *et al.*, 2023).

Figura 3. Esquematisação dos modos de aplicação e absorção de nanofertilizantes em plantas.



Fonte: A autora (2024).

3.4.1 Quitosana

A quitosana é um polissacarídeo linear composto por unidades de glicosamina e N-acetilglicosamina. É o principal derivado da quitina, formado através do processo de desacetilação alcalina deste biopolímero (Kohrs *et al.*; Shariatnia, 2019). Além de ser o segundo polímero mais abundante na natureza, após a celulose (Elieh-Ali-Komi; Hamblin, 2016; Kubavat *et al.*, 2020). Pode ser obtida através de diversas fontes que contêm quitina. O exoesqueleto de artrópodes, como crustáceos e camarões, são as principais fontes de matéria-prima para a produção da quitosana, devido ao seu baixo custo e alta concentração de quitina (Thirupathi *et al.*, 2023). No entanto, a quitosana também pode ser extraída de outras fontes como insetos, microalgas, escamas de peixe e micélio de fungos (Aboudamia *et al.*, 2020; Tan *et al.*, 2020; Mohan *et al.*, 2020).

Possui uma ampla gama de aplicação em diversas áreas devido aos grupos amina e -OH, que conferem um comportamento nucleofílico e a torna facilmente disponível para várias reações químicas (Rabêlo *et al.*, 2019). Sua desacetilação permite a formação de filmes, hidrogéis, estruturas tridimensionais, partículas em escala nano e micrométrica, possibilitando uma ampla gama de modificações (Mujtaba *et al.*, 2020). Suas propriedades no campo agrônomo incluem biodegradabilidade, biocompatibilidade, afinidade com biomoléculas, não toxicidade e liberação prolongada (Wang *et al.*, 2021).

Devido à sua biocompatibilidade, os materiais derivados da quitosana estão despertando interesse devido ao seu potencial em melhorar o crescimento das plantas, ao mesmo tempo em que aumentam a tolerância a pragas e patógenos (Yu *et al.*, 2021). Este material pode ser utilizado como cobertura biodegradável do solo, em filmes de revestimento, em nanopesticidas, nanofertilizantes e como reguladores de crescimento de plantas (Lv *et al.*, 2023).

Na proteção de plantas, a quitosana desempenha um papel crucial ao combater bactérias, fungos e insetos. Assim, esse material é utilizado como revestimento para nanopesticidas contra insetos como a formiga-de-fogo-vermelha (*Solenopsis invicta*), lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) e lagarta-desfolheadora *Spodoptera litura*, além de fungos como *Colletotrichum gloeosporioides*, *Rhizoctonia solani* e bactérias como *Acidovorax orizae* e *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* (Gong *et. al.*, 2023; Jian *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2023; Sreelatha *et al.*, 2022; Temoor *et al.*, 2021; Zheng *et al.*, 2022).

Estudos apontam que esse material desempenha um papel vital na mitigação de estresses abióticos, como estresse hídrico e salinidade. No contexto do estresse abiótico, a quitosana tem a capacidade de reduzir o estresse hídrico ao intensificar a atividade enzimática, promover a absorção de água pelas raízes e potencializar a atividade fotossintética (Sadak *et al.*, 2022). Sahfikan e colaboradores (2018) destacam que a quitosana pode proteger as plantas contra danos causados pelo estresse salino, aumentando a capacidade das atividades das enzimas antioxidantes.

A quitosana destaca-se como um material promissor no tratamento de sementes devido ao seu efeito de *priming*- mecanismo que induz um estado fisiológico que permite que as plantas respondam de maneira mais rápida e eficaz após a exposição a estresses bióticos ou abióticos, além de melhorar a taxa de germinação (Aranega-Bou *et al.*, 2014). Abdel-Aziz (2019) investigou o efeito das nanopartículas de quitosana como *priming* em sementes de *Vicia faba* e observou que o uso de concentrações baixas de quitosana aumentou a acumulação de enzimas antioxidantes e fenóis totais, o que é capaz de as sementes a tolerarem melhor condições de estresse oxidativo. Um experimento realizado com quitosana hidrosilada em sementes de alface demonstrou um aumento significativo na ramificação das raízes, na massa fresca das plantas, assim como nos teores de clorofila e carotenoides (Lyalina *et al.*, 2023). Godinez-Garrido e colaboradores (2021) utilizaram sementes de feijão e milho, que foram submetidas a revestimentos com diferentes concentrações de quitosana incorporadas com fungicida. Os resultados obtidos revelaram que a quitosana não apenas preservou a eficácia do fungicida, mas também se mostrou um revestimento altamente eficiente para a conservação das sementes durante o armazenamento. A quitosana também age como elicitador, promovendo a produção de

metabólitos bioativos, graças à capacidade biológica do material de estimular os mecanismos de defesa naturais das plantas e fortalecer sua resistência ao estresse (Chandran *et al.*, 2020; Stasińska-Jakubas; Hawrylak-Nowak, 2022). Plantas de *Solanurn lycopersicum* foram irrigadas com quitosana para determinar o papel desse material como elicitador de defesa no solo, visando prevenir ou gerenciar pragas e doenças das raízes de maneira sustentável. Os resultados revelaram que os exsudatos radiculares das plantas tratadas com quitosana conseguiram reduzir o crescimento de patógenos do solo em condições *in vitro* (Suarez-Fernandez, 2020).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dessa dissertação estão apresentados na forma de artigo.

ARTIGO

Optimizing Nutrient Delivery: Controlled Release of Nanofertilizers for *Eruca sativa* L.Camilla E. B. Pereira¹; Yolice P. M. Ruiz²; André Galembeck²; Valesca Pandolfi^{1*}¹ Department of Genetics, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil² Department of Fundamental Chemistry, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil**Abstract**

The extensive use of agricultural fertilizers can result in significant environmental impacts due to nutrient loss. It is estimated that approximately 40-70% of nitrogen, 80-90% of phosphorus, and 50-90% of potassium are not efficiently delivered to plants. This wastage contributes to eutrophication, soil compaction, and greenhouse gas emissions. To overcome these issues, this study aimed to synthesize and characterize chitosan-based nanofertilizers for delivering NPK (nitrogen, phosphorus, and potassium) to plants, using *Eruca sativa* as a model. Chitosan nanoparticles were synthesized using the ionotropic gelation method. To determine the most effective formulation, four nutrient concentrations were examined, ranging from 2.5 to 13.8 times lower in nutrient content compared to commercial fertilizer. Dynamic Light Scattering analyses revealed the hydrodynamic diameters of the chitosan particles ranging from 428 nm to 1.195 μ m. Zeta Potential measurements ranged from -8.22 to +3.83 mV. FTIR revealed evidence of cross-linking between chitosan and sodium tripolyphosphate (TPP). Thermograms showed that chitosan and chitosan NPs exhibited a dehydration phase at 30°C, while nanofertilizers showed the initial weight loss within the range of 160 to 190°C, indicating their superior thermal stability. The morphology of the particles was investigated by Scanning Electron Microscopy (SEM), revealing sizes ranging from 6 nm to 1.2 μ m. Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy (EDX) spectral maps revealed distinctions between the nanofertilizer treatments and unloaded chitosan nanoparticles. Approximately 4 g of commercial fertilizer (CF) were applied to each plant, whereas those treated with nanofertilizers received 1 mL of the suspension. To evaluate the influence of nanofertilizers on physiological parameters, measurements of height, leaf number, and chlorophyll content were conducted throughout the treatment period. N was quantified using the Kjeldahl method, and the P and K contents were determined by ICP-OES. Additionally, leaf samples were examined by SEM to investigate possible differences in surface structure. The growth rate of plants treated with commercial fertilizer was notably lower compared to those treated with nanofertilizers, with the higher NF level treatment showing a 92% increase over CF. The average number of leaves (end of treatment phase) developed in NF-treated plants was 8 leaves/plant, whereas CF-treated plants had around 6 leaves. All NF levels promoted significant increases in chlorophyll content, ranging from 8 to 29% higher than CF. Regarding NPK absorption, plants treated with NFs showed very similar results to those treated with CF. However, CF exhibited higher N and K content. Phosphorus analysis revealed that both NF loaded with maximum concentration of NPK and CF showed inferior results compared to the other treatments. The study suggests that plants do not require excessive nutrient amounts for their development, and significant savings in NPK can be achieved, thereby mitigating environmental impacts.

Keywords: Soil fertility. Brassicaceae. Nutrient uptake. Nanofertilizers.

INTRODUCTION

Projections indicate that the world population is expected to reach 9.8 billion in 2050 and might be over 11 billion in 2100.¹ To meet the demands of a growing global population, there is a requirement to improve food production by 70% by the year 2050.² Brazil holds a pivotal position in global food production, ranking among the top four worldwide,³ standing as the fourth-largest exporter of key grains such as rice, barley, soybeans, corn, and wheat.^{4, 5}

In contrast, Brazil's soils are poor in the macronutrients, N, P and K.⁶ To enhance crop productivity and nutrient efficiency, it is necessary to supply the soil with essential macronutrients incorporated within fertilizers.⁷ However, it's noteworthy that the country relies on imports to meet approximately 80% of its agricultural fertilizer demand.⁸ According to Statista, since 2015, Brazil has presented a linear growth in fertilizer consumption, reaching over 19 million tons in 2021.⁹ Recently, Brazil was listed as the leading importer of fertilizers by value in 2022, totaling 25 billion dollars.¹⁰ This dependence on international fertilizer sources underscores the country's vulnerability to global market fluctuations.

Nitrogen is a structural element, forming organic compounds like amino acids, proteins, and nucleic acids. Part of the protein structures and is also a regulatory element in the synthesis reactions.¹¹ N deficiency can diminish plant height and result in chlorosis.¹² Phosphorus is essential at the cellular level for its physiological and biochemical functions, including nucleic acid synthesis and energy generation. It also participates in absorption optimization and water use efficiency.¹³ Potassium (K^+) stands as the most abundant cation in the plant cytoplasm, and it has essential functions in plants, such as stomata movement, photosynthesis, and hydric potential.^{14,15}

Farmers tend to overapply agrochemicals to overcome nutrient deficiency, resulting in a significant loss of nutrients.¹⁶ Maintaining a balance in applying these nutrients is crucial due to the issue of nutrient wastage. It's estimated that 40-70% of nitrogen, 80-90% of phosphorus, and 50-90% of potassium are not effectively delivered to plants.¹⁷ This loss can be attributed to physical and chemical processes, such as leaching and volatilization.

Excessive exposure to these nutrients in the soil and water bodies can have adverse effects on the environment. For example, can decrease soil pH and exacerbate the availability of heavy metals.¹⁸ Additionally, it can lead to soil compaction, reducing soil porosity and aeration.¹⁹ In aquatic environments, this can trigger a chain reaction: the high availability of nitrogen can lead to a eutrophication, characterized by an overgrowth of algae and plants that eventually decompose, resulting in the overaccumulation of carbon dioxide and subsequent

acidification.²⁰

To overcome the excessive application of fertilizers and mitigate environmental impacts, the nanotechnology is being considered as alternatives to provide slow and controlled release of nutrients. Nanomaterials differ from bulk materials because it increases their features and are easier to penetrate plant structures due to their size, and high surface area, increasing the absorption of nutrients.²¹ NFs can be based on biodegradable polymers such as chitosan, which is an biodegradable biopolymer.²² Their application can occur via soil or foliar application, offering efficient delivery of macronutrients to plants.²³ *Eruca sativa* L. (also known as Arugula) is classified as a leafy vegetable belonging to the Brassicaceae family and has attracted growing interest due to its unique flavor profile and nutritional richness.²⁴ Furthermore, the economic significance attributed to *E. sativa* underscores the need for enhanced development of these crops.²⁵ Moreover, its short life cycle makes it a desirable plant for investigation. This study aimed to synthesize and characterize chitosan-based nanofertilizers loaded with nitrogen, phosphorus, and potassium concentrations and apply them to *E. sativa* crops in a greenhouse to assess their impact on plant physiology and nutrient uptake. This research aims to address environmental concerns related to the excessive use of commercial fertilizers by reducing the amount of nutrients applied to crops while mitigating potential environmental damage.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals

Arugula seeds (cv. Broad leaf) were purchased from Feltrin®. Chitosan (low molecular weight) and urea ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) were purchased at Sigma-Aldrich. Sodium tripolyphosphate (TPP), potassium nitrate (KNO_3), monopotassium phosphate (KH_2PO_4), and glacial acetic acid were purchased at Dinâmica.

Synthesis of chitosan nanoparticles loaded with N, P, and K precursors

Chitosan nanoparticles (CSNPs) were synthesized using the ionotropic gelation method²⁶, which consists of the ionic interaction between chitosan and a crosslinking agent. Initially, 1.10 g of chitosan was dissolved in water, the volume of which depended on the nanofertilizer level described in **Table 1**, along with 750 μL of acetic acid. The solution was subsequently

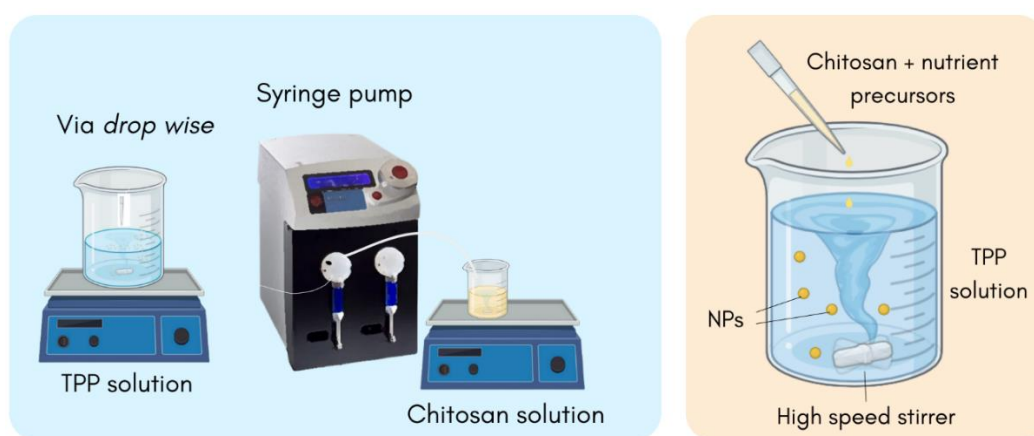
stirred overnight using a magnetic stirrer set at 450 rpm. A 1.1 g/L sodium tripolyphosphate aqueous solution was prepared to act as the crosslinker agent. Macronutrient precursors: urea ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$), potassium nitrate (KNO_3), and potassium dihydrogen-phosphate (KH_2PO_4) were added to the chitosan solution at four concentrations of nutrient loads (NF1, NF2, NF3, and NF4). NF1 contains the highest NPK concentration among the nanofertilizers, with 2.5 times less NPK than commercial fertilizer, followed by NF2 (3.4x), NF3 (6.9x), and NF4 (13.8x). The description of nutrient loads is in **Table 1**.

Table 1. Macronutrient concentrations in NFs synthesis per treatment and volume of water.

Samples	Mass (g)			Water (mL)
	$\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$	KH_2PO_4	KNO_3	
CSNPs	-	-	-	100
NF1	3.90	0.54	5.99	82.49
NF2	2.60	0.36	3.99	91.66
NF3	1.30	0.18	2.00	100.83
NF4	0.65	0.09	1.00	105.42

Additionally, CSNPs were synthesized as a control group for comparison purposes. Finally, the Atlas Syringe Pump by Syrris was used to precisely control the dropwise addition at a rate of 0.42 mL/min. During the synthesis process, the TPP solution was continuously stirred at a rate of 650 rpm while receiving the chitosan droplets from a dropping height of 6 centimeters (**Figure 4**).

Figure 4. Synthesis of nanofertilizers using a syringe pump to add chitosan-NPK solution into a TPP solution under constant stirring, forming nanoparticles through interaction of chitosan and nutrient precursors.



Source: The author (2024)

Characterization of chitosan-NPK nanoparticles

Hydrodynamic diameters and Polydispersity Indexes were evaluated utilizing the Nanobrook series by Brookhaven, employing the NNLS method at a 15° angle. Zeta potentials

were measured using a Malvern Zetasizer equipment. Sonication was done to disperse the particles more effectively before measuring. pH measurements were conducted using a Gehaka pHmeter. Scanning Electron Microscopy (SEM) was performed using the Tescan Mira3. 150 μL of each solution was added to 1 mL of water, then, a droplet was placed onto a SEM stub to dry at room temperature overnight, and the stubs were gold coated before imaging for signal enhancement. The overall size of NPs in SEM micrographs was analyzed by ImageJ.

To assess nutrient distribution in the synthesized NPs and NFs, Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy (EDX) was used to acquire elemental maps. Thermogravimetric Analysis (TGA) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) were used to assess thermal stability and infrared properties, respectively. Before both analyses, the solutions were centrifuged at 12,000 rpm for 5 min. The supernatant was then discarded, and the sediment was oven-dried overnight and grinded.

After grinding the dried pellets, KBr-supported samples were prepared for analysis using the Shimadzu IRSpirit to acquire the infrared spectra. Six groups were analyzed, including the four loads of nanofertilizers, CSNPs, and pure chitosan. The wavelength range of 400-4000 cm^{-1} was utilized, with a resolution of 4 cm^{-1} .

Thermogravimetric analyses were carried out utilizing the Shimadzu DTG-60H. A dried pellet of the synthesized material, weighing approximately 10 mg, was exposed to temperatures ranging from 30 to 800°C. The analyses were conducted at a heating rate of 20°C/min.

To confirm that the particles were charged with NPK, triplicates from each synthesis were analyzed using the Kjeldahl Nitrogen Distiller by Tecnal to determine N levels. The Perkin Elmer Optima 7000DV was employed to quantify P and K content. Additional information regarding sample preparation can be assessed further in this section.

Nanofertilizers experiments

This study was conducted in a greenhouse of the LGBV (Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal/ UFPE) in Recife, Pernambuco, Northeast region of Brazil (8° 3' S, 34° 54' W), between September and November 2023. Arugula (Broad Leaf Cultivar, Feltrin®) seeds were planted in 64-well seed trays, and 8 seeds were placed in each well to germinate. Five seedlings with three leaves (~7 days) were transplanted into pots (5 kg) containing a mixture of enriched soil and vermiculite (1:1), to enhance soil aeration. A total of seven groups were utilized: four concentrations of chitosan-based nanofertilizers (NF1, NF2, NF3, NF4), commercial fertilizer (CF), chitosan NPs (CSNPs), and negative control (NT). Each group

consisted of 40 plants, resulting in a total of 280 plants. All groups were watered twice a day due to weather conditions in Recife (ranging from 27 to 31° C). The application of NFs was performed in four weeks, on Mondays, during the early morning hours. To each pot, a total of 55 mL of nanofertilizer solution was applied in the soil. The bulk solutions to each pot were formulated by diluting 5 mL of concentrated nanofertilizer with 50 mL of deionized water. Each plant received 1 mL of NF, as the application took 4 weeks, a total volume of 4 mL was applied. While for the application of commercial fertilizer (Forth® Hortalıças) 16 g was applied according to manufacturer's guidelines. CSNPs were applied following the NFs application, at a ratio of 1:10. Negative control plants did not receive fertilizers throughout the experiment.

Growth Parameters and Harvesting

Chlorophyll content was determined using a digital chlorophyll content meter, SPAD-502 Plus, by Minolta. Three distinct spots on a leaflet were measured, and the equipment provided the average chlorophyll content. Plant height was determined by measuring from the base of the stem to the plant's apical meristem using a graduated ruler. The number of leaves was counted by considering leaves with more than 3 centimeters. To ensure the plants were adequately prepared for Shoot Dry Mass (SDM) analysis and subsequent digestion, the following steps were taken: after harvesting, the plants underwent a cleaning process involving washing with a 0.01% detergent solution followed by three rinses with distilled water; subsequently, they were dried using paper towels, wrapped in Kraft paper, and subjected to oven drying at 45°C for 3 days until a constant weight was achieved. After drying, the plants were weighed using an analytical balance to obtain the SDM. Finally, the dried plants were processed using the IKA A11 analytical mill.

Leaves preparation for Scanning Electron Microscopy

After harvesting, 2 cm of plants from the negative control treatment and NF1 leaves were cut and immersed in a fixative. Chemical fixation, dehydration, and sample embedding techniques were employed to prepare the samples for scanning electron microscopy (SEM) analysis.

Digestion Procedure for Chitosan Nanoparticles and Plant Samples

Triplicates of all synthesis suspensions and milled plant material underwent digestion in a dedicated digestion block. To analyze NFs, 2 mL of the NP suspension was utilized, while for the plant samples, 250 mg of milled plant material was introduced into Kjeldahl tubes. Subsequently, 5 mL of sulfuric acid was added to each tube, and the mixture was heated to 350°C for 30 minutes. After allowing the samples to cool, 0.5 mL of peroxide acid was added intermittently, and the solution was heated again for 8 minutes until the solution became transparent. Thereafter, an additional 30 minutes were dedicated to eliminating any remaining peroxide acid. The resulting solution was then transferred into 50 mL volumetric flasks and diluted with Milli-Q water to its final volume.

Sample Preparation for Nitrogen Determination in Kjeldahl Method and Plant Material ICP-OES

The details for solution preparation for this analysis can be found in the supporting information section. For nitrogen quantification, 20 mL of the sample solution was added to a digestion tube and attached to a digestion apparatus. 10 mL of boric acid solution containing the mixed indicator was added to a 125 ml Erlenmeyer flask. Afterward, 10 mL of 13N NaOH was added directly to the addition funnel of the distiller, and the tap was opened to allow the solution to incorporate with the contents of the digestion tube. Following this, 1 mL of water was added. The distillation proceeded for 7 minutes until the solution in the Erlenmeyer flask turned green and reached a volume of 50 mL. The sample was then titrated with HCl 0.07143N until the color transitioned from green to light pink. The following equation was used to determine total nitrogen:

$$Nw \times HCl (VHCl-Blank)/Msample \times 100$$

Where:

Nw - Nitrogen Molecular Weight

HCl - Concentration of HCl;

VHCl - Volume of HCl used in titration;

B - Blank (0,06);

Msample - Sample mass used in digestion.

Sample preparation for the determination of P and K using Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES)

The digestion process involved adding 0.250 μL of nanoparticles to 1.5 mL of concentrated nitric acid in a 25 mL volumetric flask. The mixture was subjected to constant stirring at 60°C for 4 hours. This controlled environment facilitated the breakdown of the nanoparticles, ensuring thorough digestion and preparation for further analysis. The standards were diluted to obtain eight calibration curve points within the range of 0-80 ppm for phosphorus and 0-30 ppm for potassium in mg/L. The samples underwent a 20-fold dilution process to analyze phosphorus and potassium using ICP-OES. Precisely, 1.250 μL of the sample was added to a volumetric flask, and the volume was adjusted to 25 mL with a 5% nitric acid solution.

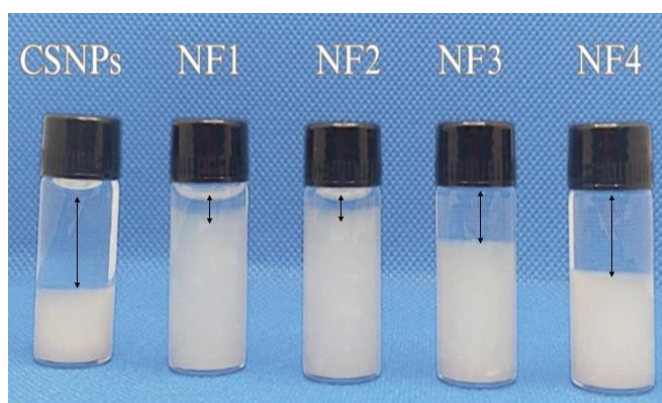
Statistical Analysis

Statistical analysis was performed utilizing GraphPad Prism 8.0 software. Significant differences were evaluated by one-way ANOVA analysis, with significance set as $p < 0.05$. Synthesis assays were conducted in triplicate, while the plant experiment utilized 40 plants per treatment to ensure the reliability of the data.

RESULTS AND DISCUSSION

The suspensions exhibited different levels of precipitation, leading to a biphasic appearance. **Figure 5** illustrates the nanofertilizers a week post-synthesis.

Figure 5. Visual comparison of synthesized chitosan nanoparticles (CSNPs) and nanofertilizers (NF1, NF2, NF3, and NF4) in suspension. Note the varying degrees of precipitation at the bottom of the flasks. CSNPs, lacking incorporated nutrients, exhibit the least.



CSNPs, which represent chitosan nanoparticles without incorporated nutrients, displayed lower precipitation at the bottom of the flask. The findings presented in this study are consistent with those reported by Shafiei *et al.* (2019) where chitosan NPs synthesized by ionotropic gelation resulted in an opalescent solution, and by adding extra amounts of TPP, the NPs showed aggregation.²⁷ Bangun and colleagues observed that a chitosan concentration of 1% leads to an immediate precipitation in the NPs suspensions that can be easily dispersed.²⁸ The suspensions did not present any negative aspects regarding their application on the plants.

Characterization of Nanofertilizers and Chitosan NPs

The hydrodynamic diameter measured by DLS is within the expected range for chitosan particles obtained through ionotropic gelation. It is important to highlight that the hydrodynamic size does not represent the real size of the particles in the solution; thus, the Polydispersity Index (PDI) is used as a parameter for homogeneity. The characteristics of nanofertilizers are presented in **Table 2**.

Table 2. Characteristic of nanofertilizers: Hydrodynamic diameter (nm) by DLS, Polydispersity Index (PDI), surface charge (mV) by Zeta Potential (ZP), and pH.

Samples	Characterization			
	DLS (nm)	PDI	ZP (mV)	pH
CSNPs	428.35 ± 0.29	0.32 ± 0.21	-5.69 ± 0.32	4.97
NF1	862.60 ± 0.68	0.37 ± 0.22	-8.22 ± 0.25	4.87
NF2	835.75 ± 0.35	0.13 ± 0.18	2.96 ± 0.21	4.89
NF3	1195.68 ± 0.39	0.23 ± 0.03	3.83 ± 0.61	4.91
NF4	653.76 ± 0.34	0.36 ± 0.19	3.06 ± 0.48	4.87

CSNPs showed a lower hydrodynamic diameter, which might be due to the absence of incorporated nutrients. While nanofertilizers presented a high hydrodynamic diameter, ranging from 653,76 nm to 1195,68 µm. The findings presented here contrast with those reported by Kumaraswamy and colleagues, who developed chitosan-silicon nanofertilizers exhibiting a diameter of 360 nm.²⁹ Additionally, Elshayb *et al.* synthesized urea-chitosan nanofertilizers and obtained 26.33 nanometers of hydrodynamic diameter.³⁰

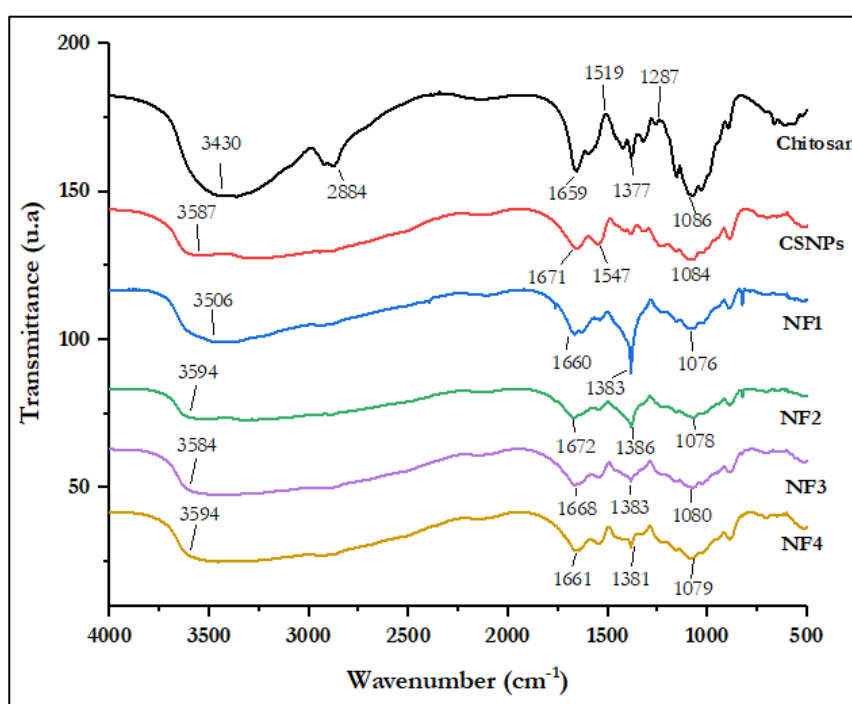
As mentioned earlier, Zeta Potential (ZP) is used to observe the surface charge of the nanoparticles. Chitosan particles usually exhibit a high and positive charge, NF2, NF3, and NF4 results were satisfactory in this regard. However, CSNPs and NF1 presented a negative charge,

-5,69 and -8,22, respectively. pH is one of the most important factors that affect Zeta Potential and size of the NPs, according to Thakur et al., if an acidic solution is added to a nanofluid, the pH will decrease and will increase the positive charges on particle surface.³¹ However, Khan et al. observed that within the pH range of 4.5 to 6.0, the nanoparticles exhibited a tendency to decrease their Zeta Potential.³² This suggests that the positive surface charge of chitosan is being shielded, possibly due to the reorganization of the molecular structure or the adsorption of other negatively charged ions at low pH levels.³³ Karimi et al. after synthesizing chitosan-TPP-p-shRNA noted that surface charge ranged from -5 to $+50$ mV.³⁴ This last result aligns with those found by Ye and Chen, as they observed that at an acidic pH of 4.0, chitosan/whey protein isolate dispersions had a zeta potential of around $+50$ mV.³⁵

Fourier-transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

FTIR relies on identifying functional groups within molecules, which vibrate differently when exposed to specific wavelengths of light. The FTIR spectral information of chitosan, CSNPs and nanofertilizers are represented in **Figure 6**.

Figure 6. Comparison of FTIR spectra for chitosan, chitosan nanoparticles (CSNPs), and four nanofertilizer formulations (NF1, NF2, NF3, and NF4). The spectra reveal variations in peak intensities and positions, indicating differences in the chemical composition.



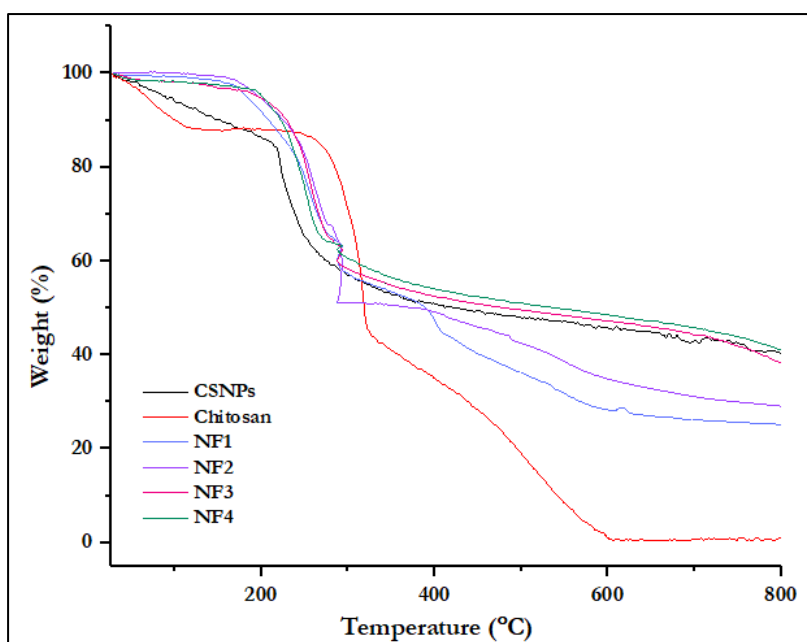
The broad band at 3430 cm^{-1} in chitosan spectra is attributed to the stretching vibrations

of –OH groups in water and hydroxyls, and the stretching vibrations of NH₂ groups in free amino groups. The peak is sharper in CSNPs, and NFs due to the enhancement of hydrogen bonds. The band at 2884 cm⁻¹ in chitosan spectra corresponds to the asymmetric stretching of CH₃ and CH₂. The CH bending peak at 1380 cm⁻¹ becomes weaker as the NF level decreases.

Thermogravimetric Analysis (TGA)

Thermal maps corresponding to chitosan and its derivatives are shown in **Figure 7**.

Figure 7. TGA thermograms illustrating the thermal decomposition behavior of chitosan, chitosan nanoparticles (CSNPs), and nanofertilizer formulations (NF1, NF2, NF3, and NF4). The curves depict the percentage weight remaining as the samples are heated from ambient temperature to 800 °C.



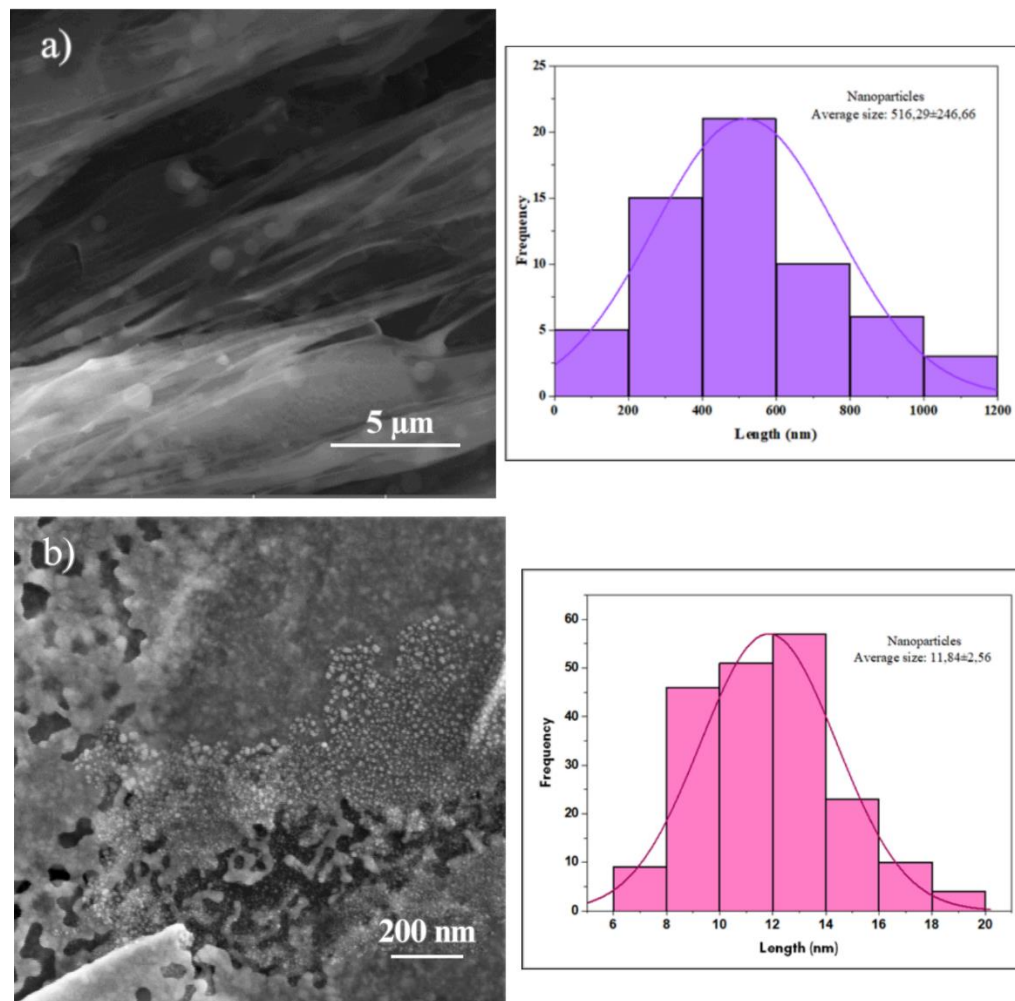
The initial weight loss of pure chitosan occurs at 30°C, resulting in a 12% reduction in mass. The second degradation event, associated with the decomposition of the main polymeric chains of chitosan, takes place at 250° C, leading to a loss of 14% in mass. The complete degradation occurred at 600°C. CSNPs behaved similarly to chitosan, especially regarding the initial mass loss at 30°C. All nanofertilizers followed similar patterns of weight loss during the initial degradation phase, starting at 168° C for both NF1 and NF2. For NF3 and NF4, the weight loss occurred at temperatures of 186° C and 194° C, respectively. Decomposition phase for NFs were also alike, degrading at around 280° C. Dey and colleagues observed that the first weight loss step of chitosan occurred in a temperature range of 22 to 100° C.³⁶ While Hosseini and colleagues observed chitosan and chitosan NPs first weight loss starting from 25° C to 150° C.³⁷ The presence of phosphate groups (P=O and P-O) within chitosan nanoparticles (NPs)

leads to reduced degradation compared to pure chitosan. These results showed that chitosan nanofertilizers have more thermal stability than chitosan NPs and chitosan.

Scanning Electron Microscopy

The spherical shape of chitosan nanoparticles possesses the highest surface area that is suitable for loading NPK nutrients on the surface of the nanoparticles. SEM micrographs obtained through Scanning Electron Microscopy (SEM) revealed significant variability in particle sizes (**Figura 8**).

Figura 8. Scanning electron microscopy (SEM) images of nanofertilizers at different magnifications: (a) low magnification (scale bar: 5 μm) showing a general overview, and (b) high magnification (scale bar: 200 nm) revealing individual nanoparticles.



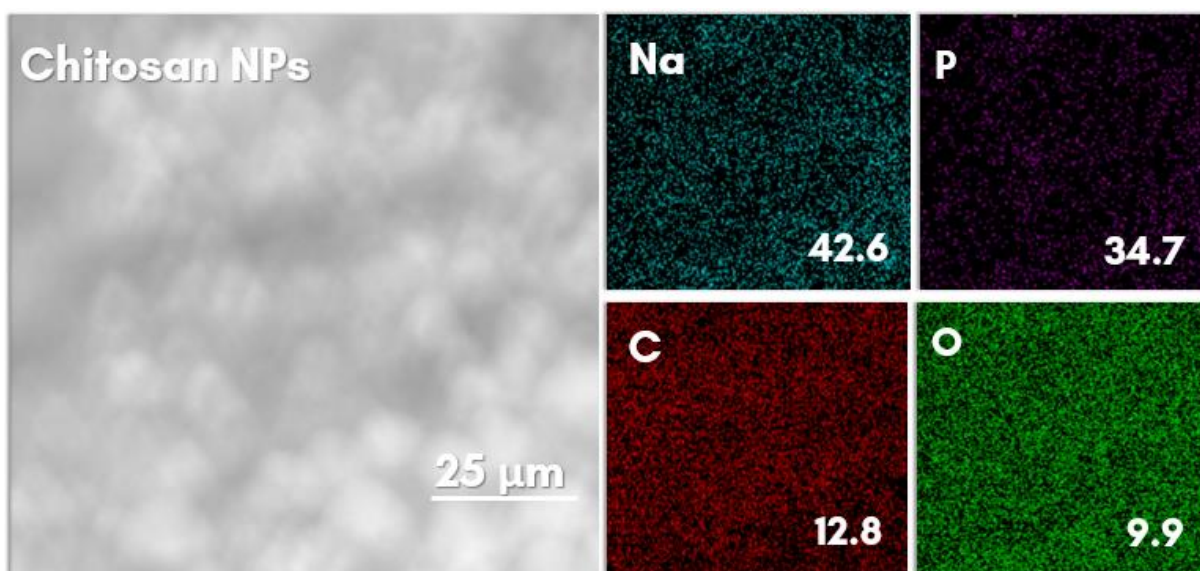
The smallest nanoparticles (NPs) ranged from 6 to 20 nanometers, while the largest ones reached up to 400 nm. These findings contrast with the results of the hydrodynamic size analysis of this study, which predominantly indicated micrometer-sized particles. This finding aligns

with those reported by Araujo *et al.*, who observed a sphere-shaped structure with a smooth surface in selenium-loaded chitosan nanoparticles.³⁸

EDX analysis

The elemental composition of CSNPs and nanofertilizers were confirmed by EDX and noticeable increases in specific elements were observed corresponding to each treatment. Alongside the elements of primary interest (N, P, and K), elevated concentrations of other elements, including oxygen, carbon, and sodium, were detected in the samples. Sodium was detected in all EDX images, reflecting its presence as one of the chemicals used during synthesis. **Figura 9** illustrates a homogeneous distribution, indicating that a significant portion of the sample is comprised of oxygen and carbon, which aligns with expectations given the chemical composition of the polymer.

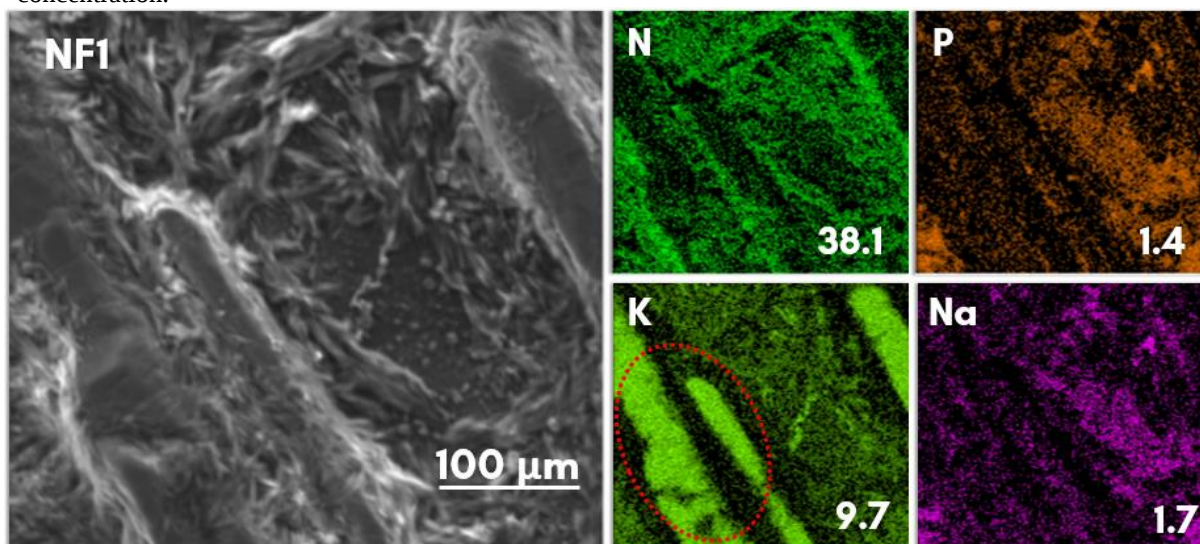
Figura 9. Elemental mapping of chitosan nanoparticles (NPs) lacking nutrient precursors, obtained via EDS. The distribution of sodium (Na, 42.6%), phosphorus (P, 34.7%), carbon (C, 12.8%), and oxygen (O, 9.9%) is shown. The overview image of the chitosan NPs has a scale bar of 25 μ m. Percentages indicate the relative atomic concentrations of each element.



Despite the absence of nutrient precursors incorporated nutrients during synthesis, phosphorus, and sodium are present, likely resulting from the inclusion of sodium tripolyphosphate in the synthesis process. The elemental map (**Figura 9**) indicates that 12.8% of its composition is carbon, while 9.9% is phosphorus. Potassium, which was not employed in the synthesis of CSNPs, was not detected in the spectra, as expected. **Figura 10** depicts the elemental map of NF1, which has the higher concentration of NPK. NF1 exhibited a high

concentration of potassium, as evidenced by the three light green distinct strips observed in the figure.

Figura 10. Scanning electron microscopy (SEM) image of the nanofertilizer NF1, accompanied by energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) elemental maps showing the distribution of nitrogen (N, 38.1%), phosphorus (P, 1.4%), potassium (K, 9.7%), and sodium (Na, 1.7%). NF1 exhibited the highest nutrient concentration.

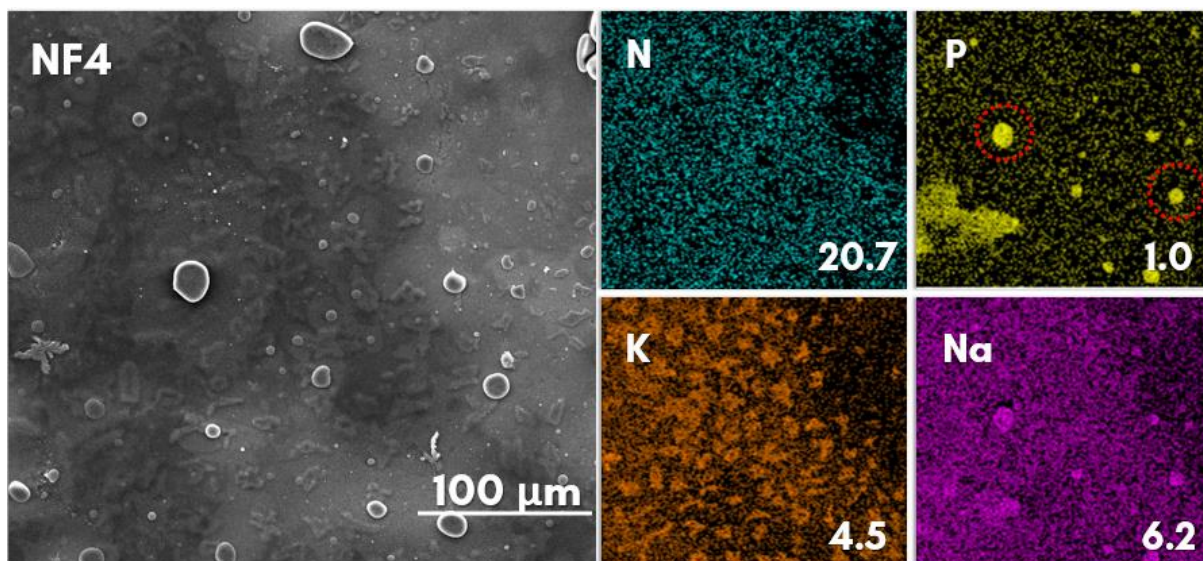


Nitrogen constitutes the predominant element in NF1, accounting for 38% of its composition, followed by potassium (9.7%), and phosphorus (1.4%). NF4 exhibited distinct particles ranging from 2 to 9 micrometers in size.

Figura 11 illustrates the elemental spectra of NF4. The nitrogen concentration in NF4 is 45.6% lower than in NF1, consistent with the nutrient incorporation during synthesis. Additionally, disparities in other nutrients are evident. Specifically, the phosphorus content in NF4 was 28.5% lower compared to NF1, while the potassium content was 53.6% lower when compared to the nanofertilizer incorporated with the higher amount of NPK.

Figura 11. Elemental mapping of nanofertilizer NF4, which exhibited the lowest nutrient concentration. Maps show the distribution of nitrogen (N, 20.7%), phosphorus (P, 1.0%), potassium (K, 4.5%), and sodium (Na,

6.2%).



Physiological Parameters

Growth data for arugula plants treated with chitosan-based nanofertilizers and control plants, such as number of leaves, plant height, chlorophyll content, and shoot dry mass observed after 60 days of treatment are shown in **Table 3**. Detailed information about the performance of the treatments throughout the experiment can be found in the Supporting Information section.

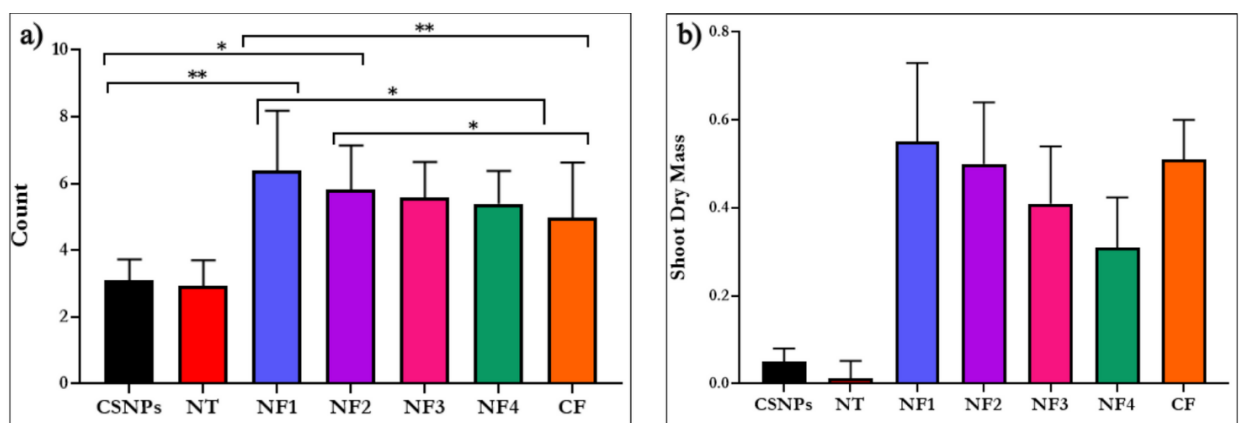
Table 3. Impact of different fertilizer treatments on *Eruca sativa* growth. Plants were treated with chitosan nanoparticles (CSNPs), four different nanofertilizer formulations (NF1-NF4), a commercial fertilizer (CF), or left untreated as a negative control (NT). Growth parameters - number of leaves (NL), plant height (PH), chlorophyll content (CFL), and shoot dry mass (SDM) - were measured before treatment application and 60 days after sowing to assess treatment effects.

Treatments	Before application			60 days after sowing			
	NL	PH (cm)	CFL	NL	PH (cm)	CFL	SDM (g)
CSNPs	2.1	2.57	---	3,58	6,23	---	0,05
NF1	4.05	6.52	32,52	8,35	16,98	37,20	0,55
NF2	3.88	6.07	31,86	7,30	17,08	36,30	0,50
NF3	3.93	6.13	30,34	6,55	16,16	33,36	0,41
NF4	3.88	6.20	29,07	6,20	14,51	37,67	0,31
NT	2.05	2.47	---	3,70	3,22	---	0,51
CF	3.25	5.04	24,94	6,75	8,83	30,28	0,01

In the Commercial Fertilizer (CF) treatment, significant plant mortality was observed over the 60-day experimental period (**Figure S2**). Out of the initial 40 individuals planted, 36 perished during the experiment. The mortality was characterized by stem dehydration and chlorosis of older leaves, likely due to the elevated temperatures recorded during the study. Weather data indicated temperatures ranging from 27 to 31° C throughout the experimental period, which can be characterized as drought and heat stress. Conversely, when comparing these outcomes with those of the nanofertilizer (NF) treatment, it is evident that NF-treated plants sustained vitality throughout the experiment, suggesting that chitosan-based nanofertilizers could mitigate heat stress in plants (**Figure S3**). According to Trevisoli and colleagues, arugula is a sensitive crop regarding climate conditions.³⁹ Symptoms of heat stress in plants, such as leaf senescence or chlorosis resulting from a decline in chlorophyll content, have been observed in other plants from the Brassicaceae family, such as *Arabidopsis thaliana* and lettuce.^{40, 41}

Number of leaves is a growth parameter that can serve as an indicator of plant health status and influence growth rate.⁴² Results in **Figure 12** regarding the number of leaves showed that NF1 had the highest count of leaves, alongside NF2, presenting 8.3 and 7.3 leaves/plant, respectively.

Figure 12. Physiological parameters of *Eruca sativa*: a) number of leaves; b) shoot dry mass of plants treated with chitosan nanoparticles in comparison to commercial fertilizer. Only significant differences ($p < 0.05$) are shown below.

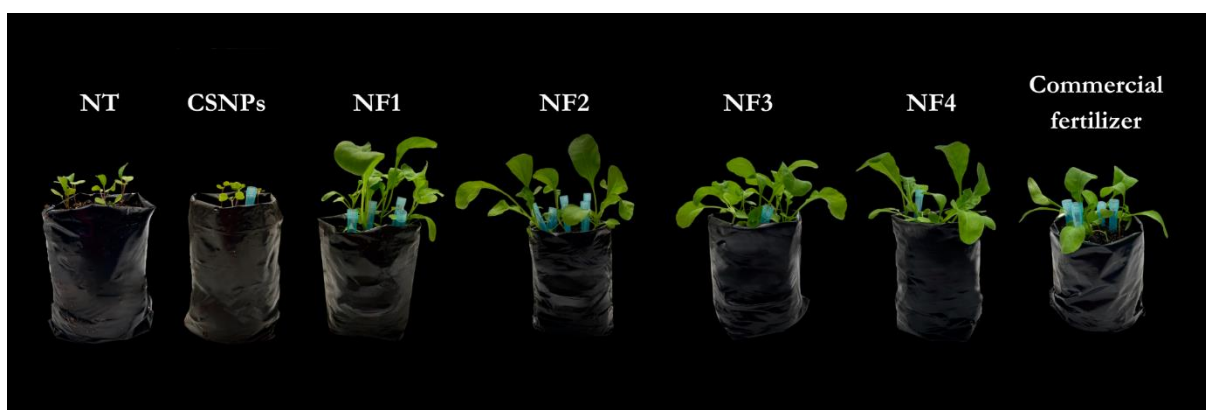


However, these two treatments did not exhibit statistical significance. Despite this, a marked distinction was observed between NF1, NF2, and the commercial fertilizer treatment, which recorded 6.7 leaves. These results are consistent with those reported by Silva *et al.*, who applied different nitrogen contents in arugula crops and obtained 10 leaves/plant in the summer and 9.1 leaves in the fall season.⁴³ However, they differ from those presented by Bennet and

colleagues, who explored a coating in urea compared to normal fertilization and obtained 5.7 leaves/plants for both treatments.⁴⁴

Exploring an organic system, Silva and collaborators observed that, in the summer season, the broad-leaf cultivar of arugula presented 8.1 leaves per plant during their experiment with different cultivars.⁴⁵ The decrease in the number of leaves per plant could potentially be attributed to phosphorus deficiency, along with a reduction in leaf expansion.⁴⁶ This effect is particularly noticeable in plants treated with CSNPs and those from the negative control group (**Figura 13**). An increased count of leaves is more advantageous for the market as it is more appealing to consumers, who prefer to buy a product with a higher quality.

Figura 13. Visual comparison of *Eruca sativa* plants at the 30-day growth stage under various treatments: non-treated control (NT), chitosan nanoparticles (CSNPs), four nanofertilizer formulations (NF1, NF2, NF3, NF4), and commercial fertilizer.



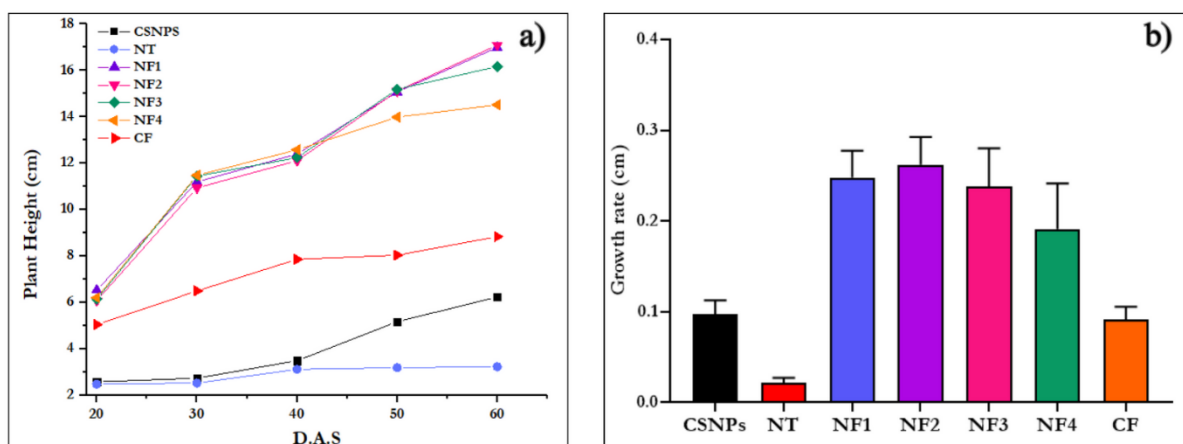
Notably, plants subjected to no treatment exhibited the lowest SDM at 0.012 grams. In contrast, those treated with chitosan nanoparticles (NPs) displayed superior SDM at 0.05 grams. Among the nutrient formulations (NFs), NF1 demonstrated the highest performance with 0.55 grams per plant, followed by NF2 (0.50 g/plant), NF3 (0.41 g/plant), and NF4 (0.31 g/plant). The commercial fertilizer treatment resulted in an SDM of 0.51 grams per plant, with no significant difference ($p < 0.05$) observed compared to other treatments.

The study by Boonlertnirun et al. noted that the application of polymeric chitosan in a rice cultivar led to increased dry matter accumulation, supporting the findings of the experiment.⁴⁷ Furthermore, Li et al. observed that chitosan promoted the accumulation of shoot biomass of dry weight by 24% in comparison to the control group.⁴⁸ This underscores the direct positive impact of chitosan itself in plants, which explains the difference between plants treated by CSNPs and NT.

Plant height data (**Figura 14**) revealed that NF2 exhibited the highest height and growth rate within 60 days of treatment. However, it is important to note a significant difference

compared to the commercial fertilizer, as the growth rate was 0.09, whereas the growth rates for NFs ranged from 0.19 to 0.25 cm.

Figure 14. Growth response of *Eruca sativa* to nanofertilizers and commercial fertilizer. (a) Plant height (cm) as a function of time (DAS) for plants treated with chitosan nanoparticles (CSNPs), nanofertilizers (NF1-NF4), a non-treated control (NT), and commercial commercial fertilizer (CF). (b) Comparison of average growth rates (cm/day) among the different fertilizer treatments.

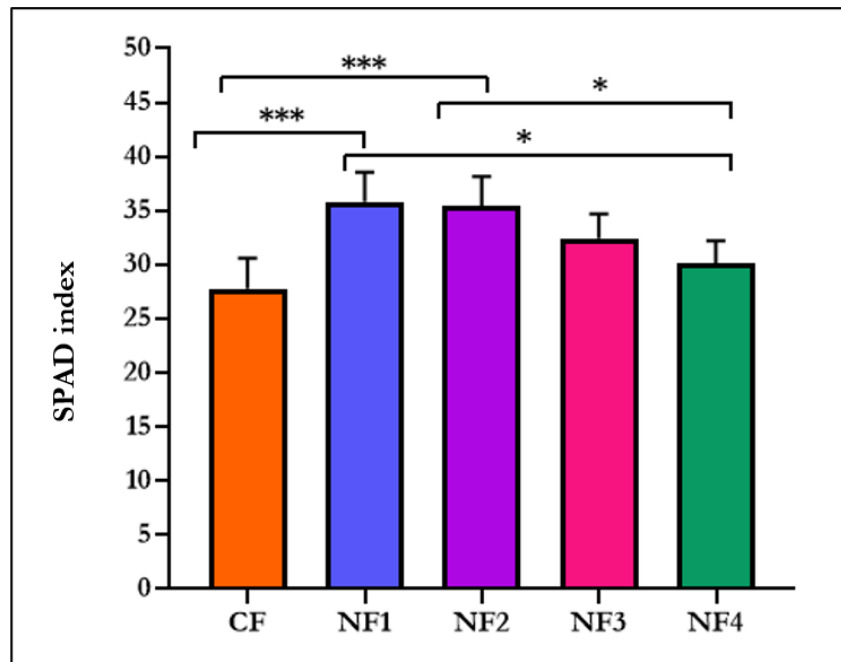


In their study, Oliveira and colleagues observed that the plant height of specimens treated with mineral fertilizers reached 18 cm.⁴⁹ Plant height not only determines the mechanical stability of many crop plants but also serves as a crucial morphological and developmental trait.⁵⁰ It directly reflects overall plant growth and frequently acts as a reliable predictor of final grain yield and biomass.⁵¹ Although there were differences between plant height of nanofertilizers and commercial fertilizer, there were no significant differences observed in shoot dry mass, as observed previously.

Chlorophyll is a natural green pigment present in photosynthetic organisms like plants and algae.⁵² It is one of the most important bioactive compounds, known for its beneficial effects on health attributed to anti-inflammatory and anti-cancer properties.^{53,54} It also indicates the photosynthetic capacity, growth stage, and nitrogen status of plants.⁵⁵ The results shown in **Figure 15** indicate the average on SPAD index of CF and NFs.

Figure 15. Average SPAD index of *Eruca sativa* treated with nanoparticles. Only significant differences ($p <$

0.05) are shown below.



Plants treated with CSNPs, and NC (negative control) could not be measured by SPAD due to the small leaf area, the equipment could not reach the leaf perfectly without risking damage to its structure. Plants treated with commercial fertilizer exhibited the lowest chlorophyll index, measuring 27.8 ICF, whereas NF1, NF2, NF3, and NF4 showed indices of 35.8, 35.4, 32.5, and 30.1, respectively. Overall, all levels of NFs increased chlorophyll content, surpassing CF by 29%, 27%, 16%, and 8%, respectively. Despite commercial fertilizers containing higher nitrogen levels, nanofertilizers with minimal concentrations proved to be more effective. Specifically, NF1 and NF2 exhibited significant differences.

These findings contrast with those presented by Silva *et al.*, who observed that higher nitrogen rates increased the chlorophyll index of arugula.⁵⁶ Nonetheless, the observed correlation among the four levels of nanofertilizers could be linked to nitrogen application, suggesting a linear relationship between nitrogen rate and chlorophyll content. This association underscores the pivotal role of chlorophyll and effective nitrogen use in determining the final crop yield.⁵⁷

Table 4 displays the nutrient concentrations of CSNPs, NFs, and CF across all four applications over the 60-day experiment. Each application involved 4 mL of each NF, compared to 16 g of commercial fertilizer (CF)

Table 4. Comparison of nutrient uptake efficiency in *Eruca sativa* treated with nanofertilizers. This table presents the total nitrogen (N), phosphorus (P), and potassium (K) applied (mg/L) via four applications of chitosan nanoparticles (CSNPs), nanofertilizer formulations (NF1-NF4), or a commercial fertilizer (CF). The resulting N, P, and K concentrations (mg/L) in plant tissues were measured 60 days after the initial treatment.

Treatments	Total NPK applied (mg/L)			Nutrient concentration in plants (mg/L)		
	N	P	K	N	P	K
CSNPs	40,8 ± 10,1	206,7 ± 5,4	445,1 ± 113,0	15971,3 ± 469,3	30,5 ± 0,6	194,3 ± 5,9
NF1	380,5 ± 19,6	285,9 ± 26,6	1595,3 ± 131,1	32820,5 ± 573,8	15,0 ± 0,2	414,4 ± 5,0
NF2	290,0 ± 14,6	290,2 ± 4,7	1301,9 ± 32,5	31090,3 ± 603,4	10,1 ± 0,3	394,8 ± 5,8
NF3	164,8 ± 17,3	259,5 ± 9,5	780,0 ± 79,7	21087,8 ± 5589,8	24,1 ± 3,9	392,2 ± 98,2
NF4	113,6 ± 2,8	213,2 ± 27,5	594,8 ± 31,2	16512,7 ± 266,0	23,4 ± 0,8	267,2 ± 7,1
CF	1285,2	2142,0	14280,0	34334,0 ± 1192,1	15,3 ± 0,3	450,6 ± 31,1

In terms of nutrient uptake, the commercial fertilizer exhibited the highest levels of nitrogen (N) and potassium (K) among all treatments, with concentrations of 34,3 mg/L for N and 450.6 mg/L for K. Nitrogen values exceeded those of NF1, NF2, NF3, and NF4 by 4.4%, 9.4%, 38.5%, and 51.9%, respectively. As CF presented 450,6 of potassium, it exceeded the other treatments by 8,7% (NF1), 14,2% (NF2), 14,8% (NF3), and 68,1% (NF4). Phosphorus concentration was higher in plants treated with CSNPs, as well as in those treated with NF3 and NF4, surpassing the concentration observed in plants treated with CF and NF1. Despite receiving a substantial amount of this nutrient, it is essential to consider Liebig's Law, and in this context, nitrogen and potassium are deficient, which leads to insufficient growth of the plants treated with CSNPs.

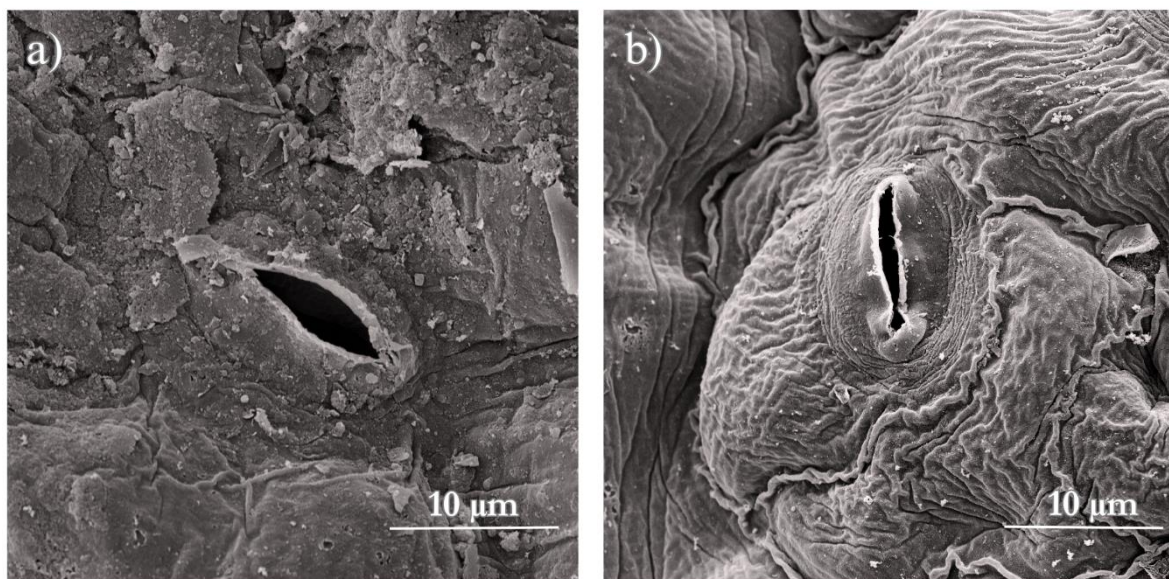
Sharaf-Eldin and colleagues observed that applying nitrogen in nano form not only enhanced fertilizer efficiency at lower doses than recommended but also reduced excess losses and environmental contamination.⁵⁸ Abdel-Hakim *et al.* synthesized chitosan nanoparticles combined with rutin and supplemented them with a commercial fertilizer in varying ratios and applied to lettuce. They noted that a composition consisting of 75% commercial fertilizer and 25% nanofertilizer led to enhanced NPK uptake.⁵⁹ The commercial fertilizer exhibited the lowest NPK levels in their study, which contrasts with our findings, as the commercial fertilizer performed better in terms of N and K levels. However, it is important to underscore the difference between the amount of nutrients used in each treatment during the experiment.

Scanning Electron Microscopy

Stomata is the structure responsible for regulating gas exchanges between the plant and environment, thus regulating water loss.⁶⁰ **Figura 16** (a, b) displays an area scan of 10 µm.

Figura 16. SEM micrographs illustrating the stomatal morphology of plants subjected to (a) the negative control

and (b) NF1 treatment. The stomatal aperture in (b) is visibly more closed compared to the wider opening observed in (a), indicating a potential physiological response to NF1 treatment.



A noticeable difference in stomata aperture can be observed, with plants treated with NFs showing slightly more closed ostioles, as illustrated in **Figure S4**. This could be attributed to the role of chitosan in enhancing water retention in stressed plants, achieved by reducing their transpiration rate, improving water absorption, and regulating osmotic pressure. **Figure S5** illustrates plants from negative control, demonstrating open stomata. Dowon *et al.* observed that chitosan NPs decreased stomata apertures in *Salvia abrotanoides*, and improved stomata density and reduced drought stress.⁶¹ In their study, Iriti and colleagues administered chitosan to *Phaseolus vulgaris* plants, comparing them to plants treated solely with water, and noted a reduction in stomatal opening with chitosan treatment. Their histo-cytochemical analysis provided evidence suggesting that chitosan induces stomatal closure through the initiation of an H_2O_2 signaling pathway.⁶²

Environmental Implications

The overuse of fertilizers can lead to various environmental hazards, such as greenhouse gas emissions, eutrophication, and soil compaction. Extensive research indicates that plants do not necessarily need excessive nutrient levels for optimal growth, emphasizing the significance of integrating nanotechnology into agricultural practices. Introducing alternative approaches to plant nutrition could aid in alleviating these adverse effects.

In this study, chitosan-based nanofertilizers were introduced as a strategy to decrease the levels of nutrients applied in agricultural contexts. By utilizing minimal concentrations of

NPK, this research aims to evaluate and enhance practices related to plant mineral nutrition.

Conclusion

The presented results confirm that chitosan-loaded nanofertilizers are highly effective in delivering nutrients to plants. This is supported by data on physiological parameters and nutrient uptake. *E. sativa* plants easily absorbed the NFs containing minimal concentrations of NPK. Among all NFs, NF1 proved to be the best nutrient concentration for plant development, displaying superior performance in terms of physiological parameters and nutrient uptake. It is essential to emphasize that the application of nanofertilizers facilitated a resource-saving of at least twofold, which can lead to a significant reduction in waste and environmental pollution.

Further research should focus on scaling up the experiments to field trials to investigate the effectiveness of chitosan nanofertilizers on a wide range of crops. It is also important to explore innovative treatments employing uncoated minimal-concentration nutrients to expand our knowledge of alternative fertilization strategies.

Acknowledgements

This research was financially supported by the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES). We express our gratitude to Dr. Leonardo Fraceto from the State University of São Paulo (UNESP) for his assistance with Zeta Potential and Dynamic Light Scattering analysis. We also extend our appreciation to the Department of Physics (UFPE) for providing facilities for SEM analysis preparation. Special thanks to Dr. Mauro Guida and his group for generously providing space at the Plant Physiology Laboratory for conducting the Kjeldahl method.

References

1. United Nations, D. of E. and S. A. P. D. World Population Prospects: The 2017 Revision. (2017).
2. Food and Agriculture Organization. How to Feed the World in 2050 . *High-Level Expert Forum*.
3. Constanza Valdes. Brazil's Momentum as a Global Agricultural Supplier Faces Headwinds. (2022).
4. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. . O Agro no Brasil e no Mundo: uma síntese do período de 2000 a 2020.
5. Calil, D. , C. R. Y. , & L. R. Brazil's agricultural production and its potential as global food supplier. *Choices* (2019).
6. Prado, R. B. , B. V. de M. , P. J. C. , G. C. E. , & N. A. B. Mapping soil fertility at different scales to support sustainable Brazilian agriculture. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering* (2012).
7. Yousaf, M. *et al.* Effects of fertilization on crop production and nutrient-supplying capacity under rice-oilseed rape rotation system. *Sci Rep* 7, 1270 (2017).
8. FARIAS, P. I. V. ; F. E. ; C. A. L. C. da; P. J. C. ; A. A. M. de S. Input assurance for Brazilian food production. *Fertilizer Focus*, v. 38, n. 1, p. 52-54, Jan./Feb. 2021. (2021).
9. Statista. *Fertilizer Consumption in Brazil 2014-2022, by Nutrient*. (2023).
10. Statista. *Leading Fertilizer Importing Countries Worldwide in 2022, Based on Value (in Billion U.S. Dollars)*. (2022).
11. Kerbaui, G. *Fisiologia Vegetal*. (2004).
12. Morgan, J. B. & C. E. L. Plant-Soil Interactions: Nutrient Uptake. *Nature Education Knowledge* (2013).
13. Choudhary, R. C. *et al.* Synthesis, Characterization, and Application of Chitosan Nanomaterials Loaded with Zinc and Copper for Plant Growth and Protection. in *Nanotechnology* 227–247 (Springer Singapore, Singapore, 2017). doi:10.1007/978-981-10-4573-8_10.
14. Gao, Y., Wu, W. & Wang, Y. The K⁺ channel <scp>KZM</scp> 2 is involved in stomatal movement by modulating inward K⁺ currents in maize guard cells. *The Plant Journal* 92, 662–675 (2017).
15. Cochrane, T. T. & Cochrane, T. A. The vital role of potassium in the osmotic mechanism of stomata aperture modulation and its link with potassium deficiency. *Plant Signal Behav* 4, 240–243 (2009).
16. Du, Y., Li, T. & He, B. Runoff-related nutrient loss affected by fertilization and cultivation in sloping croplands: An 11-year observation under natural rainfall. *Agric Ecosyst Environ* 319, 107549 (2021).
17. Solanki, P., Bhargava, A., Chhipa, H., Jain, N. & Panwar, J. Nano-fertilizers and Their Smart Delivery System. in *Nanotechnologies in Food and Agriculture* 81–101 (Springer International Publishing, Cham, 2015). doi:10.1007/978-3-319-14024-7_4.
18. Khatun, J., Intekhab, A. & Dhak, D. Effect of uncontrolled fertilization and heavy metal toxicity associated with arsenic(As), lead(Pb) and cadmium (Cd), and possible remediation. *Toxicology* 477, 153274 (2022).
19. Massah, J. A. B. Effect of Chemical Fertilizers on Soil Compaction and Degradation. *Ama, Agricultural Mechanization in Asia* (2016).
20. Zhang, Y. *et al.* Soil Acidification caused by excessive application of nitrogen fertilizer aggravates soil-borne diseases: Evidence from literature review and field trials. *Agric Ecosyst Environ* 340, 108176 (2022).

21. Roduner, E. Size matters: why nanomaterials are different. *Chem Soc Rev* **35**, 583 (2006).
22. Wang, S.-L. & Nguyen, A. D. Effects of Zn/B nanofertilizer on biophysical characteristics and growth of coffee seedlings in a greenhouse. *Research on Chemical Intermediates* **44**, 4889–4901 (2018).
23. Mahil, I. N. N. Foliar application of nanofertilizers in agricultural crops -A review. *J. Farm. Sci* (2019).
24. Ateş Duru, Ö., Özcan Araç, F. Ö. & Aldemir, O. The Importance of Arugula (*Eruca sativa*) and Pharmacological Effects of Different Phytochemical Components in Its Content for Human Health. in 327–340 (2022). doi:10.4018/978-1-6684-5129-8.ch016.
25. Viana, C. dos S. *et al.* Intercropping arugula with aromatic condiment species affords better yields, biological efficiency and financial return. *Research, Society and Development* **10**, e21910313237 (2021).
26. Calvo, P., Remuñan-López, C., Vila-Jato, J. L. & Alonso, M. J. Chitosan and chitosan/ethylene oxide-propylene oxide block copolymer nanoparticles as novel carriers for proteins and vaccines. *Pharm Res* **14**, 1431–1436 (1997).
27. Shafiei, M., Jafarizadeh-Malmiri, H. & Rezaei, M. Biological activities of chitosan and prepared chitosan-tripolyphosphate nanoparticles using ionic gelation method against various pathogenic bacteria and fungi strains. *Biologia (Bratisl)* **74**, 1561–1568 (2019).
28. Preparation and evaluation of chitosan-tripolyphosphate nanoparticles suspension as an antibacterial agent. *J Appl Pharm Sci* **8**, 147–156 (2018).
29. Kumaraswamy, R. V. *et al.* Chitosan-silicon nanofertilizer to enhance plant growth and yield in maize (*Zea mays* L.). *Plant Physiology and Biochemistry* **159**, 53–66 (2021).
30. Elshayb, O. M. *et al.* Utilizing Urea–Chitosan Nanohybrid for Minimizing Synthetic Urea Application and Maximizing *Oryza sativa* L. Productivity and N Uptake. *Agriculture* **12**, 944 (2022).
31. Thakur, P., Sonawane, S. S., Sonawane, S. H. & Bhanvase, B. A. Nanofluids-based delivery system, encapsulation of nanoparticles for stability to make stable nanofluids. in *Encapsulation of Active Molecules and Their Delivery System* 141–152 (Elsevier, 2020). doi:10.1016/B978-0-12-819363-1.00009-0.
32. Khan, A., Othman, M. B. H., Razak, K. A. & Akil, H. M. Synthesis and physicochemical investigation of chitosan-PMAA-based dual-responsive hydrogels. *Journal of Polymer Research* **20**, 273 (2013).
33. Huang, W. F., Tsui, C. P., Tang, C. Y., Yang, M. & Gu, L. Surface charge switchable and pH-responsive chitosan/polymer core-shell composite nanoparticles for drug delivery application. *Compos B Eng* **121**, 83–91 (2017).
34. Karimi, M. *et al.* Evaluation of Chitosan-Tripolyphosphate Nanoparticles as a p-shRNA Delivery Vector: Formulation, Optimization and Cellular Uptake Study. *J Nanopharm Drug Deliv* **1**, 266–278 (2013).
35. YE, L. & CHEN, H. Characterization of the interactions between chitosan/whey protein at different conditions. *Food Science and Technology* **39**, 163–169 (2019).
36. Dey, S. *et al.* PREPARATION, CHARACTERIZATION AND PERFORMANCE EVALUATION OF CHITOSAN AS AN ADSORBENT FOR REMAZOL RED . *International Journal of Latest Research in Engineering and Technology* (2016).
37. Hosseini, S. F., Zandi, M., Rezaei, M. & Farahmandghavi, F. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydr Polym* **95**, 50–56 (2013).
38. Araujo, J. M. *et al.* Delivery of selenium using chitosan nanoparticles: Synthesis, characterization, and antioxidant and growth effects in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *PLoS One* **16**, e0251786 (2021).
39. TREVISOLI, E. D. V. G. , M. H. F. C. , D. O. D. F. , D. J. , R. B. B. , R. S. C. , K. E. S. , T.

- C. Y. & E. M. M. (2017). Ambiência e desempenho produtivo de rúcula cultivada em diferentes espaçamentos. . *Scientia Agraria Paranaensis* (2017).
40. Paul, P. *et al.* Structural and Functional Heat Stress Responses of Chloroplasts of *Arabidopsis thaliana*. *Genes (Basel)* **11**, 650 (2020).
 41. Zhao, X. *et al.* Morphological and Physiological Response Mechanism of Lettuce (*Lactuca Sativa* L.) to Consecutive Heat Stress. *Sci Hort* **301**, 111112 (2022).
 42. Farjon, G., Itzhaky, Y., Khoroshevsky, F. & Bar-Hillel, A. Leaf Counting: Fusing Network Components for Improved Accuracy. *Front Plant Sci* **12**, (2021).
 43. SILVA, P. H. S., CECÍLIO FILHO, A. B., REIS, I. D. S., REYES, S. M. R. & CRUZ, M. C. P. DA. NITROGEN RATES ON GROWTH, YIELD AND NITRATE FOLIAR CONTENT OF ARUGULA. *Revista Caatinga* **34**, 380–387 (2021).
 44. Benett, K. S. S. *et al.* Nitrogen Application in Arugula Culture. *Journal of Agricultural Science* **11**, 385 (2019).
 45. PATRICIA AUGUSTO DA SILVA. AVALIAÇÃO DE CULTIVARES DE RÚCULA E PRODUÇÃO DE SEMENTES EM CULTIVO ORGÂNICO. (2019).
 46. Kavanová, M., Lattanzi, F. A., Grimoldi, A. A. & Schnyder, H. Phosphorus Deficiency Decreases Cell Division and Elongation in Grass Leaves. *Plant Physiol* **141**, 766–775 (2006).
 47. Suchada Boonlertnirun^{1*}, E. S. and I. S. Effects of molecular weight of chitosan on yield potential of rice cultivar suphan buri 1. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* (2006).
 48. Li, J. *et al.* Chitosan oligosaccharide alleviates the growth inhibition caused by phyton and synergistically enhances resilience in maize seedlings. *Sci Rep* **12**, 162 (2022).
 49. Oliveira, E. Q. de, Souza, R. J. de, Cruz, M. do C. M. da, Marques, V. B. & França, A. C. Produtividade de alface e rúcula, em sistema consorciado, sob adubação orgânica e mineral. *Hortic Bras* **28**, 36–40 (2010).
 50. Nick, P. Control of Plant Height. in 1–23 (2000). doi:10.1007/978-3-662-22300-0_1.
 51. Wang, X., Singh, D., Marla, S., Morris, G. & Poland, J. Field-based high-throughput phenotyping of plant height in sorghum using different sensing technologies. *Plant Methods* **14**, 53 (2018).
 52. Mandal, R. & Dutta, G. From photosynthesis to biosensing: Chlorophyll proves to be a versatile molecule. *Sensors International* **1**, 100058 (2020).
 53. Lin, K.-H. *et al.* Chlorophyll-Related Compounds Inhibit Cell Adhesion and Inflammation in Human Aortic Cells. *J Med Food* **16**, 886–898 (2013).
 54. Wang, E., Braun, M. S. & Wink, M. Chlorophyll and Chlorophyll Derivatives Interfere with Multi-Drug Resistant Cancer Cells and Bacteria. *Molecules* **24**, 2968 (2019).
 55. Bhatia, S. & Sharma, K. Microenvironmentation in Micropropagation. in *Modern Applications of Plant Biotechnology in Pharmaceutical Sciences* 345–360 (Elsevier, 2015). doi:10.1016/B978-0-12-802221-4.00010-8.
 56. Silva, P. H. S., Palaretti, L. F., Cecílio Filho, A. B. & Silva, Y. F. da. Nitrogen levels via fertigation and irrigation depths in the arugula culture. *Hortic Bras* **38**, 343–349 (2020).
 57. Wang, N. *et al.* Effects of irrigation and nitrogen on chlorophyll content, dry matter and nitrogen accumulation in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Sci Rep* **11**, 16651 (2021).
 58. Mohamed Ali Sharaf-Eldin; Mohamed Basiouny Elsayy; Mai Y. Eisa; Hassan Ragab El-Ramady. Application of nano-nitrogen fertilizers to enhance nitrogen efficiency for lettuce growth under different irrigation regimes. *Pak. J. Agri. Sci.* (2022).
 59. Abdel-Hakim, S. G. *et al.* Nanoparticulate Fertilizers Increase Nutrient Absorption Efficiency and Agro-Physiological Properties of Lettuce Plant. *Agronomy* **13**, 691 (2023).
 60. Melotto, M., Underwood, W. & He, S. Y. Role of Stomata in Plant Innate Immunity and Foliar Bacterial Diseases. *Annu Rev Phytopathol* **46**, 101–122 (2008).
 61. Attaran Dowom, S., Karimian, Z., Mostafaei Dehnavi, M. & Samiei, L. Chitosan nanoparticles improve physiological and biochemical responses of *Salvia abrotanoides* (Kar.)

- under drought stress. *BMC Plant Biol* **22**, 364 (2022).
62. Iriti, M. *et al.* Chitosan antitranspirant activity is due to abscisic acid-dependent stomatal closure. *Environ Exp Bot* **66**, 493–500 (2009).

5 CONCLUSÕES

Os resultados apresentados confirmam a capacidade dos nanofertilizantes carregados com quitosana de entregar eficientemente nutrientes às plantas, conforme evidenciado pelos dados dos parâmetros fisiológicos e resultados de absorção de nutrientes.

Os nanofertilizantes contendo concentrações mínimas de NPK não somente foram prontamente absorvidos pelas plantas, como a concentração máxima (NF1) se destacou como a concentração ótima de nutrientes para o desenvolvimento das plantas, exibindo desempenho superior em parâmetros fisiológicos e absorção de nutrientes.

Tendo em vista o caráter de cultivo em casa de vegetação, evidenciamos a necessidade de estudos futuros visando a ampliação dos experimentos a nível de campo, a fim de investigar a eficácia dos nanofertilizantes de quitosana em uma ampla variedade de culturas. Além disso, explorar tratamentos inovadores utilizando concentrações mínimas de nutrientes sem revestimento é essencial para ampliar nossa compreensão das estratégias alternativas de fertilização.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-AZIZ, H. (2019). Effect of Priming with Chitosan Nanoparticles on Germination, Seedling Growth and Antioxidant Enzymes of Broad Beans. *Catrina: The International Journal of Environmental Sciences*, 18(1), 81-86. doi: 10.21608/cat.2019.28609
- ABOUDAMIA, F. Z. et al. (2020) Potential of discarded sardine scales (*Sardina pilchardus*) as chitosan sources, **Journal of the Air & Waste Management Association**, 70:11, 1186-1197, DOI: 10.1080/10962247.2020.1813840
- ADHIRAKI, T; RAMANA, S. Nano Fertilizer: Its Impact on Crop Growth and Soil Health. **The Journal of Research**, PJTSAU, [S. l.], v. 47, n. 3, 2020. Disponível em: <https://epubs.icar.org.in/index.php/TJRP/article/view/97462..> Acesso em: 4 mar. 2024.
- AGUIAR, A.T.E. et al (ed.). Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas, 7ª ed. ver. e atual. Campinas: Instituto Agrônômico, 452 p., 2014 (**Boletim IAC, nº200**).
- AHMED, T., et al. (2021). Bioengineered chitosan-magnesium nanocomposite: A novel agricultural antimicrobial agent against *Acidovorax oryzae* and *Rhizoctonia solani* for sustainable rice production. **International Journal of Biological Macromolecules**, Volume 168, p. 834-845. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.11.148. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014181302035073X>.
- AJALA, A. et al. Microbiome Under Changing Climate, Woodhead Publishing, 2022, Pages 203-236, ISBN 9780323905718, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90571-8.00009-2>.
- AKPINAR, C., & ORTAS, I. (2023). Impact of Different Doses of Phosphorus Fertilizer Application on Wheat Yield, Soil-Plant Nutrient Uptake and Soil Carbon and Nitrogen Dynamics. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 54(11), 1537–1546. <https://doi.org/10.1080/00103624.2023.2177302>
- ALI, S. S., et al. (2021). Nano-biofertilizers: Synthesis, advantages, and applications. In A. RAKSHIT, V. S. MEENA, M. PARIHAR, H. B. SINGH, & A. K. SINGH (Eds.), *Biofertilizers* (pp. 359-370). **Woodhead Publishing**. ISBN 9780128216675. <https://doi.org/10.1016/B978->

0-12-821667-5.00007-5.

ANDERSON, D. M. et al. (2008). Harmful algal blooms and eutrophication: Examining linkages from selected coastal regions of the United States. *Harmful algae*, 8(1), 39–53. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.08.017>

ARANEGA-BOU P, DE LA O LEYVA M, FINITI I, GARCÍA-AGUSTÍN P, GONZÁLEZ-BOSCH C. Priming of plant resistance by natural compounds. Hexanoic acid as a model. *Front Plant Sci*. 2014 Oct 1;5:488. doi: 10.3389/fpls.2014.00488. PMID: 25324848; PMCID: PMC4181288.

ARNÓN, D. I.; STOUT, P. R. (1939). The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant physiol*, Washington, 14, 371-375.

ASHRAF, Umair et al. Impact of nano chitosan-NPK fertilizer on field crops. In: **Role of Chitosan and Chitosan-Based Nanomaterials in Plant Sciences**. Academic Press, 2022. p. 165-183.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES. Informações do setor. Disponível em: <<http://www.abcsem.com.br/dados-do-setor>>. Acesso em: 20 jan. 2024.

AZEEM, B. et al. Review on materials & methods to produce controlled release coated urea fertilizer. *Journal of Controlled Release* 2014, 181, 11-21.

BALLIKAYA, P., et al. (2023). First evidence of nanoparticle uptake through leaves and roots in beech (*Fagus sylvatica* L.) and pine (*Pinus sylvestris* L.). *Tree Physiology*, 43(2), 262–276. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpac117>.

BERNARDI, A. C. de C.; Machado, P. L. O. de A.; Silva, C. A. (2002). Fertilidade do solo e demanda por nutrientes no Brasil. In: Manzatto, C. V.; Freitas Junior, E. de; Peres, J. R. R. (Eds.). *Uso agrícola dos solos brasileiros*. Rio de Janeiro: Embrapa Solos. Capítulo 6, p. 61-77.

BNDES (2012) Banco Nacional de Desenvolvimento Social. A indústria química e o setor de fertilizantes. *Perspectivas Setoriais*. 2012.

CARMONA, F.J., et al. (2021). Urea-functionalized amorphous calcium phosphate nanofertilizers: optimizing the synthetic strategy towards environmental sustainability and manufacturing costs. *Sci Rep* 11, 3419. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83048-9>.

CHANDRAN, H.; MEENA, M.; BARUPAL, T.; SHARMA, K. Plant tissue culture as a perpetual source for production of industrially important bioactive compounds. *Biotechnol. Rep.* 2020

CHANG et al. Chitosan for Eco-friendly Control of Plant Disease. *Asian Journal of Plant Pathology* 11(2): 53-70. 2017

CHISLOCK, M. F., et al. (2013). Eutrophication: Causes, Consequences, and Controls in Aquatic Ecosystems. *Nature Education Knowledge*, 4(4), 10.

Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP). Chegou a vez da rúcula. CEAGESP, https://ceagesp.gov.br/wp-content/uploads/2014/12/chegou_a_vez_da_rucula.pdf

CUI, H. X. et al. Applications of nanotechnology in agrochemical formulation, perspectives, challenges, and strategies. International conference on Nanoagri, São Pedro, Brazil, 2007.

DESHMUKH, R. K. et al. (2017). Editorial: Role of Silicon in Plants. *Frontiers in Plant Science* 8(1858).

DIAZ, R. J., et al. (2004). A Global Perspective on the Effects of Eutrophication and Hypoxia on Aquatic Biota and Water Quality. Em *VIMS Books and Book Chapters* (p. 14).

DUARTE, T.C., CRUZ, S.C., ... MACHADO, C.G., 2016. Spatial arrangements and fertilizer doses on soybean yield and its components. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 20, 960–964. doi:10.1590/1807-1929/agriambi.v20n11p960-964

ELIEH-ALI-KOMI, D., & Hamblin, M. R. (2016). Chitin and Chitosan: Production and Application of Versatile Biomedical Nanomaterials. *International Journal of Advanced Research (Indore)*, Volume 4, Issue 3, p. 411-427. Disponível em:

<https://doi.org/10.21474/IJAR01/935>.

EMBRAPA. (2016). Fertilizante inteligente gera economia e minimiza impacto ambiental. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/18921973/fertilizante-inteligente-gera-economia-e-minimiza-impacto-ambiental>. Acesso em: 25 Out 2021.

FAO - Food and Agriculture Organization. (2020). Crop prospects and food situation. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <https://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/en/>. Acesso em: 23 jan. 2024.

FAO. (2022). FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 22 jan. 2024.

FERNÁNDEZ-PÉREZ, M. et al. Lignin and ethyl cellulose as polymers in controlled release formulations of urea. *Journal of Applied Polymer Science* 2008, 108 (6), 3796-3803.

FOWLER, D., et al. (2013). The global nitrogen cycle in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1621), 20130164.

FRADE, R.B.M.; CASTRO, P.R.C.; FERNANDES, C. Potencial dos biofertilizantes líquidos na agricultura. In: Fernandes, C.; Frade, R.B.M.; Castro, P.R.C. (Eds.) *Biofertilizantes: fertilizantes biológicos e orgânicos*. São Paulo: Agroicone, 2017. p. 19-28.

GHANNOUM O., PHILLIPS N.G., SEARS M.A., LOGAN B.A., LEWIS J.D., CONROY J.P., TISSUE D.T. Photosynthetic responses of two eucalypts to industrial-age changes in atmospheric [CO₂] and temperature. *Plant Cell Environment*. 2010;33:1671–1681. doi: 10.1111/j.1365-3040.2010.02172.x.

GHOSH, M., et al. (2021). Nanotechnology and plant nutrition: A review. In A. Rakshit, V. S. Meena, M. Parihar, H. B. Singh, & A. K. Singh (Eds.), *Biofertilizers* (pp. 213-225). Woodhead Publishing. ISBN 9780128216675. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00009-9>.

GODÍNEZ-GARRIDO, N. A., RAMÍREZ-PIMENTEL, J. G., COVARRUBIAS-PRIETO, J., CERVANTES-ORTIZ, F., PÉREZ-LÓPEZ, A., & AGUIRRE-MANCILLA, C. L. (2021).

Chitosan coating on bean and maize seeds: release of agrochemical fungicide and post-storage condition. *Journal of Seed Science*, 43, e202143036. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v43254286>

GRILLO, R., et al. (2021). Nanotechnology for agriculture: Prospects and challenges. In A. Rakshit, V. S. Meena, M. Parihar, H. B. Singh, & A. K. Singh (Eds.), *Biofertilizers* (pp. 299-310). Woodhead Publishing. ISBN 9780128216675. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00011-7>

GUOJU X, Qiang Z, Jiangtao B, Fengju Z, Chengke L. The Relationship between Winter Temperature Rise and Soil Fertility properties. *Air, Soil and Water Research*. 2012;5. doi:10.4137/ASWR.S8599.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. *Sistemas de Produção Vegetal: batata*, 2ª ed. Rio de Janeiro: Inmetro, 2016. 80p.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). *Levantamento sistemático da produção agrícola*. Rio de Janeiro, 2022.

IRITI M, VARONI EM. Chitosan-induced antiviral activity and innate immunity in plants. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2015 Feb;22(4):2935-44. doi: 10.1007/s11356-014-3571-7. Epub 2014 Sep 17. PMID: 25226839.

JAFAR, M. e A. BEHZAD (2016). Effect of Chemical Fertilizers on Soil Compaction and Degradation.

JAMNONGKAN, T and KAEWPIROM, S. Potassium Release Kinetics and Water Retention of Controlled-Release Fertilizers Based on Chitosan Hydrogels. *Journal of Polymers and the Environment*, 2010 p 413-421

Jones, Clain & Koenig, Richard & Ellsworth, Jason & Brown, Brad & Jackson, Grant. (2007). *Management of Urea Fertilizer to Minimize Volatilization*.

KASHYAP, P. L.; XIANG, X.; HEIDEN, P. Chitosan nanoparticle-based delivery systems for

sustainable agriculture. *International Journal of Biological Macromolecules* 2015, 77, 36-51.

KASTNER, T., et al. (2012). The future of oil palm as a major global crop: Opportunities and challenges. *BioScience*, 62(6), 570-581.

KEGERE, J. G., et al. (2021). Impact of Biofertilizers on Agricultural Crop Production. In A. Rakshit, V. S. Meena, M. Parihar, H. B. Singh, & A. K. Singh (Eds.), *Biofertilizers* (pp. 1-20). Woodhead Publishing. ISBN 9780128216675. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00001-4>.

KERBAUY, G.B. *Fisiologia vegetal*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2004.

KHAN, M. N. et al. (2018). *Fertilizers and Their Contaminants in Soils, Surface and Groundwater*. Elsevier 8: 225-240.

KHATRI, A., & BHATERIA, R. (2023). Efficacy of Nanofertilizers Over Chemical Fertilizers in Boosting Agronomic Production. *Nature Environment and Pollution Technology*, 22(2), 767–776. <https://doi.org/10.46488/NEPT.2023.v22i02.019>

KRUPADAM, R. J., et al. (2021). Green nanotechnology: Scope and prospects in agriculture. In A. Rakshit, V. S. Meena, M. Parihar, H. B. Singh, & A. K. Singh (Eds.), *Biofertilizers* (pp. 277-297). Woodhead Publishing. ISBN 9780128216675. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00010-5>.

KUBAVAT, D. et al. Characterization of a chitosan-based sustained release nanofertilizer formulation used as a soil conditioner while simultaneously improving biomass production of *Zea mays* L. *LDD- Land Degradation and Development* 31(17).2020

LATTUADA, M., & Hatton, T. A. (2007). Synthesis, properties and applications of Janus nanoparticles. *Nano Today*, 2(3), 26-35.

LIANG, X., et al. (2021). The potential of nanomaterials for smart fertilization and pest management in agriculture. In A. Rakshit, V. S. Meena, M. Parihar, H. B. Singh, & A. K. Singh (Eds.), *Biofertilizers* (pp. 249-275). Woodhead Publishing. ISBN 9780128216675.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00008-7>.

LOHANI, P., SNEHAL, S. (2018). Silica nanoparticles: Its green synthesis and importance in agriculture. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 7(5): 3383-3393.

LYALINA T, SHAGDAROVA B, ZHUIKOVA Y, IL'INA A, LUNKOV A, VARLAMOV V. Effect of Seed Priming with Chitosan Hydrolysate on Lettuce (*Lactuca sativa*) Growth Parameters. *Molecules*. 2023 Feb 17;28(4):1915. doi: 10.3390/molecules28041915. PMID: 36838903; PMCID: PMC9959803.

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

MANIVANNAN, A. AND Y.-K. AHN (2017). Silicon Regulates Potential Genes Involved in Major Physiological Processes in Plants to Combat Stress. *Frontiers in Plant Science* 8(1346).

MENDES, A. M. S. Introdução a fertilidade do solo. Embrapa Semiárido. 2007

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Cadastro nacional de produtores orgânicos <Available on <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/organicos/cadastro-nacional-produtores-organicos>>. Accessed on: October 15th, 2018. <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/organicos/cadastro-nacional-produtores-organicos>

MARCHIORI JÚNIOR, M., OLIVEIRA, F.A., OLIVEIRA, A.R. et al. Fertilizantes nitrogenados contendo nanocompósitos de ureia/forma suprime a emissão de óxido nitroso em solo sob plantio direto. *Sci Rep* 10, 8564 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65227-3>.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 3rd ed. London: Academic Press, 2011. 651p.

MEENA, V. S., et al. (2021). Organic farming: A holistic approach for sustainable agriculture. In A. Rakshit, V. S. Meena, M. Parihar, H. B. Singh, & A. K. Singh (Eds.), *Biofertilizers* (pp.

21-41). Woodhead Publishing. ISBN 9780128216675. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00002-8>.

MEENA, M. Parihar, H. B. Singh, & A. K. Singh (Eds.), Biofertilizers (pp. 331-345). Woodhead Publishing. ISBN 9780128216675. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00013-2>.

MELO, G. P., et al. (2021). Nanoparticle-based fertilizers: Synthesis, characterization, and applications. In A. Rakshit, V. S. Meena, M. Parihar, H. B. Singh, & A. K. Singh (Eds.), Biofertilizers (pp. 227-248). Woodhead Publishing. ISBN 9780128216675. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00006-5>.

MOHAMMADI, H., et al. (2021). Nanofertilizers for sustainable crop production: A review. In A. Rakshit, V. S. Meena, M. Parihar, H. B. Singh, & A. K. Singh (Eds.), Biofertilizers (pp. 157-179). Woodhead Publishing. ISBN 9780128216675. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00005-3>.

Mohammed, Y. A., Kelly, J., Chim, B. K., Rutto, E., Waldschmidt, K., Mullock, J., ... Raun, W. (2013). NITROGEN FERTILIZER MANAGEMENT FOR IMPROVED GRAIN QUALITY AND YIELD IN WINTER WHEAT IN OKLAHOMA. *Journal of Plant Nutrition*, 36(5), 749–761. <https://doi.org/10.1080/01904167.2012.754039>

MOHAN, K., Ganesan, A. R., Muralisankar, T., Jayakumar, R., Sathishkumar, P., Uthayakumar, V., Chandirasekar, R., & Revathi, N. (2020). Recent insights into the extraction, characterization, and bioactivities of chitin and chitosan from insects. *Trends in food science & technology*, 105, 17–42. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.08.016>

MUJTABA, M. et al. Chitosan-based delivery systems for plants: A brief overview of recent advances and future directions, **International Journal of Biological Macromolecules**, Volume 154, 2020, Pages 683-697, ISSN 0141-8130, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.128>.

MUKHERJEE, A., et al. (2021). Role of nanoparticles in plant growth promoting rhizobacteria: A sustainable approach for agriculture. In A. Rakshit, V. S. Meena, M.

NAIR R. et al. Uptake of FITC labeled silica nanoparticles and quantum dots by rice seedlings: effects on seed germination and their potential as biolabels for plants.

NAVARRO, E., et al. (2008). Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. *Ecotoxicology*, 17(5), 372-386.

OSBORNE SL, Schepers JS, Francis DD, Schlemmer MR. Detection of phosphorus and nitrogen deficiencies in corn using spectral radiance measurements. *Agron J*. 2002;94:1215.

PARIHAR, H. B. SINGH, & A. K. SINGH (Eds.), *Biofertilizers* (pp. 181-196). Woodhead Publishing. ISBN 9780128216675. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00003-X>.

PAZ-ARES, JAVIER & PUGA, MARIA & ROJAS-TRIANA, MONICA & MARTINEZ-HEVIA, IRIS & DIAZ, SERGIO & POZA-CARRIÓN, CÉSAR & MIÑAMBRES, MIGUEL & LEYVA, ANTONIO. (2021). Plant adaptation to low phosphorus availability: Core signaling, crosstalks and applied implications. *Molecular Plant*. 15. 10.1016/j.molp.2021.12.005.

PENCKOWSKI, L., GHELLER, C., COX, F.R. et al. Influence of biological, chemical and nanotechnology-based fertilizer applications on soil quality indicators in a Brazilian sandy loam soil. *Sci Rep* 10, 17640 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74302-7>.

PRASAD, R., et al. (2021). Nanoparticles for sustainable agriculture. In A. Rakshit, V. S. Meena, M. Parihar, H. B. Singh, & A. K. Singh (Eds.), *Biofertilizers* (pp. 311-329). Woodhead Publishing. ISBN 9780128216675. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00012-0>.

Neto, M., Azevedo, B., Viana, T. V. A., Mesquita, J., Carvalho, M., & Carvalho, L. (2016). Potassium fertilization via fertigation and conventional application on quality of tomato fruits. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 20, 913-917. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v20n10p913-917>

PIRZADAH, B. et al. *Nanofertilizers: A Way Forward for Green Economy*. (2020)

RAMASAMY, K., et al. (2021). Microbial-based nano-fertilizers: An eco-friendly approach for sustainable agriculture. In A. Rakshit, V. S. Meena, M. Parihar, H. B. Singh, & A. K. Singh (Eds.), *Biofertilizers* (pp. 197-212). Woodhead Publishing. ISBN 9780128216675. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00004-1>.

RANA, K., GHOSH, D., KOTHIYAL, N.C. et al. The future perspectives of nanofertilizers in sustainable agriculture. *Sci Rep* 10, 13018 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69824-1>.

ROSHANRAVAN et al. Nitrogen Release Properties of Urea- Kaolinite Controlled Release Fertilizer with Chitosan Binder, in *From Sources to Solution: Proceedings of the International Conference on Environmental Forensics 2013*. Springer Singapore. p. 23-27

SAFRAS, A. (2020). Fertilizantes respondem por 68,6% das importações de produtos químicos. Disponível em: <https://www.canalrural.com.br/radar/fertilizantes-respondem-por-686-das-importacoes-de-produtos-quimicos/page/1434/>. Acesso em: 28 jan 2021

SANTOS, A.B., COSCIONE, A.R. & CANELLAS, L.P. *Biologia de solos tropicais e aspectos agronômicos da adubação biológica*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2009. 63 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 253).

SARDANS, JORDI, AND JOSEP PEÑUELAS. 2021. "Potassium Control of Plant Functions: Ecological and Agricultural Implications" *Plants* 10, no. 2: 419. <https://doi.org/10.3390/plants10020419>.

CLARKSON DT, Jones LHP, Purves JV 1992: Absorption of nitrate and ammonium ions by *Lolium perenne* from flowing solution cultures at low root temperatures. *Plant Cell Environ.*, 15, 99–106.

SCHENCK, S., et al. (2021). Nanopesticides: A sustainable approach for pest management. In A. Rakshit, V. S.

SHIN R. Strategies for improving potassium use efficiency in plants. *Mol Cells*. 2014 Aug;37(8):575-84. doi: 10.14348/molcells.2014.0141. Epub 2014 Jun 18. PMID: 24938230;

PMCID: PMC4145368.

SINGH, S., et al. (2021). Role of nanotechnology in sustainable agriculture: A comprehensive review. In A. Rakshit, V. S. Meena, M. Parihar, H. B. Singh, & A. K. Singh (Eds.), *Biofertilizers* (pp. 367-387). Woodhead Publishing. ISBN 9780128216675. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00015-6>.

SOINI, E. (2014). Produção de batata-doce sob diferentes níveis de nitrogênio e potássio. 2014. 40f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2014.

SOLANKI P. et al. (2015). Nano-fertilizers and Their Smart Delivery System.

STASIŃSKA-JAKUBAS, M.; HAWRYLAK-NOWAK, B. Protective, Biostimulating, and Eliciting Effects of Chitosan and Its Derivatives on Crop Plants. *Molecules* **2022**, 27, 2801.

SUAREZ-FERNANDEZ M, MARHUENDA-EGEA FC, LOPEZ-MOYA F, ARNAO MB, CABRERA-ESCRIBANO F, NUEDA MJ, GUNSÉ B, LOPEZ-LLORCA LV. Chitosan Induces Plant Hormones and Defenses in Tomato Root Exudates. *Front Plant Sci.* 2020 Nov 4;11:572087. doi: 10.3389/fpls.2020.572087. PMID: 33250907; PMCID: PMC7672008.

SUBRAMANIAN, K. S., et al. (2015). Nanotechnology applications in agriculture: An overview. In K. S. Subramanian & R. Arumugam (Eds.), **Nanotechnology: A compendium of research efforts** (pp. 165-183). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-15359-8_10.

SWIFT, Jonathan. As Viagens de Gulliver. Introdução de Paul Turner, edição de Herbert Davis, tradução e notas de Therezinha Monteiro Deutsch. São Paulo: Nova Cultural, 2003 A.

TAEHYUN, C., HASSAN, O. Chitosan for Eco-friendly Control of Plant Disease. **Asian Journal of Plant Pathology** 11(2): 53-70. (2017)

TALEBI, S. M., et al. (2021). Nanomaterials and their applications in plant nutrition: A comprehensive review. In A. Rakshit, V. S. Meena, M. Parihar, H. B. Singh, & A. K. Singh (Eds.), *Biofertilizers* (pp. 365-388). **Woodhead Publishing**. ISBN 9780128216675.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00016-8>.

TAN, Y.N., LEE, P.P. & CHEN, W.N. Microbial extraction of chitin from seafood waste using sugars derived from fruit waste-stream. *AMB Expr* **10**, 17 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13568-020-0954-7>

TASSI, É. M. M., DUARTE, R. M. T., & AMAYA-FARFAN, J. (2018). Partial nutrient characterization of arugula (rocket - *Eruca sativa* L.) and the effect of heat treatment on its lipoxidase activity. *Brazilian Journal of Food Technology*, 21, e2017024. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.02417>

TOSCANO, M.L.; OLIVEIRA, F.A.; CRUZ, G.S. et al. The nanotechnology role in smart fertilization for sustainable agriculture: A study of zinc fertilizers in maize crop. **Scientific Reports** 10, 8709 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65517-9>.

TREVISOLI, E. D. V. G., Mendonça, H. F. C., Dilley, O. D. F., Dartora, J., Rissato, B. B., Roncato, S. C., Klosowski, E. S., Tsutsumi, C. Y. & Echer, M. M. (2017). Ambiência e desempenho produtivo de rúcula cultivada em diferentes espaçamentos. **Scientia Agraria Paranaensis** 16 (1), 230-236. <https://doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v16n1p230-236>.

Ucar, Esra, Yasar Ozyigit, Ahmet Demirbas, Dilek Yasin Guven, and Kenan Turgut. 2017. “Effect of Different Nitrogen Doses on Dry Matter Ratio, Chlorophyll and Macro/Micro Nutrient Content in Sweet Herb (*Stevia Rebaudiana* Bertoni).” *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 48 (10): 1231–39. doi:10.1080/00103624.2017.1341917.

UNITED NATIONS, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. (2020). **World Population Prospects** 2019, Online Edition. Rev. 1. Disponível em: <https://population.un.org/wpp/Download/Standard/Population/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

UNITED NATIONS, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. (2022). **World Population Prospects** 2021, Online Edition. Disponível em: <https://population.un.org/wpp/Download/Standard/Population/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

VIRGENS FILHO, J. S. et al. Crescimento de batata-doce sob diferentes níveis de nitrogênio,

fósforo e potássio no solo. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 36, n. 5, p. 3205-3216, 2015. DOI: 10.5433/1679-0359.2015v36n5p3205. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/16604>.

WAGNER, S. C. (2011) Biological Nitrogen Fixation. *Nature Education Knowledge* 3(10):15

WANYIKA, H. et al. Mesoporous Silica Nanoparticles Carrier for Urea: Potencial Applications in Agrochemical Delivery Systems. **Journal of Nanoscience and nanotechnology**, 2012. 12 (3): p. 2221-2228

WU, L. and LIU, M. Preparation and Properties of Chitosan-coated NPK Compound Fertilizer with Controlled- Release and Water-Retention. **Carbohydrate Polymers**, 2008. 72(2): p. 240-247.

WU, H. et al. Watermelon and melon productivity and fruit quality in response to different potassium and magnesium concentrations. **Bragantia** [online]. 2017, vol.76, n.3, pp.363-375. Epub July 20, 2017. ISSN 1678-4499. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.2016348>.

YADAV A, YADAV K, ABD-ELSALAM KA. Nanofertilizers: Types, Delivery and Advantages in Agricultural Sustainability. *Agrochemicals*. 2023; 2(2):296-336. <https://doi.org/10.3390/agrochemicals2020019>

XUE HW, CHEN X, MEI Y. Function and regulation of phospholipid signalling in plants. *Biochem J*. 2009 Jun 26;421(2):145-56. doi: 10.1042/BJ20090300. PMID: 19552624; PMCID: PMC2708932.

ZHAO et al. Preparation and properties of macromolecular slow-release fertilizer containing nitrogen, phosphorus, and potassium. **Journal of Polymer Research** 2010, 17 (1).

APÊNDICE A
Informações Suplementares do Artigo

Supporting information for:

Optimizing Nutrient Delivery: Controlled Release Nanofertilizers with Minimal NPK Loading for Enhanced Growth of *Eruca sativa* L. Under Pot Conditions

Pereira, Camilla¹; Ruiz, Yolice²; Galembeck, André²; Pandolfi, Valesca¹

¹Department of Genetics, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil

²Department of Fundamental Chemistry, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil

List of content:

1. Additional information regarding solution preparation for nitrogen determination using the Kjeldahl method.
2. **Figure S1.** Commercial fertilizers plants after 50 days of the experiment;
3. **Figure S2.** Plants treated with Commercial Fertilizer after 45 days of treatment;
4. **Figure S3.** Plants treated with NFs after 45 days of treatment;
5. **Figure S4.** SEM micrography of plants treated with NF1. Arrows indicate opened stomata.
6. **Figure S5.** SEM micrography of plants without treatment.
7. **Table S1.** Plant height over 60 days of treatment;
8. **Table S2.** Growth rate of all treatments
9. **Table S3.** Chlorophyll content over 60 days of treatment
10. **Table S4.** Growth rate of all treatments throughout the experiment.

1. Preparation of Solutions for the Kjeldahl Method

Initially, 12g of boric acid powder was dissolved in 600 mL of deionized water to obtain the boric acid solution. Subsequently, 6 mL of mixed indicator was added. The mixed indicator solution was prepared by combining 0.125 g of bromocresol green, 0.050 g of methyl red, and 84 mL of absolute ethanol. In a fume hood, a solution of 312g of NaOH and 600 mL of deionized water was prepared inside an ice basin to prevent the solution from overheating. The titration solution was prepared in a volumetric flask, with 71.43 mL of 1N hydrochloric acid pipetted into the flask, followed by the addition of water to bring the total volume to 1 liter.



Figure S1. Experimental setup for arugula cultivation at the greenhouse.



Figure S2. Plants treated with Commercial Fertilizer after 45 days of treatment.



Figure S3. Plants treated with NFs after 45 days of treatment.

Table S1. Plant height measured over 60 days (cm) under various treatments, including mean values and standard deviation.

Days	Treatments						
	CSNPs	NF ₁	NF ₂	NF ₃	NF ₄	CF	NC
20	2,57 ± 0.53	6,52 ± 0.91	6,07 ± 0.78	6,13 ± 0.85	6,2 ± 1.06	5,04 ± 0.96	2,47 ± 0.56
30	2,73 ± 0.61	11,19 ± 1.25	10,93 ± 1.03	11,44 ± 1.22	11,47 ± 1.67	6,49 ± 1.46	2,52 ± 0.40
40	3,48 ± 1.05	12,39 ± 1.34	12,10 ± 1.3	12,23 ± 0.97	12,57 ± 1.61	7,85 ± 1.47	3,11 ± 0.88
50	5,16 ± 1.32	15,06 ± 1.70	15,1 ± 1.85	15,18 ± 1.86	13,98 ± 1.63	8,03* ± 0.48	3,18 ± 0.73
60	6,23 ± 1.41	16,98 ± 1.78	17,08 ± 3.77	16,16 ± 1.88	14,51 ± 1.60	8,83* ± 0.46	3,22 ± 0.79

* Significant plant mortality occurred. Data represents 10% of the population.

Table S2. Number of leaves measured over 60 days under various treatments including mean values and standard deviation.

Days	Treatments						
	CSNPs	NF ₁	NF ₂	NF ₃	NF ₄	CF	NC
20	2,1 ± 0.3	4,05 ± 0.22	3,88 ± 0.40	3,93 ± 0.42	3,88 ± 0.33	3,25 ± 0.54	2,05 ± 0.45
30	2,85 ± 0.61	5,33 ± 0.62	5,2 ± 0.69	5,13 ± 0.61	4,93 ± 0.47	3,95 ± 0.50	2,2 ± 0.41
40	3,43 ± 0.55	6,28 ± 0.75	6,25 ± 0.81	6,13 ± 0.69	5,88 ± 0.69	4,14 ± 0.95	3 ± 0.39
50	3,53 ± 0.6	7,95 ± 0.75	6,48 ± 1.15	6,18 ± 1.03	6,08 ± 0.97	6,27* ± 0.50	3,65 ± 0.62
60	3,58 ± 0.59	8,35 ± 0.66	7,3 ± 1.92	6,55 ± 1.11	6,20 ± 0.99	6,75* ± 0.50	3,7 ± 0.65

* Significant plant mortality occurred. Data represents 10% of the population.

Table S3. SPAD index measured over 60 days (ICF) under various treatments including mean values and standard deviation.

Days	Treatments				
	NF ₁	NF ₂	NF ₃	NF ₄	CF
20	32,52 ± 2.26	31,86 ± 2.61	30,34 ± 1.89	29,07 ± 2.27	24,94 ± 4.54
30	33,55 ± 2.40	33,64 ± 2.60	29,83 ± 2.90	29,29 ± 2.72	25,74 ± 3.39
40	36,69 ± 2.86	36,96 ± 2.59	35,09 ± 3.20	31,53 ± 2.86	25,57 ± 4.01
50	39,19 ± 2.64	38,54 ± 3.97	33,52 ± 3.21	32,98* ± 3.75	31,31 ± 1.58
60	37,2 ± 3.58	36,3 ± 3.77	33,36 ± 3.41	37,67* ± 4.45	30,28 ± 1.88

* Significant plant mortality occurred. Data represents 10% of the population.

Table S4. Growth rate (mean ± standard deviation) of plants under different treatment conditions.

Treatment	Growth rate
CSNPs	0,09 ± 0,02
NT	0,02 ± 0,00
NF ₁	0,25 ± 0,03
NF ₂	0,26 ± 0,03
NF ₃	0,24 ± 0,04
NF ₄	0,19 ± 0,05
CF	0,09 ± 0,01

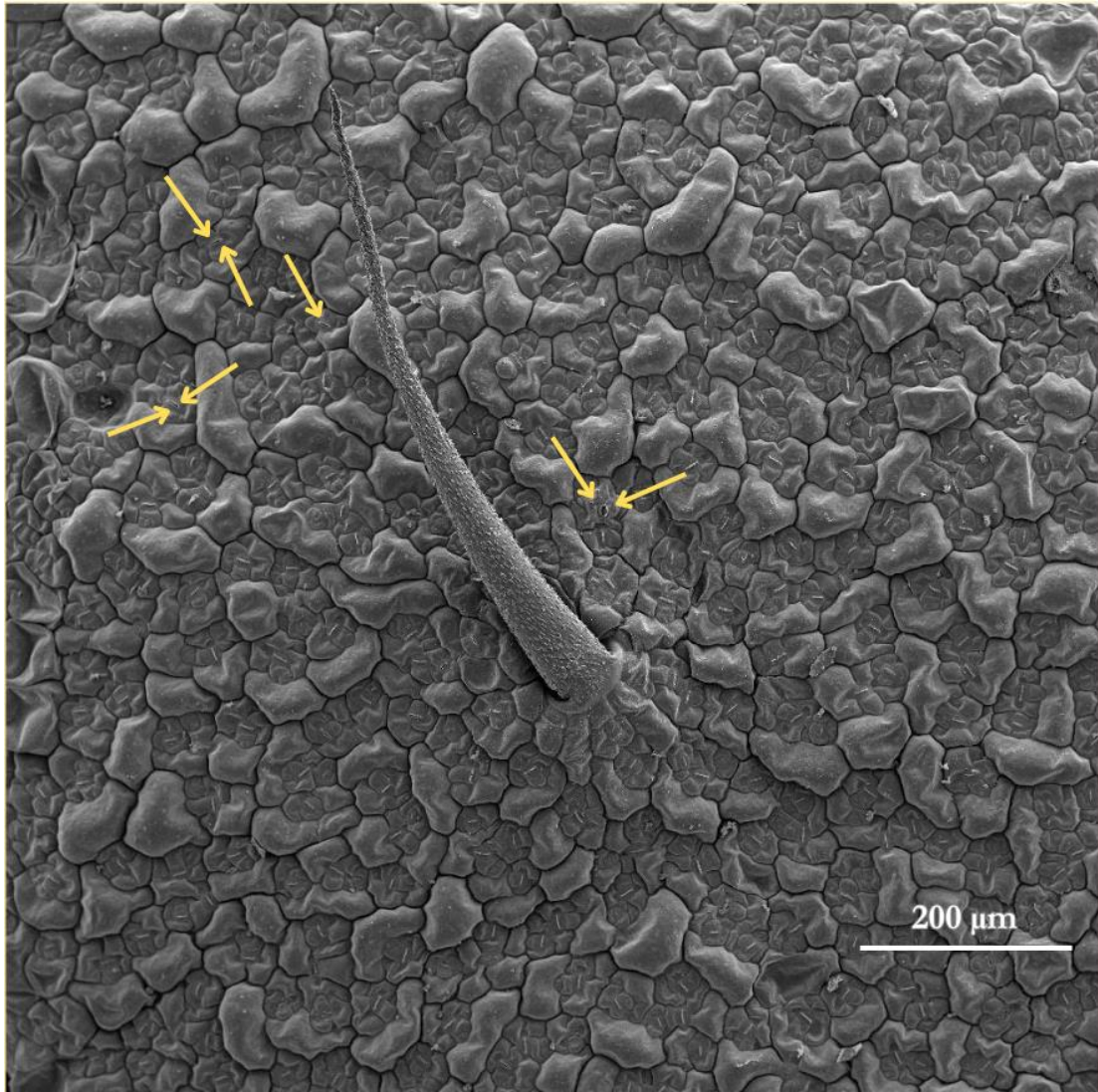


Figure S4. SEM micrograph of plants treated with NF1. Arrows indicate opened stomata. The overall image demonstrates that most stomata are closed, a potential mechanism for water preservation.

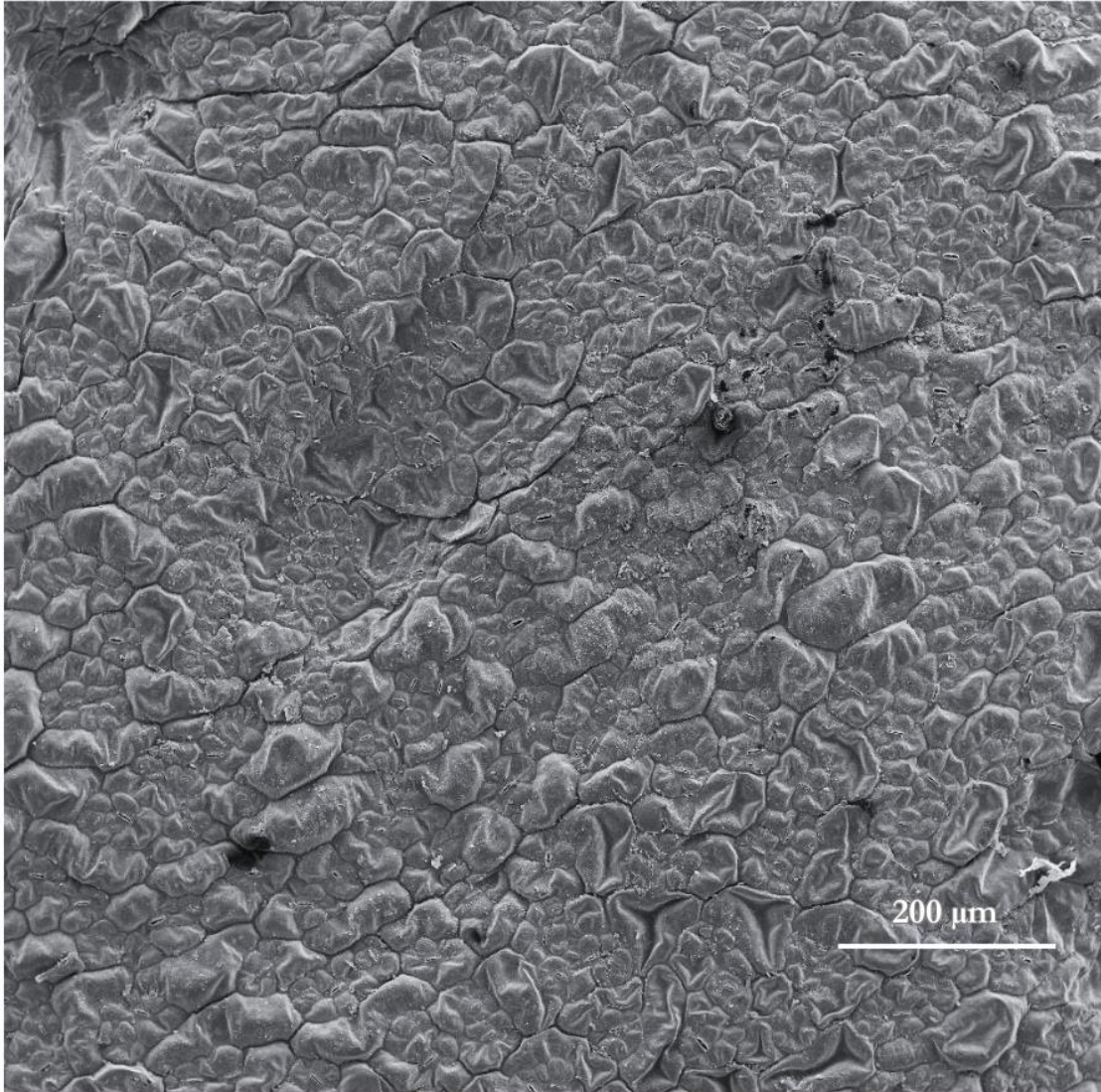


Figure S5. SEM micrograph showing that most of the stomata in untreated plants are open.