

**INSTITUTO AGRONÔMICO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
AGRICULTURA TROPICAL E SUBTROPICAL**

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS E BIOFORTIFICAÇÃO  
AGRONÔMICA DE ALFACE COM ZINCO EM  
CULTIVO HIDROPÔNICO**

**BIANCA MACHADO DE LIMA**

**Orientador: Dr. Luis Felipe Villani Purquerio  
Coorientador: Dr. Fernando César Sala**

Tese apresentada como requisito para a obtenção do título de **Doutor** em Agricultura Tropical e Subtropical, Área de Concentração em Tecnologia da Produção Agrícola.

Campinas, SP  
2025

Ficha elaborada pela bibliotecária do Núcleo de Documentação Científica do Instituto Agronômico

L732s Lima, Bianca Machado de  
Seleção de genótipos e biofortificação agronômica de alface com zinco / Bianca Machado de Lima. Campinas, 2025. 85 fls.

Orientador: Luis Felipe Villani Purquerio  
Co-orientador: Fernando César Sala  
Tese (Doutorado) Agricultura Tropical e Subtropical – Instituto Agronômico

1. Alface. 2. Hidroponia. 3 Antioxidantes. 4.Segurança Alimentar. I. Purquerio, Luis Felipe Villani. II. Sala, Fernando César III. Título

CDD. 635.52



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO  
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO  
**AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS**  
**INSTITUTO AGRÔNOMICO**




Pós-Graduação – Agricultura Tropical e Subtropical  
Reconhecimento Homologado pela Portaria MEC Nº 609 de 14/03/2019 - D.O.U. 18/03/2019

## ATA DE DEFESA DE TESE DE DOUTORADO

Aos 31 de julho de 2025, às 09h00, reuniu-se a banca examinadora homologada pelo Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical e Subtropical, composta pelos membros abaixo listados visando à defesa de tese de doutorado de Bianca Machado de Lima, para obtenção do título de "DOUTORA", conforme Processo SAA nº PRT611/2021. A sessão presidida pelo Prof. Dr. Luis Felipe Villani Purquerio, orientador da aluna, foi realizada em sessão pública aberta, síncrona, por videoconferência e transmitida via internet no canal do PPG-IAC. A sessão pública foi gravada e permanece em arquivo pelo tempo estabelecido pelo regimento do PPG-IAC para os devidos fins de comprovação. Iniciados os trabalhos, a candidata submeteu-se ao exame de sua tese, intitulada "Seleção de genótipos e biofortificação agronômica de alface com zinco em cultivo hidropônico". Terminado o exame, procedeu-se ao julgamento, cujo resultado foi o seguinte:

Prof. Dr. Luis Felipe Villani Purquerio - IAC	<b>APROVADA ( X ) REPROVADA ( )</b>
Prof <sup>ª</sup> . Dr <sup>ª</sup> . Thais Queiroz Zorzeto Cesar - FEAGRI	<b>APROVADA ( X ) REPROVADA ( )</b>
Prof. Dr. Gabriel Mascarenhas Maciel - UFU	<b>APROVADA ( X ) REPROVADA ( )</b>
Prof <sup>ª</sup> . Dr <sup>ª</sup> . Susana Maria Pinto de Carvalho - FCUP	<b>APROVADA ( X ) REPROVADA ( )</b>
Prof. Dr. Fernando César Bachiega Zambrosi - IAC	<b>APROVADA ( X ) REPROVADA ( )</b>

Apurados os resultados, constatou-se que a candidata foi habilitada, fazendo jus, portanto, ao título de "DOUTORA EM AGRICULTURA TROPICAL E SUBTROPICAL", na área de concentração: Sistema de Manejo e Qualidade Ambiental, do que, para constar, lavrou-se a presente ata, assinada pelo Presidente da Comissão Examinadora representando os demais membros da sessão:

Documento assinado digitalmente  
 LUIS FELIPE VILLANI PURQUERIO  
Data: 31/07/2025 15:07:35-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Luis Felipe Villani Purquerio - IAC

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas conquistas alcançadas e pelas oportunidades concedidas ao longo desta jornada.

Ao Dr. Luis Felipe Villani Purquerio, pela orientação dedicada, pelas contribuições técnicas e científicas, e pela motivação ao longo deste percurso.

Ao Prof. Dr. Fernando Cesar Sala, pela coorientação, valiosas contribuições e motivação no decorrer deste período.

À Dra. Neidiquele Silveira, pelo auxílio nas análises enzimáticas e contribuições científicas.

À Pós-Graduação do Instituto Agrônômico pela oportunidade de realização do doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado.

À Dra. Susana Carvalho, pelo acolhimento durante o período de doutorado sanduíche e pelas contribuições científicas.

À Universidade Federal de São Carlos, pela disponibilização da infraestrutura para condução dos experimentos na área experimental.

Aos meus pais, Mônica e David Lima, por todo amor, apoio incondicional e pelos valores que me transmitiram, os quais foram essenciais para que eu chegasse até aqui.

À minha irmã, Amanda Lima, pelo apoio, palavras de incentivo e por sempre estar ao meu lado.

À Nathalia S. Braga, pelo incentivo de sempre e força nos momentos desafiadores.

Ao meu companheiro de quatro patas, Louie, que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos, oferecendo carinho e apoio emocional nos dias difíceis.

Aos meus familiares, amigos e a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desta conquista.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS .....	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT .....	xi
1 INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1 Características no cultivo de alface .....	3
2.2 Deficiência de zinco na saúde da população .....	4
2.3 Biofortificação com zinco em folhosas .....	6
2.4 Tolerância das plantas ao zinco .....	9
2.5 Zinco e metabolismo antioxidante.....	10
3 REFERÊNCIAS .....	13
CAPÍTULO I.....	18
Resumo .....	19
Abstract.....	20
Introdução.....	21
Material e Métodos.....	23
Resultados.....	25
Discussão .....	29
Conclusão .....	33
Referências .....	34
Material suplementar .....	37
CAPÍTULO II.....	38
Resumo .....	39
Abstract.....	40
Introdução.....	41
Material e métodos .....	42
Resultados.....	47
Discussão .....	60
Conclusão .....	66
Referências .....	67
Material suplementar .....	71
CAPÍTULO III .....	72
Resumo .....	73
Abstract.....	74
Introdução.....	75
Material e métodos .....	76
Resultados.....	79
Discussão .....	83
Conclusão .....	85
Referências .....	86
4 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	88

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

- Tabela 1. Cultivares comerciais e genótipos do programa de melhoramento genético da UFSCar/Araras, para caracterização do teor de zinco no campo experimental da UFSCar/Araras, SP.....24
- Tabela 2. Atributos químicos do solo em análise realizada em 21/06/2022, na UFSCar, campus Araras.....25
- Tabela S1. Níveis de significância da ANOVA do teste de média de Scott-Knott a 5% de probabilidade, para os nutrientes das cultivares comerciais e genótipos do programa de melhoramento genético da UFSCar.....37

### CAPÍTULO 2

- Tabela 1. Cultivar comercial e genótipos do programa de melhoramento genético, submetidos as concentrações de zinco no cultivo hidropônico da UFSCar/Araras, SP.....43
- Tabela 2. Composição da solução nutritiva de cada tratamento nos reservatórios do sistema hidropônico, da UFSCar/Araras.....45
- Tabela 3. Modelos matemáticos de regressão e ajuste ( $R^2$ ) para as concentrações de zinco (Zn) e cultivar/genótipos no período de 22/10/2022 a 19/11/2022 (verão), para massa fresca parte aérea (MFPA) e raiz (MFR), massa seca parte aérea (MSPA), teor de Zn parte aérea (TZPA), e raiz (TZR), acúmulo de Zn na parte aérea (AZPA) e raiz (AZR).....55
- Tabela 4. Equação e ajuste  $R^2$  utilizados das curvas de regressão quanto as concentrações de zinco e cultivar/genótipos no período de 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno), para MFPA, MFR, MSPA, TZPA, TZR, AZPA e AZR.....56
- Tabela 5. Modelos matemáticos de regressão e ajuste ( $R^2$ ) para as concentrações de zinco (Zn) e cultivar/genótipos para malonaldeído (MDA), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) no período de 22/10/2022 a 19/11/2022 (verão) e 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno).....60
- Tabela S1. Níveis de significância de acordo com ANOVA para número de folhas (NF), comprimento da raiz (CR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), teor de zinco da parte aérea (TZPA) e teor de zinco da raiz (TZR), aldeído malônico (MDA), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) para as cultivares/genótipos e concentrações de zinco no cultivo hidropônico em 22/10/2022 a 19/11/2022 (verão).....71

Tabela S2. Níveis de significância de acordo com ANOVA para número de folhas (NF), comprimento da raiz (CR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), teor de zinco da parte aérea (TZPA) e teor de zinco da raiz (TZR), aldeído malônico (MDA), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) para as cultivares/genótipos e concentrações de zinco no cultivo hidropônico em 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno).....71

### **CAPÍTULO 3**

Tabela 1. Composição da solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), indicando as fontes de fertilizantes e suas respectivas concentrações em mg L<sup>-1</sup>, utilizada para o cultivo de alface.....77

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

- Figura 1. Massa fresca (MFPA) e seca da parte aérea (MSPA) das cultivares comerciais e genótipos do programa de melhoramento genético da UFSCar/Araras. Médias na mesma coluna, seguidas por letras diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade ou  $p < 0.05$  de significância. Linha pontilhada corresponde à média geral de cada massa. ....26
- Figura 2. Teores de macronutrientes das cultivares comerciais e genótipos do programa de melhoramento genético da UFSCar/Araras. Médias na mesma coluna, seguidas por letras diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade ou  $p < 0.05$  de significância. Linha pontilhada corresponde à média geral de cada nutriente.....28
- Figura 3. Teores de micronutrientes das cultivares comerciais e genótipos do programa de melhoramento genético da UFSCar/Araras. Médias na mesma coluna, seguidas por letras diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade ou  $p < 0.05$  de significância. Linha pontilhada corresponde à média geral de cada nutriente.....29

### CAPÍTULO 2

- Figura 1. Temperaturas (°C) e umidade relativa do ar (%) máxima, média e mínima no interior da estufa agrícola, durante o período 22/10 a 19/11/2022 em Araras/SP.....47
- Figura 2. Temperaturas (°C) e umidade relativa do ar (%) máxima, média e mínima no interior da estufa agrícola, durante o período 25/05 a 30/06/2023 em Araras/SP.....48
- Figura 3. Interação entre concentrações de zinco na solução nutritiva e cultivares/genótipos para massa fresca parte aérea (MFPA) (A), massa seca parte aérea (MSPA) (B), massa fresca da raiz (MFR) (C) no cultivo hidropônico aos 28 dias após o transplântio (DAT) no período de 22/10/2022 a 19/11/2022 (verão).....49
- Figura 4. Interação entre concentrações de zinco na solução nutritiva e cultivares/genótipos massa fresca parte aérea (MFPA) (A), massa seca parte aérea (MSPA) (B), massa fresca da raiz (MFR) (C) no cultivo hidropônico aos 35 dias após o transplântio (DAT) no período de 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno).....50
- Figura 5. Interação entre concentrações de zinco na solução nutritiva e cultivares/genótipos para teor de zinco parte aérea (TZPA) (A) e teor de zinco da raiz (TZR) (B) no cultivo hidropônico aos 28 dias após o transplântio (DAT) no período de 22/10/2022 a 19/11/2022 (verão).....51
- Figura 6. Interação entre concentrações de zinco na solução nutritiva e cultivares/genótipos para teor de zinco parte aérea (TZPA) (A) e teor de zinco da raiz (TZR) (B) no cultivo hidropônico aos 35 dias após o transplântio (DAT) no período de 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno).....52

- Figura 7. Interação entre concentrações de zinco na solução nutritiva e cultivares/genótipos para acúmulo de zinco parte aérea (AZPA) (A) e acúmulo de zinco da raiz (AZR) (B) no cultivo hidropônico aos 28 dias após o transplântio (DAT) no período de 22/10/2022 a 19/11/2022 (verão).....53
- Figura 8. Interação entre concentrações de zinco na solução nutritiva e cultivares/genótipos para acúmulo de zinco parte aérea (AZPA) (A) e acúmulo de zinco da raiz (AZR) (B) no cultivo hidropônico aos 35 dias após o transplântio (DAT) no período de 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno).....54
- Figura 9. Interação entre concentrações de zinco na solução nutritiva e cultivares/genótipos para malondialdeído (MDA) (A), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (B), catalase (CAT) (C), superóxido dismutase (SOD) (D) no cultivo hidropônico aos 28 dias após o transplântio (DAT) no período de 22/10/2022 a 19/11/2022 (verão).....58
- Figura 10. Interação entre concentrações de zinco na solução nutritiva e cultivares/genótipos para malondialdeído (MDA) (A), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (B), catalase (CAT) (C), superóxido dismutase (SOD) (D) no cultivo hidropônico aos 35 dias após o transplântio (DAT) no período de 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno).....59

### CAPÍTULO 3

- Figura 1. Número de folhas (NF) (A), comprimento da raiz (CR) (B), massa fresca folha (MFF) (C) e raiz (MFR) (D), massa seca foliar (MSF) (E) e emergência de plântulas (EP) (F) de alface cv. ‘Vanda’, aos 30 dias após a semeadura (DAS) em resposta a diferentes concentrações de Zn (0, 1, 2 e 3 mM L<sup>-1</sup>) aplicadas via priming. Os valores representam a média ± erro padrão (n = 3) .....80
- Figura 2. Número de folha (NF) (A), comprimento da raiz (CR) (B), massa fresca foliar (MFF) (C) e raiz (MFR) (D), massa seca foliar (MSF) (E), teor de zinco foliar (TZF) (F), taxa fotossintética (TF) (G) e acúmulo de zinco foliar (AZF) (H) de alface cv. ‘Vanda’ em resposta a diferentes concentrações de zinco (0, 1, 2 e 3 mM) aplicadas via priming, aos 60 dias após a semeadura. Os valores representam a média ± erro padrão (n = 3) .....81
- Figura 3. Catalase folha (A), ascorbato peroxidase folha (B) e raiz (C), superóxido dismutase folha (D) de alface cv. ‘Vanda’ em resposta a diferentes concentrações de zinco (0, 1, 2 e 3 mM) aplicadas priming, aos 30 dias após a semeadura. Os valores representam a média ± erro padrão (n = 3) .....82
- Figura 4. Catalase folha (A) e raiz (B), ascorbato peroxidase folha (C) e raiz (D), superóxido dismutase folha (E) e raiz (F) de alface cv. ‘Vanda’ em resposta a diferentes concentrações de zinco (0, 1, 2 e 3 mM) aplicadas via priming, aos 60 dias após a semeadura. Os valores representam a média ± erro padrão (n = 3) .....83

## Biofortificação agronômica com zinco em genótipos de alface no cultivo hidropônico

### RESUMO

A deficiência de zinco (Zn) na alimentação humana é um problema de saúde pública global, impactando principalmente populações de países em desenvolvimento, sendo associada ao atraso no crescimento, prejuízos cognitivos e redução da imunidade. Nesse contexto, a biofortificação agronômica surge como uma estratégia viável, sustentável e de baixo custo para aumentar o teor de Zn nos alimentos, contribuindo significativamente para a segurança alimentar e nutricional. A alface (*Lactuca sativa* L.), hortaliça folhosa mais cultivada e consumida no mundo, apresenta elevado potencial para biofortificação, especialmente devido ao consumo de suas folhas frescas. Contudo, fatores como o genótipo, a concentração de Zn aplicada e as condições ambientais interferem diretamente na eficiência da biofortificação. Esta tese foi desenvolvida com o objetivo de avaliar estratégias de biofortificação agronômica de alface com Zn, por meio de seleção de genótipos, manejo da solução nutritiva e uso do *priming* de sementes, considerando os efeitos sobre o acúmulo de Zn e a resposta bioquímica antioxidante. No Capítulo I realizou-se a caracterização nutricional de 26 materiais genéticos, incluindo cultivares comerciais e genótipos do programa de melhoramento da UFSCar, em cultivo convencional. Observou-se ampla variabilidade no teor natural de Zn nas folhas, variando de 38 a 92 mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca, permitindo identificar genótipos com maior eficiência nutricional, como o F10 206-2, e outros com menor teor, como o 281-3-2-2 e o F10 47-2. No Capítulo II avaliou-se o efeito de quatro concentrações de Zn (0,7; 1,4; 2,1 e 2,8 mg L<sup>-1</sup>) em oito genótipos, cultivados no sistema hidropônico NFT, em duas épocas (verão e inverno). Os resultados mostraram que concentrações de até 2,1 mg L<sup>-1</sup> favoreceram o acúmulo de Zn nas folhas, o crescimento da biomassa, o número de folhas e o desenvolvimento radicular, sendo o efeito mais expressivo no inverno. Entretanto, em doses mais altas (2,8 mg L<sup>-1</sup>) observou-se redução da taxa fotossintética, elevação dos indicadores de estresse oxidativo (MDA e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e aumento na atividade das enzimas antioxidantes CAT, APX e SOD, indicando ativação dos sistemas de defesa da planta frente ao excesso de Zn. No Capítulo III foi avaliado o efeito do *priming* de sementes com Zn (0, 1, 2 e 3 mM) na cultivar Vanda, sobre o desenvolvimento morfofisiológico, bioquímico e na biofortificação. Verificou-se que o *priming* proporcionou aumentos na biomassa, no número de folhas e no comprimento radicular até a concentração de 2 mM, enquanto a concentração de 3 mM apresentou indícios de estresse fisiológico, com redução na taxa fotossintética e teor de Zn foliar, além de aumento na atividade das enzimas antioxidantes. De forma geral, conclui-se que a biofortificação agronômica da alface com zinco, é uma técnica eficiente e aplicável, desde que sejam respeitados os limites fisiológicos dos genótipos e realizadas práticas de manejo adequadas. Essa técnica contribui de forma efetiva para a produção de alimentos mais nutritivos.

**Palavras-chave:** *Lactuca sativa* L., hidroponia, *priming*, antioxidantes, segurança alimentar.

## **Agronomic biofortification with zinc in lettuce genotypes in the cultivation hydroponic**

### **ABSTRACT**

Zinc (Zn) deficiency in human nutrition is a global public health issue, primarily affecting populations in developing countries, and is associated with growth retardation, cognitive impairments, and reduced immunity. In this context, agronomic biofortification emerges as a viable, sustainable, and low-cost strategy to increase Zn content in food, contributing significantly to food and nutritional security. Lettuce (*Lactuca sativa* L.), the most widely cultivated and consumed leafy vegetable worldwide, presents high potential for biofortification, especially due to the consumption of its fresh leaves. However, factors such as genotype, applied Zn concentration, and environmental conditions directly influence biofortification efficiency. This thesis was developed with the aim of evaluating agronomic biofortification strategies for lettuce with Zn through genotype selection, nutrient solution management, and seed priming, considering the effects on Zn accumulation, morphophysiological performance, and antioxidant biochemical response. In Chapter I, the nutritional characterization of 26 genetic materials, including commercial cultivars and genotypes from the UFSCar breeding program, was carried out under conventional cultivation. A wide variability in the natural Zn content in the leaves was observed, ranging from 38 to 92 mg kg<sup>-1</sup> of dry matter, allowing the identification of genotypes with higher nutritional efficiency, such as F10 206-2, and others with lower content, such as 281-3-2-2 and F10 47-2. Chapter II evaluated the effect of four Zn concentrations (0.7; 1.4; 2.1; and 2.8 mg L<sup>-1</sup>) on eight genotypes grown in an NFT hydroponic system during two seasons (summer and winter). The results showed that concentrations up to 2.1 mg L<sup>-1</sup> favored Zn accumulation in the leaves, biomass growth, leaf number, and root development, with a more pronounced effect in winter. However, at higher doses (2.8 mg L<sup>-1</sup>), reductions in photosynthetic rate, increases in oxidative stress indicators (MDA and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), and enhanced activity of antioxidant enzymes CAT, APX, and SOD were observed, indicating activation of the plant's defense mechanisms in response to Zn excess. In Chapter III, the effect of seed priming with Zn (0, 1, 2, and 3 mM) on the cultivar Vanda was assessed, focusing on morphophysiological and biochemical development and biofortification outcomes. It was found that priming promoted increases in biomass, leaf number, and root length up to the concentration of 2 mM, while 3 mM induced signs of physiological stress, such as reduced photosynthetic rate and leaf Zn content, as well as increased activity of antioxidant enzymes. In general, it is concluded that the agronomic biofortification of lettuce with zinc is an efficient and applicable technique, provided that the genotypes' physiological limits are respected, and appropriate management practices are adopted. This technique effectively contributes to the production more nutritious foods.

**Keywords:** *Lactuca sativa* L., hydroponics, seed priming, antioxidants, food security.

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A deficiência de zinco na população é um desafio global de saúde pública, afetando uma ampla parcela da população, especialmente em países de baixa e média renda. O zinco (Zn) é um micronutriente essencial envolvido em uma variedade de processos biológicos, incluindo o funcionamento do sistema imunológico, crescimento celular, desenvolvimento cognitivo e regulação hormonal. Sua ausência na dieta pode levar a vários problemas de saúde, como comprometimento do sistema imunológico, atraso no crescimento infantil, deficiências cognitivas e até aumento da mortalidade. A falta de Zn nos seres humanos está associada a dietas pouco diversificadas e baseadas em cereais, que possuem baixos teores de Zn, além de biodisponibilidade limitada pelo ácido fítico.

É conhecido que a deficiência de Zn em culturas voltadas para alimentação humana ocorre, principalmente, em função dos baixos teores deste nutriente no solo. Portanto, para contribuição, nos últimos anos foram desenvolvidas estratégias para enriquecer os alimentos com nutrientes, dentre elas, a biofortificação. Esta técnica pode ser feita através de melhoramento genético de plantas ou a partir de práticas de manejo de nutrição de plantas, esta última é denominada biofortificação agrônômica.

A biofortificação agrônômica é uma estratégia promissora que visa aumentar o teor de nutrientes essenciais nos alimentos por meio de práticas agrícolas específicas. Ao otimizar as técnicas de cultivo e a seleção de variedades, os agricultores podem melhorar a concentração de nutrientes como vitaminas, minerais e antioxidantes nos produtos agrícolas. Essa abordagem desempenha um papel importante contra a deficiência de nutrientes em populações que dependem desses alimentos como fonte principal de nutrição. Além de proporcionar benefícios diretos à saúde dos consumidores, a biofortificação agrônômica também fortalece a segurança alimentar, ao tornar as culturas mais nutritivas e adaptadas às condições locais.

A alface no Brasil desempenha um papel significativo na produção agrícola do país, sendo um setor fundamental no cultivo de hortaliças. A alface, uma das hortaliças mais consumidas no Brasil, é cultivada em diversas regiões devido à sua adaptabilidade a diferentes climas e sistemas de produção. A adoção de práticas inovadoras, como a hidroponia e técnicas de manejo sustentável, tem contribuído para o aumento da eficiência e da qualidade na produção de alfaces no país, garantindo o fornecimento regular de alimentos frescos e nutritivos para a população brasileira. O cultivo hidropônico de hortaliças é uma abordagem agrícola avançada que tem ganhado destaque devido à sua eficiência e potencial para produzir hortaliças frescas e

saudáveis em ambientes controlados. Nesse método, as plantas recebem nutrientes essenciais diretamente na água, sem a presença de solo. Isso permite um controle preciso das condições de crescimento, resultando em taxas de crescimento mais rápidas e colheitas mais abundantes. Além disso, o cultivo hidropônico minimiza o risco de doenças do solo e maximiza a utilização de recursos, como água e nutrientes, resultando em menor desperdício e impacto ambiental reduzido. A flexibilidade desse sistema também permite a produção de hortaliças em ambientes urbanos, contribuindo para a oferta local de alimentos frescos e nutricionalmente ricos.

A aplicação de altas doses de fertilizantes contendo Zn pode provocar toxicidade nas plantas, resultando em redução da produtividade e da qualidade, o que compromete a eficiência da biofortificação agronômica. Em concentrações tóxicas, o Zn pode estimular a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs), responsáveis pela indução de estresse oxidativo, peroxidação lipídica e morte celular. Contudo, é conhecido que o Zn também desempenha um papel essencial na defesa antioxidante das plantas, podendo diminuir os efeitos de condições de estresse. Dessa forma, torna-se indispensável compreender a sensibilidade dos genótipos ao Zn, bem como as características do metabolismo antioxidante, considerando as diferentes épocas de cultivo.

Esta tese foi estruturada com uma revisão de literatura, três capítulos e considerações gerais. No primeiro, intitulado “Caracterização dos teores de nutrientes em alface tropicalizada do tipo crespa visando programa de biofortificação”, o objetivo desta pesquisa foi caracterizar os materiais de alface visando suporte a programas de biofortificação genética e agronômica. O segundo capítulo foi intitulado “Biofortificação agronômica de genótipos de alface com zinco produzidas em cultivo hidropônico” e o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito da aplicação de concentrações de Zn na solução nutritiva visando biofortificar materiais de alface, na produção e acúmulo do nutriente em duas épocas de cultivo sob condições tropicais. O terceiro capítulo foi intitulado “Condicionamento de sementes de alface com zinco em condições controladas”, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito de concentrações de sulfato de zinco, aplicadas via *priming*, no desempenho fisiológico das sementes e na concentração de zinco nas plantas cultivadas em câmara fitoclimática, visando a viabilidade e a eficiência dessa técnica como estratégia de biofortificação agronômica.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Características no cultivo de alface

Atualmente, a alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil. Em 2017, a produção nacional foi de aproximadamente 1,7 milhões de toneladas, confirmando sua relevância econômica e alimentar. A área de cultivo permanece ampla, especialmente nas regiões Sul e Sudeste, onde o consumo e a demanda são mais significativos. Nos últimos anos, têm ganhado destaque as iniciativas para diversificação de métodos de cultivo, como sistemas hidropônicos e orgânicos, visando sustentabilidade e maior qualidade do produto. Entre 2016 e 2020, a alface crespa representou, em média, 71,73% da comercialização total de alface no Brasil, segundo dados do PROHORT (Marjotta-Maistro et al., 2022). Esse aumento reflete a preferência dos consumidores brasileiros por variedades de folhas crespas e coloração verde-clara, conforme destacado pela Embrapa. Os tipos varietais produzidos no Brasil são lisa, crespa, mimosa, americana, romana, roxa/vermelha e minialface (Sala e Costa, 2012).

No Brasil há algumas cultivares crespas em comercialização, as quais foram desenvolvidas pela UFSCar e estão licenciadas para venda pela Feltrin, assim como os genótipos de alface em desenvolvimento que foram estudados nesta pesquisa. Inovações como estas alfaces podem estimular a demanda de hortaliças por parte da população brasileira, auxiliando na qualidade nutricional.

Conforme estudos sugerem, a composição mineral da alface, a produção e qualidade do produto para comercialização podem ser influenciadas por variações genotípicas (Rouphael et al. 2017, Mampholo et al. 2016, Rouphael et al. 2012), práticas de manejo (Sönmez et al. 2017, Rouphael et al. 2012) e fatores climáticos (Kosma et al. 2013). Embora possa ser cultivada o ano todo, a alface se adapta melhor sob temperaturas médias entre 15 e 18 °C e máximas entre 21 e 24 °C, apresentando maior produção nas épocas mais frias do ano em países tropicais. (Filgueira 2013). Dessa forma, seu cultivo é suscetível a variações climáticas de diferentes épocas do ano.

No Brasil, em condições tropicais, estudos recentes indicam que a produção de biomassa de alface crespa é fortemente influenciada por fatores climáticos, como temperatura e duração da luz. Por exemplo, pesquisas em cultivo hidropônico mostraram que temperaturas médias em torno de 25 °C reduzem o acúmulo de biomassa e afetam a qualidade das folhas (Bittencourt et al., 2024). Além disso, a exposição a altas temperaturas induz o pendoamento precoce, resultando em sabor amargo e folhas mais rígidas (Do Amaral e Silva, 2018). Quando essas

temperaturas elevadas se associam à alta umidade relativa do ar, as plantas tornam-se mais suscetíveis ao ataque de fungos e bactérias, o que compromete a qualidade comercial do produto (Sala e Costa, 2012). Esses resultados destacam a importância de estratégias de manejo e seleção de cultivares adaptadas ao calor para garantir maior estabilidade produtiva.

Conforme o exposto, diferenças climáticas afetam características fisiológicas da planta de alface, bem como a produção e qualidade do produto. Portanto, é importante que estudos com esta cultura sejam feitos em diferentes épocas de cultivo para que se determinem práticas de manejo adequadas para cada condição.

## **2.2 Deficiência de zinco na saúde da população**

O zinco (Zn) é um micronutriente essencial para os seres humanos, desempenhando um papel fundamental na síntese de proteínas e no crescimento celular. Apesar disso, sua deficiência é comum em países de baixa e média renda, comprometendo diversas funções bioquímicas e fisiológicas do organismo. A deficiência de zinco pode resultar em problemas de saúde como queda de massa muscular, atraso no desenvolvimento, fraqueza do sistema imunológico, maior vulnerabilidade a infecções e dificuldades na cicatrização de feridas. Estima-se que cerca de 22% da população mundial, aproximadamente 149 milhões de pessoas, sofre com deficiência desse mineral (Gupta et al., 2020). Além disso, estudos mostram que a deficiência severa de zinco está associada a retardo no crescimento, imunidade comprometida, distúrbios cutâneos, dificuldades de aprendizado e anorexia em crianças, especialmente em contextos de baixa renda (Wessells et al., 2012; Hussain et al., 2022).

Imdad et al. (2023) concluiu que a suplementação preventiva de zinco em crianças de 6 meses a 12 anos reduz a incidência de diarreia e promove um leve aumento na estatura. No entanto, a suplementação também foi associada a um aumento nos episódios de vômito. Esses resultados reforçam a importância do zinco no crescimento e na prevenção de doenças infecciosas em populações infantis vulneráveis.

Uma revisão em 2025 analisou os efeitos da deficiência de zinco na resposta imunológica de pacientes com infecções respiratórias recorrentes. A revisão concluiu que a suplementação de zinco pode reduzir significativamente a gravidade e a frequência dessas infecções, melhorando os desfechos clínicos e a qualidade de vida dos pacientes (De Andrade Barbosa et al., 2025).

A ingestão diária de Zn recomendada para adultos é de 15 mg (Kiekens 1995). Este valor pode variar conforme a referência, nos EUA, por exemplo, a recomendação diária é entre 8 a 13 mg, no Reino Unido é de 7 a 13 mg (Institute of Medicine – USA 2001; Department of Health – UK 1991). De acordo com os dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF 2008-2009), há inadequação de ingestão de Zn no Brasil de 24 % para homens e 22 % para mulheres.

A ingestão inadequada de Zn pela população está, em grande parte, associada aos baixos teores desse micronutriente nos alimentos, o que constitui uma das principais causas de sua deficiência em humanos (Gupta et al., 2020). Além disso, a limitação de Zn em culturas alimentares decorre predominantemente da baixa solubilidade e disponibilidade deste elemento nos solos. Estudos recentes demonstram ampla ocorrência de deficiência de Zn em solos de diferentes regiões do mundo, sendo fortemente influenciada por parâmetros como pH, teor de matéria orgânica e formas químicas do zinco (Mossa et al., 2021). No contexto brasileiro, essa deficiência é especialmente observada em solos altamente intemperizados, como latossolos e cambissolos, presentes no Cerrado e na zona costeira úmida do Atlântico, onde a disponibilidade de zinco na forma biodisponível é geralmente baixa (Silva et al., 2025).

A disponibilidade da forma solúvel de  $Zn^{2+}$  no solo é fortemente influenciada pelas propriedades edáficas. Segundo Taspina et al. (2025), fatores como baixos teores totais de Zn no solo, textura arenosa, elevada concentração de carbonatos ( $CaCO_3$ ), pH alcalino (superior a 7,4), baixos teores de matéria orgânica e interações com nutrientes como o fósforo reduzem significativamente a mobilidade e a absorção de zinco pelas plantas. Nessas condições, a solubilidade do Zn diminui, limitando sua disponibilidade para as raízes e comprometendo o desenvolvimento vegetal, especialmente em regiões de clima semiárido onde estas características do solo são mais comuns.

A principal preocupação dos profissionais da área agrícola tem sido o aumento da produtividade das culturas, visando atender à crescente demanda global por alimentos. Para isso, têm sido desenvolvidas e aprimoradas técnicas de cultivo, bem como programas de melhoramento genético voltados à obtenção de cultivares mais resistentes a condições adversas. Embora esses avanços tenham contribuído significativamente para o crescimento da produção agrícola, aspectos relacionados à qualidade nutricional dos alimentos têm sido frequentemente negligenciados, especialmente diante do fenômeno de “diluição nutricional” associado a altas produtividades (Weiss e Gruda, 2025).

Sendo assim, aumentar a concentração de Zn em plantas de culturas alimentares, visando tanto maior produtividade quanto benefícios à saúde humana, permanece um importante desafio global. Entre os micronutrientes essenciais, o Zn destaca-se pela relevância da sua deficiência, o que tem atraído atenção significativa de cientistas e organizações internacionais (Gupta et al., 2024).

### **2.3 Biofortificação com zinco em folhosas**

Diante da deficiência de Zn nos solos, nas plantas e conseqüentemente nos seres humanos, uma estratégia que surge como alternativa para este problema seria o enriquecimento deste nutriente nas partes comestíveis das plantas, o qual pode ser feito através de melhoramento genético ou a partir de métodos agrícolas, em especial a fertilização (White e Brown, 2010). Esta estratégia é conhecida como biofortificação e tem como objetivo aumentar as concentrações biodisponíveis de Zn nos alimentos. Assim, a ingestão de alimentos biofortificados pode manter teores adequados do nutriente no organismo humano, além de aumentar a produtividade das culturas em solos com baixo teor do mineral (Almeida et al. 2016).

O melhoramento genético tem sido o principal foco de programas voltados à biofortificação de culturas alimentares básicas com níveis adequados de carotenoides, ferro, zinco e provitamina A. No entanto, um método alternativo chamado biofortificação agrônômica, que envolve a aplicação de fertilizantes de micronutrientes (como o zinco) por via foliar, no solo ou em sistemas hidropônicos, apresenta uma estratégia eficaz e de rápida implementação para melhorar simultaneamente a produtividade agrícola e o valor nutricional dos alimentos (Ahmad et al., 2023).

A biofortificação agrônômica é uma técnica eficaz para melhorar a qualidade nutricional dos alimentos e pode funcionar como um complemento importante aos programas de biofortificação genética, ao integrar o potencial genético das culturas com estratégias de adubação (Azeem et al., 2025).

Os fertilizantes com Zn podem ser aplicados diretamente no solo ou na hidroponia em três tipos de compostos, os inorgânicos, os quelatos sintéticos e os complexos naturais orgânicos, que variam em seu teor de Zn, preço e eficácia para culturas em diferentes tipos de solo. A fonte inorgânica sulfato de zinco ( $ZnSO_4$ ) é mais comum e amplamente utilizada devido à sua alta solubilidade e baixo custo. Outras fontes inorgânicas são óxido de zinco (ZnO),

carbonato de zinco ( $\text{ZnCO}_3$ ), nitrato de zinco ( $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ ) e cloreto de zinco ( $\text{ZnCl}_2$ ) (Alloway, 2008).

Recentemente a biofortificação agrônômica com Zn tem sido estudada em algumas culturas, principalmente em cereais, como trigo, arroz e milho, uma vez que estas culturas representam a maioria das calorias consumidas, especialmente em países em desenvolvimento (Cakmak e Kutman 2019). No entanto, Clemens (2017) sugere que uma estratégia complementar seria a biofortificação de hortaliças folhosas, pois estas contêm muito mais Zn do que os cereais (Broadley et al., 2007).

Estudos indicam que as famílias Brassicaceae, Euphorbiaceae e Asteraceae, nas quais há uma vasta gama de espécies de hortaliças folhosas, contêm plantas hiperacumuladoras de elementos minerais, incluindo Zn (Cappa e Pilon-Smiths, 2014). Essas plantas apresentam naturalmente concentrações de 50 a 100 vezes maiores de um metal, incluindo cobre (Cu), manganês (Mn), níquel (Ni), selênio (Se) e zinco (Zn) (Van der Ent et al., 2013).

Embora haja poucos estudos com biofortificação de Zn em hortaliças folhosas, Clemens (2017) reforça o potencial dessas culturas para o maior acúmulo de Zn e questiona: por que não introduzir a biofortificação em hortaliças folhosas? Segundo White e Broadley (2011), espécies da família Asteracea tendem a ter alto teor de Zn na parte aérea.

Além do potencial genético dessas plantas, as concentrações de Zn em hortaliças folhosas são geralmente maiores do que em grãos, tubérculos e frutas, uma vez os órgãos de reserva obtêm a maioria de seus minerais através do floema e o Zn é pouco móvel no floema (White e Broadley 2011). Sendo assim, as folhas podem contribuir substancialmente para a ingestão dietética de Zn, apesar do baixo teor calórico (Henderson et al. 2003).

Na literatura foram encontrados alguns trabalhos com relação à biofortificação agrônômica de Zn em folhosas (Broadley et al. 2010, Padash et al. 2016, Barrameda-Medina et al. 2017a, Barrameda-Medina et al. 2017b, White et al. 2018, Rugeles-Reyes et al. 2019). Ressalta-se que as culturas estudadas em todos estes trabalhos foram das famílias Brassicaceae e Asteraceae, ambas pertencentes ao grupo das hiperacumuladoras de Zn, conforme descrito anteriormente.

Com o objetivo de caracterizar a variação genética natural, Broadley et al. (2010) caracterizaram 270 acessos de *Brassica oleracea* L. cultivadas com  $5 \text{ mg Zn kg}^{-1}$  de solo e sem fertilização e observaram que os teores de Zn na parte aérea variaram de 4,3 a  $20,4 \text{ mg kg}^{-1}$  sob condições sem fertilização e de 14,8 a  $42,5 \text{ mg kg}^{-1}$  com a aplicação de Zn, concluindo que a

escolha da cultivar e as condições de cultivo afetam o teor de Zn, portanto, ambos devem ser levados em consideração em projetos de biofortificação.

Em couve, Barrameda-Medina et al. (2017b) observaram que a produção de biomassa não foi afetada, ao passo que o teor aumentou de 59 para 465  $\mu\text{g g}^{-1}$  nas plantas cultivadas sob concentrações de 10 a 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , respectivamente. Barrameda-Medina et al. (2017a) constataram aumento no teor de Zn nas folhas, na produção de biomassa e concluíram que a biofortificação agrônômica com Zn favoreceu o metabolismo do nitrogênio em alface.

Para determinar o teor limite de Zn na parte aérea de folhosas, White et al. (2018) estudaram cinco genótipos de repolho e quatro de brócolis. Para os genótipos de repolho aplicaram-se cinco concentrações crescentes em substrato, variando de 0,075 até 3000  $\text{mg L}^{-1}$  de Zn, para brócolis as concentrações foram de 0,15 até 450  $\text{mg L}^{-1}$  de Zn, ambos via nitrato de zinco. O aumento da concentração de Zn foi linear para todos os genótipos e a concentração crítica, aquela em que a massa seca é reduzida para menos de 90% do máximo valor observado (White e Broadley 2011), variou de 0,074 a 1,201  $\text{mg Zn g}^{-1}$  de massa seca entre os genótipos de repolho e de 0,117 a 1,666  $\text{mg Zn g}^{-1}$  de massa seca entre os genótipos de brócolis. As maiores concentrações excederam valores estimados por White e Broadley (2011) quanto ao potencial de absorção do Zn por hortaliças folhosas, o que sustenta a hipótese de que elas podem alcançar maiores concentrações deste nutriente em comparação com grãos, raízes ou tubérculos.

Visando biofortificar rúcula com aplicações foliares de Zn, Rugeles-Reyes et al. (2019) observaram que 1,5 e 1,0  $\text{kg ha}^{-1}$  aplicados aos 25 dias após a emergência resultaram em teores nas folhas de 246,5 e 209,4  $\text{mg Zn kg}^{-1}$ . Estes valores representaram aumento de 279 e 222 %, respectivamente, em relação aos teores das plantas que não receberam aplicações de Zn.

Fontes et al. (2014) estudaram aplicações no solo de 0, 4, 12, 36 e 72  $\text{kg ha}^{-1}$  de Zn (sulfato de zinco) no cultivo das alfaces cv. Mimosa e Regina Verão, pertencentes aos tipos varietais mimosa e lisa, respectivamente. Os autores observaram que, mesmo com concentrações aplicadas de Zn muito maiores que a recomendada de 3  $\text{kg ha}^{-1}$  para o local do cultivo, não houve efeito sobre a produtividade em comparação com as concentrações mais baixas em ambas as cultivares. Essa observação sugere que a alface está entre as espécies de plantas que toleram altas concentrações de Zn (Clemens 2017). Por outro lado, as maiores concentrações de Zn no solo resultaram em maiores teores de Zn nas folhas de ambas as cultivares, especialmente as mais velhas, alcançando valores acima de 1000  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

No Brasil ainda há poucos estudos com biofortificação agrônômica com Zn em alface. Visto que a maioria dos trabalhos são internacionais e com cultivares que não fazem parte do mercado brasileiro, evidencia-se a necessidade de mais estudos neste sentido, visando um efetivo programa de biofortificação agrônômica.

#### **2.4 Tolerância das plantas ao zinco**

Embora as quantidades totais de Zn presentes em alguns solos possam parecer suficientes para suprir as necessidades das culturas, a absorção pelas plantas é frequentemente limitada pela baixa disponibilidade do nutriente e pela eficiência de sua absorção pelas raízes. Fatores como pH do solo, interações com outros nutrientes e características da rizosfera reduzem a fração efetivamente disponível para absorção (Hamzah Saleem et al., 2022).

Quando aplicado em maior quantidade, os tecidos das raízes apresentam concentrações de Zn mais elevadas em relação aos tecidos da parte aérea devido à regulação genética de absorção e transporte desse micronutriente, entre outros fatores (Gupta et al. 2016; Charagh et al., 2024). Dessa forma o acúmulo nas plantas e a produtividade são limitadas pela toxicidade do Zn nas células das raízes sob estas condições. As concentrações limites de Zn na folha para a maioria das plantas situam-se entre 100 e 700 mg kg<sup>-1</sup> de massa seca (Fageria 2009).

Os sintomas de toxicidade por Zn incluem redução da produtividade, crescimento lento, clorose foliar associada à deficiência de ferro devido à redução na síntese de clorofila e degradação de cloroplastos, além de interferência na absorção de fósforo, magnésio e manganês. A suscetibilidade à toxidez por Zn varia entre espécies: gramíneas geralmente apresentam menor sensibilidade em solos ácidos, enquanto entre as dicotiledôneas, as hortaliças folhosas, especialmente das famílias Brassicaceae, Euphorbiaceae e Asteraceae, apresentam maior sensibilidade devido à elevada capacidade de absorção do nutriente (Natasha et al., 2022). Por outro lado, observou-se em estudos com biofortificação que essas hortaliças toleram altas concentrações de Zn nas folhas, com valores de 259 (Padash et al. 2016) e 1000 mg Zn kg de massa seca (Fontes et al. 2014) em alface e 465 mg Zn kg (Barrameda-Medina et al. 2017b) em couve.

Alguns estudos também sugerem que em situações de estresse a planta produz compostos envolvidos no transporte do elemento via xilema e, conseqüentemente, ocorre a desintoxicação no citoplasma e vacúolo (Assunção et al. 2003). Entre estes compostos estão os ácidos orgânicos, que agem como quelatos para sequestrar Zn da célula (Haydon e Cobbett

2007). Dessa forma ocorre o equilíbrio na translocação e acúmulo do nutriente, garantindo distribuição do Zn na planta e desintoxicação (Barrameda-Medina et al. 2017b).

Um estudo revelou que a couve sob condições de toxicidade de Zn, foi mais tolerante que alface por apresentar eficiência na distribuição do elemento, o que resultou em maior concentração do nutriente nas folhas sem redução da biomassa (Barrameda-Medina et al. 2017b).

## **2.5 Zinco e metabolismo antioxidante**

O Zn é um micronutriente essencial para as plantas, atuando como cofator estrutural e catalítico em enzimas e fatores de transcrição, sendo indispensável para processos como metabolismo de proteínas, regulação da expressão gênica, manutenção da integridade e funcionalidade das biomembranas e desempenho fotossintético. A deficiência de Zn compromete esses processos, reduz a atividade de enzimas antioxidantes e aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), resultando em estresse oxidativo e prejuízos no crescimento e desenvolvimento vegetal. Por outro lado, compreender os mecanismos moleculares de homeostase e resposta à deficiência de Zn tem permitido avanços em estratégias de biofortificação e manejo nutricional, visando maior eficiência no uso desse micronutriente pelas plantas (Stanton et al., 2022; Zeng et al., 2021).

As EROs são inevitavelmente formadas em eventos metabólicos como subprodutos de reações redox do oxigênio molecular, principalmente nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos (Karuppanapandian et al. 2011). Essas moléculas podem ser geradas como resultado de excitação, formando oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), ou de sucessivas adições de elétrons ao  $O_2$ , reduzindo-o ao radical aniônico superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), radical hidroperoxila ( $HO_2^{\cdot}$ ) ou peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e radical hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ) (Bhattacharjee 2010).

Estudos demonstraram que as EROs desempenham um papel importante no processo de desenvolvimento da planta e estão envolvidas nas respostas intracelulares, moleculares, bioquímicas e fisiológicas (Pan e Du 2017). No entanto, estes oxidantes são fortemente reativos e podem causar peroxidação lipídica na membrana da célula e até sua morte (Gechev et al. 2005, Ryter et al. 2007). Sendo assim, é conhecido que as EROs são responsáveis por danos induzidos pelo estresse e precisam ser eliminadas para a manutenção do crescimento normal da planta (Pan e Du 2017).

O  $H_2O_2$  é uma ERO cujo pequeno tamanho permite-lhe atravessar membranas celulares e migrar para compartimentos diferentes, dessa forma, os danos se difundem na célula. Além disso, o  $H_2O_2$  participa da reação formadora de  $OH^\bullet$ , o oxidante mais reativo na família das EROs. (Karuppanapandian et al. 2011).

O acúmulo excessivo de Zn pode ser tóxico às plantas e induzir a produção anormal de EROs, responsáveis pelo estresse oxidativo, causando peroxidação lipídica e morte celular (Mourato et al. 2012, Barrameda-Medina et al. 2014, Alonso-Blázquez et al. 2015). Sofo et al. (2018) observaram que os níveis de  $H_2O_2$  e MDA (indicativo da peroxidação lipídica) foram maiores em plantas de alface submetidas à solução com maior concentração de Zn. Por outro lado, a menor concentração não foi suficiente para causar estresse oxidativo.

As plantas apresentam um sistema de defesa antioxidante altamente integrado que atua na manutenção do equilíbrio redox celular e na proteção contra os danos provocados pelo excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs). Esse sistema envolve um conjunto coordenado de mecanismos enzimáticos, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX). A interação desses componentes assegura a remoção eficiente de EROs, a proteção de membranas, proteínas e ácidos nucleicos, e o restabelecimento rápido do equilíbrio redox durante condições de estresse. Estudos recentes destacam ainda estratégias biotecnológicas e de manejo nutricional para aprimorar a eficiência desses sistemas antioxidantes, aumentando a tolerância das plantas ao estresse oxidativo (Cannea e Padiglia, 2025; Fujita e Hasanuzzaman, 2022).

A SOD constitui a primeira barreira antioxidante nas plantas, catalisando a conversão do radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) em  $H_2O_2$  e oxigênio molecular. Em seguida, enzimas heme como CAT e APX assumem papel central na desintoxicação do  $H_2O_2$ , convertendo-o em água e oxigênio, com a CAT atuando predominantemente em peroxissomos e a APX em diferentes compartimentos celulares, incluindo cloroplastos, mitocôndrias e citosol. Essa atuação coordenada entre SOD, CAT e APX é essencial para manter os níveis de EROs sob controle e preservar a homeostase redox, especialmente frente a condições de estresse que aumentam a geração dessas espécies (Corpas et al., 2020; Anjum et al., 2016).

Segundo Pan e Du (2017), a estrutura das enzimas antioxidantes contém um metal correspondente, sendo assim, o processo antioxidante requer a participação de alguns íons metálicos. Por exemplo, cobre, zinco, ferro e manganês são componentes de Cu / Zn-SOD, Fe-SOD e Mn-SOD. Dessa forma, a quantidade destes elementos metálicos afeta as atividades enzimáticas, bem como a capacidade antioxidante da planta e, conseqüentemente, altera o

conteúdo das EROs (Pan e Du 2017). Em estudo com diferentes concentrações de Cu e Zn no solo, Haghghi e Silva (2016) observaram que, na data da colheita, a atividade de SOD em alface aumentou conforme doses crescentes de Cu e Zn no solo (50; 100; e 150 mg kg<sup>-1</sup> de solo).

Através da atividade antioxidante, o Zn pode reduzir efeitos de condições abióticas e bióticas que causam estresse na planta, como salinidade do solo e infecção por patógenos (Weisany et al. 2012, Sida-Arreola et al. 2017). Em soja, Weisany et al. (2012) constataram que sob três níveis de salinidade, a peroxidação lipídica nas plantas foi menor quando as plantas receberam Zn na adubação, além disso, a concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nessas plantas decresceu em aproximadamente 50 % em todos os níveis de salinidade. Em feijão, Sida-Arreola et al. (2017) aplicaram três doses de Zn visando a biofortificação agrônômica e observaram que a aplicação do Zn, além de melhorar a qualidade nutricional, aumentou a capacidade antioxidante da planta.

Conforme o exposto, sabe-se que o Zn é um importante componente para a atividade antioxidante e, conseqüentemente, resistência da planta a condições de estresse. Por outro lado, o excesso na planta pode causar toxidez e maior produção de EROs. Para alface, pouca informação está disponível sobre os efeitos do Zn no metabolismo das EROs e na atividade das enzimas antioxidantes nas plantas. Este conhecimento pode fornecer informações importantes para o manejo da adubação e biofortificação agrônômica com Zn.

### 3 REFERÊNCIAS

- Ahmad, W., Zou, Z., Awais, M., Munsif, F., Khan, A., Nepal, J., Khan, H. (2023). Seed-primed and foliar oxozinc nanofiber application increased wheat production and Zn biofortification in calcareous-alkaline soil. *Agronomy*, 13(2), 400.
- Alonso-Blázquez, N., García-Gómez, C., Fernández, M. D. (2015). Influence of Zn-contaminated soils in the antioxidative defence system of wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) at different exposure times: potential use as biomarkers. *Ecotoxicology*, 24, 279–291.
- Almeida, H. J., Dutra, A. F., Cecílio Filho, A.B. (2016). Biofortificação de hortaliças e saúde global – um enfoque para selênio, zinco, ferro e iodo. In Prado, R.M.; Cecílio Filho, A.B. *Nutrição e adubação de hortaliças*. p. 103-150.
- Anjum, N. A., Sharma, P., Gill, S. S., Hasanuzzaman, M., Khan, E. A., Kachhap, K., Tuteja, N. (2016). Catalase and ascorbate peroxidase—representative H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-detoxifying heme enzymes in plants. *Environmental science and pollution research*, 23(19), 19002-19029.
- Assunção, A. G. L., Schat, H., Aarts, M. G. M. (2003). *Thlaspi caerulescens*, an attractive model species to study heavy metal hyperaccumulation in plants. *New Phytol.*, 159, 351–360.
- Azeem, A., Khan, S., Zia Ul Haq, M., Shafiq, S., Aslam, M. T., Munir, S., Sikandar Zaman, M. (2025). Biofortification strategies for enhancing crop nutritional value: a review of methods, challenges, and future directions. *Discover Plants*, 2(1), 185.
- Barrameda-Medina, Y., Montesinos-Pereira, D., Romero, L., Blasco, B., Ruiz, J. M. (2014). Role of GSH homeostasis under Zn toxicity in plants with different Zn tolerance. *Plant Sci.*, 227, 110–121.
- Barrameda-Medina, Y., Blasco, B., Lentini, M., Esposito, S., Baenas, N., Moreno, D.A., Ruiz, J. M. (2017b). Zinc biofortification improves phytochemicals and amino-acidic profile in *Brassica oleracea* cv. Bronco. *Plant Science*, 258, 45–51.
- Barrameda-Medina, Y., Lentini, M., Esposito, S., Ruiza, J. M., Blasco, B. (2017a) Zn biofortification enhanced nitrogen metabolism and photorespiration process in green leafy vegetable *Lactuca sativa* L. *J. Sci. Food Agric.*, 97, 1828–1836.
- Bittencourt, R. F. D. M., Silva, M. L. D., Sampaio, I. M., Bittencourt, E. C., Santos, R. I., Coelho, A. D., Lemos, H. D. S. (2024). Morphophysiology and postharvest quality of hydroponic lettuce cultivars grown under high temperature. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 28(5), e277774.
- Bhattacharjee, S. (2010). Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: Gupta, S. D. *Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants* (p. 1-30). Enfield: Science Publishers.
- Broadley, M. R., Lochlainn, S. O., Hammond, J. P., Bowen, H.C., Cakmak, I., Eker, S., Erdem, H., King, G. J., White, P. J. (2010). Shoot zinc (Zn) concentration varies widely within

Brassicaoleracea L. and is affected by soil Zn and phosphorus (P) levels. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 85, 375–380.

Cannea, F. B., Padiglia, A. (2025). Antioxidant Defense Systems in Plants: Mechanisms, Regulation, and Biotechnological Strategies for Enhanced Oxidative Stress Tolerance. *Life*, 15(8), 1293.

Cakmak, I., Kalayci, M., Kaya, Y., Torun, A. A., Aydin, N., Wang, Y., Arisoy, Z., Erdem, H., Yazici, A., Gokmen, O., Ozturk, L., Horst, W. J. (2010). Biofortification and localization of zinc in wheat grain. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 9092–9102.

Cakmak, I. and Kutman, U.B. (2019). Agronomic biofortification of cereals with zinc: a review. *European Journal of Soil Science* this issue, 69, 172–180.

Cappa, J. J. and Pilon-Smits, E. A. H. (2014). Evolutionary aspects of elemental hyperaccumulation. *Planta*, 239, 267–275.

Charagh, S., Hui, S., Wang, J., Raza, A., Zhou, L., Xu, B., Hu, P. (2024). Unveiling innovative approaches to mitigate metals/metalloids toxicity for sustainable agriculture. *Physiologia Plantarum*, 176(2), e14226.

Clemens, S. (2017). How metal hyperaccumulating plants can advance Zn biofortification. *Plant Soil*, 411, 111–120.

Corpas, F. J., González-Gordo, S., Palma, J. M. (2020). Plant peroxisomes: a factory of reactive species. *Frontiers in Plant Science*, 11, 853.

De Andrade Barbosa, T. H., de Melo, R. H. G., Maciel, J. I. (2025). Efeitos na deficiência de zinco na resposta imunológica de pacientes com infecções respiratórias de repetição. *Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences*, 7(1), 2019-2028.

Department of Health (UK). (1991). Report on Health and Social Subjects 41. Dietary Reference Values for Food Energy and Nutrients. London: HMSO.

do Amaral, J. C., Silva, V. N. (2018). Tolerance to bolting in lettuce: cultivars and growing seasons. *Idesia*, 36(4), 4.

Filgueira, F. A. R. (2013). *Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. 3rd edn. Viçosa: Editada da UFV.

Fontes, R. L. F., Pereira, J. M. N., Neves, J. C. L. (2014). Uptake and translocation of Cd and Zn in two lettuce cultivars. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 86, 907-922.

Fujita, M., Hasanuzzaman, M. (2022). Approaches to enhancing antioxidant defense in plants. *Antioxidants*, 11(5), 925.

Gechev, T. and Hille, J. (2005). Hydrogen peroxide as a signal controlling plant programmed cell death. *Cell Biol.*, 168, 17-20.

Gupta, N., Ram, H., Kumar, B. (2016). Mechanism of zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 15, 89–109.

Gupta, S., Brazier, A. K. M., Lowe, N. M. (2020). Zinc deficiency in low-and middle-income countries: prevalence and approaches for mitigation. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 33(5), 624-643.

Gupta, O. P., Singh, A., Pandey, V., Sendhil, R., Khan, M. K., Pandey, A., ... & Singh, G. (2024). Critical assessment of wheat biofortification for iron and zinc: a comprehensive review of conceptualization, trends, approaches, bioavailability, health impact, and policy framework. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1310020.

Haydon, M. J., Cobbett, C. S. (2007). Transporters of ligands for essential metal ions in plants. *NewPhytol.*, 174, 499–506.

Haghighi, M. and Silva, J. A. T. (2016). Application of Biosolids to Soil Affects Cu and Zn Accumulation and Antioxidant Activity of Lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Plant Nutrition*, 39, 252-260.

Hamzah Saleem, M., Usman, K., Rizwan, M., Al Jabri, H., Alsafran, M. (2022). Functions and strategies for enhancing zinc availability in plants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1033092.

Henderson, L., Irving, K., Gregory, J., Bates, C. J., Prentice, A., Perks, J., Swan, G., Farron, M. (2003). *The National Diet and Nutrition Survey: Adults Aged 19 -64 Years. Volume 3: Vitamin and Mineral Intake and Urinary Analysis.* Her Majesty's Stationery Office (HMSO).

Hussain, A., Jiang, W., Wang, X., Shahid, S., Saba, N., Ahmad, M., Mustafa, A. (2022). Mechanistic impact of zinc deficiency in human development. *Frontiers in Nutrition*, 9, 717064.

Imdad, A., Rogner, J., Sherwani, R. N., Sidhu, J., Regan, A., Haykal, M. R., Bhutta, Z. A. (2023). Zinc supplementation for preventing mortality, morbidity, and growth failure in children aged 6 months to 12 years. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (3).

Institute of Medicine (USA). (2001). *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, (Arsenic), Boron, Chromium, Cooper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc.* Washington, D C: National Academies Press.

Karuppanapandian, T., Moon, J. C., Kim, C., Manoharan, K., Kim, W. (2011). Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. *Aust. J. Crop Sci.*, 5, 709–725.

Kosma, C., Triantafyllidis, V., Pappasavvas, A., Salahas, G., Patakas, A. (2013). Yield and nutritional quality of greenhouse lettuce as affected by shading and cultivation season. *Emir. J. Food Agric.*, 25, 974-979.

Kiekens, L. (1995). Zinc. In: Alloway, B. J. (ed.), *Heavy Metals in Soils* (p. 284–303). London: Chapman e Hall.

- Marjotta-Maistro, M. C.; Montebello, A. E. S.; Santos, J. A. dos; Pedroso, M. T. M. (2022). Fluxo de abastecimento de alface e suas variedades: principais regiões de origem e destino. In: Silva-Matos, G. M.; Melo, G. S.; Rodrigues, B. E. L. Desenvolvimento rural e processos sociais nas ciências agrárias. p. 135–148.
- Mampholo, B. M., Maboko, M. M., Soundy, P., Sivakumar, D. (2016). Phytochemicals and overall quality of leafy lettuce (*Lactuca sativa* L.) varieties grown in closed hydroponic system. *J. Food Qual.*, 39, 805–815.
- Mourato, M., Reis, R., Martins, L. (2012). Characterization of plant antioxidative system in response to abiotic stresses: a focus on heavy metal toxicity, in: G. Montanaro, B. Dichio (Eds.), *Advances in Selected Plant Physiology Aspects* (p. 23–44). Rijeka, Croatia: InTech.
- Mossa, A. W., Gashu, D., Broadley, M. R., Dunham, S. J., McGrath, S. P., Bailey, E. H., Young, S. D. (2021). The effect of soil properties on zinc lability and solubility in soils of Ethiopia—an isotopic dilution study. *Soil*, 7(1), 255-268.
- Natasha, N., Shahid, M., Bibi, I., Iqbal, J., Khalid, S., Murtaza, B., Arshad, M. (2022). Zinc in soil-plant-human system: A data-analysis review. *Science of the Total Environment*, 808, 152024.
- Padash, A., Shahabivand, S., Behtash, F., Aghae, A. (2016). A practicable method for zinc enrichment in lettuce leaves by the endophyte fungus *Piriformospora indica* under increasing zinc supply. *Scientia Horticulturae*, 213, 367–372.
- Pesquisas de Orçamentos Familiares – POF. (2008). Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. 2008-2009. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv50063.pdf>. Acessado em: 10 jan. 2025.
- Rouphael, Y., Cardarelli, M., Bassal, A., Leonardi, C., Giuffrida, F., Colla, G. (2012). Vegetable quality as affected by genetic, agronomic and environmental factors. *J. Food Agric. Environ.*, 10, 680–688.
- Rouphael, Y., Kyriacou, M. C., Vitaglione, P., Giordano, M., Pannico, A., Colantuono, A., De Pascale, S. (2017). Genotypic variation in nutritional and antioxidant profile among iceberg lettuce cultivars. *Acta Scie. Polon. Hort. Cult.*, 16, 37–45.
- Rugeles-Reyes, S. M., Cecílio Filho, A. B., Aguilar, M. A. L., Silva, P. H. S. (2019). Foliar application of zinc in the agronomic biofortification of arugula. *Food Sci. Technol*, Ahead of Print.
- Ryter, S. W., Kim, H. P., Hoetzel, A., Park, J. W., Nakahira, K., Wang, X., Choi, A. M. K. (2007). Mechanisms of cell death in oxidative stress. *Antioxid. Redox. Sign.*, 9, 49-89.
- Sala, F. C., Costa, C. P. (2012). Retrospectiva e tendência da alfacultura brasileira. *Horticultura Brasileira*, 30, 187-194.
- Sida-Arreola, J. P., Sánchez, E., Ojeda-Barrios, D. L., Ávila-Quezada, G. D., Flores-Córdova, M. A., Márquez-Quiroz, C., Preciado-Rangel, P. (2017). Can biofortification of zinc improve the antioxidant capacity and nutritional quality of beans? *Emir. J. Food Agric.* 29, 237–242.

- Silva, A. B. P., Borges, L. F. S., Lucini, F., Silva, G. N., Santos, E. F. (2025). Technologies in Agronomic Biofortification with Zinc in Brazil: A Review. *Plants*, 14(12), 1828.
- Sofo, A., Moreira, I., Gattullo, C. E., Martins, L. L., Mourato, M. (2018). Antioxidant responses of edible and model plant species subjected to subtoxic zinc concentrations. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 49, 261-268.
- Sönmez, I., Kalkan, H., Demir, H., Külçü, R., Yaldiz, O., Kaplan, M. (2017). Mineral composition and quality parameters of greenhouse grown lettuce (*Lactuca sativa* L.) depending on fertilization with agricultural waste composts. *Acta Sci Polonorum Hortorum*, 16, 85–95.
- Stanton, C., Sanders, D., Krämer, U., Podar, D. (2022). Zinc in plants: Integrating homeostasis and biofortification. *Molecular Plant*, 15(1), 65-85.
- Taspınar, K., Aytop, H., Ateş, Ö., Varol, M., Yalçın, G., Kızılaslan, F., Toprak, S. (2025). Zinc bioavailability in semiarid agricultural regions: a soil property-based assessment. *Environmental Geochemistry and Health*, 47(7), 238.
- Van Der Ent, A., Baker, A. J. M., Reeves, R. D., Pollard, A. J., Schat, H. (2013). Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: facts and fiction. *Plant Soil*, 362, 319–334.
- Weisany, W., Sohrabi, Y., Heidari, G., Siosemardeh, A., Ghassemi-Golezani, K. (2012). Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean (*Glycine max* L.). *Plant Omics*, 5, 60-67.
- Weiss, J., Gruda, NS (2025). Enhancing nutritional quality in vegetables through breeding and cultivar choice in protected cultivation. *Scientia Horticulturae*, 339, 113914.
- Wessells, K. R., Singh, G. M., Brown, K. H. (2012). Estimating the global prevalence of inadequate zinc intake from national food balance sheets: effects of methodological assumptions. *PloS one*, 7(11), e50565.
- White, P. J. and Brown, P. H. (2010). Plant nutrition for sustainable development and global health. *Ann. Bot.*, 105, 1073-1080.
- White, P. J. and Broadley, M. R. (2011). Physiological limits to zinc biofortification of edible crops. *Frontiers in Plant Science*, 2, 1-11.
- White, P. J., Pongrac, P., Sneddon, C. C., Thompson, J. A., Wright, G. (2018). Limits to the biofortification of leafy Brassicas with zinc. *Agriculture*, 32, 2-14.
- Zeng, H., Wu, H., Yan, F., Yi, K., Zhu, Y. (2021). Molecular regulation of zinc deficiency responses in plants. *Journal of Plant Physiology*, 261, 153419.

## **CAPÍTULO I**

**Caracterização dos teores de nutrientes em alface tropicalizada do tipo crespa visando programa de biofortificação**

## **Caracterização dos teores de nutrientes em alface tropicalizada do tipo crespa visando programa de biofortificação**

### **Resumo**

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma das hortaliças mais consumidas no Brasil e no mundo, sendo fonte importante de vitaminas, minerais e fibras. A deficiência de zinco (Zn) na alimentação humana é um problema de saúde pública, e a biofortificação agronômica surge como uma estratégia eficiente para aumentar a concentração desse micronutriente nas plantas. Esta pesquisa teve como objetivo avaliar a variabilidade genética para teores de nutrientes em cultivares comerciais e genótipos de alface do programa de melhoramento da UFSCar, visando a seleção de materiais promissores para programas de biofortificação com zinco. O experimento foi conduzido em solo, com 26 materiais genéticos, sendo cinco cultivares comerciais e 21 genótipos. Foram avaliados os teores de macro e micronutrientes, com ênfase no zinco. Observou-se ampla variabilidade entre os materiais, com teores naturais de zinco variando de 38 a 92 mg kg<sup>-1</sup> na matéria seca das folhas, sem aplicação de suplementação. A cultivar Vanda apresentou teor dentro da faixa ideal (20 a 60 mg kg<sup>-1</sup>) e foi utilizada como testemunha por sua relevância comercial. Genótipos como F10 206-2 destacaram-se pelo alto teor de zinco, enquanto outros, como 281-3-2-2 e F10 47-2, apresentaram os menores teores. A presente pesquisa evidenciou significativa variabilidade genética nos teores de nutrientes entre cultivares comerciais e genótipos de alface do programa de melhoramento da UFSCar. Visando programa de biofortificação genética e agronômica com Zn, os materiais que se destacaram com maior teor foram F10 206-2, e menores teores foram F10 47-2 e 281-3-2-2.

**Palavras-chave:** *Lactuca sativa* L., biofortificação, micronutrientes, variabilidade genética, segurança alimentar, zinco.

## Characterization of nutrient contents in tropicalized crisp lettuce for a biofortification program

### Abstract

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is one of the most consumed vegetables in Brazil and worldwide, serving as an important source of vitamins, minerals, and fiber. Zinc (Zn) deficiency in the human diet is a public health issue, and agronomic biofortification is an effective strategy to enhance Zn concentration in edible plant tissues. This study aimed to evaluate the genetic variability in nutrient content among commercial cultivars and breeding genotypes of lettuce developed by the UFSCar breeding program, to identify promising materials for Zn biofortification. The experiment was conducted in soil using 26 genotypes, including five commercial cultivars and 21 advanced lines. Macro and micronutrient contents were analyzed, with emphasis on Zn concentration. A wide range of Zn levels was observed, from 38 to 92 mg kg<sup>-1</sup> in leaf dry matter, without zinc supplementation. The cultivar 'Vanda' exhibited Zn levels within the optimal range (20–60 mg kg<sup>-1</sup>) and was used as a reference due to its commercial relevance. Genotypes such as F10 206-2 showed high Zn accumulation, while others, including 281-3-2-2 and F10 47-2, had the lowest levels. The present study revealed significant genetic variability in nutrient contents among commercial cultivars and lettuce genotypes from the UFSCar breeding program. Aiming at a genetic and agronomic biofortification program with Zn, the genotypes that stood out with the highest contents were F10 206-2, while the lowest contents were observed in F10 47-2 and 281-3-2-2.

**Keywords:** *Lactuca sativa* L., biofortification, micronutrient, genetic variability, food security, zinc.

## Introdução

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça de folhas mais consumida e produzida no Brasil e no mundo, desempenha um papel fundamental como fonte de vitaminas, minerais e fibras sendo uma opção saudável para consumo humano, contribuindo para a segurança alimentar global. Segundo dados recentes, sua popularidade nas dietas humanas se deve à sua presença em saladas e pratos variados, oferecendo textura e sabor, além de ser uma fonte acessível de nutrientes essenciais (Noulas et al., 2018). Economicamente, o cultivo de alface apoia a geração de empregos e a sustentabilidade de comunidades agrícolas locais, sendo, portanto, relevante tanto para a saúde quanto para a economia (Barrameda-Medina et al., 2017).

O conhecimento da quantidade de nutrientes na planta de alface, fornece informações importantes que podem auxiliar em programas de biofortificação genética e agrônômica. Essa técnica busca enriquecer a planta com nutrientes essenciais, melhorando sua qualidade nutricional. Pode ser realizada de duas formas, pelo melhoramento genético ou pelo manejo nutricional da cultura (Barrameda-Medina et al., 2017) pela aplicação de fertilizantes.

A biofortificação da alface com zinco pode ajudar a combater a desnutrição e promover uma alimentação mais saudável (Noulas et al., 2018). Através da seleção de cultivares que acumulam mais nutrientes e o aumento das concentrações destes nutrientes via fertilização pode ser uma ótima estratégia de enriquecimento em curto prazo e de resposta rápida (Clemens, 2017).

O uso de variações genotípicas no melhoramento de plantas visando a biofortificação, tem despertado muito interesse devido ao potencial de aplicação na melhoria da qualidade dos alimentos (Khush et al., 2012). Estudos recentes apontam que a utilização de variações genotípicas pode contribuir significativamente para o desenvolvimento de cultivares com maior concentração de nutrientes e menor presença de fatores antinutricionais, como o fitato, aumentando a biodisponibilidade de nutrientes e tornando possível a produção de alimentos biofortificados com alto potencial nutricional (Amarakoon et al., 2012).

Estudos mostram que a alface é especialmente eficiente em acumular potássio, cálcio, magnésio que são elementos importantes para sua estrutura e função celular, também sendo hiper acumuladora de micronutrientes como ferro e zinco, demonstrando potencial em programas que buscam melhorar o teor de micronutrientes como ferro e zinco, essenciais para dietas humanas e frequentemente deficientes em populações (Volpe, et. al 2020).

A alface apresenta teores relevantes de nutrientes na parte fresca, conforme as Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo. Entre os macronutrientes,

destacam-se o nitrogênio (30–50 g kg<sup>-1</sup>) e o potássio (35–50 g kg<sup>-1</sup>), seguidos por cálcio (15–25 g kg<sup>-1</sup>), magnésio (6–12 g kg<sup>-1</sup>), fósforo (3–7 g kg<sup>-1</sup>) e enxofre (2–4 g kg<sup>-1</sup>). Nos micronutrientes, os maiores teores são de ferro (50–150 mg kg<sup>-1</sup>), zinco (25–100 mg kg<sup>-1</sup>) e manganês (30–250 mg kg<sup>-1</sup>), evidenciando o potencial da alface como alimento biofortificável, especialmente no combate à deficiência desses elementos na dieta humana.

Em pesquisa de Bhardwaj et al. (2022), que uma solução nutritiva contendo 0,24 mg L<sup>-1</sup> de zinco (na combinação com 8 mg L<sup>-1</sup> de Fe) foi utilizada em cultivo hidropônico de alface, resultando em aumento significativo no teor foliar de zinco, alcançando valores superiores a 20 mg kg<sup>-1</sup>, sem comprometer o desenvolvimento da planta. Já Ahmed et al. (2024), ao aplicar nanopartículas de ZnO (tipos ZnO<sup>-1</sup>, ZnO<sup>-2</sup>, ZnO<sup>-3</sup>) ao solo em concentração de 20 mg kg<sup>-1</sup>, observaram aumentos entre 3,2 e 12,6 vezes no teor de zinco nas folhas, atingindo entre 60 e 250 mg kg<sup>-1</sup> de Zn (comparado ao controle).

Estudos recentes mostraram o potencial da biofortificação agrônômica com zinco em solo e sistema hidropônico em alface, destacando o aumento do teor do micronutriente nas folhas e raízes, assim como, no aumento de biomassa da alface. Moraes et al. (2022), ao aplicarem até 40 mg Zn dm<sup>-3</sup> em solo, observaram teores foliares de zinco que variaram de 41,5 a 746,3 mg kg<sup>-1</sup> na matéria seca, com a cultivar Vanda. Já Lima et al. (2023), utilizando doses de até 2,4 mg Zn L<sup>-1</sup> em sistema hidropônico NFT, alcançaram teores foliares de até 733,3 mg kg<sup>-1</sup>, com acúmulo de 931,7 mg por planta na parte aérea e 2.441 mg por planta nas raízes, sem prejuízo à biomassa fresca ou seca das plantas.

No estudo de Puccinelli et al. (2024), com alface cultivada em sistema aeropônico receberam suplementação com zinco (até 450 µM), cobre (até 250 µM), selênio (13 µM) e iodo (5 µM). A combinação desses micronutrientes aumentou significativamente os teores nas folhas, sem comprometer a biomassa. Com a formulação otimizada (Zn 250 µM + Cu 150 µM + Se 13 µM + I 5 µM), 100 g de folhas forneceram até 4,5 % da recomendação diária de Zn, 6,1 % de Cu, 35,3 % de Se e 263 % de I.

A avaliação de teores de nutrientes em plantas de alface é importante em programas de melhoramento visando a biofortificação genética bem como em programas nutricionais visando a biofortificação agrônômica, assim, foi testada a hipótese de que as cultivares comerciais e genótipos de alface tropicalizadas do programa de melhoramento genético da UFSCar apresentam variação nos teores de nutrientes entre eles o zinco. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi caracterizar os materiais de alface visando suporte a programas de biofortificação genética e agrônômica.

## **Material e Métodos**

### **Local experimental**

O experimento foi conduzido em solo, em área pertencente ao Departamento de Biotecnologia e Produção Vegetal e Animal, setor Horticultura, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos, *Campus* Araras, São Paulo (22° 21'S, 47°23'O; 640 metros de altitude).

### **Delineamento experimental**

O experimento de seleção de cultivar e genótipos foi realizada de 18/04 a 07/06/2022. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC). Foram caracterizados 26 materiais de alface do tipo varietal crespa, sendo 5 cultivares comerciais e 21 genótipos do programa de melhoramento genético de alface da UFSCar, *Campus* Araras-SP, com três repetições e oito plantas por repetição (Tabela 1).

**Tabela 1.** Cultivares comerciais e genótipos do programa de melhoramento genético da UFSCar/Araras, para caracterização do teor de zinco no campo experimental da UFSCar/Araras, SP.

Cultivar/genótipo	Origem
Vanda	Comercial (Sakata)
Jade	Comercial (Sakata)
Cristal	Comercial (Blue Seeds)
Brida	Comercial (Hortec)
Davidole	Comercial (Syngenta)
105-1-1	Genótipo
93-1-3	Genótipo
134-1-1	Genótipo
181-5-2	Genótipo
184-5-2	Genótipo
226-1-3-3	Genótipo
281-2-3-2	Genótipo
281-3-2-2	Genótipo
281-5-1-2	Genótipo
1910-1-0	Genótipo
F9 144-1	Genótipo
F9 160	Genótipo
F10 206-2	Genótipo
F9 195-1	Genótipo
176-3-2-1	Genótipo
281-3-2-3	Genótipo
F9 39-4-0	Genótipo
184-5-3-1	Genótipo
F10 47-2	Genótipo
1401-141-4	Genótipo
4-2-1	Genótipo

### Procedimento experimental

As mudas de alface foram produzidas em viveiro comercial (IBS Mudas - Piracicaba – SP) em bandejas de polipropileno com 128 células. Antes do seu transplante para o campo, preparou-se o solo com grade leve, seguido de levantamento dos canteiros com altura de 30 cm e dividido em parcelas de 2 m<sup>2</sup>. A irrigação foi por aspersão com turno regulado para fornecer lâmina d'água de aproximadamente 8 mm dia<sup>-1</sup> e controle manual de plantas daninhas, por capina. Aos 30 dias após semeadura (DAS), as plantas foram transplantadas com espaçamento de 0,3 x 0,25 m.

As amostras do solo foram encaminhadas para o Laboratório de Fertilidade do Solo da UFSCar *campus* Araras, para análise química. Os atributos determinados incluíram matéria orgânica, pH, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, acidez potencial (H+Al), soma de bases

(S.B.), capacidade de troca catiônica (C.T.C.), saturação por bases (V) e teores disponíveis de enxofre, boro, cobre, ferro, manganês e zinco. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 2, que serviu de referência para caracterizar a fertilidade do solo.

**Tabela 2.** Atributos químicos do solo em análise realizada em 21/06/2022, na UFSCar, *campus* Araras.

M.O.	pH	P	K	Ca	Mg	H+Al	S.B.	C.T.C.	V	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
g dm <sup>-3</sup>	-	mg dm <sup>-3</sup>	.....	mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	.....	%	.....	mg dm <sup>-3</sup>	.....	.....	mg dm <sup>-3</sup>	.....	.....	.....	.....
34	5,2	108	6,7	69	14	26	89,7	115,7	78	14	0,86	1,4	24	36,6	5

M.O. –Matéria orgânica; S.B – Soma de bases; C.T.C. – Capacidade de troca catiônica; V – Saturação por bases.

Aos 50 dias após o transplântio (DAT), foram realizadas as avaliações agrônômicas em quatro plantas por repetição. As variáveis analisadas incluíram a massa fresca (MF) e a massa seca (MS) da parte aérea, a estimativa de produtividade por metro quadrado (m<sup>2</sup>). Para a determinação da massa seca, a parte aérea das plantas (composta por folhas e caule) foi coletada e encaminhada para estufa com circulação de ar forçada, mantida a 65 °C, até obtenção de massa constante.

As amostras de MS foram encaminhadas para o Laboratório de Análise de Solo e Planta, Instituto Agrônomo de Campinas, em Campinas-SP, onde as amostras foram trituradas em moinho tipo Wiley para determinação do teor de macronutrientes e micronutrientes incluindo o zinco, por meio de digestão nítrico perclórico e leitura em espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP – OES), seguindo a metodologia estabelecida por Bataglia et al. (1983).

### Análise estatística

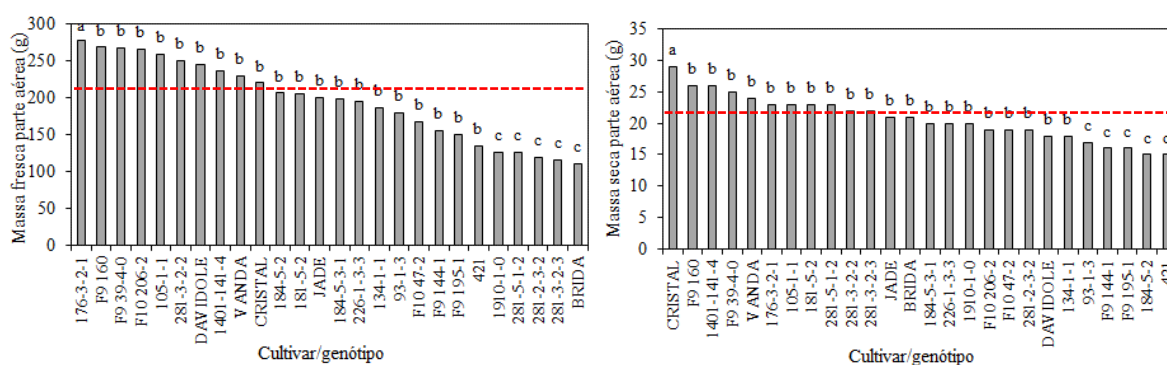
Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância, quando houve significância foi utilizado o teste de média de Scott-Knott a 5% de probabilidade ou p<0.05 de significância para comparação das médias. Para análise dos dados utilizou-se o Software Sisvar.

### Resultados

A Figura 1 apresenta a massa fresca (MFPA) e seca da parte aérea (MSPA) de diferentes cultivares ou genótipos, evidenciando variações significativas entre eles. A linha pontilhada representa a massa média de MFPA de 210 g planta<sup>-1</sup> e MSPA de 22 g planta<sup>-1</sup>. O genótipo 176-

3-2-1 destacou-se com a maior MFPA, alcançando aproximadamente 275 g, sendo estatisticamente superior aos demais. Em seguida, os genótipos F9 3160 (cerca de 260 g), F9 304-0 (aproximadamente 255 g) e F10 206-2 (em torno de 250 g) também apresentaram valores elevados, com desempenho semelhante entre si. Por outro lado, os menores valores de massa fresca foram observados nos genótipos 281-3-2-3, 281-2-3-2 e Brida, com massas próximas de 140 g, apresentando desempenho significativamente inferior.

O genótipo Cristal destacou-se com a maior MSPA, atingindo aproximadamente 30 g, sendo significativamente superior aos demais. Em seguida, genótipos como 1910-4, 1401-1414, F9 304-0 e Vanda apresentaram valores elevados e semelhantes, com massas variando entre 24 g e 27 g. Por outro lado, os menores valores de massa seca foram observados nos genótipos 134-1-1, F9 195-1, 184-5-2 e 421, com massas próximas de 15 g, indicando desempenho significativamente inferior.



**Figura 1.** Massa fresca (MFPA) e seca da parte aérea (MSPA) das cultivares comerciais e genótipos do programa de melhoramento genético da UFSCar/Araras. Médias na mesma coluna, seguidas por letras diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade ou  $p < 0.05$  de significância. Linha pontilhada corresponde à média geral de cada massa.

Houve variação nos teores de todos os nutrientes em todas cultivares/genótipos de alface (Tabela S1). A Figura 2 apresenta os teores de macronutrientes da parte aérea para as cultivares comerciais e genótipos através do teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. A linha pontilhada representa os teores médios de nitrogênio (N) de 31 g kg<sup>-1</sup>, fósforo (P) de 4,5 g kg<sup>-1</sup>, potássio (K) de 70 g kg<sup>-1</sup>, cálcio (Ca) de 7,5 g kg<sup>-1</sup>, magnésio (Mg) de 2,0 g kg<sup>-1</sup> e enxofre (S) de 2,5 g kg<sup>-1</sup>.

Os teores de N variaram significativamente entre os cultivares/genótipos. Os maiores teores foram observados nos genótipos 281-5-1-2, F9 195-1, e 1910-1-0, com valores próximos

de 42 a 43 g kg<sup>-1</sup>. Em contrapartida, os menores teores foram nas cultivares Cristal, Brida, e genótipo 281-3-2-2, que apresentaram valores inferiores a 37 g kg<sup>-1</sup>.

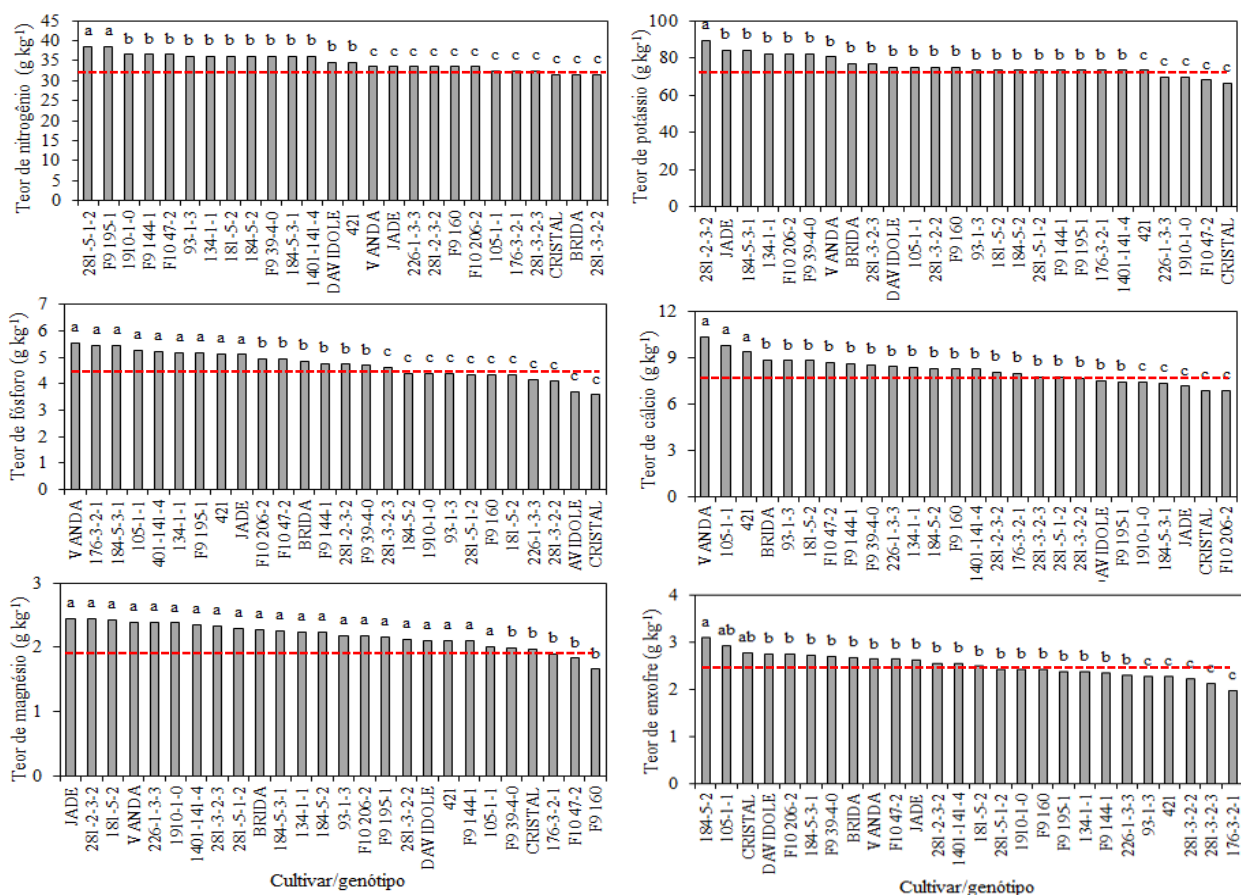
O conteúdo de K apresentou ampla variação entre os genótipos. O genótipo 281-2-3-2 destacou-se com o maior teor com cerca de 95 g kg<sup>-1</sup>, enquanto Cristal apresentou o menor valor, próximo a 60 g kg<sup>-1</sup>. A maioria dos genótipos mostrou teores intermediários, entre 70 e 85 g kg<sup>-1</sup>.

Os maiores teores de P foram observados na cultivar Vanda, e genótipos 176-3-2-1, e 184-5-3-1, com valores superiores a 3,5 g kg<sup>-1</sup>. A cultivares Davidole, Cristal, e o genótipo 281-3-2-2 apresentaram os menores teores, inferiores a 2,5 g kg<sup>-1</sup>.

A cultivar Vanda apresentou o maior teor de Ca com 11 g kg<sup>-1</sup>, seguido por 105-1-1 e 4-2-1. Os menores valores foram encontrados na cultivar Cristal e Jade, e genótipo F10 2016-2, com teores inferiores a 7 g kg<sup>-1</sup>.

O conteúdo de Mg foi mais elevado na cultivar Jade, e genótipos 281-3-2-3, e 181-5-2, com teores próximos de 4,2 g kg<sup>-1</sup>. Já os menores teores foram observados em F10 47-2 e F9 160, com valores abaixo de 3,2 g kg<sup>-1</sup>.

Os teores de S variaram de forma significativa, com destaque para os genótipos 184-5-2, 105-1-1 e cultivar Cristal, que apresentaram os maiores valores (entre 3 e 4 g kg<sup>-1</sup>). Os menores teores foram observados nos genótipos 281-3-2-2, 281-3-2-3, e 176-3-2-1, todos com valores inferiores a 2 g kg<sup>-1</sup>.



**Figura 2.** Teores de macronutrientes das cultivares comerciais e genótipos do programa de melhoramento genético da UFSCar/Araras. Médias na mesma coluna, seguidas por letras diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade ou  $p < 0.05$  de significância. Linha pontilhada corresponde à média geral de cada nutriente.

A Figura 3 apresenta os teores de micronutrientes da parte aérea para as cultivares comerciais e genótipos através do teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. A linha pontilhada representa os teores médios de boro (B) de  $18 \text{ mg kg}^{-1}$  cobre (Cu) de  $9 \text{ mg kg}^{-1}$ , zinco (Zn) de  $51 \text{ mg kg}^{-1}$ , manganês (Mn) de  $43 \text{ mg kg}^{-1}$  e ferro (Fe) de  $2.000 \text{ mg kg}^{-1}$ .

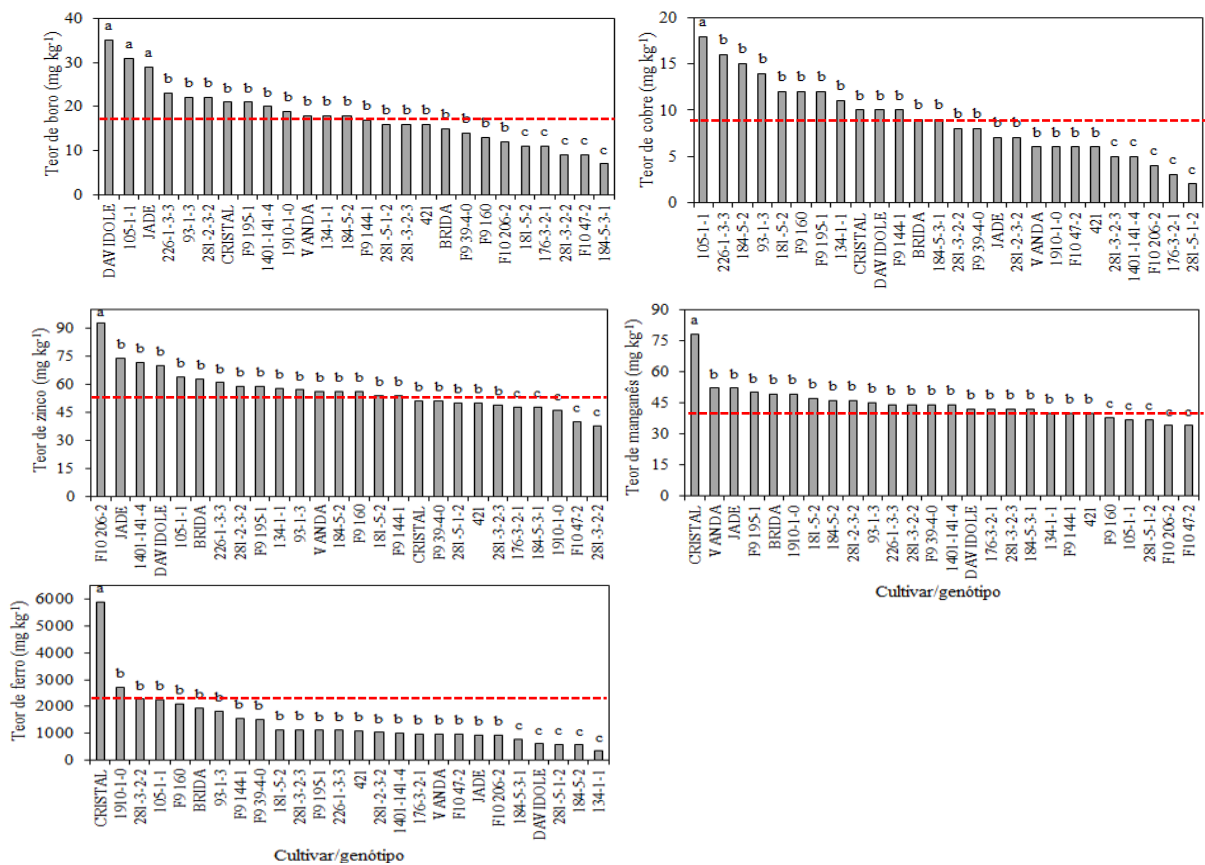
A cultivar Davidole apresentou o maior teor de B, atingindo aproximadamente  $38 \text{ mg kg}^{-1}$ , seguido por 105-1-1 e Jade. Os menores valores foram observados nos genótipos 281-3-2-2, F10 47-2 e 184-5-3-1, com teores abaixo de  $15 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Destacou-se a cultivar Cristal, com teor de Fe superior a  $5500 \text{ mg kg}^{-1}$ . Outros genótipos com altos teores incluíram 281-3-2-2 e 1910-1-0. Os menores valores foram registrados em Davidole, 281-5-1-2, 184-5-2 e 134-1-1 com teores inferiores a  $1500 \text{ mg kg}^{-1}$ .

O teor de Cu foi maior no genótipo 105-1-1 com valor em torno de 18 mg kg<sup>-1</sup>. Os menores teores foram observados em F10 206-2, 176-3-2-1, e 281-5-1-2, todos com menos de 10 mg kg<sup>-1</sup>.

O teor de Mn foi mais elevado na cultivar Cristal, ultrapassando 85 mg kg<sup>-1</sup>. Por outro lado, os menores teores foram encontrados em F10 47-2, F10 206-2 e 281-5-1-2, com valores abaixo de 40 mg kg<sup>-1</sup>.

O maior teor de Zn foi no genótipo F10 206-2 com valor de 92 mg kg<sup>-1</sup>. Por outro lado, os menores teores foram observados nos genótipos F10 47-2, 281-3-2-2, com valores abaixo de 45 mg kg<sup>-1</sup>.



**Figura 3.** Teores de micronutrientes das cultivares comerciais e genótipos do programa de melhoramento genético da UFSCar/Araras. Médias na mesma coluna, seguidas por letras diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade ou  $p < 0.05$  de significância. Linha pontilhada corresponde à média geral de cada nutriente.

## Discussão

A análise da MFPA evidencia variações significativas entre os genótipos avaliados, refletindo diretamente a capacidade de acúmulo de biomassa, incluindo o conteúdo de água nos tecidos vegetais. O genótipo 176-3-2-1 apresentou o maior valor (275 g), seguido por F9 3160 (260 g), F9 304-0 (255 g) e F10 206-2 (250 g), o que indica elevado potencial produtivo em termos de volume vegetal. Esses resultados são consistentes com estudos que apontam a influência genética como fator determinante na produção de biomassa aérea em espécies cultivadas (Singh et al., 2015).

Por outro lado, genótipos como 281-3-2-3, 281-2-3-2 e Brida, com valores inferiores a 150 g, demonstram menor capacidade de crescimento vegetativo, possivelmente associada a menor eficiência de absorção de água ou a limitações fisiológicas. A produção de massa fresca é um critério importante em sistemas de cultivo que valorizam o aspecto visual, o rendimento em peso comercial e a velocidade de crescimento (Ellsworth et al., 2020).

A MSPA, por sua vez, representa o acúmulo efetivo de matéria orgânica estrutural e metabólica, desconsiderando o teor de água, sendo um indicador mais preciso da produtividade fisiológica. O genótipo Cristal destacou-se com aproximadamente 30 g, superando todos os demais, seguido por 1910-4, 1401-1414 e F9 304-0, cujos valores oscilaram entre 24 e 27 g. Esses genótipos apresentaram maior eficiência na conversão da biomassa total em compostos estruturais, o que pode ser atribuído a características como maior densidade celular ou metabolismo mais eficiente (Scordia et al., 2014).

Em contrapartida, genótipos como 134-1-1, F9 195-1, 184-5-2 e 421, com valores próximos de 15 g, apresentaram desempenho inferior nesse parâmetro. A massa seca é especialmente relevante em programas de melhoramento que visam a produção de culturas para fins nutricionais ou bioenergéticos, onde a densidade de biomassa e a estabilidade pós-colheita são fatores críticos (Iqbal e Lewandowski, 2014). Além disso, a maior massa seca pode estar associada a maior eficiência no uso da água, característica desejável em ambientes com estresse hídrico (Edwards et al., 2016; Ellsworth et al., 2020).

Segundo Amarakoon et al. (2012), a seleção de cultivares com maior teor de minerais, e características agronômicas favoráveis, acabaria por aumentar a biodisponibilidade de minerais e, assim, seria possível produzir alimentos biofortificados. Para Graham et al. (2007), um genótipo altamente eficiente na utilização de nutrientes pode ser produtivo mesmo utilizando menores quantidades de nutrientes, por apresentar maior rapidez de transporte no xilema e rápida assimilação.

A variação genotípica é um fator fundamental para otimizar a biofortificação de alface e garantir que as variedades cultivadas possam oferecer um valor nutricional superior. Na atual pesquisa, observou-se que os genótipos obtiveram teor acima da média em relação as cultivares comerciais, evidenciando o potencial destes para biofortificação (Reis et al., 2013; Ávila et al., 2014).

O teor adequado de macronutrientes na folha, segundo as Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo do Boletim 100 (Trani e Raij, 2022), situa-se nas faixas de N 30–50 g kg<sup>-1</sup>, P 3–7 g kg<sup>-1</sup>, K 35–50 g kg<sup>-1</sup>, Ca 15–25 g kg<sup>-1</sup>, Mg 6–12 g kg<sup>-1</sup> e S 2–4 g kg<sup>-1</sup>. Nos resultados desta pesquisa, os materiais apresentaram desempenho distinto: o N alcançou valores de 42–43 g kg<sup>-1</sup>, portanto dentro da faixa de suficiência, mas na extremidade superior. O K atingiu 95 g kg<sup>-1</sup>, praticamente o dobro do limite superior recomendado, evidenciando acúmulo expressivo. Já o P apresentou 3,5 g kg<sup>-1</sup>, valor adequado, porém no limite inferior da faixa de referência. Para cálcio, magnésio e enxofre, os teores observados também se mostraram abaixo dos intervalos adequados, sugerindo limitações no suprimento desses nutrientes em comparação com os parâmetros de suficiência estabelecidos no Boletim 100.

O Boletim 100 (Trani e Raij, 2022) apresenta como faixas adequadas em folhas de alface os seguintes teores de micronutrientes: Fe 50–150 mg kg<sup>-1</sup>, Zn 25–100 mg kg<sup>-1</sup>, Mn 30–250 mg kg<sup>-1</sup>, Cu 7–20 mg kg<sup>-1</sup> e B 30–70 mg kg<sup>-1</sup>. Já nos resultados desta pesquisa, observou-se um acúmulo extremamente elevado de Fe, que atingiu valores acima de 5000 mg kg<sup>-1</sup> na cultivar Cristal, representando mais de 30 vezes o limite superior da faixa adequada e indicando potencial relevante para biofortificação. Para Mn (85 mg kg<sup>-1</sup>), Cu (18 mg kg<sup>-1</sup>) e B (38 mg kg<sup>-1</sup>), os valores estiveram dentro das faixas recomendadas, mas próximos do limite superior no caso do Cu. Em especial, o Zn apresentou teor de 92 mg kg<sup>-1</sup>, valor considerado adequado e situado no extremo superior da faixa de suficiência.

Em folhas de couve (*Brassica oleracea* L. var. acephala), De Sousa Lima et al. (2015) relataram um aumento de até 28 vezes na concentração de Zn ao fornecer à cultura 300 mg Zn kg<sup>-1</sup> de solo. Após aplicar 22,7 kg ha<sup>-1</sup> de Zn (na forma de sulfato de Zn, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) ao solo, Mao et al. (2014) observaram um aumento significativo no teor de Zn das porções comestíveis de canola (*Brassica napus* L.) e repolho (*Brassica rapa* L. Chinensis Group) (em 25% e 200%, respectivamente). A biofortificação de zinco por meio de pulverização foliar foi realizada com sucesso em rúcula (*Eruca sativa* L.) usando 1,5 kg ha<sup>-1</sup> de ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, com um aumento resultante de +94% no teor de Zn nas folhas (Rugeles-Reyes et al., 2019).

Entre vegetais folhosos não-Brassicáceas, em um estudo conduzido por Barrameda-Medina et al. (2017) plantas de alface cultivadas hidroponicamente (*Lactuca sativa* L.) suplementadas com 100  $\mu\text{M}$   $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  na solução nutritiva mostraram um aumento de 251% no teor de Zn nas folhas. Simultaneamente, os programas de biofortificação devem levar em consideração que altas concentrações de Zn em culturas cultivadas no solo podem afetar negativamente a absorção de Fe, e no atual estudo não afetou a absorção de Fe entre os genótipos.

Moraes et al. (2022) encontraram que a aplicação de zinco resultou em um aumento significativo no teor de zinco nas folhas de alface, com teores variando de 41,5 a 746,3  $\text{mg kg}^{-1}$  (com doses de 0 a 40  $\text{mg Zn dm}^{-3}$ ). A biofortificação também melhorou a produção de biomassa fresca com peso médio de 209 g por planta sem perdas até 40  $\text{mg Zn dm}^{-3}$ . Além disso, a pesquisa mostrou que, embora doses acima de 20  $\text{mg Zn dm}^{-3}$  tenham aumentado marcadores de estresse oxidativo (MDA, SOD), concentrações adequadas equilibraram o sistema antioxidante e, sob condições mais amenas, minimizaram o estresse, garantindo benefícios tanto para a planta quanto para a qualidade nutricional.

Lima et al. (2023) aplicaram quatro concentrações de sulfato de zinco na solução nutritiva de alface cultivada via sistema NFT hidropônico: 0,3; 1,0; 1,7 e 2,4  $\text{mg Zn L}^{-1}$ . Com a concentração máxima de 2,4  $\text{mg L}^{-1}$ , o teor de zinco nas folhas atingiu 733,3  $\text{mg kg}^{-1}$ , acumulando 931,7 mg de Zn por planta na parte aérea, além de 2.441 mg por planta na raiz. A produção de biomassa fresca e seca não foi afetada, mantendo-se estável mesmo sob altas concentrações de Zn. Deste modo, Lima et al. afirmam que a biofortificação na hidroponia pode elevar o teor foliar de Zn de modo eficiente, sem comprometer o crescimento das plantas.

Para alface, a faixa de teor ótimas de Zn nas folhas é de 20 a 60  $\text{mg kg}^{-1}$  (Maynard e Hochmuth, 2007). No entanto, Padash et al. (2016) encontraram aumentos de até 185  $\text{mg kg}^{-1}$  sem efeitos de toxicidade no cultivo de alface com 10  $\text{mg L}^{-1}$  de Zn. Isso pode ser uma contribuição significativa como uma cultura biofortificada, uma vez que a alface é a principal hortaliça folhosa em todo o mundo. Nesta pesquisa, encontramos materiais de alface que obtiveram menor teor foliar de Zn de 38  $\text{mg kg}^{-1}$ , e materiais acima de 70  $\text{mg kg}^{-1}$  de teores naturais de Zn, sem suplementação com sulfato de zinco.

Ao considerar o lançamento comercial de uma nova variedade de alface, é indispensável se basear em estudos prévios realizados sobre essas possíveis novas variedades, assim como os genótipos do programa de melhoramento genético da UFSCar. Essas pesquisas desempenham um papel importante na identificação das características dessas variedades, com o intuito de comprovar que apresentam, no mínimo, a mesma qualidade que as alfaves comerciais existentes

ou, possivelmente, uma qualidade superior. Essa análise é fundamental para simplificar o processo de aprimoramento, uma vez que, desde a identificação da linhagem até o seu lançamento no mercado, passam-se vários anos, e esses testes desempenham um papel importante na identificação das linhagens com potencial para biofortificação agrônômica (Sá, 2017).

White et al. (2018) encontraram um aumento linear nas concentrações de Zn na parte aérea em diferentes genótipos de repolho e brócolis cultivados sob aplicações de Zn com nitrato de Zn como substrato. Esses autores encontraram uma ampla gama de concentrações críticas de Zn no broto para repolho (74–1201 mg kg<sup>-1</sup>) e brócolis (117–1666 mg kg<sup>-1</sup>), que excederam o potencial estimado para biofortificação de Zn em vegetais folhosos (até 700 mg kg<sup>-1</sup>) (White e Broadley, 2011).

A seleção de genótipos com maiores teores naturais de zinco, bem como de materiais com teores mais baixos, permite direcionar estratégias de melhoramento visando cultivares mais nutritivas. A inclusão da cultivar Vanda como testemunha reforça sua importância no mercado e sua estabilidade nutricional. Dessa forma, os resultados obtidos contribuem diretamente para o desenvolvimento de alfaces com maior valor nutricional, alinhando-se aos objetivos de promoção da segurança alimentar e da saúde pública.

Com base nesses resultados, foram selecionados quatro genótipos com maior teor natural de zinco, três genótipos com menor teor, e uma cultivar comercial, a ‘Vanda’ como testemunha, por ser a principal variedade de alface consumida e comercializada no Brasil. Além disso, a cultivar Vanda apresentou teor de zinco dentro da faixa considerada ótima nas folhas (20 a 60 mg kg<sup>-1</sup>), reforçando sua relevância como referência no estudo.

Além disso, os dados obtidos servem como base para futuros estudos envolvendo estratégias de cruzamentos direcionados, visando reunir em uma mesma cultivar múltiplos atributos nutricionais de interesse. Dessa forma, a utilização da variabilidade genética identificada neste estudo representa uma oportunidade promissora para o avanço de cultivares de alface mais nutritivas e com maior valor agregado, alinhadas aos objetivos da agricultura sustentável e da saúde pública.

## **Conclusão**

A presente pesquisa evidenciou significativa variabilidade genética nos teores de nutrientes entre cultivares comerciais e genótipos de alface do programa de melhoramento da

UFSCar. Visando programa de biofortificação genética e agrônômica com Zn, os materiais que se destacaram com maior teor foram F10 206-2, e menores teores foram F10 47-2 e 281-3-2-2.

## Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado. À Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) – Araras/SP, pelo suporte na experimentação agrícola e cessão dos genótipos de alface.

## Referências

Ávila, F.W., Yang, Y., Faquin, V., Ramos, S.J., Guilherme, L.R.G., Thannhauser, T.W., Li, L. (2014). Impact of selenium supply on Se-methylselenocysteine and glucosinolate accumulation in seleniumbiofortified Brassica sprouts. *Food Chemistry*, 165, 578–586.

Amarakoon, D., Mcphee, K., Thavarajah, P. (2012). Iron-, zinc-, and magnesium-rich field peas (*Pisum sativum* L.) with naturally low phytic acid: A potential food-based solution to global micronutrient malnutrition. *Journal of Food Composition and Analysis*, 27, 8-13.

Ahmed, S., Ashraf, S., Yasin, N. A., Sardar, R., Al-Ashkar, I., Abdelhamid, M. T., Sabagh, A. E. (2024). Exogenously applied nano-zinc oxide mitigates cadmium stress in *Zea mays* L. through modulation of physiochemical activities and nutrients homeostasis. *International Journal of Phytoremediation*, v. 26, n. 13, p. 2250-2265.

Barrameda-Medina, Y., Lentini, M., Esposito, S., Ruiza, J.M., Blasco, B. (2017). Zn-biofortification enhanced nitrogen metabolism and photorespiration process in green leafy vegetable *Lactuca sativa* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 97, p. 1828-1836.

Bataglia, O. C., Furlani, A. M. C., Teixeira, J. P. F., Furlani, P. R., Gallo, J. R. Métodos de Análise Química de Plantas. *Boletim Técnico do IAC*, v. 78, 48 p.

Bertini, CHCM; Teófilo, EM; Dias, FTC. (2009). Divergência genética entre acessos de feijão-caupi do banco de germoplasma da UFC. *Revista Ciência Agronômica*, 40, 99-105.

Blasco, B., Graham, N.S., Broadley, M.R. (2015). Antioxidant response and carboxylate metabolism in *Brassica rapa* exposed to different external Zn, Ca, and Mg supply. *Journal of Plant Physiology*, 176, 16–24.

Boletim 100: Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo/Editores: Heitor Cantarella, José Antônio Quaggio, Dirceu Mattos Jr. et al. Campinas: Instituto Agrônômico, 2022. 489p.

- Blat, S. F.; Sanchez, S. V.; Araújo, J. A. C.; Bolonhezi, D. (2011). Desempenho de cultivares de alface crespa em dois ambientes de cultivo em sistema hidropônico. *Horticultura Brasileira*, v. 29, n. 1, p. 135-138.
- Bhardwaj, A. K., Chejara, S., Malik, K., Kumar, R., Kumar, A., Yadav, R. K. (2022). Agronomic biofortification of food crops: An emerging opportunity for global food and nutritional security. *Frontiers in Plant Science*, v. 13, p. 1055278.
- Broadley, M.R., White, P.J., Hammond, J.P., Zelko, I., Lux, A. (2007). Zinc in plants. *New Phytologist*, 173, 677–702.
- Clemens, S. (2017). How metal hyperaccumulating plants can advance Zn biofortification. *Plant and Soil*, 411, 111–120.
- Daros M; Maral Júnior AT; Pereira TNS; Leal NR; Freitas SP; Sediyaama T. (2002). Caracterização morfológica de acessos de batata-doce. *Horticultura Brasileira*, 20: 43-47.
- De Sousa Lima, F., Nascimento, C.W.A., Da Silva Sousa, C. (2015). Zinc fertilization as an alternative to increase the concentration of micronutrients in edible parts of vegetables. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 10, 403–408.
- Graham, R.D., Welch, R.M., Saunders, D.A., Ortizmonasterio, I., Bouis, H.E., Bonierbale, M., Haan, S., Burgos, G., Thiele, G., Liria, R., Meisner, C.A., Beebe, S.E., Potts, M.J., Kadian, M., Hobbs, P.R., Gupta, R.K., Twomlow, S. (2007). Nutritious subsistence food systems. *Advances in Agronomy*, 92, 1-74.
- Khush, G. S., Lee, S., Cho, J. I., Jeon, J. S. (2012). Biofortification of crops for reducing malnutrition. *Plant biotechnology reports*, 6, 195-202.
- Kleiber, T., Golcz, A., Krzesinski, W. (2012). Effect of magnesium nutrition of onion (*Allium cepa* L.). Part I. Yielding and nutrient status. *Ecological Chemistry and Engineering S*, 19, 97–105.
- Lima, B. M., Noboa, C. S., de Lima, F. M., Mello, S. D. C., Purquerio, L. F. V., Sala, F. C. (2023). Agronomic biofortification with zinc in hydroponically cultivated lettuce. *Australian Journal of Crop Science*, v. 17, n. 2, p. 198-205.
- Marschner, P. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, 2011.
- Mao, H., Wang, J., Wang, Z., Zan, Y., Lyons, G., Zou, C. (2014). Using agronomic biofortification to boost zinc, selenium, and iodine concentrations of food crops grown on the loess plateau in China. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 14, 459–470.
- Maynard, D. N., Hochmuth, G. J. (2007). *Knotts handbook for vegetable growers*. S.l.: Wiley Inter Science.
- Moraes, C. C., Silveira, N. M., Mattar, G. S., Sala, F. C., Mellis, E. V., Purquerio, L. F. V. (2022). Agronomic biofortification of lettuce with zinc under tropical conditions: Zinc content, biomass production and oxidative stress. *Scientia Horticulturae*, v. 303, p. 111218.

Neeser, C., Savidov, N., Driedger, D. Production of hydroponically grown calcium fortified lettuce. *Acta Horticulturae*, 744, 317–322, 2007.

Noulas, C., Tziouvalekas, M., Karyotis, T. (2018). Zinc in soils, water and food crops. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 49, 252-260.

Oliveira, ACB; Sediya, MAN; Pedrosa, MW; Garcia, NCP; Garcia SLR. (2004). Divergência genética e descarte de variáveis em alface cultivada sob sistema hidropônico. *Acta Scientiarum Agronomy*, 26, 211-217.

Oliveira, N. P., Faquin, V., Costa, A. L. D., Livramento, K. G. D., Pinho, P. J. D., Guilherme, L. R. G. (2016). Genotypic variation of agronomic traits as well as concentrations of Fe, Zn, P and phytate in soybean cultivars. *Revista Ceres*, 63, 403-411.

Olle, M., Bender, I. Causes and control of calcium deficiency disorders in vegetables: A review. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84, 577–584, 2009.

Padash, A., Shahabivand, S., Behtash, F., Aghae, A. (2016). A practicable method for zinc enrichment in lettuce leaves by the endophyte fungus *Piriformospora indica* under increasing zinc supply. *Scientia Horticulturae*, 213, 367–372.

Puccinelli, M., De Padova, A., Vernieri, P., Carmassi, G., Incrocci, L. (2024). Response of aeroponically cultivated baby-Leaf lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants with different zinc, copper, iodine, and selenium concentrations. *Horticulturae*, v. 10, n. 7, p. 726.

Prasad, R., Shivay, Y.S. (2020). Agronomic biofortification of plant foods with minerals, vitamins and metabolites with chemical fertilizers and liming. *Journal of Plant Nutrition*, 43, 1534–1554.

Reis, A.R., Moraes, M., Ramos, S. J., Guilherme, L.R.G. (2013). Agronomic biofortification of upland rice with selenium to improve human health. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 27S1, 42-42, 2013.

Rugeles-Reyes, S. M., Cecílio, A. B., Lopez Aguilar, M. A., Silva, P. H. S. (2019). Foliar application of zinc in the agronomic biofortification of arugula. *Food Science and Technology*, 39, 1011-1017.

Sá, J. J. (2017). Avaliação de cultivares e linhagens de alface em sistema hidropônico. (Trabalho de Conclusão de Curso - UFSCar), p. 49.

Shwetha, H.J., Shilpa, S., Arathi, B.P., Raju, M., Lakshminarayana, R. (2020). Biofortification of carotenoids in agricultural and horticultural crops. In *Vitamins and Minerals Biofortification of Edible Plants*.

Volpe, M. L., Vargas, V. C. S., Morón, A., González, R. E. (2020). Bioactive compounds, antioxidant activity and growth behavior in lettuce cultivars grown under field and greenhouse conditions. In: *Proceedings. MDPI*.

Waters, B.M., Sankaran, R.P. (2011). Moving micronutrients from the soil to the seeds: Genes and physiological processes from a biofortification perspective. *Plant Science*, 180, 562–574.

Wiersma, J. V., Moraghan, J. T. Within-seed distribution of selected mineral elements among soybean genotypes that vary in iron efficiency. *Crop Science*, 53, 2051-2062, 2013.

White, P.J., Broadley, M.R. (2009). Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets—Iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytologist*, 182, 49–84.

White, P. J., Broadley, M. R. (2011). Physiological limits to zinc biofortification of edible crops. *Frontiers in Plant Science*, 2, 1–11.

White, P.J., Pongrac, P., Sneddon, C.C., Thompson, J.A., Wright, G. (2018). Limits to the biofortification of leafy brassicas with zinc. *Agricultures*, 8, 32.

Yang, Q.Q., Zhang, C.Q., Chan, M.L., Zhao, D.S., Chen, J.Z., Wang, Q., Li, Q.F., Yu, H.X., Gu, M.H., Sun, S.S.M. (2016). Biofortification of rice with the essential amino acid lysine: Molecular characterization, nutritional evaluation, and field performance. *Journal of Experimental Botany*.

## Material suplementar

**Tabela S1.** Níveis de significância da ANOVA do teste de média de Scott-Knott a 5% de probabilidade, para os nutrientes das cultivares comerciais e genótipos do programa de melhoramento genético da UFSCar.

Fonte de variação	Nitrogênio	Fósforo	Potássio	Cálcio	Magnésio	Enxofre	Boro
Cultivar/genótipo	<0,001	<0,5	<0,01	>0,05	<0,05	<0,001	<0,05
Fonte de variação	Cobre	Ferro	Manganês	Zinco	Massa fresca	Massa seca	
Cultivar/genótipo	<0,05	<0,001	<0,05	<0,01	<0,05	<0,001	

## **CAPÍTULO II**

### **Biofortificação agronômica de genótipos de alface com zinco produzidas em cultivo hidropônico**

## **Biofortificação agronômica de genótipos de alface com zinco produzidas em cultivo hidropônico**

### **Resumo**

A deficiência de zinco (Zn) afeta milhões de pessoas no mundo, especialmente em países em desenvolvimento, associada a diversos problemas de saúde pública. A biofortificação agronômica surge como uma estratégia eficaz e sustentável para elevar os teores de Zn nos alimentos, contribuindo para a segurança alimentar e nutricional. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação de concentrações de Zn (0,7; 1,4; 2,1 e 2,8 mg L<sup>-1</sup>) no cultivo hidropônico, na produção e acúmulo do nutriente em genótipos de alfaces em duas épocas de cultivo sob condições tropicais. Os experimentos foram conduzidos com oito materiais genéticos, incluindo a cultivar comercial Vanda e sete genótipos do programa de melhoramento genético da UFSCar. Os resultados mostraram que o aumento da concentração de Zn na solução nutritiva elevou os teores do micronutriente na parte aérea e nas raízes, além de promover aumento na biomassa até a dose de 2,1 mg L<sup>-1</sup>, com decréscimo em doses mais elevadas, possivelmente por efeito de toxicidade. A cultivar Vanda destacou-se pelo maior acúmulo foliar de zinco, enquanto os genótipos 1401-141-4 e 226-1-3-3 apresentaram maior acúmulo radicular, sugerindo mecanismos distintos de absorção e translocação. Além disso, houve aumento nos indicadores de estresse oxidativo (MDA e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) nas maiores concentrações de Zn, especialmente no verão, acompanhado pela ativação das enzimas antioxidantes catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD), embora com respostas variáveis entre os genótipos. A pesquisa mostrou que a biofortificação agronômica de genótipos de alface com Zn em sistema hidropônico elevou o acúmulo do micronutriente nas folhas e raízes, até a concentração de 2,1 mg L<sup>-1</sup>, sem comprometer a produtividade. Assim, a biofortificação da alface com zinco mostrou-se uma técnica viável e sustentável, com potencial para contribuir na melhoria do valor nutricional da alface.

**Palavras-chave:** *Lactuca sativa* L., micronutriente, hidroponia, estresse oxidativo, segurança alimentar.

## **Agronomic biofortification of lettuce genotypes with zinc grown in hydroponic cultivation**

### **Abstract**

Zinc (Zn) deficiency affects millions of people worldwide, especially in developing countries, being associated with various public health problems. Agronomic biofortification emerges as an effective and sustainable strategy to increase Zn levels in food, contributing to food and nutritional security. This study aimed to evaluate the effect of Zn concentrations in hydroponic cultivation on the production and nutrient accumulation in lettuce genotypes during two growing seasons under tropical conditions. The experiments were carried out with eight genetic materials, including the commercial cultivar Vanda and seven genotypes from the UFSCar breeding program. The results showed that increasing Zn concentrations in the nutrient solution enhanced Zn content in both shoots and roots, as well as biomass accumulation up to 2.1 mg L<sup>-1</sup>, with a decline at higher doses, possibly due to toxicity effects. The Vanda cultivar stood out for its higher foliar Zn accumulation, while genotypes 1401-141-4 and 226-1-3-3 exhibited greater root accumulation, suggesting distinct absorption and translocation mechanisms. Additionally, oxidative stress indicators (MDA and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) increased at the highest Zn doses, especially in summer, accompanied by the activation of antioxidant enzymes catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD), although with variable responses among genotypes. The research showed that the agronomic biofortification of lettuce genotypes with Zn in a hydroponic system increased the accumulation of the micronutrient in leaves and roots up to the concentration of 2.1 mg L<sup>-1</sup>, without compromising productivity. Thus, zinc biofortification of lettuce proved to be a viable and sustainable technique, with the potential to enhance the nutritional value of the crop.

**Keywords:** *Lactuca sativa* L., micronutrient, hydroponics, oxidative stress, food security.

## **Introdução**

A deficiência de zinco (Zn) em seres humanos prevalece nos países de baixa e média renda e provoca diversos problemas de saúde. Cerca de 800.000 mortes por ano no mundo entre crianças menores de cinco anos podem estar associadas à essa deficiência (World Health Organization - WHO 2013). Estudos recentes apontam que a prevalência de deficiência de Zn é significativamente maior em crianças malnutridas do que em bem nutridas, reforçando que se trata de uma emergência nutricional que afeta crescimento, imunidade e desenvolvimento infantil (Ahsan et al., 2021).

A baixa disponibilidade de Zn nos solos é um dos principais fatores que contribuem para a deficiência desse micronutriente nos alimentos, afetando diretamente a nutrição humana. Estudos recentes mostram que solos agrícolas de várias regiões do mundo, incluindo Ásia, África e América do Sul, frequentemente apresentam baixos teores de Zn disponível, comprometendo a produtividade e o valor nutricional das culturas. No Brasil, áreas do Cerrado e da região costeira do Atlântico apresentam solos com teores críticos de Zn, o que reforça a necessidade de manejo adequado e estratégias de biofortificação para garantir alimentos mais nutritivos (Pandey e Gautam, 2025).

Uma estratégia para combater este problema é aplicação de fertilizantes com Zn que pode ser via solo, foliar ou solução nutritiva (hidroponia), visando o enriquecimento deste elemento nos alimentos. Esta prática, denominada biofortificação agrônômica, além de suprir exigências nutricionais pelas pessoas, pode aumentar a produtividade das culturas com baixo teor deste micronutriente (White e Brown 2010, Almeida et al. 2016).

A alface é a hortaliça folhosa mais produzida e consumida no Brasil e no mundo, com diversos tipos varietais (Sala e Costa, 2012), além disso, é uma das espécies mais eficientes na absorção de metais (Clemens 2017). Porém sua composição mineral, produtividade e qualidade do produto são influenciadas pelas condições climáticas (Kosma et al. 2013). Embora possa ser cultivada o ano todo, a alface se adapta melhor sob temperaturas médias entre 15 e 18 °C e máximas entre 21 e 24 °C (Filgueira 2013). As plantas cultivadas sob elevadas temperaturas podem apresentar o ciclo de cultivo mais curto, menor produção de biomassa e pendoamento precoce, o que reflete na qualidade do produto (Dufault et al. 2009, Sala e Costa 2012). Sendo assim, as práticas de manejo de nutrição das plantas devem ser diferenciadas e adequadas para cada condição climática.

Estudos demonstram que diferentes formas e concentrações de aplicação de Zn, como via solo, foliar ou *priming* de sementes, afetam diretamente a absorção, o acúmulo e a redistribuição do micronutriente entre os tecidos da planta (Mayer et al., 2020; Silva et al., 2023). Além disso, o acúmulo excessivo pode desencadear estresse oxidativo, exigindo uma análise integrada entre teor de Zn e parâmetros bioquímicos indicadores de estresse, como MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e enzimas antioxidantes (Moraes et al., 2022; Rossi et al., 2022). Nesse contexto, compreender a dinâmica do zinco em diferentes cultivares de alface pode contribuir para estratégias de biofortificação e manejo nutricional mais eficientes.

A toxicidade do Zn e o estresse são fatores abióticos que comprometem o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Altos níveis de Zn podem interferir na fotossíntese, respiração e nutrição mineral, além de aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), causando danos oxidativos às células vegetais. O equilíbrio entre a produção de EROs e a capacidade antioxidante é, portanto, essencial para proteger as plantas contra os efeitos deletérios do estresse oxidativo (Hasanuzzaman et al., 2020).

Estudos demonstraram que plantas expostas ao Zn apresentaram maior atividade antioxidante afim de eliminar as EROs e reduzir os danos oxidativos. Sofo et al. (2018) observaram que em alfaces fertilizadas com maiores doses Zn houve um aumento na atividade das enzimas antioxidantes SOD, POD, APX e GPX em virtude da maior concentração de EROs. Em feijão, Sida-Arreola et al. (2017) constataram que a biofortificação agrônômica com Zn aumentou a atividade antioxidante da planta.

É escassa a informação sobre biofortificação agrônômica com Zn em alface, especialmente em condições tropicais, dessa forma, pesquisa nesse sentido se faz necessária para avaliar o desempenho da planta sob concentrações crescentes desse nutriente em diferentes épocas de cultivo.

A fim de incrementar o acúmulo de Zn em folhas de alface, foi testada a hipótese de que o aumento da concentração de Zn na solução nutritiva aumenta o acúmulo do mesmo em genótipos e uma cultivar comercial. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação de concentrações de Zn na solução nutritiva visando biofortificar materiais de alface, na produção e acúmulo do nutriente em duas épocas de cultivo sob condições tropicais.

## **Material e métodos**

## Local experimental

Os experimentos foram conduzidos em sistema hidropônico tipo NFT (*Nutrient Film Technique*) pertencente ao Departamento de Biotecnologia e Produção Vegetal e Animal, setor Horticultura, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos, *Campus Araras*, São Paulo (22° 21'S, 47°23'O; 640 m).

## Procedimento experimental

Foram realizados dois experimentos independentes com aplicação de concentrações de Zn na solução nutritiva visando a biofortificação agrônômica. O primeiro realizado no período de verão com início de 22/10/2022 a 19/11/2022, e o segundo no período de inverno com início de 25/05/2023 a 30/06/2023.

Com base nos resultados do experimento do capítulo I, foram selecionados 7 genótipos de maior e menor teor natural de zinco, e uma cultivar de maior relevância comercial como testemunha, para serem submetidas a crescentes concentrações de zinco na solução nutritiva no sistema hidropônico. Sendo assim, a escolha de genótipos se baseou na concentração de zinco da parte aérea, sem a aplicação de suplementação de zinco (sulfato de zinco), avaliando a competição de cultivares e genótipos quanto ao teor de Zn, apesar de serem do mesmo tipo varietal 'crespas', os materiais genéticos podem possuir diferente adaptação as características nutricionais.

O delineamento experimental, para ambos os experimentos, foi em blocos casualizados, em esquema de parcela subdividida, onde as parcelas primárias foram as concentrações de Zn: 0,7; 1,4; 2,1; 2,8 mg L<sup>-1</sup> Zn e as parcelas secundárias foram a cultivar comercial e os 7 genótipos selecionados do primeiro experimento com os teores de Zn observados nas plantas de alface do primeiro capítulo da tese (Tabela 1), com três repetições e oito plantas por repetição.

**Tabela 1.** Cultivar comercial e genótipos do programa de melhoramento genético, submetidos as concentrações de zinco no cultivo hidropônico da UFSCar/Araras, SP.

Cultivar/genótipo	Teor de zinco observado (mg kg <sup>-1</sup> )
Vanda (Sakata)	60
105-1-1 (UFSCAR)	65
226-1-3-3 (UFSCAR)	60
F10 206-2 (UFSCAR)	92
281-3-2-2 (UFSCAR)	30
184-5-3-1 (UFSCAR)	45
F10 47-2 (UFSCAR)	32
1401-141-4 (UFSCAR)	74

Os experimentos foram realizados em perfis de sistema hidropônico tipo NFT (*Nutrient Film Technique*), com espaçamento de 0,25 x 0,25 m (planta e perfil), sendo consideradas como parcelas úteis as plantas sem a bordadura. O ambiente protegido em que foi conduzido o experimento possui pé direito de 3,5 m, 15 m de comprimento e 7 m de largura, coberta com plástico difusor e laterais fechadas com malha de sombreamento ChromatiNet® Leno vermelha 20%.

O arranjo estrutural correspondeu a duas bombas Dancor® modelo Pratika CP-4R, 0,5 cv, e quatro reservatórios, sendo dois com capacidade para 1000 L e dois com capacidade para 500 L. O timer de irrigação foi ligado automaticamente em intervalos de 15 min.

As mudas de alface foram produzidas em viveiro comercial (IBS Mudas em Piracicaba – SP) em bandejas de polipropileno com 128 células. Aos 30 dias após semeadura (DAS), foram transplantadas para os perfis do sistema hidropônico.

A temperatura (°C) e a umidade relativa do ar (%) na estufa agrícola foram monitoradas ao longo do período experimental por meio de um datalogger automático instalado em posição central, à altura da zona de cultivo das plantas. Os registros foram obtidos diariamente, permitindo acompanhar a dinâmica diária e sazonal das condições ambientais durante o desenvolvimento do experimento. Esses dados forneceram subsídios para a caracterização do ambiente de cultivo.

A solução nutritiva na hidroponia seguiu recomendação de Furlani et al. (1999) para alface (Tabela 2). Utilizou-se o fertilizante comercial Conmicros, em que é uma mistura de quelatos e sais puros totalmente solúveis em água, indicado para suprir a necessidade de micronutrientes pelas plantas crescidas em solo, hidroponia ou em substratos (Conplant, 2025). Na sua composição possui: Fe (7,26%), Cu (1,82%), Mn (1,82%), B (1,82%), Mo (0,36%), Ni (0,36%) e Zn (0,73%). Baseando-se na concentração de Zn que há no fertilizante Conmicros, e quantidade de Zn que há no sulfato de zinco ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ) (Zn: 20%), obtivemos a quantidade de sulfato de zinco a ser adicionado na solução nutritiva para a composição dos tratamentos de concentrações de zinco (Tabela 2).

**Tabela 2.** Composição da solução nutritiva de cada tratamento nos reservatórios do sistema hidropônico, da UFSCar/Araras.

Concentração de zinco (mg L <sup>-1</sup> )	Adubos (g 1000 L <sup>-1</sup> )					
	Nitrato de Cálcio	Nitrato de Potássio	MAP	Sulfato de Magnésio	Conmicros	Sulfato de zinco
0,7	500	500	100	350	41	2,0
1,4	500	500	100	350	41	5,5
2,1	500	500	100	350	41	9,0
2,8	500	500	100	350	41	12,5

A colheita foi realizada aos 28 dias após o transplantio (DAT) no período 22/10/2022 a 19/11/2022 (verão), e aos 35 DAT 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno). Para as avaliações foram utilizadas 4 plantas de cada repetição. Foram realizadas avaliações agronômicas aferindo comprimento da raiz (CR) (cm), com o auxílio de régua graduada. O número de folhas (NF) foi avaliado considerando a contagem de folhas a partir de 1 cm. A parte aérea e raiz da alface foram pesadas separadamente, para obtenção de massa fresca da parte aérea (MFPA) e raiz (MFR). Na parte aérea considerou-se folhas e caule das plantas de alface. Para avaliação da massa seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) foram levadas para a estufa de secagem com circulação de ar forçada na temperatura de 65 °C até obter massa constante.

A MSPA e MSR foram encaminhados para o Laboratório de Análise de Solo e Planta, no centro de Horticultura do IAC – Campinas, onde as amostras foram trituradas em moinho tipo Wiley para determinação do teor de macronutrientes e micronutrientes incluindo o zinco, por meio de digestão nítrico perclórico e leitura em espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP – OES), seguindo a metodologia estabelecida por Bataglia et al. (1983). O acúmulo de zinco foi calculado pelo produto do teor de zinco (mg kg<sup>-1</sup>) pela massa seca da parte aérea e da raiz (g).

A quantificação do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) foi realizada seguindo o método de Alexieva et al. (2001). Os homogêneos foram obtidos a partir de 0,2 g de tecido fresco foliar moído em nitrogênio líquido com a adição de polivinilpolipirrolidona (PVPP) e 0,1 % de solução de ácido tricloroacético (TCA) (p/v). O extrato foi centrifugado a 10000 rpm e 4 °C por 15 min. O meio de reação consistiu em 1,2 ml de KI 1 mM, tampão fosfato de potássio (pH 7,5 e 0,1 M) e extrato bruto. Os microtubos foram incubados em gelo no escuro por 1 h. Após este período, a absorbância foi lida a 390 nm. Uma curva padrão foi obtida com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e os resultados foram expressos em µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> de massa fresca.

A peroxidação lipídica foi estimada pela detecção de aldeído malônico (MDA). Foram macerados 150 mg de tecido vegetal em 2 ml de TCA a 0,1% (p/v) e centrifugadas a 10000 rpm por 15 min. O sobrenadante foi adicionado a 1,0 ml de ácido tiobarbitúrico a 0,5% (p/v) e a mistura foi incubada em banho-maria a 95 °C por 20 min. Após este tempo, a reação foi paralisada em banho com gelo. Em seguida foi realizada uma nova centrifugação a 10000 rpm por 10 min. Após 30 min de temperatura ambiente, determinou-se absorvância a 532 e 600 nm em espectrofotômetro, para descontar a absorvância inespecífica a 600 nm. Para calcular a quantidade de MDA na amostra considerou-se o coeficiente de absorvância do MDA de 155 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> e o resultado foi expresso em nmol g<sup>-1</sup> MF (Heath e Packer 1968).

Os extratos vegetais foram obtidos a partir do macerado de 0,2 g de tecido fresco das folhas com nitrogênio líquido, 1 % de PVPP e 2 ml de meio de extração contendo tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 6,8), tlenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM e fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM. Após centrifugação do homogeneizado a 15000 rpm por 15 min e 4 °C, os sobrenadantes (extratos brutos) foram coletados e preservados em gelo. Os níveis de proteína dos extratos enzimáticos foram determinados pelo método de Bradford (Bradford 1976) usando albumina de soro bovino (BSA) como padrão.

A atividade da catalase (CAT) foi quantificada seguindo o procedimento descrito em Havar e McHale (1987). O meio de reação consistiu em 3 ml de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,8), água deionizada, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 125 mM e extrato bruto. A reação foi realizada em banho-maria a 25 °C por 2 min. Monitorou-se o decréscimo na absorvância em 240 nm a 25 °C por 1 minuto e a atividade da CAT foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar 36 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> e expressa em nmol min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína.

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi determinada conforme descrito por Nakano e Asada (1981). O meio de reação foi composto por 3 ml de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,0), água deionizada, ácido ascórbico 10 mM, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 mM e extrato bruto. A reação foi realizada em banho-maria a 25 °C por 2 min. Monitorou-se o decréscimo na absorvância a 290 nm por 1 minuto a 25 °C. A atividade da APX foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 2,8 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, expressa em μmol min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada de acordo com Giannopolitis e Ries (1977). O meio de reação consistiu em 3 ml de tampão fosfato de sódio 100 mM (pH 7,8), metionina 50 mM, EDTA 5 mM, água deionizada, extrato bruto, riboflavina 100 μM e riboflavina 100 μM e cloreto de tetrazólio azul nitro 1 mM (NBT). As reações foram montadas em duplicatas, pois um grupo de tubos foi exposto à luz de lâmpada fluorescente (30

W) por 5 minutos e o outro grupo permaneceu no escuro. A absorvância foi medida a 560 nm. Uma unidade de SOD corresponde à quantidade de enzima necessária para inibir a fotorredução NBT em 50 %, sendo expressa como  $U \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína.

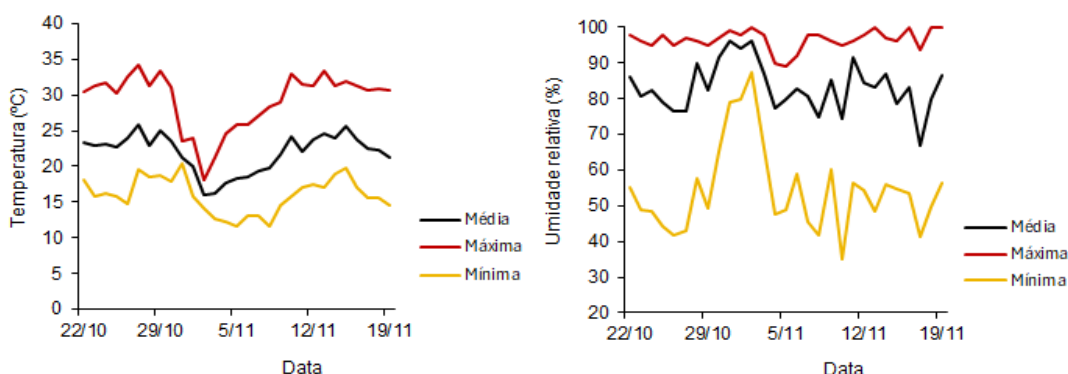
### Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA). Quando houve interação entre os tratamentos foi feito desdobramento com cultivares/genótipo dentro das concentrações de zinco e análise de regressão sendo considerado o melhor ajuste aquele que obteve o maior coeficiente de determinação ( $R^2$ ), menor erro padrão (Epad) e análise de discrepância residual. Quando não houve interação entre os tratamentos, estes foram analisados de forma separada, quando houve diferença significativa para concentração de zinco na solução nutritiva foi realizada a análise de regressão, quando houve diferença significativa para cultivar/genótipo foi realizado o teste de média de Scott-Knott ( $P < 0,05$ ) ou 5% de probabilidade. Para análise dos dados se utilizou o Software Sisvar e para elaboração dos gráficos utilizou-se o software RStudio.

## Resultados

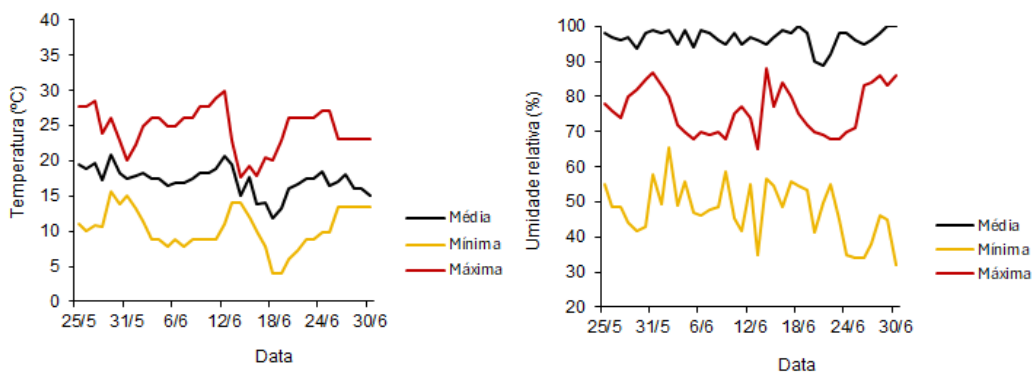
### Dados climáticos do ambiente de cultivo

Durante o período experimental de verão (22/10 a 19/11/2022), a temperatura média na estufa agrícola variou entre 18 e 34 °C, com oscilações diárias marcadas, enquanto a umidade relativa média apresentou valores entre 65 e 96%. Observou-se queda acentuada da temperatura nos dias finais de outubro e início de novembro, acompanhada de elevação da umidade relativa (Figura 1).



**Figura 1.** Temperaturas (°C) e umidade relativa do ar (%) máxima, média e mínima no interior da estufa agrícola, durante o período 22/10 a 19/11/2022 em Araras/SP.

Durante o período de inverno (25/05 a 30/06/2023), as condições climáticas na estufa hidropônica apresentaram temperaturas médias variando entre 8 e 21 °C, caracterizando um ambiente mais ameno em comparação ao período anterior. A umidade relativa do ar oscilou entre 65 e 90%, com tendência de redução ao longo da primeira quinzena de junho, seguida por aumento gradual nos últimos dias do mês (Figura 2).



**Figura 2.** Temperaturas (°C) e umidade relativa do ar (%) máxima, média e mínima no interior da estufa agrícola, durante o período 25/05 a 30/06/2023 em Araras/SP.

### Massa, teor e acúmulo de zinco em duas épocas de cultivo (verão e inverno)

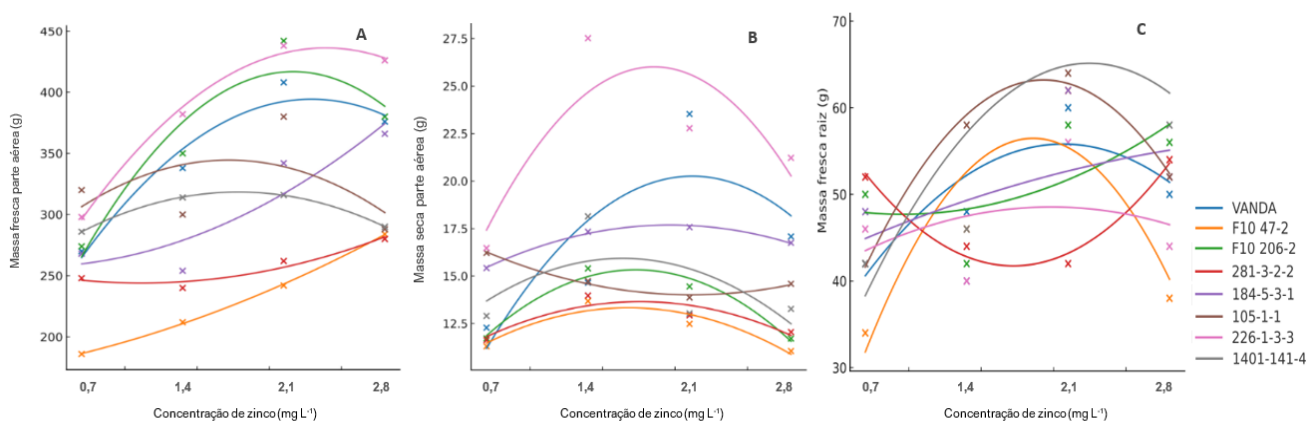
A Tabela S1 no período 22/10/2022 a 19/11/2022 (verão), apresenta os níveis de significância do teste F (ANOVA) para as cultivares/genótipos e concentrações de zinco (Zn), mostrando interação entre os tratamentos para massa fresca parte aérea (MFPA) e raiz (MFR), massa seca parte aérea (MSPA), teor de Zn parte aérea (TZPA) e raiz (TZR), acúmulo de Zn parte aérea (AZPA) e raiz (AZR), aldeído malônico (MDA), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) sendo aplicado análise de regressão. Na Tabela S2 no período de 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno) mostrou interação entre os tratamentos para MFPA, MFR, MSPA, TZPA, TZR, AZPA, AZR, MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, SOD e CAT.

A MFPA apresentou interações significativas entre os genótipos e as concentrações de zinco (Figura 3A). A cv. Vanda apresentou aumento na produção de massa fresca até a concentração de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de Zn, com posterior tendência à estabilização. O genótipo 281-3-2-2 destacou-se como o mais responsivo, atingindo a maior MFPA dentre todos os genótipos avaliados, com valor de 430 g planta<sup>-1</sup>. Por outro lado, o genótipo 1401-141-4-1 apresentou o menor valor na concentração de 2,8 mg L<sup>-1</sup>, com produção inferior a 250 g planta<sup>-1</sup>.

Para MSPA (Figura 3B), observou-se interação significativa entre os genótipos e as concentrações de Zn. O genótipo 281-3-2-2 apresentou a maior massa seca, atingindo 27 g. Em

contraste, o genótipo 1401-141-4-1 manteve o menor valor de massa seca ao longo de todas as concentrações avaliadas, permanecendo abaixo de 15 g.

A MFR (Figura 3C) foi significativamente influenciada pela interação entre tratamentos. Observou-se um incremento progressivo da massa radicular até a concentração de 2,1 mg L<sup>-1</sup>, seguida de estabilização em 2,8 mg L<sup>-1</sup>. Os genótipos 1401-141-4 e 105-1-1 destacaram-se, alcançando valores de 60 a 65 g, enquanto F10 47-2 e 226-1-3-3 apresentaram menores valores de 40 e 47 em 2,8 mg L<sup>-1</sup>.



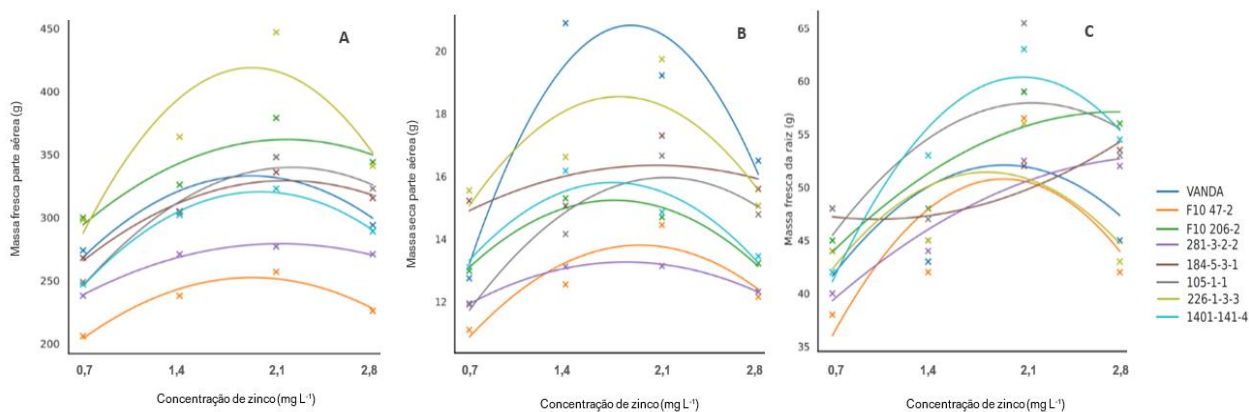
**Figura 3.** Interação entre concentrações de zinco na solução nutritiva e cultivares/genótipos para massa fresca parte aérea (MFPA) (A), massa seca parte aérea (MSPA) (B), massa fresca da raiz (MFR) (C) no cultivo hidropônico aos 28 dias após o transplantio (DAT) no período de 22/10/2022 a 19/11/2022 (verão).

Já no período de inverno, a MFPA aérea aumentou com a elevação da concentração de Zn até aproximadamente 2,0 mg L<sup>-1</sup> (Figura 4A). O maior valor foi observado no genótipo 226-1-3-3 de 445 g planta<sup>-1</sup> na concentração de 1,6 mg L<sup>-1</sup> de Zn. O menor valor foi registrado para o genótipo F10 47-2, com cerca de 230 g na menor concentração de Zn de 0,5 mg L<sup>-1</sup>. A cv. Vanda atingiu sua máxima 410 g planta<sup>-1</sup> em torno de 1,8 mg L<sup>-1</sup>. Os demais genótipos apresentaram valores máximos entre 305 g planta<sup>-1</sup> (F10 206-2) e 390 g planta<sup>-1</sup> (226-1-3-3), todos com tendência de aumento até concentrações próximas de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de Zn, com posterior redução.

Em relação à MSPA (Figura 4B), observou-se que a cv. Vanda foi a que apresentou a maior resposta, atingindo 20,5 g planta<sup>-1</sup> na concentração de 1,6 mg L<sup>-1</sup>, enquanto a menor massa foi observada no genótipo F10 47-2, com 12,2 g planta<sup>-1</sup> na menor concentração de Zn. Entre os demais, destacaram-se 1401-141-4 (17,8 g planta<sup>-1</sup>) e 184-5-3-1 (16,5 g planta<sup>-1</sup>) nas

concentrações de 1,6 a 1,8 mg L<sup>-1</sup>, enquanto os menores valores para todos os genótipos ocorreram com Zn abaixo de 1,0 mg L<sup>-1</sup>, variando entre 12,5 e 14 g planta<sup>-1</sup>.

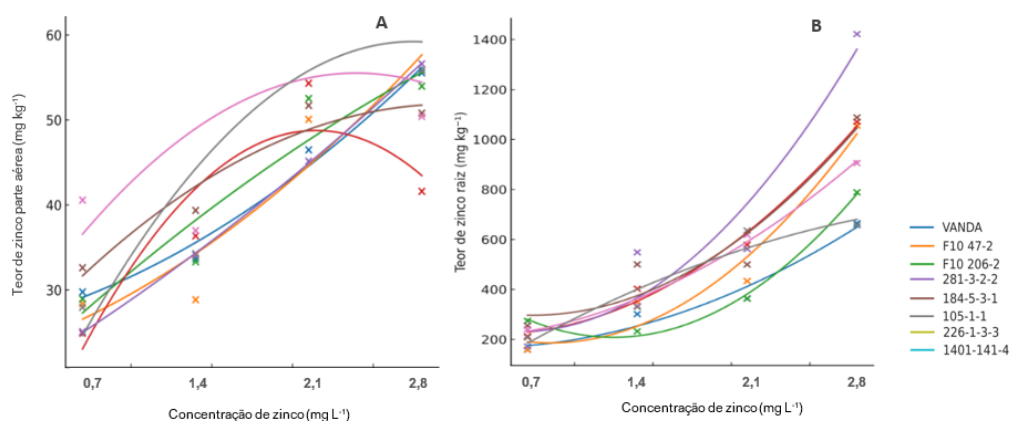
Na MFR (Figura 4C) seguiu padrão semelhante, com variação entre os genótipos. O maior valor foi obtido no genótipo 1401-141-4, com cerca de 62 g planta<sup>-1</sup> na concentração de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de Zn, seguido por 226-1-3-3 com 60 g planta<sup>-1</sup>. O menor valor de MFR foi observado no material F10 47-2, com cerca de 36 g planta<sup>-1</sup> na concentração de Zn 0,5 mg L<sup>-1</sup>. A cv. Vanda apresentou resposta intermediária, com MFR variando de 43 a 58 g planta<sup>-1</sup>, com máximo de 1,8 mg L<sup>-1</sup> de Zn.



**Figura 4.** Interação entre concentrações de zinco na solução nutritiva e cultivares/genótipos massa fresca parte aérea (MFPA) (A), massa seca parte aérea (MSPA) (B), massa fresca da raiz (MFR) (C) no cultivo hidropônico aos 35 dias após o transplântio (DAT) no período de 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno).

O TZPA no cultivo de verão (Figura 5A) aumentou com a elevação das concentrações de Zn na solução nutritiva. Com destaque para os genótipos 1401-141-4 e 226-1-3-3, que apresentaram os maiores teores de 60 mg kg<sup>-1</sup>. Em contrapartida, o genótipo 184-5-3-1 apresentou queda no teor de Zn de 40 mg kg<sup>-1</sup> em 2,8 mg L<sup>-1</sup>.

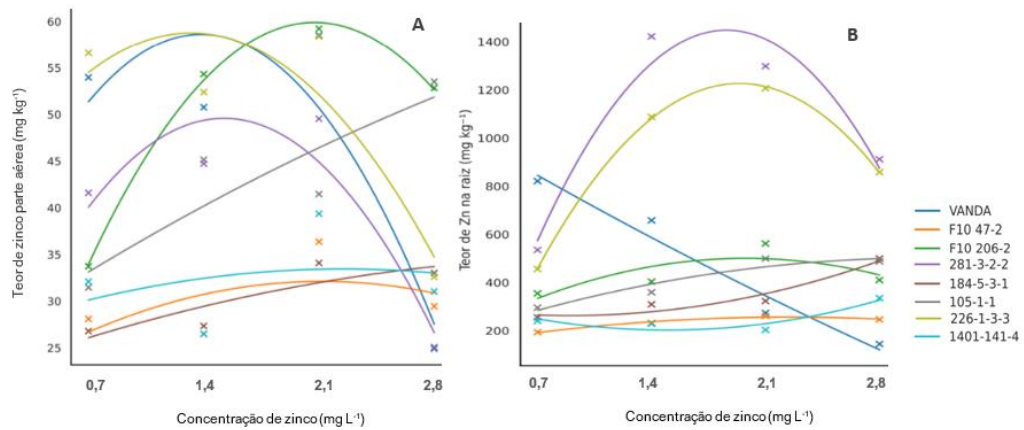
O TZR aumentou de forma acentuada com o fornecimento de zinco na solução nutritiva (Figura 5B), especialmente nas maiores concentrações. O genótipo 281-3-2-2 destacou-se pelo maior teor radicular (superior a 1300 mg kg<sup>-1</sup>), enquanto a cultivar Vanda e o genótipo 1401-141-4 e F10 206-2 apresentaram os menores valores de 600 mg kg<sup>-1</sup>, na maior concentração.



**Figura 5.** Interação entre concentrações de zinco na solução nutritiva e cultivares/genótipos para teor de zinco parte aérea (TZPA) (A) e teor de zinco da raiz (TZR) (B) no cultivo hidropônico aos 28 dias após o transplantio (DAT) no período de 22/10/2022 a 19/11/2022 (verão).

O TZPA no cultivo de inverno (Figura 6A) variaram conforme a concentração de Zn e o genótipo. Os maiores teores foliares foram registrados nos genótipos F10 206-2, 281-3-2-2 e 226-1-3-3, com valores estimados de 56,8 mg kg<sup>-1</sup>, 55,3 mg kg<sup>-1</sup> e 50,5 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente, obtidos em 2,0 mg L<sup>-1</sup> de Zn. Já o genótipo 1401-141-4 apresentou comportamento distinto, com teor mais estável e menor valor de apenas 33,6 mg kg<sup>-1</sup> na maior concentração.

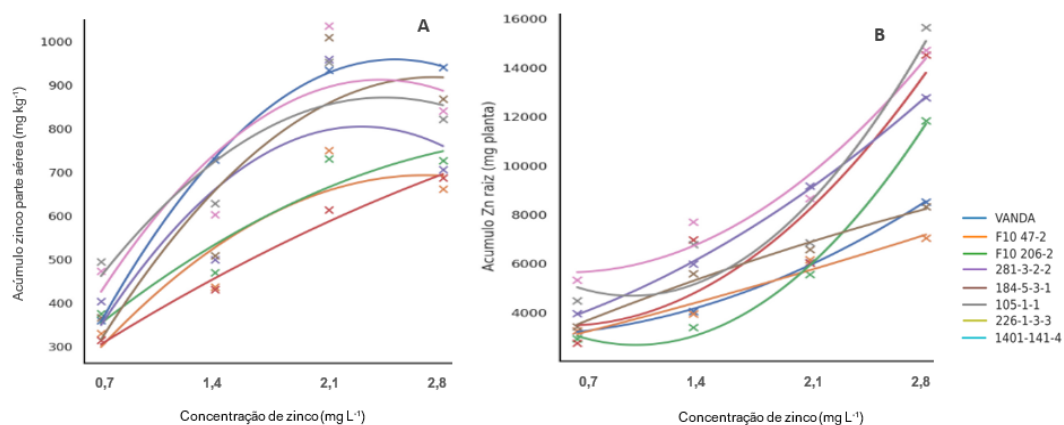
O TZR no cultivo de inverno (Figura 6B) apresentaram expressiva variação entre os genótipos. Os maiores valores foram observados nos genótipos 226-1-3-3 e 281-3-2-2, com teores de 1350 mg kg<sup>-1</sup> e 1300 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. A cultivar Vanda também apresentou teor considerável, com aproximadamente 1110 mg kg<sup>-1</sup>, enquanto F10 206-2 e F10 47-2 apresentaram teores mais baixos, em torno de 650 mg kg<sup>-1</sup> e 600 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente.



**Figura 6.** Interação entre concentrações de zinco na solução nutritiva e cultivares/genótipos para teor de zinco parte aérea (TZPA) (A) e teor de zinco da raiz (TZR) (B) no cultivo hidropônico aos 35 dias após o transplantio (DAT) no período de 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno).

No período de verão, observou-se que o AZPA (Figura 7A) apresentou incremento proporcional ao aumento das concentrações de Zn aplicadas. A cv. Vanda apresentou acúmulo crescente de Zn até 2,0 mg L<sup>-1</sup>, atingindo um valor máximo próximo a 950 mg planta<sup>-1</sup>. O genótipo 281-3-2-2 também apresentou desempenho elevado, com valores superiores a 900 mg planta<sup>-1</sup> nas concentrações mais altas, enquanto o genótipo 1401-141-4-1 destacou-se com menor valor, acumulando menos de 600 mg planta<sup>-1</sup> mesmo na maior concentração testada.

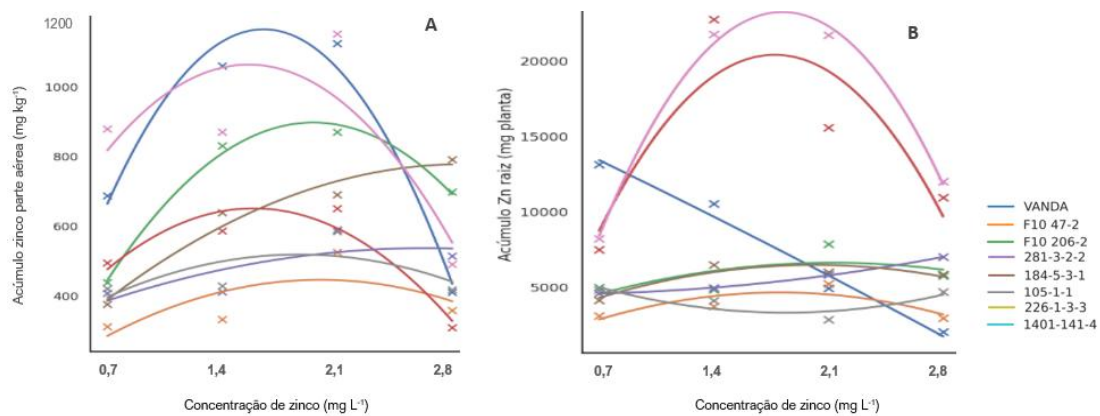
O AZR (Figura 7B) durante o verão seguiu tendência crescente à medida que as concentrações de Zn foram elevadas. A cv. Vanda demonstrou aumento no acúmulo radicular, atingindo valores superiores a 13.000 mg planta<sup>-1</sup> na concentração mais elevada. O genótipo 281-3-2 obteve o maior acúmulo radicular dentre os tratamentos, ultrapassando 15.000 mg planta<sup>-1</sup>. Por outro lado, o genótipo F10 206-2-2 apresentou os menores valores em todo o intervalo de concentração, com acúmulo inferior a 7.000 mg planta<sup>-1</sup>.



**Figura 7.** Interação entre concentrações de zinco na solução nutritiva e cultivares/genótipos para acúmulo de zinco parte aérea (AZPA) (A) e acúmulo de zinco da raiz (AZR) (B) no cultivo hidropônico aos 28 dias após o transplântio (DAT) no período de 22/10/2022 a 19/11/2022 (verão).

O AZPA (Figura 8A) variou significativamente em função das concentrações aplicadas de zinco na solução nutritiva no período de inverno. A cultivar Vanda apresentou acúmulo crescente até a concentração de  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$  de Zn, atingindo o valor máximo próximo de  $1.150 \text{ mg planta}^{-1}$ , seguido por uma redução nas concentrações superiores, sugerindo um ponto de saturação fisiológica. O genótipo 281-3-2 demonstrou comportamento semelhante, com acúmulo expressivo na concentração de  $2,1 \text{ mg L}^{-1}$ . Em contraste, os genótipos F10 47-2 e F10 206-2-2 apresentaram os menores acúmulos, inferiores a  $700 \text{ mg planta}^{-1}$ , na maior concentração.

O AZR (Figura 8B) seguiu uma tendência distinta da observada na parte aérea. O genótipo 184-5-3-1 apresentou o maior acúmulo radicular, com pico superior a  $22.000 \text{ mg planta}^{-1}$  na concentração de  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$  de Zn, seguido pelo genótipo 281-3-2, que também se destacou com valores superiores a  $18.000 \text{ mg planta}^{-1}$ . A cultivar Vanda apresentou acúmulo radicular moderado, com valores máximos próximos de  $10.000 \text{ mg planta}^{-1}$ . Em contraposição, os genótipos 105-1-1-1, 226-1-3-3 e F10 206-2-2 apresentaram os menores acúmulos, inferiores a  $6.000 \text{ mg planta}^{-1}$  na maior concentração.



**Figura 8.** Interação entre concentrações de zinco na solução nutritiva e cultivares/genótipos para acúmulo de zinco parte aérea (AZPA) (A) e acúmulo de zinco da raiz (AZR) (B) no cultivo hidropônico aos 35 dias após o transplantio (DAT) no período de 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno).

**Tabela 3.** Modelos matemáticos de regressão e ajuste ( $R^2$ ) para as concentrações de zinco (Zn) e cultivar/genótipos no período de 22/10/2022 a 19/11/2022 (verão), para massa fresca parte aérea (MFPA) e raiz (MFR), massa seca parte aérea (MSPA), teor de Zn parte aérea (TZPA), e raiz (TZR), acúmulo de Zn na parte aérea (AZPA) e raiz (AZR).

Cultivar/genótipo	MFPA	MFR	MSPA	TZPA
	EQUAÇÃO/ $R^2$ - CULTIVO VERÃO			
Vanda	$y = -43,367x^2 + 166,5x + 173,25$ $R^2: 0,79$	$y = -6,6327x^2 + 25,929x + 26,75$ $R^2: 0,80$	$y = -5,5408x^2 + 20,761x + 1,37$ $R^2: 0,89$	$y = 14,318x + 17,135$ $R^2: 0,98$
F10 206-2	$y = -31,122x^2 + 135,36x + 214,75$ $R^2: 0,79$	$y = -3,0612x^2 + 17x + 33,5$ $R^2: 0,81$	$y = -1,9286x^2 + 6,7671x + 9,3$ $R^2: 0,94$	$y = 13,891x + 16,765$ $R^2: 0,90$
F10 47-2	$y = -32,143x^2 + 123,79x + 133,25$ $R^2: 0,95$	$y = -9,4388x^2 + 36,821x + 14,875$ $R^2: 0,73$	$y = -1,9082x^2 + 7,4043x + 6,62$ $R^2: 0,81$	$y = -1,2976x^2 + 17,573x + 16,727$ $R^2: 0,92$
281-3-2-2	$y = -19,898x^2 + 84,643x + 189,25$ $R^2: 0,98$	$y = -2,2959x^2 + 14,393x + 30,375$ $R^2: 0,91$	$y = -1,0357x^2 + 3,8036x + 9,7725$ $R^2: 0,98$	$y = 14,578x + 14,932$ $R^2: 0,98$
105-1-1	$y = -40,816x^2 + 180,86x + 139,5$ $R^2: 0,96$	$y = -5,8673x^2 + 25,321x + 30,625$ $R^2: 0,74$	$y = -2,0816x^2 + 8,86x + 6,535$ $R^2: 0,90$	$y = -3,6599x^2 + 28,346x + 10,312$ $R^2: 0,85$
226-1-3-3	$y = -87,755x^2 + 337,43x + 94,5$ $R^2: 0,81$	$y = -7,1429x^2 + 26,143x + 27,5$ $R^2: 0,79$	$y = -2,9337x^2 + 10,504x + 9,1425$ $R^2: 0,74$	$y = 13,214x + 20,63$ $R^2: 0,93$
1401-141-4	$y = -45,408x^2 + 179,93x + 142,25$ $R^2: 0,99$	$y = -9,949x^2 + 41,607x + 16,875$ $R^2: 0,93$	$y = -2,2908x^2 + 7,9793x + 8,8525$ $R^2: 0,84$	$y = 13,622x + 26,62$ $R^2: 0,79$
184-5-3-1	$y = -29,337x^2 + 127,46x + 190,88$ $R^2: 0,95$	$y = 2,2959x^2 - 4,6786x + 49,375$ $R^2: 0,80$	$y = -0,7857x^2 + 3,2329x + 13,025$ $R^2: 0,78$	$y = -8,6003x^2 + 41,337x - 0,6225$ $R^2: 0,96$
Cultivar/genótipo	TZR	AZPA	AZR	
Vanda	$y = 113,35x^2 - 211,34x + 303,24$ $R^2: 0,98$	$y = -184,71x^2 + 925,13x - 199,12$ $R^2: 0,98$	$y = 850,44x^2 - 435,47x + 3100,05$ $R^2: 0,98$	
F10 206-2	$y = 190,48x^2 - 377,64x + 394,62$ $R^2: 0,98$	$y = -50,15x^2 + 363,66x + 123,75$ $R^2: 0,90$	$y = 2955,61x^2 - 6217,34x + 5949,38$ $R^2: 0,99$	
F10 47-2	$y = 120,46x^2 - 248,9x + 329,27$ $R^2: 0,97$	$y = -99,43x^2 + 535,00x - 26,26$ $R^2: 0,84$	$y = 101,29x^2 + 1579,17x + 1967,90$ $R^2: 0,96$	
281-3-2-2	$y = 239,39x^2 - 393,58x + 395,57$ $R^2: 0,94$	$y = -21,90x^2 + 262,61x + 132,61$ $R^2: 0,98$	$y = 808,84x^2 + 1406,82x + 2536,60$ $R^2: 0,98$	
105-1-1	$y = 40,612x^2 + 84,79x + 151,8$ $R^2: 0,97$	$y = -144,80x^2 + 793,33x - 168,03$ $R^2: 0,82$	$y = -214,15x^2 + 2997,18x + 1523,10$ $R^2: 0,99$	
226-1-3-3	$y = 245,22x^2 - 520,84x + 563,69$ $R^2: 0,96$	$y = -165,99x^2 + 800,57x - 52,77$ $R^2: 0,77$	$y = 1875,51x^2 - 2402,67x + 6414,90$ $R^2: 0,96$	
1401-141-4	$y = 242,43x^2 - 449,69x + 448,26$ $R^2: 0,96$	$y = -135,28x^2 + 660,14x + 66,41$ $R^2: 0,83$	$y = 3311,56x^2 - 6799,75x + 8174,87$ $R^2: 0,92$	
184-5-3-1	$y = 127,24x^2 - 128,92x + 261,92$ $R^2: 0,98$	$y = -178,27x^2 + 819,58x - 136,81$ $R^2: 0,88$	$y = 2184,12x^2 - 2730,68x + 4324,75$ $R^2: 0,86$	

**Tabela 4.** Equação e ajuste R<sup>2</sup> utilizados das curvas de regressão quanto as concentrações de zinco e cultivar/genótipos no período de 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno), para MFPA, MFR, MSPA, TZPA, TZR, AZPA e AZR.

Cultivar/genótipo	MFPA	MFR	MSPA	TZPA
	EQUAÇÃO/R <sup>2</sup> - CULTIVO INVERNO			
Vanda	$y=-43.37x^2+166.50x+173.25$ R <sup>2</sup> : 0,80	$y=-6.63x^2+25.93x+26.75$ R <sup>2</sup> : 0,80	$y=-5.54x^2+20.76x+1.37$ , R <sup>2</sup> =0,90	$y=-15.52x^2+42.96x+28.88$ , R <sup>2</sup> =0,80
F10 206-2	$y=-32.14x^2+123.79x+133.25$ R <sup>2</sup> : 0,95	$y=-9.44x^2+36.82x+14.88$ R <sup>2</sup> : 0,81	$y=-1.91x^2+7.40x+6.62$ , R <sup>2</sup> =0,82	$y=-2.70x^2+11.45x+20.00$ R <sup>2</sup> : 0,90
F10 47-2	$y=-31.12x^2+135.36x+214.75$ R <sup>2</sup> : 0,80	$y=-3.06x^2+17.00x+33.50$ R <sup>2</sup> : 0,81	$y=-1.93x^2+6.77x+9.30$ , R <sup>2</sup> =0,94	$y=-13.77x^2+57.08x+0.74$ R <sup>2</sup> : 0,92
281-3-2-2	$y=-19.90x^2+84.64x+189.25$ R <sup>2</sup> : 0,98	$y=-2.30x^2+14.39x+30.38$ R <sup>2</sup> : 0,92	$y=-1.04x^2+3.80x+9.77$ , R <sup>2</sup> =0,99	$y=-14.08x^2+42.88x+16.94$ R <sup>2</sup> : 0,86
105-1-1	$y=-29.34x^2+127.46x+190.88$ , R <sup>2</sup> =0,96	$y=2.30x^2+4.68x+49.38$ R <sup>2</sup> : 0,74	$y=-0.79x^2+3.23x+13.03$ R <sup>2</sup> : 0,90	$y=-0.83x^2+6.54x+21.92$ , R <sup>2</sup> =0,77
226-1-3-3	$y=-40.82x^2+180.86x+139.50$ , R <sup>2</sup> =0,97	$y=-5.87x^2+25.32x+30.63$ R <sup>2</sup> : 0,79	$y=-2.08x^2+8.86x+6.53$ R <sup>2</sup> : 0,90	$y=-0.84x^2+11.85x+25.24$ , R <sup>2</sup> =0,78
1401-141-4	$y=-87.76x^2+337.43x+94.50$ , R <sup>2</sup> =0,82	$y=-7.14x^2+26.14x+27.50$ R <sup>2</sup> : 0,93	$y=-2.93x^2+10.50x+9.14$ R <sup>2</sup> : 0,84	$y=-11.02x^2+29.13x+39.50$ , R <sup>2</sup> =0,79
184-5-3-1	$y=-45.41x^2+179.93x+142.25$ , R <sup>2</sup> =0,99	$y=-9.95x^2+41.61x+16.88$ R <sup>2</sup> : 0,93	$y=-2.29x^2+7.98x+8.85$ , R <sup>2</sup> =0,84	$y=-1.39x^2+6.26x+26.42$ R <sup>2</sup> : 0,96
Cultivar/genótipo	TZR	AZPA	AZR	
Vanda	$y=17.45x^2-405.96x+1120.90$ , R <sup>2</sup> =0,96	$y = -554.20x^2 + 1830.21x + -344.97$ R <sup>2</sup> : 0,97	$y = -148.16x^2 + -5045.43x + 17032.20$ R <sup>2</sup> : 0,98	
F10 206-2	$y=-27.04x^2+121.41x+120.30$ , R <sup>2</sup> =0,98	$y = -288.04x^2 + 1125.71x + -201.61$ R <sup>2</sup> : 0,99	$y = -1018.67x^2 + 4330.53x + 2022.15$ R <sup>2</sup> : 0,71	
F10 47-2	$y=-102.19x^2+404.09x+101.18$ R <sup>2</sup> : 0,97	$y = -95.83x^2 + 382.78x + 64.29$ R <sup>2</sup> : 0,97	$y = -1468.57x^2 + 5294.74x + -120.00$ R <sup>2</sup> : 0,76	
281-3-2-2	$y=-649.54x^2+2417.01x+-800.47$ , R <sup>2</sup> =0,94	$y = -40.20x^2 + 212.09x + 257.64$ R <sup>2</sup> : 0,81	$y = 423.57x^2 + -326.36x + 4605.15$ R <sup>2</sup> : 0,98	
105-1-1	$y=62.70x^2+-112.51x+313.42$ , R <sup>2</sup> =0,94	$y = -83.03x^2 + 475.97x + 96.60$ R <sup>2</sup> : 0,96	$y = -1260.10x^2 + 5075.93x + 1364.85$ R <sup>2</sup> : 0,84	
226-1-3-3	$y=-38.47x^2+236.93x+137.55$ , R <sup>2</sup> =0,91	$y = -332.91x^2 + 1038.78x + 254.31$ R <sup>2</sup> : 0,76	$y = -11864.49x^2 + 43154.57x + -15989.10$ R <sup>2</sup> : 0,99	
1401-141-4	$y=-500.10x^2+1939.90x+-654.50$ R <sup>2</sup> : 0,98	$y = -89.71x^2 + 334.95x + 206.45$ R <sup>2</sup> : 0,74	$y = 1297.24x^2 + -4773.87x + 7708.75$ R <sup>2</sup> : 0,72	
184-5-3-1	$y=73.37x^2+-219.87x+367.40$ , R <sup>2</sup> =0,85	$y = -221.11x^2 + 703.12x + 92.68$ R <sup>2</sup> : 0,89	$y = -10149.69x^2 + 35975.39x + -11460.15$ R <sup>2</sup> : 0,76	

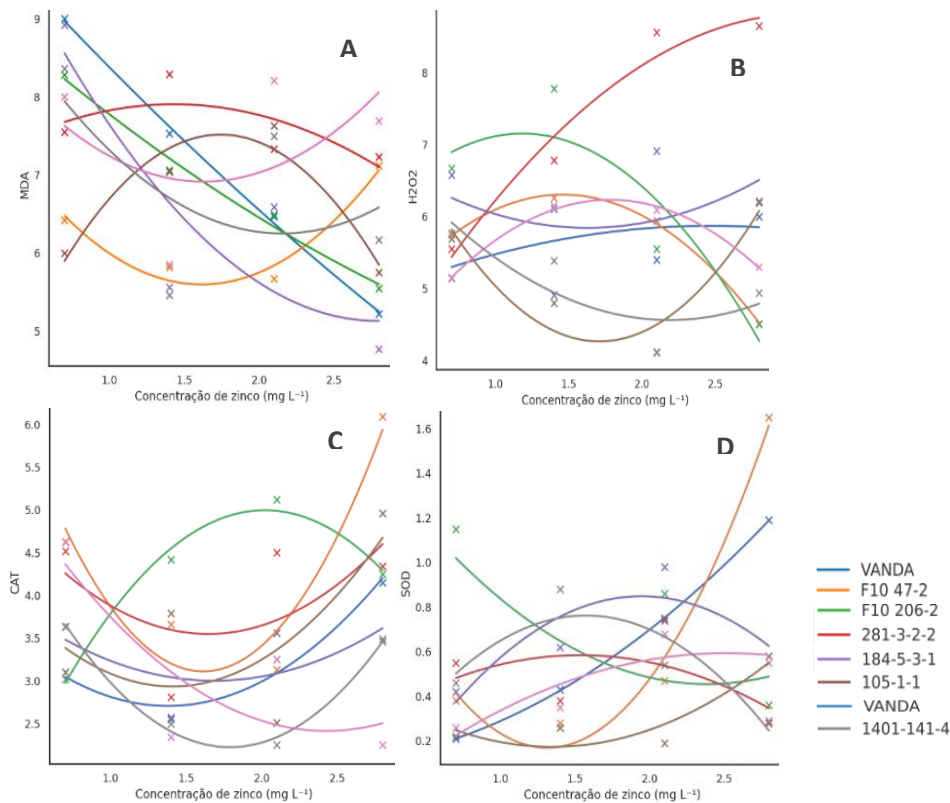
### **Atividade de enzima antioxidante nas duas épocas de cultivo**

Os teores de malondialdeído (MDA), indicativo de peroxidação lipídica e estresse oxidativo, apresentaram elevação proporcional ao aumento das concentrações de zinco (Figura 9A). O maior valor de MDA foi registrado no genótipo 1401-141-4, atingindo aproximadamente  $9,5 \text{ nmol g}^{-1}$  de MF na concentração de  $0,7 \text{ mg L}^{-1}$  de Zn, o que indica acentuado estresse oxidativo. Em contrapartida, a cv. Vanda apresentou os menores valores, com tendência decrescente ao longo das doses, chegando a cerca de  $5,0 \text{ nmol g}^{-1}$  na mesma concentração.

A concentração de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) uma espécie reativa de oxigênio chave, também apresentou oscilações importantes (Figura 9B), sendo esse efeito particularmente acentuado em  $2,8 \text{ mg L}^{-1}$ . O maior acúmulo foi observado no genótipo 281-3-2-2, com valor próximo de  $8,5 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1}$  de massa fresca na concentração de  $2,8 \text{ mg L}^{-1}$  de zinco, indicando forte indução de estresse oxidativo. O menor teor de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi registrado no genótipo F10 206-2, com aproximadamente  $4,8 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1}$ , também em  $2,8 \text{ mg L}^{-1}$ , evidenciando maior capacidade de regulação ou menor sensibilidade ao Zn.

A atividade da enzima catalase (CAT) (Figura 9C) enzima responsável pela conversão do  $\text{H}_2\text{O}_2$  em água e oxigênio, foi mais elevada no genótipo F10 47-2, que atingiu valores superiores a  $5,0 \text{ } \mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína na concentração de  $2,8 \text{ mg L}^{-1}$ , sugerindo ativação eficiente do sistema antioxidante enzimático. O genótipo 184-5-3-1 apresentou a menor atividade de CAT, inferior a  $2,0 \text{ } \mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ , também na maior concentração testada, o que pode indicar limitação na neutralização do  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

A atividade da superóxido dismutase (SOD) (Figura 9D), enzima chave na eliminação do radical superóxido, foi mais alta no genótipo F10 47-2, com pico em torno de  $1,5 \text{ } \mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína na concentração de  $2,8 \text{ mg L}^{-1}$  de zinco, evidenciando eficiente resposta antioxidante frente ao estresse. O menor valor foi observado no genótipo 1401-141-4, com atividade em torno de  $0,3 \text{ } \mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ , também em  $2,8 \text{ mg L}^{-1}$ .



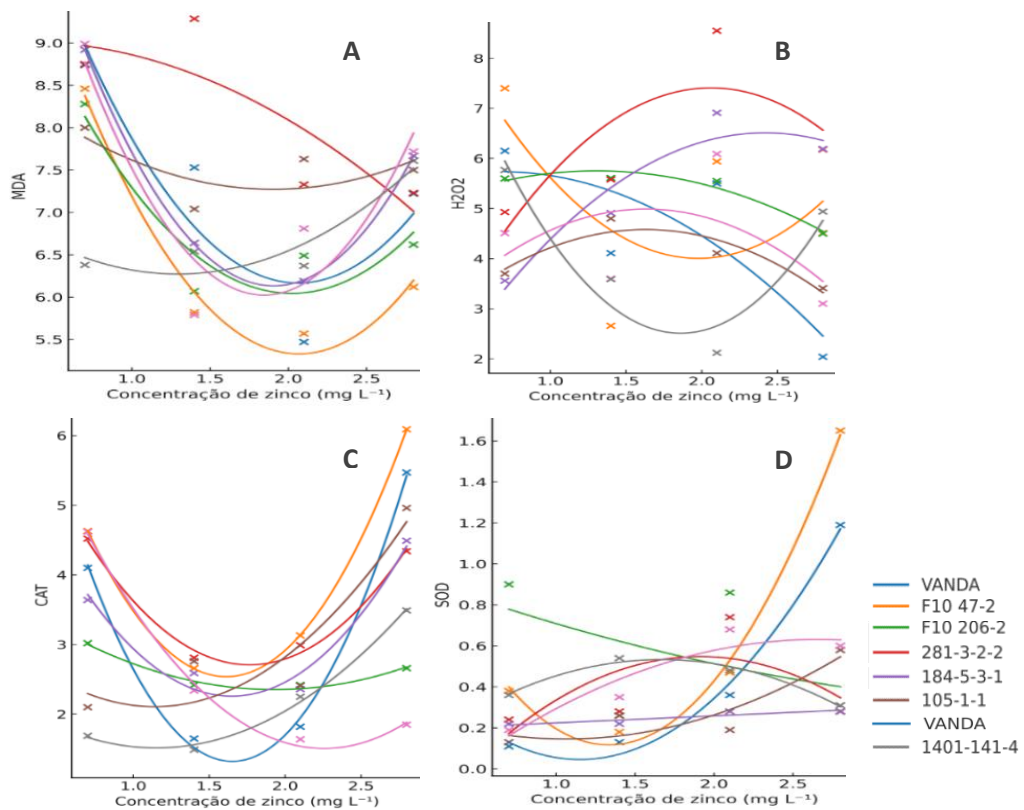
**Figura 9.** Interação entre concentrações de zinco na solução nutritiva e cultivares/genótipos para malondialdeído (MDA) (A), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (B), catalase (CAT) (C), superóxido dismutase (SOD) (D) no cultivo hidropônico aos 28 dias após o transplântio (DAT) no período de 22/10/2022 a 19/11/2022 (verão).

O conteúdo de MDA (Figura 10A), indicador de dano oxidativo às membranas, apresentou padrão decrescente seguido de aumento em vários genótipos. O menor valor de MDA foi observado na cultivar F10 47-2, com redução acentuada até a concentração de 2,1  $\text{mg L}^{-1}$ , atingindo aproximadamente 5,5  $\text{nmol g}^{-1}$  de massa fresca. Em contraste, o genótipo 281-3-2-2 apresentou o maior acúmulo de MDA, com valores superiores a 8,5  $\text{nmol g}^{-1}$  em 0,7  $\text{mg L}^{-1}$ . A maioria dos genótipos, incluindo 105-1-1 e F10 206-2, seguiu tendência semelhante, com redução do MDA até 2,1  $\text{mg L}^{-1}$  e posterior aumento em 2,8  $\text{mg L}^{-1}$ .

A concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  variou entre os materiais genéticos em resposta ao zinco (Figura 10B). O genótipo F10 47-2 apresentou o maior valor de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , com pico em torno de 8,0  $\mu\text{mol g}^{-1}$  de massa fresca na concentração de 0,7  $\text{mg L}^{-1}$ . Por outro lado, o menor valor foi observado no genótipo 1401-141-4, com valor próximo de 4,5  $\mu\text{mol g}^{-1}$  em 2,1  $\text{mg L}^{-1}$ , sugerindo melhor controle do estresse oxidativo nessa condição.

A atividade da enzima CAT (Figura 10C) teve destaque no genótipo F10 47-2, que apresentou o maior valor de atividade, superando  $4,5 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de proteína na concentração de  $2,8 \text{ mg L}^{-1}$ . O menor valor de CAT foi registrado no genótipo 1401-141-4, com atividade inferior a  $2,0 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  na concentração de  $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ . A cv. Vanda exibiu padrão em forma de U, com atividade mínima em  $1,4 \text{ mg L}^{-1}$  e máxima próxima a  $5,5 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  em  $2,8 \text{ mg L}^{-1}$ .

A atividade da SOD (Figura 10D) teve seu maior valor registrado no genótipo F10 47-2, com aproximadamente  $1,6 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de proteína na concentração de  $2,8 \text{ mg L}^{-1}$ . O menor valor foi observado na cv. Vanda, com atividade inferior a  $0,2 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  em  $0,7 \text{ mg L}^{-1}$ , refletindo baixa ativação enzimática nas concentrações iniciais.



**Figura 10.** Interação entre concentrações de zinco na solução nutritiva e cultivares/genótipos para malondialdeído (MDA) (A), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (B), catalase (CAT) (C), superóxido dismutase (SOD) (D) no cultivo hidropônico aos 35 dias após o transplantio (DAT) no período de 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno).

**Tabela 5.** Modelos matemáticos de regressão e ajuste ( $R^2$ ) para as concentrações de zinco (Zn) e cultivar/genótipos para malonaldeído (MDA), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) no período de 22/10/2022 a 19/11/2022 (verão) e 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno).

Cultivar/genótipo	MDA	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CAT	SOD
	Cultivo 22/10/2022 a 19/11/2022 (Verão)			
Vanda	$y = 0.11x^2 + -2.16x + 10.43$ $R^2: 0.98$	$y = -0.18x^2 + 0.91x + 4.75$ $R^2: 0.81$	$y = 0.74x^2 + -2.04x + 4.11$ $R^2: 0.96$	$y = 0.11x^2 + 0.07x + 0.10$ $R^2: 0.98$
F10 206-2	$y = 0.14x^2 + -1.75x + 9.38$ $R^2: 0.99$	$y = -0.99x^2 + 2.89x + 4.20$ $R^2: 0.98$	$y = -1.16x^2 + 4.68x + 0.27$ $R^2: 0.98$	$y = 0.20x^2 + -0.95x + 1.59$ $R^2: 0.77$
F10 47-2	$y = 1.05x^2 + -3.38x + 8.33$ $R^2: 0.95$	$y = -1.10x^2 + 2.61x + 5.61$ $R^2: 0.83$	$y = 2.01x^2 + -6.47x + 8.33$ $R^2: 0.91$	$y = 0.65x^2 + -1.71x + 1.29$ $R^2: 0.98$
281-3-2-2	$y = -0.43x^2 + 1.23x + 7.03$ $R^2: 0.72$	$y = -0.58x^2 + 3.62x + 3.19$ $R^2: 0.96$	$y = 0.79x^2 + -2.60x + 5.69$ $R^2: 0.83$	$y = -0.15x^2 + 0.45x + 0.24$ $R^2: 0.85$
105-1-1	$y = -1.49x^2 + 5.19x + 3.00$ $R^2: 0.91$	$y = 1.53x^2 + -5.21x + 8.72$ $R^2: 0.87$	$y = 0.90x^2 + -2.53x + 4.71$ $R^2: 0.81$	$y = 0.18x^2 + -0.48x + 0.50$ $R^2: 0.83$
226-1-3-3	$y = 0.83x^2 + -2.71x + 9.12$ $R^2: 0.72$	$y = -0.92x^2 + 3.27x + 3.31$ $R^2: 0.99$	$y = 0.65x^2 + -3.17x + 6.27$ $R^2: 0.74$	$y = -0.11x^2 + 0.56x + 0.11$ $R^2: 0.77$
1401-141-4	$y = 0.80x^2 + -3.45x + 9.97$ $R^2: 0.82$	$y = 0.61x^2 + -2.68x + 7.49$ $R^2: 0.71$	$y = 1.21x^2 + -4.33x + 6.10$ $R^2: 0.99$	$y = -0.34x^2 + 1.08x + 0.08$ $R^2: 0.80$
184-5-3-1	$y = 0.79x^2 + -4.38x + 11.24$ $R^2: 0.73$	$y = 0.48x^2 + -1.58x + 7.13$ $R^2: 0.81$	$y = 0.49x^2 + -1.67x + 4.41$ $R^2: 0.83$	$y = -0.31x^2 + 1.19x + 0.31$ $R^2: 0.75$
Cultivar/genótipo	MDA	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CAT	SOD
	Cultivo 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno)			
Vanda	$y = 1.51x^2 + -6.23x + 12.59$ , $R^2 = 0.80$	$y = -0.72x^2 + 0.97x + 5.41$ , $R^2 = 0.80$	$y = 3.11x^2 + -10.28x + 9.82$ $R^2 = 0.90$	$y = 0.41x^2 + -0.95x + 0.59$ , $R^2 = 0.99$
F10 206-2	$y = 1.63x^2 + -6.74x + 12.30$ , $R^2 = 0.98$	$y = 1.69x^2 + -6.68x + 10.61$ $R^2 = 0.81$	$y = -1.91x^2 + 7.40x + 6.62$ , $R^2 = 0.82$	$y = 0.70x^2 + -1.88x + 1.37$ , $R^2 = 0.99$
F10 47-2	$y = 1.19x^2 + -4.83x + 10.93$ , $R^2 = 0.85$	$y = -0.54x^2 + 1.41x + 4.83$ $R^2 = 0.81$	$y = 2.52x^2 + -8.11x + 9.08$ $R^2 = 0.94$	$y = 0.03x^2 + -0.29x + 0.97$ $R^2 = 0.92$
281-3-2-2	$y = -0.32x^2 + 0.20x + 8.99$ , $R^2 = 0.70$	$y = -1.55x^2 + 6.37x + 0.84$ $R^2 = 0.92$	$y = 0.43x^2 + -1.65x + 3.95$ , $R^2 = 0.97$	$y = -0.26x^2 + 0.98x + 0.39$ $R^2 = 0.86$
105-1-1	$y = 1.92x^2 + -7.31x + 13.10$ , $R^2 = 0.98$	$y = -1.06x^2 + 5.11x + 0.33$ , $R^2 = 0.91$	$y = 1.56x^2 + -5.52x + 7.58$ , $R^2 = 0.99$	$y = 0.03x + 0.19$ , $R^2 = 0.80$
226-1-3-3	$y = 0.42x^2 + -1.61x + 8.81$ , $R^2 = 0.97$	$y = -0.92x^2 + 2.99x + 2.15$ , $R^2 = 0.85$	$y = 1.62x^2 + -5.35x + 6.66$ , $R^2 = 0.96$	$y = 0.13x^2 + -0.28x + 0.29$ , $R^2 = 0.82$
1401-141-4	$y = 2.10x^2 + -7.74x + 13.16$ , $R^2 = 0.83$	$y = -1.06x^2 + 3.47x + 2.16$ $R^2 = 0.93$	$y = 0.96x^2 + -2.20x + 3.36$ , $R^2 = 0.85$	$y = -0.12x^2 + 0.65x + 0.23$ , $R^2 = 0.89$
184-5-3-1	$y = 0.55x^2 + -1.43x + 7.20$ , $R^2 = 0.86$	$y = 2.55x^2 + -9.49x + 11.34$ , $R^2 = 0.92$	$y = 1.27x^2 + -5.73x + 7.98$ $R^2 = 0.84$	$y = -0.18x^2 + 0.60x + 0.04$ , $R^2 = 0.97$

## Discussão

Observando os dados de temperatura nos dois períodos, as faixas ficaram dentro do esperado para as estações do ano na região estudada. No verão (22/10 a 19/11/2022), as temperaturas oscilaram predominantemente entre 18 °C e 35 °C, com valores médios mais elevados, compatíveis com a estação mais quente e chuvosa. Já no inverno (25/05 a 30/06/2023), as temperaturas variaram entre aproximadamente 8 °C e 29 °C, com médias mais baixas, condizentes com a estação seca e de menor aquecimento. Assim, os registros estão de

acordo com a sazonalidade climática regional, indicando que os experimentos foram conduzidos em condições ambientais representativas de cada estação.

O aumento da MF que está diretamente associada a produtividade da cultura, apresentou aumento progressivo com o aumento das concentrações de Zn até cerca de  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ , ponto a partir do qual se observou declínio. Esta tendência sugere que o Zn, em concentrações adequadas, favorece processos como fotossíntese, divisão e expansão celular, além da ativação enzimática, essenciais para o acúmulo de biomassa.

O genótipo 281-3-2-2 destacou-se como o mais responsivo, atingindo a maior MFPA dentre todos os genótipos avaliados, com valor de  $430 \text{ g planta}^{-1}$ . Por outro lado, o genótipo 1401-141-4-1 apresentou o menor valor na concentração de  $2,8 \text{ mg L}^{-1}$ , com produção inferior a  $250 \text{ g planta}^{-1}$ . Conforme Lima et al. (2023), a massa média de alface hidropônica cultivada sob condições ótimas é de aproximadamente  $300 \text{ g planta}^{-1}$ , valor que se situou entre os extremos observados no presente estudo. A cultivar Vanda, por sua vez, apresentou MFPA de  $410 \text{ g planta}^{-1}$ , acima da média esperada, destacando-se como uma cultivar padrão de mercado. De maneira geral, os genótipos da UFSCar apresentaram comportamento agrônomico competitivo, com destaque para os materiais 281-3-2-2 e 1401-141-4, este último mesmo apresentando menor massa dentre os genótipos, apontou massa próximo de  $300 \text{ g planta}^{-1}$ , revelando potencial para uso comercial em cultivo protegido.

A maior massa fresca observada no verão ( $430 \text{ g}$  do genótipo 281-3-2-2) foi bastante próxima à registrada no inverno no genótipo 226-1-3-3, com produção de  $445 \text{ g planta}^{-1}$  na concentração de  $1,6 \text{ mg L}^{-1}$  de Zn, demonstrando a estabilidade do desempenho desses genótipos mesmo sob condições sazonais distintas. Os genótipos F10 47-2 e 281-3-2-2, apesar de apresentarem valores absolutos de MFPA inferiores aos demais no cultivo de verão, destacaram-se por sua tolerância a altas concentrações de Zn, mantendo produção estável mesmo sob concentrações elevadas. Essa característica é vantajosa para cultivo em ambientes com risco de salinização ou acúmulo de micronutrientes, como em sistemas com reuso de solução nutritiva.

Sago et al. (2018) observaram em alface *baby leaf* americana reduções drásticas nos valores de MF da folha com o aumento das concentrações de Zn de  $0,15$  até  $0,45 \text{ mg L}^{-1}$  na solução nutritiva, além disso, foi observada necrose em folhas com concentração de zinco na solução nutritiva  $\geq 0,15 \text{ mg L}^{-1}$ . Resultados contrários foram obtidos neste experimento, no qual foi utilizado concentrações maiores de Zn, que não houve redução na MF e sintomas de necrose na folha dos genótipos e cultivar 'Vanda'. O que pode ser explicado pela diferença de genótipos

e condições de cultivo, pois Sago et al. (2018) investigou a concentração de Zn em várias condições, incluindo velocidades do vento e temperaturas da zona radicular (30 °C), o controle dos fatores ambientais afetou a transpiração foliar e diminuíram a massa fresca da *baby leaf*.

Essa influência no peso da massa fresca também foi relatada em tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Rodrigues et al., 2010), manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) (Maggioni et al., 2014) e alface (Ortiz et al., 2015). Além disso, o sistema de cultivo também influenciou no ganho de peso, pois enquanto o cultivo do solo apresentou no máximo 227,5 g planta<sup>-1</sup>, na hidroponia o peso máximo obtido foi de 375,2 g planta<sup>-1</sup> (64,9% a mais), corroborando com o descrito por Steiner et al., (2009).

A MS é um indicador mais estável do crescimento vegetal, pois reflete o acúmulo efetivo de compostos orgânicos. O genótipo 281-3-2-2 apresentou a maior MSPA, atingindo 27 g planta<sup>-1</sup>. Em contraste, o genótipo 1401-141-4-1 manteve o menor valor permanecendo abaixo de 15 g planta<sup>-1</sup>. Ambas as massas podem ser consideradas relevantes, pois superam o valor de 14 g planta<sup>-1</sup>, que é a média observada em alfaces hidropônicas conforme Lima et al. (2023). Esse valor médio, por sua vez, situa-se entre os extremos aqui observados.

Comparativamente, Moraes et al. (2022), em cultivo em solo, relataram massas secas inferiores de 10 g planta<sup>-1</sup>, destacando a superioridade do sistema hidropônico em promover maior MS. Esses resultados reforçam a adaptabilidade dos genótipos da UFSCar às condições de cultivo hidropônico com diferentes concentrações de Zn. Esses resultados são compatíveis com os de Souza et al. (2019), que relataram aumento de MS em alfaces biofortificadas com Zn, associando esse ganho ao papel do micronutriente na fotossíntese e no metabolismo de proteínas.

Nesta pesquisa, a MFR apresentou padrão semelhante ao observado no verão, com variação significativa entre os genótipos. O maior valor foi obtido no genótipo 1401-141-4, com cerca de 62 g planta<sup>-1</sup> na concentração de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de Zn, seguido por 226-1-3-3 com 60 g planta<sup>-1</sup>. O menor valor foi observado no material F10 47-2, com cerca de 36 g planta<sup>-1</sup> na concentração de Zn 0,5 mg L<sup>-1</sup>. A cv. Vanda apresentou resposta intermediária, com MFR variando de 43 a 58 g planta<sup>-1</sup>, com pico em 1,8 mg L<sup>-1</sup> de Zn. De forma geral, o comportamento radicular manteve-se consistente nas duas épocas, com ligeiro aumento nos valores máximos durante o inverno.

Quando aplicado em maior quantidade, os tecidos das raízes apresentam concentrações de Zn mais elevadas em relação aos tecidos da parte aérea devido à regulação genética de absorção e transporte desse micronutriente, entre outros fatores (Gupta et al. 2016), explicando

o elevado teor nas raízes. As raízes da alface não fazem parte do nosso consumo. Contudo, altas concentrações do Zn foi verificado. Observando o potencial destas raízes em concentrar o micronutriente, destaca-se possível eficácia em consumir um produto orgânico rico em Zn originário das raízes, ou seja, um pó (moído) cuja finalidade poderia ser útil para a complementação do Zn para seres humanos. Dessa forma, na hidroponia isso é facilitado, pois o produto hidropônico mantém a raiz, diferentemente do cultivo em campo.

Quando aplicado em maior quantidade, os tecidos das raízes apresentam concentrações de Zn mais elevadas em relação aos tecidos da parte aérea devido à regulação genética de absorção e transporte desse micronutriente, entre outros fatores (Gupta et al. 2016), explicando o elevado teor nas raízes, que variou de 587 a 1300 mg kg<sup>-1</sup> na raiz para os materiais.

O TZR aumentou de forma acentuada com o fornecimento de zinco na solução nutritiva, especialmente nas maiores concentrações. O genótipo 281-3-2-2 destacou-se com o maior teor radicular, com valores superiores a 1300 mg kg<sup>-1</sup>, indicando alta capacidade de retenção de Zn pelas raízes. Em contraste, a cultivar Vanda, bem como os genótipos 1401-141-4 e F10 206-2, apresentaram os menores valores, em torno de 600 mg kg<sup>-1</sup>, mesmo na maior concentração de Zn. Esse comportamento sugere uma estratégia distinta de alocação do nutriente, possivelmente associada a mecanismos de exclusão radicular ou maior translocação. Vale destacar que o genótipo com maior teor foliar foi também o que apresentou menor teor radicular, sugerindo diferenciais genéticos na partição de Zn, com diferenças superiores a 10 vezes entre parte aérea e raiz.

Segundo White e Broadley (2011) as espécies da família Asteraceae tendem a ter alto teor de Zn na parte aérea e raízes, o que concorda com os resultados obtidos nesta pesquisa trabalho ao teor de Zn em ambas as partes. Os teores de zinco nas raízes e folhas podem ser aumentados por meio da aplicação de fertilizantes de Zn até determinado ponto, pois concentrações elevadas para genótipos mais sensíveis podem causar toxicidade. Os teores de Zn na raiz de até 500-2000 mg kg<sup>-1</sup> e as concentrações de Zn nas folhas de até 60-100 mg kg<sup>-1</sup> podem ser alcançadas sem perda de rendimento.

O TZPA no cultivo de verão aumentou com a elevação das concentrações de Zn na solução nutritiva. Os genótipos 1401-141-4 e 226-1-3-3 apresentaram os maiores teores, alcançando 60 mg kg<sup>-1</sup>. Em contrapartida, o genótipo 184-5-3-1 apresentou redução no teor foliar, atingindo apenas 40 mg kg<sup>-1</sup> em 2,8 mg L<sup>-1</sup> de Zn. Essa diferença de até 40% entre os genótipos extremos indica forte influência genética na absorção e alocação do zinco na parte aérea.

As concentrações de Zn em hortaliças folhosas tendem a ser superiores às encontradas em grãos, tubérculos e frutas. Esse padrão ocorre porque os órgãos de reserva, como sementes e raízes, obtêm a maior parte dos minerais via floema, no qual o Zn apresenta baixa mobilidade. Isso faz com que as folhas acumulem maiores teores desse micronutriente, podendo contribuir significativamente para a ingestão dietética de Zn pela população (Hamzah Saleem et al., 2022). No entanto, grãos de cereais ainda apresentam limitações quanto ao teor de Zn, especialmente por conter maior concentração de fitato, que impactam negativamente a qualidade nutricional mineral desses alimentos, reforçando a necessidade de estratégias de manejo e biofortificação (Miner et al., 2024). Ressalta-se também que são necessários avaliações com biodisponibilidade de Zn.

A alface cultivada em solução nutritiva apresenta elevada eficiência na absorção de micronutrientes, característica típica de plantas desenvolvidas em ambientes com alta disponibilidade de minerais. Nesse contexto, a biofortificação agrônômica de hortaliças folhosas, como a alface, representa uma estratégia promissora para aumentar a concentração de zinco na parte comestível, uma vez que as folhas funcionam como principal órgão de acúmulo. Assim, quando biofortificada, a alface pode alcançar teores superiores aos encontrados em grãos e cereais, permitindo que menores porções sejam consumidas com a mesma quantidade do micronutriente (Buturi et al., 2021).

No TZPA a cultivar Vanda apresentou incremento de 950 mg planta<sup>-1</sup> no verão para 1.200 mg planta<sup>-1</sup> no inverno, um aumento de aproximadamente 26%. O genótipo 281-3-2-2 também teve aumento, passando de 900 mg para 1.100 mg planta<sup>-1</sup> (+22,2%), enquanto 184-5-3-1 elevou de 800 mg para 800 mg planta<sup>-1</sup>, mantendo-se estável. Por outro lado, o genótipo 1401-141-4-1 apresentou discreta elevação, de 580 mg no verão para cerca de 700 mg no inverno (+20,7%), embora continue entre os genótipos de menor acúmulo. De modo geral, o AZPA foi superior no inverno, indicando possível maior translocação foliar sob temperaturas mais amenas. Estudos anteriores corroboram esses resultados, indicando que o aumento das concentrações de zinco promove elevação nos teores foliares até certo ponto, após o qual ocorre estabilização ou declínio devido a mecanismos de regulação ou toxicidade (Graciano et al., 2020).

Já o AZR, o genótipo 281-3-2-2 acumulou 15.000 mg planta<sup>-1</sup> no verão e 18.000 mg planta<sup>-1</sup> no inverno (+20%), enquanto a cultivar Vanda apresentou redução, de 13.000 mg para 10.000 mg planta<sup>-1</sup> (-23%). O genótipo 184-5-3-1, por sua vez, apresentou de 10.000 mg no verão para 22.000 mg planta<sup>-1</sup> no inverno, um aumento expressivo de 120%, consolidando-se

como o maior acumulador radicular na estação fria. Em contrapartida, o genótipo F10 206-2-2 apresentou ligeira redução, de 6.800 mg para 5.800 mg planta<sup>-1</sup> (-14,7%). Esses resultados demonstram que, para alguns genótipos, o acúmulo radicular de zinco é mais eficiente no inverno, o que pode estar relacionado à menor demanda da parte aérea ou maior retenção nas raízes sob baixas temperaturas. Esse comportamento pode estar associado a mecanismos de compartimentalização do metal nos tecidos radiculares como estratégia de tolerância, conforme sugerido por Pereira (2001).

Em estudo de Moraes et al. (2022) investigaram a biofortificação agrônômica de alface com zinco em diferentes cultivares e épocas de cultivo. Os resultados demonstraram que os teores de zinco nas folhas da cultivar Vanda aumentaram significativamente com o incremento das doses aplicadas no solo, independentemente da época de cultivo. Na ausência de aplicação de zinco, o teor foliar foi de 64,2 mg kg de massa seca, enquanto na maior dose (40 mg Zn dm<sup>3</sup>) atingiu 739,3 mg kg, representando um aumento de aproximadamente 11 vezes. Importante destacar que, mesmo com o aumento das doses de zinco, não houve redução na massa fresca comercial das plantas, indicando tolerância da cultivar Vanda ao acúmulo do micronutriente.

Por outro lado, Lima (2023) avaliou a biofortificação agrônômica de alface com zinco em cultivo hidropônico e observou que a concentração de 2,4 g L<sup>-1</sup> de zinco proporcionou o maior acúmulo do micronutriente nas folhas e raízes, sem afetar negativamente as características produtivas da cultura. Esses achados reforçam a ideia de que há uma concentração ótima de zinco que maximiza o acúmulo foliar sem comprometer o desenvolvimento da planta.

Silva (2023) investigou o crescimento, biofortificação e qualidade de alface hidropônico em função de concentrações de ferro e zinco na solução nutritiva. O estudo revelou que o aumento de zinco na solução nutritiva influenciou positivamente os teores foliares de zinco aos 18 dias após o transplante das mudas, sem causar efeitos fitotóxicos. No entanto, observou-se que concentrações elevadas de ferro afetaram negativamente o teor foliar de zinco, indicando a importância de equilibrar a disponibilidade de micronutrientes na solução nutritiva.

A elevação das concentrações de zinco resultou em aumento dos teores de MDA e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, indicadores de estresse oxidativo nas plantas. Esse padrão é consistente com estudos que relatam o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) em plantas submetidas a concentrações elevadas de zinco, levando à peroxidação lipídica e danos celulares (Silva, 2023).

Segundo Cannea e Padiglia (2025) destacam que o estresse oxidativo em plantas se caracteriza pela produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS), como o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, onde

a superacumulação pode danificar componentes celulares como lipídios, proteínas e DNA, podendo levar à morte da planta. Para enfrentar esse desafio, as plantas contam com sistemas de defesa antioxidante que incluem mecanismos enzimáticos, como a SOD, CAT, APX.

Em contrapartida, os genótipos 281-3-2-2 e 105-1-1 mantiveram níveis mais baixos de MDA e  $H_2O_2$ , mesmo nas doses mais elevadas de zinco, sugerindo maior eficiência nos mecanismos de defesa antioxidante e, conseqüentemente, maior tolerância ao estresse oxidativo. Esses resultados indicam variabilidade genética quanto à resposta ao excesso de zinco, o que pode ser explorado em programas de melhoramento visando à seleção de genótipos mais tolerantes.

A atividade das enzimas antioxidantes CAT e SOD aumentou proporcionalmente às doses de zinco, refletindo a ativação dos sistemas de defesa das plantas frente ao estresse oxidativo. A cultivar Vanda apresentou incremento contínuo na atividade de ambas as enzimas até a dose de  $2,1 \text{ mg L}^{-1}$ , com manutenção de níveis elevados em  $2,8 \text{ mg L}^{-1}$ . Genótipos como F10 47-2, 226-1-3-3 e 1401-141-4 também se destacaram por apresentar elevada atividade de CAT nas maiores concentrações de zinco, indicando forte ativação do sistema antioxidante.

Por outro lado, os genótipos 184-5-3-1 e 281-3-2-2 exibiram respostas mais discretas, com incrementos mais modestos na atividade de CAT mesmo nas maiores doses de zinco. Esse padrão pode indicar menor capacidade de ativação dos mecanismos antioxidantes, tornando essas plantas mais suscetíveis aos efeitos tóxicos do excesso de zinco. Essas observações estão em consonância com estudos que demonstram a importância das enzimas antioxidantes na mitigação dos efeitos do estresse oxidativo induzido por metais pesados. Barbosa et al. (2014) ressaltam que a superóxido dismutase e a catalase são enzimas-chave no sistema de defesa antioxidante das plantas, atuando na eliminação de ROS e na redução do dano oxidativo.

Além disso, estudos como o de Santos et al. (2023) destacam que, para diminuir o acúmulo de  $H_2O_2$  e evitar os danos acarretados pelo estresse oxidativo, as plantas acionam alterações nas atividades das enzimas antioxidantes, como a ascorbato peroxidase (APX) e a catalase (CAT). Essas enzimas desempenham papéis cruciais na eliminação do  $H_2O_2$ , uma das principais ROS geradas sob estresse abiótico, como o excesso de metais pesados.

## **Conclusão**

A pesquisa mostrou que a biofortificação agrônômica de genótipos de alface com Zn em sistema hidropônico elevou o acúmulo do micronutriente nas folhas e raízes, até a

concentração de 2,1 mg L<sup>-1</sup>, sem comprometer a produtividade. Houve variação na resposta dos genótipos, destacando-se a cv. Vanda e os genótipos 281-3-2-2, 184-5-3-1 pelo maior acúmulo foliar e os genótipos 1401-141-4 e 226-1-3-3 pelo maior acúmulo radicular.

Houve estresse oxidativo evidenciado pelo aumento de MDA e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e com a ativação dos sistemas antioxidantes (CAT e SOD) contribuiu para moderar esses efeitos.

A biofortificação da alface com zinco mostrou-se uma técnica viável e sustentável, com potencial para contribuir na melhoria do valor nutricional da alface.

## Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado. À Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) – Araras/SP, pelo suporte na experimentação agrícola e cessão dos genótipos de alface.

## Referências

Ahsan, A. K., Tebha, S. S., Sangi, R., Kamran, A., Zaidi, Z. A., Haque, T., Ali Hamza, M. S. (2021). Zinc micronutrient deficiency and its prevalence in malnourished pediatric children as compared to well-nourished children: a nutritional emergency. *Global pediatric health*, 8, 2333794X211050316.

Almeida, H. J., Dutra, A. F., Cecílio Filho, A.B. (2016). Biofortificação de hortaliças e saúde global – um enfoque para selênio, zinco, ferro e iodo. In Prado, R.M.; Cecílio Filho, A.B. *Nutrição e adubação de hortaliças*. p. 103-150.

Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell Environ.*, 24: 1337–1344.

Almeselmani, M., Deshmukh, P. S., Sairam, R. K., Kushwaha, S. R., Singh, T. P. (2006). Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress. *Plant Sci.*, 171:382–388.

Barrameda-Medina, Y., Lentini, M., Esposito, S., Ruiza, J. M., Blasco, B. (2017a) Zn biofortification enhanced nitrogen metabolism and photorespiration process in green leafy vegetable *Lactuca sativa* L. *J. Sci. Food Agric.*, 97, 1828–1836.

Barbosa, M. R., de Souza, L. M., Nascimento, K. R. P. (2023). ROS e o estresse oxidativo por seca em plantas. *Multidisciplinary Sciences Reports*, 3(3).

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.*, 72: 248–254.

Broadley, M. R., Brown, P., Cakmak, I., Rengel, Z., Zhao, F. (2012). Function of nutrients: micronutrients. In: Marschner, P. Marschner's mineral nutrition of higher plants, p. 191-248.

Buturi, C. V., Mauro, R. P., Fogliano, V., Leonardi, C., Giuffrida, F. (2021). Mineral biofortification of vegetables as a tool to improve human diet. *Foods*, 10(2), 223.

Cannea, F. B., Padiglia, A. (2025). Antioxidant Defense Systems in Plants: Mechanisms, Regulation, and Biotechnological Strategies for Enhanced Oxidative Stress Tolerance. *Life*, 15(8), 1293.

Cakmak, I., Kalayci, M., Kaya, Y., Torun, A. A., Aydin, N., Wang, Y., Arisoy, Z., Erdem, H., Yazici, A., Gokmen, O., Ozturk, L., Horst, W. J. (2010). Biofortification and localization of zinc in wheat grain. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 9092–9102.

Ceccherini, G. J., Lima, T. J. L., Sala, F. C. (2020). Different tray cell volumes for lettuce grown in conventional and hydroponic system. *Ciência Rural*, v. 50, n. 1.

Clemens, S. (2017). How metal hyperaccumulating plants can advance Zn biofortification. *Plant Soil*, 411, 111–120

Conplant. Fertilizante ConMicros. 2025. Disponível em: <https://conplant.com.br/portfolio/conmicros/> Acesso em: 15 de jan. 2025

Diamante, M. S., Júnior, S. S., Inagaki, A. M., Silva, M. B., Dallacort, R. (2013). Produção e resistência ao pendoamento de alfaces tipo lisa cultivadas sob diferentes ambientes. *Revista Ciência Agrônômica*, v. 44, n.1, p. 133-140.

Dufault, R. J., Ward, B., Hassell, R. L. (2009). Dynamic relationships between field temperatures and romaine lettuce yield and head quality. *Sci. Hortic.* 120, 452-459.

Filgueira, F. A. R. (2013). Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3rd edn. Viçosa: Editada da UFV.

Fontes, R. L. F., Pereira, J. M. N., Neves, J. C. L. (2014). Uptake and translocation of Cd and Zn in two lettuce cultivars. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 86, 907-922.

Furlani, P. R., Silveira, L. C. P., Bolonhezi, D., Faquim, V. (1999). Cultivo hidropônico de plantas. *Boletim técnico* 180. p. 52.

Giannopolitis, C. N., Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutases: occurrence in higher plants. *Plant Physiol.*, 59: 309–314.

Graciano, P. D., Jacinto, A. C. P., da Silveira, A. J., Castoldi, R., de Lima, T. M., de Oliveira Charlo, H. C., Marin, M. V. (2020). Agronomic biofortification with zinc in curly lettuce cultivars. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 15, n. 4, p. 1-9.

Gupta, N., Ram, H., Kumar, B. (2016). Mechanism of zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 15, 89–109.

- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681.
- Hamzah Saleem, M., Usman, K., Rizwan, M., Al Jabri, H., Alsafran, M. (2022). Functions and strategies for enhancing zinc availability in plants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1033092.
- Havir, E. A., Mchale, N. A. (1987). Biochemical and development characterization of multiples forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiol.*, 84: 450–455.
- Heath, R. L., Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys*, 125, 189–198.
- Jardina, L. L., Cordeiro, C. A. M., De Castro Silva, M. C., Sanches, A. G., De Araújo Júnior, P. V. (2017). Desempenho produtivo e qualidade de cultivares de rúcula em sistema semi-hidropônico. *Journal of Neotropical Agriculture*, v. 4, n. 1, p. 78-82.
- Kosma, C., Triantafyllidis, V., Papisavvas, A., Salahas, G., Patakas, A. (2013). Yield and nutritional quality of greenhouse lettuce as affected by shading and cultivation season. *Emir. J. Food Agric.*, 25, 974-979.
- Lima, J. D. S., De Sousa, L. M., Mota, J. H., De Resende, G. M., Yuri, J. E. (2016). Desempenho de cultivares de alface do grupo crespa em Jataí-GO.
- Lima, B. M., Noboa, C. S., de Lima, F. M., Mello, S. D. C., Purquerio, L. F. V., Sala, F. C. (2023). Agronomic biofortification with zinc in hydroponically cultivated lettuce. *Australian Journal of Crop Science*, v. 17, n. 2, p. 198-205.
- Lukaski, H. C. (1995). Micronutrients (magnesium, zinc, and copper): are mineral supplements needed for athletes? *International Journal of Sport Nutrition*, v. 5, n. 1, p. 74-83.
- Maggioni, M. S., Rosa, C. B. C. J., Rosa, J., Silva, E. F., Rosa, Y. B. C. J., Scalon, S. P. Q., Vasconcelos, A. A. (2014). Development of basil seedlings (*Ocimum basilicum* L.) in different density and type of substrates and trays. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 16, n. 1, p. 10-17.
- Marschner, P. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, 2011.
- Miner, G. L., Stewart, C. E., Delgado, J. A., Ippolito, J. A., Mason, R. E., Haley, S. D., Beebout, S. J. (2024). Global change impacts on mineral nutritional quality of cereal grains: Coordinated datasets and analyses to advance a systems-based understanding. *Field Crops Research*, 310, 109338.
- Moraes, C. C., Silveira, N. M., Mattar, G. S., Sala, F. C., Mellis, E. V., Purquerio, L. F. V. (2022). Agronomic biofortification of lettuce with zinc under tropical conditions: Zinc content, biomass production and oxidative stress. *Scientia Horticulturae*, v. 303, p. 111218.
- Nakano, Y., Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.*, 22, 867–880.

Ortiz, T. A., Takahashi, L. S. A., Da Hora, R. C. (2015). Agronomic performance of lettuce produced in trays with different cell number and field spacings. *African Journal of Agricultural Research*, v. 10, n. 12, p. 1407-1411.

Padash, A., Shahabivand, S., Behtash, F., Aghaee, A. (2016). A practicable method for zinc enrichment in lettuce leaves by the endophyte fungus *Piriformospora indica* under increasing zinc supply. *Scientia Horticulturae*, 213, 367–372.

Pereira, J. M. N. Absorção e distribuição de cádmio e zinco em plantas de alface e cenoura. 2001. 71 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

Rodrigues, E. T., Leal, P. A., Costa, E., De Paula, T. S., Gomes, V. D. A. (2010). Production of tomato seedlings in different trays and substrates under greenhouse. *Horticultura Brasileira*, v.28, n.4, p.483-488.

Sala, F. C., Costa, C. P. (2012). Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. *Horticultura Brasileira*, 30, 187-194.

Sago, Y., Watanabe, N., Minami, Y. (2018). Zinc biofortification of hydroponic baby leaf lettuce grown under artificial lighting with elevated wind speed and root zone temperature. *Journal of Agricultural Meteorology*, v. 74, n. 4, p. 173-177.

Sida-Arreola, J. P., Sánchez, E., Ojeda-Barrios, D. L., Ávila-Quezada, G. D., Flores-Córdova, M. A., Márquez-Quiroz, C., Preciado-Rangel, P. (2017). Can biofortification of zinc improve the antioxidant capacity and nutritional quality of beans? *Emir. J. Food Agric.* 29, 237–242.

Silva, V. B. Crescimento, biofortificação e qualidade de alface hidropônico em função de concentrações de ferro e zinco na solução nutritiva. 2023. 48 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2023.

Sofo, A., Moreira, I., Gattullo, C. E., Martins, L. L., Mourato, M. (2018). Antioxidant responses of edible and model plant species subjected to subtoxic zinc concentrations. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 49, 261-268.

Steiner, F., Zoz, T., Junior, A. S. P. (2009). Growth and yield of lettuce grown in hydroponic and conventional. *Cultivando O Saber*, v.2, n.4, p.42-48.

White, P. J. and Brown, P. H. (2010). Plant nutrition for sustainable development and global health. *Ann. Bot.*, 105, 1073-1080.

White, P. J. and Broadley, M. R. (2011). Physiological limits to zinc biofortification of edible crops. *Frontiers in Plant Science*, 2, 1-11.

World Health Organization (WHO). (2013). Urinary iodine concentrations for determining iodine status in populations. WHO/NMH/NHD/EPG/13.1.

## Material suplementar

**Tabela S1.** Níveis de significância de acordo com ANOVA para número de folhas (NF), comprimento da raiz (CR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), teor de zinco da parte aérea (TZPA) e teor de zinco da raiz (TZR), aldeído malônico (MDA), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) para as cultivares/genótipos e concentrações de zinco no cultivo hidropônico em 22/10/2022 a 19/11/2022 (verão).

Fontes de variação	DP	NF	CC	DC	CR	MFPA	MFR	MSPA
Concentração de zinco	<0,05	ns	ns	ns	ns	<0,05	<0,01	<0,05
Cultivar/genótipo	<0,001	ns	<0,01	ns	<0,05	<0,001	<0,05	<0,01
Concentração Zn x cultivar/genótipo	<0,05	ns	ns	ns	ns	<0,01	<0,05	<0,05
Fontes de variação	MSR	TZPA	TZR	MDA	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	SOD	CAT	
Concentração de zinco	ns	<0,05	<0,01	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001	
Cultivar/genótipo	<0,05	<0,05	<0,001	<0,05	<0,01	ns	<0,05	
Concentração Zn x cultivar/genótipo	ns	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	

ns = não significativo ( $p > 0,05$ ).

**Tabela S2.** Níveis de significância de acordo com ANOVA para número de folhas (NF), comprimento da raiz (CR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), teor de zinco da parte aérea (TZPA) e teor de zinco da raiz (TZR), aldeído malônico (MDA), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) para as cultivares/genótipos e concentrações de zinco no cultivo hidropônico em 25/05/2023 a 30/06/2023 (inverno) .

Fontes de variação	DP	NF	CC	DC	CR	MFPA	MFR	MSPA
Concentração de zinco	ns	ns	ns	ns	ns	<0,05	<0,01	<0,001
Cultivar/genótipo	ns	<0,01	ns	ns	<0,01	<0,05	ns	<0,01
Concentração Zn x cultivar/genótipo	ns	ns	ns	ns	ns	<0,01	<0,05	<0,05
Fontes de variação	MSR	TZPA	TZR	MDA	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	SOD	CAT	
Concentração de zinco	ns	<0,01	<0,05	ns	ns	<0,05	<0,001	
Cultivar/genótipo	ns	ns	<0,05	<0,001	<0,05	ns	<0,05	
Concentração Zn x cultivar/genótipo	ns	<0,05	<0,05	<0,01	<0,05	<0,05	<0,05	

ns = não significativo ( $p > 0,05$ ).

### **CAPÍTULO III**

#### **Condicionamento de sementes de alface com zinco em condições controladas**

## Condicionalmento de sementes de alface com zinco em condições controladas<sup>1</sup>

### Resumo

A deficiência de zinco (Zn) na alimentação humana é um problema de saúde pública que afeta milhões de pessoas no mundo, sendo responsável por prejuízos ao desenvolvimento físico e cognitivo. A biofortificação agronômica surge como uma estratégia eficaz, sustentável e de baixo custo para aumentar os teores desse micronutriente em alimentos. A combinação da técnica de priming com práticas agronômicas convencionais pode representar uma alternativa de baixo custo e elevada eficiência para a biofortificação de culturas alimentares. Esta pesquisa e trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do *priming* de sementes com diferentes concentrações de Zn (0, 1, 2 e 3 mM) no desenvolvimento morfofisiológico, na resposta bioquímica e na biofortificação da cultivar de alface ‘Vanda’. O experimento foi conduzido em câmara fitoclimática na Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, Portugal, em delineamento de blocos casualizados com três repetições. Foram avaliadas variáveis biométricas (número de folhas, comprimento de raiz, massa fresca e massa seca), fisiológicas (taxa fotossintética) e bioquímicas (atividade das enzimas antioxidantes catalase, ascorbato peroxidase e superóxido dismutase), além do teor de Zn nas folhas. Os resultados demonstraram que o *priming* com Zn proporcionou aumento no desenvolvimento biométrico, com aumento significativo na massa fresca e seca e no comprimento radicular, especialmente nas concentrações de até 2 mM Zn. Além disso, observou-se elevação na atividade das enzimas antioxidantes, particularmente nas concentrações maiores, evidenciando ativação dos sistemas de defesa contra estresse oxidativo. Conclui-se, nesta pesquisa, que o *priming* com Zn apresentou benefícios pontuais no estabelecimento inicial e na produtividade da alface, mas que requer ajustes nas concentrações e utilização de outras cultivares para alcançar resultados consistentes de biofortificação.

**Palavras-chave:** *Lactuca sativa L.*, micronutriente, *priming*, antioxidantes, segurança alimentar.

---

<sup>1</sup>Etapa complementar, por meio do doutorado sanduíche (CAPES outubro/2024 a março/2025), realizada na Faculdade de Ciências da Universidade do Porto (FCUP) em Porto, Portugal, sob supervisão da Dra. Susana Carvalho, testando a biofortificação agronômica através do “*priming*” de sementes na cultivar Vanda.

## Seed priming lettuce with zinc under controlled conditions

### Abstract

Zinc (Zn) deficiency in human nutrition is a public health problem that affects millions of people worldwide, leading to impairments in physical and cognitive development. Agronomic biofortification emerges as an effective, sustainable, and low-cost strategy to increase the levels of this micronutrient in food crops. The combination of seed priming with conventional agronomic practices may represent a cost-effective and efficient alternative for the biofortification of food crops. This research aimed to evaluate the effect of seed priming with different Zn concentrations (0, 1, 2, and 3 mM) on the morphophysiological development, biochemical response, and biofortification of the lettuce cultivar 'Vanda'. The experiment was conducted in a growth chamber at the Faculty of Sciences of the University of Porto, Porto, Portugal, using a randomized block design with three replications. The variables evaluated included biometric parameters (number of leaves, root length, fresh and dry biomass), physiological response (photosynthetic rate), and biochemical markers (activity of antioxidant enzymes catalase, ascorbate peroxidase, and superoxide dismutase), in addition to Zn content in the leaves. The results showed that Zn priming enhanced biometric development, with significant increases in fresh and dry biomass and root length, particularly at Zn concentrations up to 2 mM. Furthermore, an increase in the activity of antioxidant enzymes was observed, especially at higher concentrations, indicating the activation of defense systems against oxidative stress. It is concluded that Zn seed priming provided specific benefits for the initial establishment and productivity of lettuce; however, adjustments in Zn concentrations and the use of other cultivars are necessary to achieve consistent biofortification outcomes.

**Keywords:** *Lactuca sativa* L., micronutrient, priming, antioxidants, food security.

## Introdução

A biofortificação agronômica tem se destacado como uma estratégia promissora para combater deficiências nutricionais em populações humanas, especialmente em regiões onde a insegurança alimentar e a baixa diversidade dietética são prevalentes. Essa abordagem consiste na aplicação de nutrientes essenciais diretamente às plantas, visando o aumento de sua concentração nos tecidos comestíveis, sem comprometer o rendimento agrícola (Cakmak, 2008). Entre os diversos métodos de biofortificação, a técnica de *seed priming* — ou condicionamento fisiológico de sementes — tem ganhado atenção pela sua capacidade de melhorar a absorção de nutrientes e promover o vigor inicial das plantas (Paparella et al., 2015).

O *priming* de sementes envolve a imersão controlada das sementes em soluções contendo micronutrientes, seguida de secagem antes da semeadura, promovendo uma ativação metabólica sem a emergência da radícula (Varier et al., 2010). Esta técnica tem sido eficaz na introdução de micronutrientes como zinco (Zn), ferro (Fe), selênio (Se) e iodo (I), que são frequentemente limitantes na alimentação humana (Hussain et al., 2012; Dimkpa e Bindraban, 2016). Estudos demonstram que o uso de soluções enriquecidas para *priming* não só aumentam o conteúdo desses elementos nas partes comestíveis das plantas, como também contribuem para uma germinação mais rápida, crescimento inicial vigoroso e maior tolerância ao estresse abiótico (Sabir et al., 2020).

Além disso, a combinação da técnica de *priming* com práticas agronômicas convencionais pode representar uma alternativa de baixo custo e elevada eficiência para a biofortificação de culturas alimentares, particularmente em solos pobres em micronutrientes ou sob condições climáticas adversas (Rehman et al., 2018). Dessa forma, a integração entre fisiologia de sementes e nutrição de plantas por meio do *priming* pode representar uma abordagem inovadora, sustentável e aplicável em larga escala, contribuindo significativamente para o enfrentamento da “fome oculta”.

Além disso, o *priming* de sementes com Zn demonstrou ser eficaz na biofortificação de microverdes de ervilha e girassol. Em um estudo conduzido por Poudel et al. (2023), sementes tratadas com sulfato de Zn a 200 mg L<sup>-1</sup> resultaram em aumento na concentração de zinco de 126% em ervilha e 230% em girassol. Esses resultados indicam que o *priming* de sementes pode ser uma estratégia viável para enriquecer culturas de ciclo curto com micronutrientes essenciais. Segundo Sala e Costa (2002) a alface, por sua vez, apresenta um ciclo de produção reduzido — com cerca de 30 dias para a fase de mudas e aproximadamente 25 dias até a colheita

em cultivo hidropônico — o que a caracteriza como uma cultura de ciclo curto promissora para estratégias de biofortificação através do *priming*.

O *priming* de sementes também tem sido explorado em outras culturas alimentares de maior ciclo de cultivo. Carmona et al. (2020) investigaram o efeito do *priming* de sementes de beterraba (ciclo médio de 90 dias) com diferentes concentrações e fontes de zinco utilizando sulfato de zinco ( $ZnSO_4$ ) e óxido de zinco ( $ZnO$ ) em concentrações de 50, 100 e 200 mg L<sup>-1</sup>, observando melhorias na fisiologia, crescimento e produção das plantas, bem como um aumento de aproximadamente 35% na concentração de zinco nas raízes. Esses resultados sugerem que o *priming* de sementes pode ser adaptado para diferentes espécies vegetais, contribuindo para a biofortificação de uma variedade de culturas.

Em condições de estresse ambiental, como em ambientes áridos, o *priming* de sementes também mostrou benefícios. Nawaz et al. (2025) relataram que em sementes de grão-de-bico com extrato de *Moringa oleifera*, seguido de pulverização com sulfato de zinco a 0,5%, melhorou a tolerância à seca durante as fases reprodutivas da planta e resultou em grãos biofortificados com maior teor de nutrientes. Isso destaca o potencial do *priming* de sementes como uma ferramenta para melhorar a resiliência das culturas em condições adversas.

Diante da crescente demanda por alimentos com maior valor nutricional, especialmente em relação ao fornecimento de micronutrientes essenciais como o Zn, levanta-se a hipótese de que a técnica de embebição de sementes (*priming*) com diferentes concentrações de sulfato de zinco (0, 1, 2 e 3 mM L<sup>-1</sup> Zn) possa promover o aumento de teores de Zn na planta de alface, sem comprometer seu desenvolvimento inicial da planta (muda). Assim, este experimento teve como objetivo avaliar o efeito de concentrações de sulfato de zinco, aplicadas via *priming*, no desempenho fisiológico das sementes e na concentração de zinco nas plantas cultivadas em câmara fitoclimática, visando a viabilidade e a eficiência dessa técnica como estratégia de biofortificação agronômica.

## **Material e métodos**

### **Local experimental**

O experimento foi conduzido em câmara fitoclimática pertencente ao Sustainable Agrifood Production Research Centre (GreenUPorto) da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Campus de Vairão, em Porto, Portugal (22° 21'S, 47°23'O; 640 m).

## Procedimento experimental

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados (DBC), com quatro concentrações de zinco 0,0; 1, 2 e 3 mM L<sup>-1</sup> Zn aplicado via embebição de sementes nua na cultivar de alface Vanda, com três repetições por tratamento. O experimento foi realizado no período de 18/11/24 a 20/01/25.

As sementes nuas da cultivar ‘Vanda’ foram inicialmente submetidas a um processo de desinfecção e condicionamento. Foram imersas em solução de hipoclorito de sódio a 1% por 5 min, seguidas de enxágue com água destilada. Posteriormente, imersas nas respectivas soluções de tratamento por 8 h, segundo metodologia de Santos et al. (2019) e Carvalho et al. (2020). Após esse período, foram secas em temperatura ambiente sob papel filtro em bancada com ventilação natural até retornarem à umidade original antes da semeadura conforme descrito em Marcos-Filho (2015).

Na fase inicial (produção de mudas), a semeadura foi realizada em bandejas de polipropileno com 128 células, utilizando vermiculita como substrato. Foram utilizadas 100 sementes por repetição, totalizando 12 bandejas. Após a fase inicial em bandejas, aos 30 dias após semeadura (DAS) as plântulas foram transplantadas para vasos plásticos contendo substrato previamente umedecido com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) (Tabela 1), com três repetições e oito plantas por repetição.

**Tabela 1.** Composição da solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), indicando as fontes de fertilizantes e suas respectivas concentrações em mg L<sup>-1</sup>, utilizada para o cultivo de alface.

Fertilizante	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )
Nitrato de potássio (KNO <sub>3</sub> )	210
Nitrato de cálcio (Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O)	190
Fosfato monopotássico (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	31
Sulfato de magnésio (MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O)	48
Quelato de ferro (Fe-EDTA)	5.6
Ácido bórico (H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> )	0.46
Sulfato de manganês (MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O)	0.55
Sulfato de zinco (ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O)	0.05
Sulfato de cobre (CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O)	0.01
Molibdato de sódio (Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O)	0.01

Durante o experimento, as plantas foram mantidas em câmara fitoclimática controlada, com temperatura constante de 23 °C, umidade relativa do ar de 80% e intensidade luminosa de 250 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, sob fotoperíodo de 16 horas de luz.

A avaliação na fase de mudas foi realizada aos 30 DAS, e incluiu os parâmetros: número de folhas (NF), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca (g), comprimento de raiz (cm) e taxa de emergência aos 7 DAS. Já a avaliação na fase adulta foi conduzida aos 60 DAS, e envolveu novamente a análise de NF, MFPA, massa seca da parte aérea e da raiz, teor de zinco ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) e acúmulo de zinco ( $\text{mg planta}^{-1}$ ). O acúmulo de zinco foi calculado com base no produto entre o teor de zinco ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) e a massa seca da respectiva parte vegetal (g), sendo realizada separadamente para parte aérea e raiz.

Também foram avaliados atividade antioxidante, considerando componentes enzimáticos e pigmentos fotossintéticos. A atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e superóxido dismutase (SOD) — foi quantificada a partir de extratos enzimáticos obtidos de 100 mg de massa fresca foliar. O material foi macerado em almofariz com pilão sob refrigeração ( $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) utilizando tampão de extração composto por tampão fosfato 0,1 M (pH 7,0), EDTA 1 mM, Triton X-100 0,2%, DTT 2 mM, PMSF 1 mM e PVP 2%. Para a SOD, o tampão fosfato foi ajustado para pH 7,8. Após centrifugação (15 min, 8000 g,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), o sobrenadante foi utilizado para as análises enzimáticas e O teor de proteínas totais solúveis (TPS) foi determinado pelo método de Bradford (1976), com albumina bovina como padrão.

A atividade da CAT foi determinada pela decomposição do  $\text{H}_2\text{O}_2$ , monitorada pela diminuição da absorbância a 240 nm. A reação foi realizada em tampão fosfato (0,1 M), contendo  $\text{H}_2\text{O}_2$  (0,083 M) e extrato enzimático. As leituras foram realizadas imediatamente após a adição do  $\text{H}_2\text{O}_2$ , com 12 leituras sequenciais a cada 10 s. A atividade foi calculada com base no coeficiente de extinção do  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $39,4\text{ mM}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ ).

A atividade da APX foi determinada pela redução do ascorbato em reação com  $\text{H}_2\text{O}_2$ , mensurada pela diminuição da absorbância a 290 nm. As reações foram preparadas com tampão fosfato (0,1 M), L-ascorbato (reduzido) e  $\text{H}_2\text{O}_2$  (0,01 M), iniciadas pela adição do extrato enzimático. As leituras foram feitas imediatamente após a adição do  $\text{H}_2\text{O}_2$ , com sete leituras em intervalos de 10 s. A atividade foi calculada utilizando o coeficiente de extinção do ascorbato ( $2,8\text{ mM}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ ).

A atividade da SOD foi determinada com base na inibição da fotorredução do NBT (nitroblue tetrazolium), que forma um complexo azul detectado a 560 nm. A reação foi composta por tampão fosfato (pH 7,8), metionina (70 mM), EDTA (10  $\mu\text{M}$ ), NBT (1 mM) e riboflavina (2 mM). As placas foram incubadas sob luz por 10 a 15 minutos, com uma placa controle mantida no escuro. A atividade da SOD foi expressa em termos da capacidade de inibir

50% da formação do formaram, sendo os resultados expressos como nKat por mg de massa fresca.

A determinação dos pigmentos fotossintéticos foi realizada por meio da medição da taxa de fotossíntese líquida, utilizando um analisador de gases infravermelho (IRGA — Infrared Gas Analyzer). Este equipamento permite quantificar, de maneira precisa e não destrutiva, a assimilação líquida de CO<sub>2</sub> pelas folhas, refletindo diretamente a atividade fotossintética da planta. As medições foram realizadas sob condições controladas de fluxo de ar, concentração de CO<sub>2</sub> e irradiância, garantindo a padronização dos dados. Os resultados foram expressos em micromoles de CO<sub>2</sub> por metro quadrado por segundo ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), unidade que representa a quantidade de carbono fixado pela fotossíntese por unidade de área foliar e de tempo.

### **Análise estatística**

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA). Para comparação dos efeitos das concentrações de Zn foi feita a análise de regressão sendo considerado o melhor ajuste aquele que obteve o maior coeficiente de determinação ( $R^2$ ), menor erro padrão (Epad) e análise de discrepância residual. Para análise dos dados se utilizou o Software Sisvar e gráficos através do RStudio.

## **Resultados**

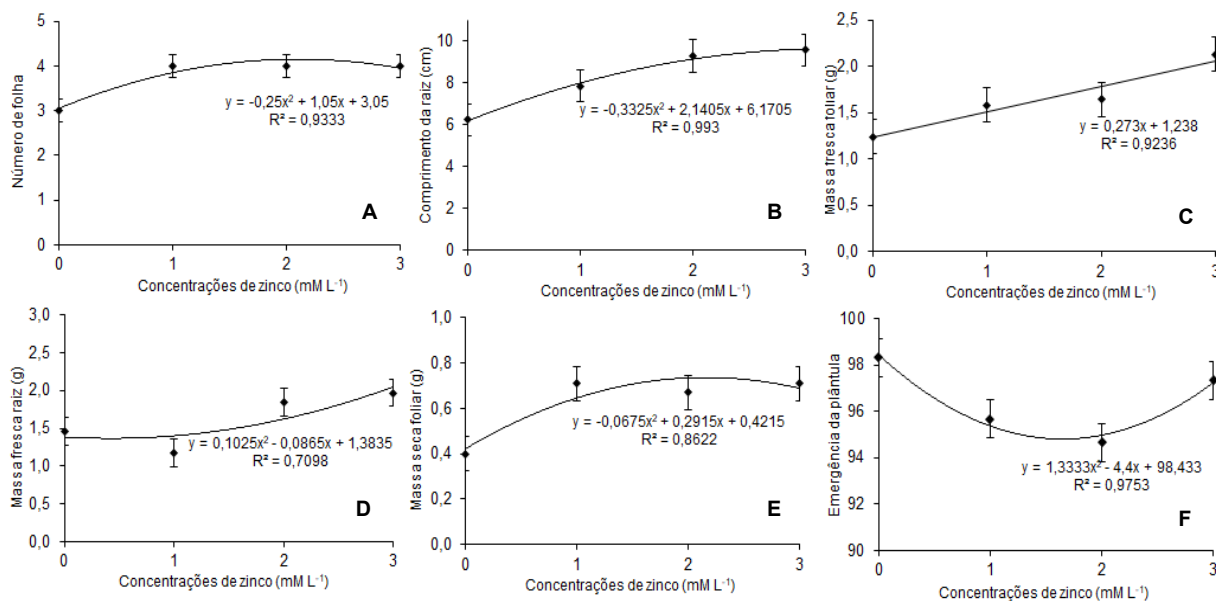
### **Características biométricas de alface**

A aplicação de diferentes concentrações de zinco na forma de *priming* influenciou significativamente as plantas de alface Vanda aos 30 dias após semeadura (DAS). O número de folhas (NF) não apresentou incremento (Figura 1A). O comprimento da raiz (CR) apresentou incremento de 6,2 a 9,5 cm conforme aumento das concentrações de zinco até 3 mM (Figura 1B).

A massa fresca foliar (MFF) também aumentou de 1,2 para 2,3 g 0 a 3 mM (Figura 1C), indicando que o acúmulo de biomassa foliar é estimulado pela presença do micronutriente. A massa fresca da raiz (MFR) apresentou tendencia semelhante (Figura 1D). Os valores oscilaram de aproximadamente 1,3 g na testemunha para 2,1 g na concentração de 3 mM.

A massa seca foliar (MSF) aumentou progressivamente com a elevação das concentrações de Zn, alcançando um valor máximo de 0,75 g na concentração de 2 mM. Em 3

mM, observou-se uma leve redução, sugerindo um possível efeito de saturação ou início de toxicidade fisiológica (Figura 1E). A emergência de plântulas (EP) apresentou acima de 95% em todas as concentrações, o que é considerado dentro do padrão (Figura 1F).



**Figura 1.** Número de folhas (NF) (A), comprimento da raiz (CR) (B), massa fresca folha (MFF) (C) e raiz (MFR) (D), massa seca foliar (MSF) (E) e emergência de plântulas (EP) (F) de alface cv. ‘Vanda’, aos 30 dias após a semeadura (DAS) em resposta a diferentes concentrações de Zn (0, 1, 2 e 3 mM L<sup>-1</sup>) aplicadas via *priming*. Os valores representam a média ± erro padrão (n = 3).

A aplicação de diferentes concentrações de Zn influenciou significativamente das plantas de alface Vanda aos 60 DAS. O NF por planta aumentou proporcionalmente com a concentração de Zn variando de 17 para 25 folhas na testemunha para 3 mM Zn (Figura 2A).

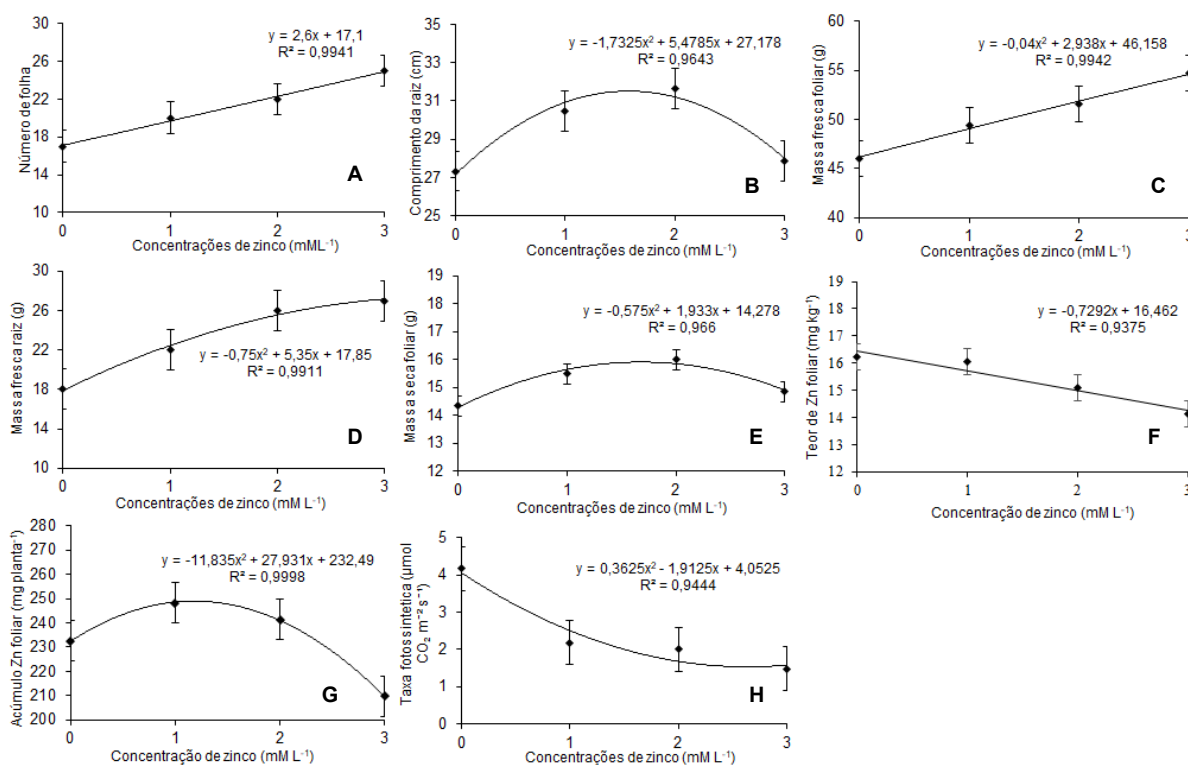
O CR aumentou até a concentração de 2 mM Zn, passando de 27,2 cm na testemunha para cerca de 33,0 cm, e reduziu ligeiramente a 3 mM Zn (Figura 2B). A MFF também apresentou incremento, partindo de 46,2 g na testemunha para 54,4 g em 3 mM Zn (Figura 2C). A MFR seguiu padrão semelhante, com aumento de 17,8 g (0 mM) para 28,5 g (3 mM), demonstrando desenvolvimento radicular adequado mesmo sob maiores concentrações do micronutriente (Figura 2D).

A MSF apresentou modelo polinomial quadrático, com valores de 14,3 g (0 mM), 16,2 g (1 mM), atingindo pico de aproximadamente 17,1 g na concentração de 2 mM Zn (Figura 2E).

O TZF, por sua vez, diminuiu linearmente com o aumento da concentração de Zn nas soluções, partindo de 16,5 mg kg<sup>-1</sup> na testemunha para 14 mg kg<sup>-1</sup> na concentração de 3 mM Zn (Figura 2F).

A TF foi afetada pelo aumento do Zn, decrescendo progressivamente de 4,1 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> na testemunha para 2 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> em 3 mM Zn (Figura 2G).

A concentração de 1,0 mM resultou no maior AZF (Figura 2H), com 248 mg de Zn por planta. Em concentrações inferiores, como 0,5 mM, o acúmulo foi menor, em torno de 232 mg por planta. Já em concentrações mais elevadas, como 2,0 mM e 3,0 mM, houve queda no acúmulo foliar para cerca de 242 mg e 213 mg por planta, respectivamente.



**Figura 2.** Número de folha (NF) (A), comprimento da raiz (CR) (B), massa fresca foliar (MFF) (C) e raiz (MFR) (D), massa seca foliar (MSF) (E), teor de zinco foliar (TZF) (F), taxa fotossintética (TF) (G) e acúmulo de zinco foliar (AZF) (H) de alface cv. 'Vanda' em resposta a diferentes concentrações de zinco (0, 1, 2 e 3 mM) aplicadas via *priming*, aos 60 dias após a semeadura. Os valores representam a média ± erro padrão (n = 3).

### Atividade de enzima antioxidante

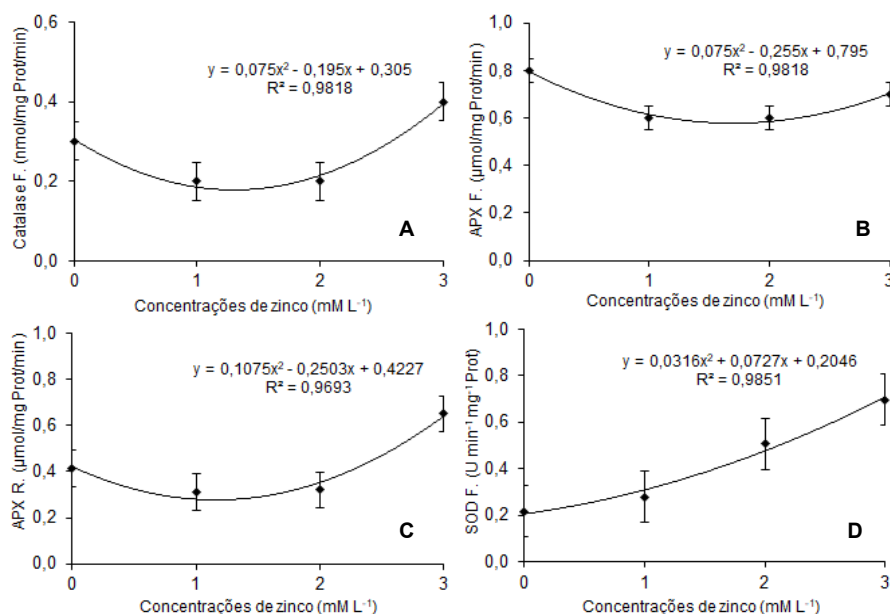
A aplicação de diferentes concentrações de Zn influenciou significativamente as respostas bioquímicas das plantas de alface Vanda aos 30 DAS. Observou-se que, para a atividade de CAT (Figura 3A), os menores valores foram observados na concentração de 1,4

mM de Zn, com  $0,2 \mu\text{mol mg}^{-1} \text{prot min}^{-1}$ . À medida que se aumentaram as concentrações de Zn para 2,1 mM e 2,8 mM, a atividade de CAT voltou a se elevar, atingindo aproximadamente  $0,35$  e  $0,4 \mu\text{mol mg}^{-1} \text{prot min}^{-1}$ , respectivamente.

De forma semelhante, a atividade de APX na folha (APX F) apresentou seu ponto mínimo na concentração de 1,4 mM de Zn, com valor próximo de  $0,4 \mu\text{mol mg}^{-1} \text{prot min}^{-1}$  (Figura 3B). Para as concentrações de 0,7 mM e 2,8 mM, os valores foram superiores, situando-se entre  $0,7$  e  $0,9 \mu\text{mol mg}^{-1} \text{prot min}^{-1}$ , evidenciando um aumento da atividade enzimática frente ao estresse oxidativo nas menores e maiores concentrações de zinco.

Na raiz (Figura 3C), a atividade de APX (APX R) seguiu tendência semelhante, com valor mínimo na concentração intermediária de 1,4 mM ( $0,4 \mu\text{mol mg}^{-1} \text{prot min}^{-1}$ ) e aumento nas concentrações mais altas, atingindo aproximadamente  $0,6 \mu\text{mol mg}^{-1} \text{prot min}^{-1}$  em 2,8 mM de Zn.

A atividade de SOD (Figura 3D) também apresentou seguiu modelo polinomial quadrático, com o menor valor na concentração intermediária (1,4 mM), cerca de  $0,18 \text{ UI mg}^{-1} \text{prot}$ . Já nas concentrações de 0,7 mM e 2,8 mM de Zn, foram de  $0,28$  e  $0,30 \text{ U min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot}$ , respectivamente, demonstrando maior demanda da enzima ao aumento da produção de radicais superóxido nas condições de maior estresse.

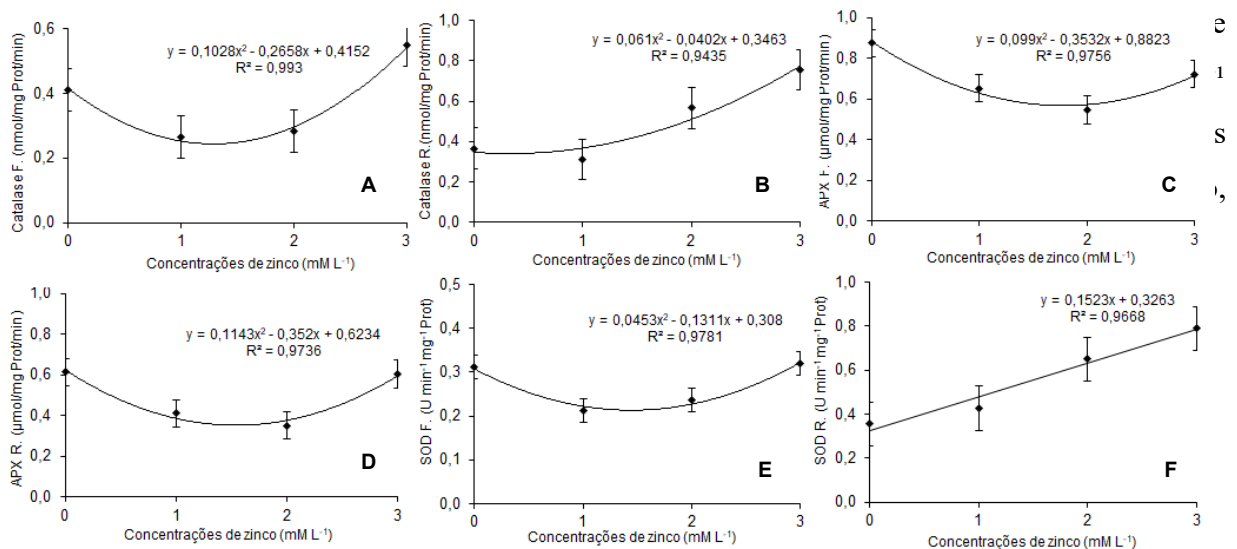


**Figura 3.** Catalase folha (A), ascorbato peroxidase folha (B) e raiz (C), superóxido dismutase folha (D) de alface cv. ‘Vanda’ em resposta a diferentes concentrações de zinco (0, 1, 2 e 3 mM) aplicadas *priming*, aos 30 dias após a semeadura. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão (n = 3).

Já aos 60 DAS, a atividade da catalase nas folhas (CAT F) e nas raízes (CAT R), apresentou valor mínimo observado na concentração de 1 mM Zn de  $0,30 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ prot min}^{-1}$ , seguido de aumento gradual, atingindo o valor mais elevado na concentração de 3 mM Zn de  $0,54 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ prot min}^{-1}$  (Figura 4AB). Esse padrão sugere que baixa concentração de Zn reduz temporariamente a atividade da enzima, que posteriormente é estimulada em concentrações mais altas.

A atividade da ascorbato peroxidase foliar (APX F) aumentou com a elevação das concentrações de Zn até 2 mM, atingindo o valor máximo de  $33,5 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ prot min}^{-1}$ , assim como nas raízes (APX R). Na concentração de 3 mM Zn, observou-se leve redução na atividade, ainda mantendo valores superiores aos da testemunha ( $27,2 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ prot min}^{-1}$ ), indicando indução enzimática sob excesso moderado de Zn (Figura 4CD).

A atividade da superóxido dismutase nas folhas (SOD F) aumentou de forma progressiva com o acréscimo do Zn, partindo de  $0,26 \text{ U min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot}$  na testemunha e



**Figura 4.** Catalase folha (A) e raiz (B), ascorbato peroxidase folha (C) e raiz (D), superóxido dismutase folha (E) e raiz (F) de alface cv. ‘Vanda’ em resposta a diferentes concentrações de zinco (0, 1, 2 e 3 mM) aplicadas via *priming*, aos 60 dias após a semeadura. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão (n = 3).

## Discussão

Dentre as metodologias empregadas para biofortificação agrônômica, o *priming* de sementes com Zn destaca-se por sua simplicidade operacional, baixo custo e eficácia tanto na

promoção do crescimento inicial quanto no aumento do teor de Zn nos tecidos vegetais (Dias et al., 2014; Haider et al., 2020; Rehman et al., 2015).

Na presente pesquisa, observou-se incremento expressivo no CR, MF, MS, especialmente na concentração de até 2 mM de Zn, onde os melhores desempenhos foram registrados. A MFF aumentou de 46,2 g na testemunha para 54,4 g na concentração de 3 mM, evidenciando que a aplicação de Zn via *priming* estimula o acúmulo de biomassa, o que também foi observado por Haider et al. (2020) em *Vigna radiata*, com incremento significativo de rendimento e qualidade dos grãos.

O CR também apresentou aumento variando de 27,2 cm na testemunha para 33 cm na concentração de 2 mM, possivelmente indicando início de saturação. Rehman et al. (2015) relataram resposta semelhante em trigo, onde concentrações adequadas de Zn no *priming* promoveram maior desenvolvimento radicular, fundamental para a absorção eficiente de nutrientes.

A MSF atingiu valores máximos em 2 mM (17,1 g), desempenho também observado por Silva (2023), que descreveu respostas semelhantes em alface cultivada em hidroponia biofortificada com Zn e identificou aumento significativo da massa seca foliar com 0,24 mg L<sup>-1</sup> de Zn na solução nutritiva. Esse padrão pode ser atribuído à capacidade reguladora da planta de controlar o acúmulo de Zn, priorizando a manutenção do metabolismo e evitando efeitos tóxicos quando seus níveis são elevados.

A TE das plântulas não foi afetada nas concentrações, com valores de 93% a 98%, o que é considerado adequado para alface. Essa tendência foi contrária com relatos de Dias et al. (2014), que destacou que, apesar de o *priming* favorecer o desempenho fisiológico, a escolha inadequada da concentração pode impactar negativamente a fase germinativa.

O TZF apresentou tendência decrescente com o aumento das concentrações na solução de *priming*, comportamento que diverge parcialmente de estudos anteriores (Haider et al., 2020), os quais relataram incremento linear dos teores foliares de Zn. Essa discrepância pode estar associada a mecanismos de exclusão ou redistribuição do Zn em tecidos, como raízes ou vacúolos, estratégia comum em plantas submetidas a concentrações elevadas de metais (Broadley et al., 2007).

No aspecto fisiológico, a taxa fotossintética decresceu progressivamente com o aumento do Zn, de 4,1  $\mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  na testemunha para 2,0  $\mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  em 3 mM. Esse declínio é coerente com os encontrados por Silva (2023), que também observou redução na atividade fotossintética em alfaces submetidas a biofortificação com Zn, associando esse efeito ao

estresse oxidativo gerado pelo excesso de Zn no ambiente celular, afetando cloroplastos e cadeias de transporte de elétrons.

Do ponto de vista bioquímico, houve incremento significativo na atividade das enzimas CAT, APX e SOD, especialmente nas maiores concentrações (0,7 e 3 mM), indicando ativação dos sistemas de defesa antioxidante frente ao aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). Este achado reforça os resultados descritos por Haider et al. (2020) e Silva (2023), que apontaram o aumento da atividade antioxidante como uma resposta comum em plantas submetidas à biofortificação com metais, servindo como mecanismo protetivo contra os danos oxidativos.

Observa-se que as concentrações extremas de zinco (0,7 e 2,8 mM) induziram maior atividade das enzimas antioxidantes CAT, APX e SOD da cv. Vanda. Por outro lado, a concentração intermediária de 1,4 mM foi aquela na qual os menores valores enzimáticos foram registrados, sugerindo uma condição de menor estresse oxidativo ou uma eficiência fisiológica maior da planta para lidar com os níveis moderados do micronutriente.

Portanto, os resultados desta pesquisa indicaram que o uso do *priming* com zinco foi eficaz para promover o desenvolvimento inicial das mudas de alface, refletindo-se em maior massa e vigor nas fases iniciais do ciclo. No entanto, ao considerar o desempenho produtivo aos 60 DAS, não foram observadas diferenças significativas nos teores ou no acúmulo de zinco nas plantas, o que evidencia uma limitação do efeito do *priming* ao longo do ciclo completo da cultura. Ressalta-se ainda a importância de ajustar as concentrações de Zn utilizadas no tratamento, pois concentrações insuficientes podem não atingir os efeitos esperados sobre o crescimento e o enriquecimento nutricional das plantas.

## **Conclusão**

A presente pesquisa demonstrou que o tratamento de sementes da cv. Vanda com Zn, via *priming*, é uma técnica promissora para favorecer o desenvolvimento morfológico inicial e o acúmulo de massa nas fases precoces do cultivo.

As concentrações de até 2 mM de Zn promoveram os melhores resultados quanto ao crescimento, enquanto a concentração de 3 mM, indicaram possíveis limitações fisiológicas, com queda na TF e TZF. No entanto, aos 60 DAS, o *priming* não foi capaz de promover aumentos significativos no teor e acúmulo de Zn nas plantas, indicando que sua eficácia como estratégia de biofortificação agrônômica a longo prazo é limitada.

Conclui-se, portanto, que o *priming* com Zn é uma prática viável e de baixo custo, com benefícios pontuais no estabelecimento inicial e na produtividade da alface, mas que requer ajustes nas concentrações e utilização de outras cultivares para alcançar resultados consistentes de biofortificação.

## Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado sanduiche (PDSE). À Faculdade de Ciências da Universidade do Porto (FCUP) e GreenUPorto pelo suporte no doutorado sanduiche e condução experimental.

## Referências

Ahmad, A., Tola, E., Alshahrani, T. S., Seleiman, M. F. (2023). Enhancement of morphological and physiological performance of *Zea mays* L. under saline stress using ZnO nanoparticles and 24-epibrassinolide seed priming. *Agronomy*, 13(3), 771.

Hoagland, D. R.; Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station, Circular 347.

Broadley, M. R., White, P. J., Hammond, J. P., Zelko, I., Lux, A. (2007). Zinc in plants. *New Phytologist*, 173(4), 677–702.

Cakmak, I. (2008). Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification? *Plant Soil*, 302, 1–17.

Carmona, V., Vergara, M., Cecílio Filho, A. B., Almeida, H. J. D., Silva, G. C., Reis, A. R. D. (2020). Biofortificação agrônômica de beterraba com zinco via condicionamento osmótico de sementes. *Revista Caatinga*, 33, 116-123.

Carvalho, A., Reis, S., Pavia, I., Lima-Brito, J. E. (2019). Influence of seed priming with iron and/or zinc in the nucleolar activity and protein content of bread wheat. *Protoplasma*, 256, 763-775.

Dias, L. W. (2014). Sementes de alface com e sem priming peletizadas com diferentes colorações. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pelotas.

Dimkpa, C. O., Bindraban, P. S. (2016). Fortification of micronutrients for efficient agronomic production: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 36(1), 7.

Dias, P. C. S., Sena-Evangelista, K. C. M., de Oliveira Paiva, M. S. M., Ferreira, D. Q. C., Ururahy, M. A. G., Rezende, A. A., Pedrosa, L. F. C. (2014). The beneficial effects of

rosuvastatin are independent of zinc supplementation in patients with atherosclerosis. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28(2), 194-199.

Haider, M. U., Hussain, M., Farooq, M., Nawaz, A. (2020). Optimizing zinc seed priming for improving the growth, yield and grain biofortification of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Journal of Plant Nutrition*, 43(10), 1438-1446.

Haider, M. U., Hussain, M., Farooq, M., Nawaz, A. (2020). Zinc nutrition for improving the productivity and grain biofortification of mungbean. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20, 1321-1335.

Hussain, S., Maqsood, M. A., Rengel, Z., Aziz, T. (2012). Biofortification and estimated human bioavailability of zinc in wheat grains as influenced by methods of zinc application. *Plant and Soil*, 361, 279-290.

Marcos Filho, J. (2015). *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*.

Nawaz, H., Yousaf, M. M., Hussain, N., Hussain, T., Yousaf, M. W., Yousaf, M. I., Iqbal, R. (2025). *Moringa* bioprimering with Zn spray improved nutrients rich biofortified chickpea grains and drought tolerance at reproductive stages under arid environment. *Journal of Crop Health*, 77(1), 1-19.

Paparella, S., Araújo, S. S., Rossi, G., Wijayasinghe, M. A. L. A. K. A., Carbonera, D., Balestrazzi, A. (2015). Seed priming: state of the art and new perspectives. *Plant cell reports*, 34, 1281-1293.

Poudel, P., Di Gioia, F., Lambert, J. D., Connolly, E. L. (2023). Zinc biofortification through seed nutri-priming using alternative zinc sources and concentration levels in pea and sunflower microgreens. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1177844.

Rehman, H. U., Farooq, M., Cheema, Z. A. (2015). Seed priming with zinc improves the germination and early seedling growth of wheat. *Journal of Plant Nutrition*, 38(10), 1501-1510.

Rehman, A., Farooq, M., Ozturk, L., Asif, M., Siddique, K. H. (2018). Zinc nutrition in wheat-based cropping systems. *Plant and Soil*, 422, 283-315.

Sabir, S., Zahoor, M. A., Waseem, M., Siddique, M. H., Shafique, M., Imran, M., Muzammil, S. (2020). Biosynthesis of ZnO nanoparticles using *Bacillus subtilis*: characterization and nutritive significance for promoting plant growth in *Zea mays* L. *Dose-Response*, 18(3).

Silva, V. B. (2023). Crescimento, biofortificação e qualidade de alface hidropônico em função de concentrações de ferro e zinco na solução nutritiva. *Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista (UNESP)*.

Variar, A., Vari, A. K., Dadlani, M. (2010). The subcellular basis of seed priming. *Current Science*, 450-456.

## 4 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O desenvolvimento desta tese permitiu não apenas aprofundar os conhecimentos sobre a biofortificação agrônômica da alface com Zn no cultivo hidropônico, mas também gerou dados científicos que podem embasar políticas públicas de biofortificação em cultivo hidropônico. Ao longo dos experimentos, ficou evidente que a combinação entre a seleção de genótipos, o manejo adequado da solução nutritiva pode ser uma técnica eficiente, viável e sustentável para o enriquecimento nutricional da alface.

Os resultados apresentados ganham ainda mais relevância, visto que demonstram que é possível incrementar significativamente o teor e acúmulo desse micronutriente nas folhas de alface, sem comprometer o desenvolvimento da planta, desde que sejam observados os limites fisiológicos dos genótipos. Esta constatação é extremamente relevante para programas de biofortificação, especialmente em países tropicais, onde o cultivo hidropônico tem se consolidado como uma alternativa sustentável e eficiente.

Cientificamente, esta pesquisa avança na compreensão dos efeitos fisiológicos e bioquímicos do Zn em alface, sobretudo nas respostas relacionadas ao metabolismo antioxidante e aos impactos de diferentes concentrações em condições sazonais. A geração de informações robustas sobre os teores que promovem benefícios para planta é uma contribuição para o cultivo de hortaliças biofortificadas no Brasil. Do ponto de vista tecnológico, esta pesquisa fornece informações científicas para que produtores possam adotar práticas de biofortificação agrônômica em alface, utilizando o sistema hidropônico de forma segura e eficiente.

Por fim, os resultados desta tese geraram dados interessantes com potencial de fortalecer a relação entre a agricultura e a saúde pública, ao proporcionar uma estratégia prática para a produção de alimentos mais nutritivos, capazes de contribuir com a segurança alimentar.