

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**BIOFORTIFICAÇÃO DA ALFACE BABY LEAF COM FERRO  
E ZINCO: IMPACTOS AGRONÔMICOS E NUTRICIONAIS**

**Gildeon Santos Brito**  
Engenheiro Agrônomo

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**BIOFORTIFICAÇÃO DA ALFACE BABY LEAF COM FERRO  
E ZINCO: IMPACTOS AGRONÔMICOS E NUTRICIONAIS**

**Discente: Gildeon Santos Brito**

**Orientador: Prof. Dr. Arthur Bernardes Cecílio Filho**

**Dissertação apresentada à Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,  
Câmpus de Jaboticabal, como parte das  
exigências para a obtenção do título de  
Mestre em Agronomia (Produção Vegetal)**

B862b Brito, Gildeon Santos  
Biofortificação da alface baby leaf com ferro e zinco: impactos agronômicos e nutricionais / Gildeon Santos Brito. -- Jaboticabal, 2025  
61 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal  
Orientador: Arthur Bernardes Cecílio Filho

1. Lactuca sativa L. 2. Biofortificação agrônômica. 3. Micronutriente. 4. Fome oculta. I. Título.

## **IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA**

Esta pesquisa evidencia o potencial da biofortificação agrônômica da alface *baby leaf* com ferro e zinco como estratégia viável para aumentar a qualidade nutricional de alimentos que são bastante consumidos no dia a dia. Dessa forma, contribui no combate a deficiência de micronutrientes, conhecida como “fome oculta”. Nesse sentido, os resultados estão alinhados com o Objetivo de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 2, que busca a Fome Zero e a Agricultura Sustentável, ao promover sistemas de produção mais eficientes e alimentos mais nutritivos, sem precisar mudar os hábitos alimentares das pessoas.

Além disso, ao mostrar que a biofortificação pode ser incorporada às práticas agrícolas sem causar prejuízos à produção, o estudo também contribui para os ODS 3 (Saúde e Bem-Estar) e 12 (Consumo e Produção Responsáveis). Ele incentiva práticas agrícolas sustentáveis que aumentam o valor nutricional dos alimentos e fortalecem a segurança alimentar para todos.

## **POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH**

This research highlights the potential of agronomic biofortification of baby leaf lettuce with iron and zinc as a viable strategy to increase the nutritional quality of foods that are widely consumed on a daily basis. In this way, it contributes to combating micronutrient deficiencies, known as "hidden hunger." In this sense, the results are aligned with Sustainable Development Goal (SDG) 2, which seeks Zero Hunger and Sustainable Agriculture, by promoting more efficient production systems and more nutritious foods, without needing to change people's eating habits.

In addition, by showing that biofortification can be incorporated into agricultural practices without harming production, the study also contributes to SDGs 3 (Good Health and Well-being) and 12 (Responsible Consumption and Production). It encourages sustainable agricultural practices that increase the nutritional value of food and strengthen food security for all.

# CERTIFICADO DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal




## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** BIOFORTIFICAÇÃO DA ALFACE BABY LEAF COM FERRO E ZINCO: IMPACTOS AGRONÔMICOS E NUTRICIONAIS


**AUTOR:** GILDEON SANTOS BRITO

**ORIENTADOR:** ARTHUR BERNARDES CECILIO FILHO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal), pela Comissão Examinadora:

 Documento assinado digitalmente  
**ARTHUR BERNARDES CECILIO FILHO**  
Data: 18/12/2025 10:09:38-0300  
verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. ARTHUR BERNARDES CECILIO FILHO (Participação Virtual)  
Departamento de Produção Vegetal / FCAV UNESP Jaboticabal

 Documento assinado digitalmente  
**LUIS FELIPE VILLANI PURQUERIO**  
Data: 18/12/2025 15:43:27-0300  
verifique em <https://validar.it.gov.br>

Pesquisador Dr. LUIS FELIPE VILLANI PURQUERIO (Participação Virtual)  
Departamento de Fitotecnia e Nutrição de Plantas / Instituto Agronômico de Campinas (IAC) - Campinas/SP

Profa. Dra. GILDA CARRASCO SILVA (Participação Virtual)  
Universidad de Talca (UTALCA) / Talca/Chile

Jaboticabal, 18 de dezembro de 2025.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

Nascido em 25 de novembro de 1997, na cidade de Ubaíra, Bahia, é filho de Valdelice Sabino dos Santos e Gregório de Brito, e irmão de Valteon Santos de Brito e de Viviane Santos Brito Vieira. Em 2013, iniciou o curso Técnico em Agropecuária, no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano - Câmpus Santa Inês. Em 2018, ingressou no curso de Agronomia, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Durante a graduação integrou o Grupo de Pesquisa “Manejo de Nutrientes no Solo e em Plantas Cultivadas”, atuando como bolsista de iniciação científica por quatro anos consecutivos (2019-2023, CNPq e FAPESB). Participou como membro efetivo e de diretoria da Empresa Júnior “Cultivar Júnior Consultoria Agrícola” da UFRB, além de exercer atividades de monitoria na disciplina Botânica Básica. Em 2023, obteve o título de Engenheiro Agrônomo pela UFRB. No ano seguinte, 2024, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal), da Universidade Estadual Paulista ‘Júlio de Mesquita Filho’ (UNESP), Câmpus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Arthur Bernardes Cecílio Filho.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha mãe, Valdelice Sabino dos Santos, meu alicerce incondicional, por sempre fortalecer meus sonhos, incentivar minhas escolhas e jamais medir esforços para que eu seguisse em frente.

Aos meus irmãos, Valteon e Viviane, pelo constante incentivo, apoio e confiança, que foram fundamentais ao longo dessa trajetória.

Aos meus familiares e amigos, pelo apoio, compreensão e encorajamento em todas as etapas da minha vida acadêmica e pessoal.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Arthur Bernardes Cecílio Filho, pelos valiosos conhecimentos compartilhados, pela orientação exemplar e pela formação científica, profissional e humana ao longo do mestrado.

Aos colegas do Grupo de Estudos em Hortaliças, pelos momentos de aprendizado, convivência e apoio mútuo. Meus sinceros agradecimentos a Alexandre, Ana Flávia, Daniel, Fernanda, Francisco, Gabriel, Gean, Lucas, Wellington e Pedro.

Aos docentes da Universidade Estadual Paulista (UNESP), pelo sólido conhecimento técnico e científico transmitido, com especial agradecimento à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mara Cristina, a quem serei sempre grato. Ao meu grande amigo Orlando Ventura, meu coração guardará para sempre sincera gratidão por sua amizade, que marcou positivamente minha trajetória acadêmica.

Aos funcionários e discentes do Setor de Horticultura, em especial ao servidor Inauro e à discente Fishua, por toda colaboração, disponibilidade e apoio durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus de Jaboticabal–SP, pela oportunidade de formação acadêmica e científica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro concedido, fundamental para a realização do curso de mestrado.

Por fim, expresso meus mais sinceros agradecimentos a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e para a minha formação acadêmica.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Carência nutricional em humanos .....	3
2.1.1 Ferro .....	5
2.1.2 Zinco.....	7
2.2 Potencial mitigador da alface na carência nutricional .....	8
2.3 <i>Baby leaf</i> e a segurança alimentar .....	10
2.4 Biofortificação de hortaliças como estratégia no combate à fome oculta .....	13
2.5 Biofortificação agronômica .....	14
2.5.1 Biofortificação agronômica da alface.....	15
2.5.2 Principais métodos de biofortificação agronômica.....	17
2.5.2.1 Biofortificação agronômica com fertilização via solo .....	17
2.5.2.2 Biofortificação agronômica com fertilização via foliar .....	17
2.5.2.3 Biofortificação agronômica com priming de sementes .....	18
2.5.2.4 Biofortificação agronômica via fertilização em cultivo sem solo .....	18
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1 Localização e caracterização da área experimental .....	19
3.2 Tratamentos, delineamento e unidade experimental .....	20
3.3 Condução do experimento .....	21
3.4 Características avaliadas .....	23
3.5 Análises estatísticas .....	24
4 RESULTADOS .....	24
5 DISCUSSÃO.....	33
6 CONCLUSÕES.....	39
7 REFERÊNCIAS .....	40

## BIOFORTIFICAÇÃO DA ALFACE BABY LEAF COM FERRO E ZINCO:IMPACTOS AGRONÔMICOS E NUTRICIONAIS

**RESUMO** – A ingestão inadequada de micronutrientes, principalmente Fe e Zn, é prevalente em grande parte da população mundial, às vezes sem mostra sintomas (fome oculta) e a biofortificação agronômica tem sido uma estratégia para melhorar a qualidade nutricional dos alimentos e, conseqüentemente, a ingestão de nutrientes pelas pessoas. Este estudo teve como objetivo avaliar concentrações de Fe e Zn na solução nutritiva nas características morfofisiológicas, qualidade nutricional e biofortificação de duas cultivares alfaces *baby leaf*, em sistema hidropônico *deep water technique*. Dois experimentos foram conduzidos, sendo um com a alface ‘Vanda’ (verde) e outro com a alface ‘Luminosa’ (arroxeadada). Avaliaram-se seis tratamentos, em esquema fatorial 3 x 2, correspondentes às concentrações de Fe (2,0, 4,0 e 8,0 mg L<sup>-1</sup>) e Zn (0,06 e 0,24 mg L<sup>-1</sup>), com quatro repetições. Do ponto de vista varietal, ‘Vanda’ mostrou-se mais produtiva, enquanto ‘Luminosa’ tem maior valor nutracêutico. Quanto à resposta das cultivares às concentrações dos micronutrientes, constatou-se que características de crescimento, produtividade, teores foliares de carotenoides e antocianinas de ambas cultivares não foram influenciados pelo aumento das concentrações de Fe e Zn na solução nutritiva, mas houve aumento no teor de compostos fenólicos. A biofortificação agronômica de alfaces baby leaf mostrou-se viável e comprova a importância de se avaliar o efeito da fertilização para cultivares, pois verificou-se resposta diferenciada das cultivares para biofortificação das baby leaves com os micronutrientes. Enquanto a baby leaf ‘Vanda’ (crespa, verde) mostrou-se biofortificada somente com Fe, ‘Luminosa’ (crespa, roxa) foi biofortificada com ambos micronutrientes.

**Palavras-chave:** *Lactuca sativa* L., biofortificação agronômica, micronutriente, fome oculta.

## BIOFORTIFICATION OF BABY LEAF LETTUCE WITH IRON AND ZINC: AGRONOMIC AND NUTRITIONAL IMPACTS

**ABSTRACT** – Inadequate intake of micronutrients, mainly Fe and Zn, is prevalent in a large part of the world's population, sometimes without showing symptoms (hidden hunger), and agronomic biofortification has been a strategy to improve the nutritional quality of food and, consequently, nutrient intake by people. This study aimed to evaluate the concentrations of Fe and Zn in the nutrient solution on the morphophysiological characteristics, nutritional quality, and biofortification of two baby leaf lettuce cultivars in a deep water hydroponic system. Two experiments were conducted, one with 'Vanda' lettuce (green) and the other with 'Luminosa' lettuce (purple). Six treatments were evaluated in a 3 × 2 factorial design, corresponding to the concentrations of Fe (2.0, 4.0, and 8.0 mg L<sup>-1</sup>) and Zn (0.06 and 0.24 mg L<sup>-1</sup>), with four replications. From a varietal point of view, 'Vanda' proved to be more productive, while 'Luminosa' has greater nutraceutical value. Regarding the cultivars' response to micronutrient concentrations, it was found that growth characteristics, productivity, and foliar levels of carotenoids and anthocyanins in both cultivars were not influenced by the increase in Fe and Zn concentrations in the nutrient solution, but there was an increase in the content of phenolic compounds. The agronomic biofortification of baby leaf lettuce proves to be viable and confirms the importance of evaluating the effect of fertilization on cultivars, as a differentiated response of the cultivars to biofortification of baby leaves with micronutrients was observed. While the baby leaf 'Vanda' (curly, green) showed biofortification only with Fe, 'Luminosa' (curly, purple) was biofortified with both micronutrients.

**Keywords:** *Lactuca sativa* L., agronomic biofortification, micronutrient, hidden hunger

## 1 INTRODUÇÃO

Insegurança alimentar, dieta desequilibrada, consumo predominante de grãos com baixa qualidade nutricional e pequena diversidade alimentar afetam negativamente a saúde humana em escala global (Praharaj et al., 2021; Pires, 2024). Entre os micronutrientes de maior preocupação estão o ferro (Fe) e o zinco (Zn). O Fe ocupa posição de destaque, por ser a carência nutricional mais prevalente e a principal causa de anemia, afetando aproximadamente um quarto da população mundial (Varea et al., 2023). Essa situação se agrava durante a gestação, período em que a demanda por micronutrientes é intensificada (Pallone et al., 2020). Um dos fatores que contribuem para esse quadro é a predominância do consumo de cereais, alimentos com menor teor e biodisponibilidade destes micronutrientes quando comparados às fontes de origem animal (Hou et al., 2025). Além do Fe, o Zn também exerce papel fundamental na saúde humana. Conhecido como o “metal da vida” (Khan et al., 2022), esse elemento participa de diversos processos biológicos, com destaque para a manutenção da integridade do sistema imunológico. Sua presença influencia diretamente a síntese de DNA, a divisão celular e os mecanismos antioxidantes, considerados indispensáveis à regulação imunológica e à defesa do organismo (Schulz e Rink, 2025).

Por vezes, a carência nutricional não é facilmente identificada, sendo conhecida como fome oculta. Siwela et al. (2020) ressaltam que a fome oculta constitui um dos principais problemas de saúde pública mundial, sendo o Fe e o Zn os micronutrientes cuja deficiência mais frequentemente acomete populações economicamente vulneráveis.

Nesse contexto, surge a necessidade de implementar ações capazes de melhorar a qualidade dos alimentos, entre elas, a biofortificação agrônômica tem se destacado. Ratificando essa relevância, Szerement et al. (2021) também acreditam que é uma das maneiras mais baratas de reduzir a deficiência de nutrientes na dieta humana, condição conhecida como fome oculta, além de ser uma alternativa sustentável.

O cultivo de *baby leaves* vem ganhando espaço no mercado nos últimos anos. De acordo com Martínez-Ispizua et al. (2022), trata-se de um alimento funcional

emergente, que alia atributos sensoriais atrativos a um elevado conteúdo de compostos bioativos. Essa característica é especialmente relevante, pois, quando comparadas às plantas colhidas em estádios mais avançados, as *baby leaves* apresentam concentrações mais elevadas de metabólitos secundários, como fenólicos e antioxidantes (Rocha et al., 2020).

Nesse contexto, a alface (*Lactuca sativa* L.), que é uma das hortaliças folhosas mais consumidas no mundo (Sumi et al., 2025), tem sido uma das principais *baby leaves* oferecidas ao mercado. Rica em água (94–95%) e de baixo valor calórico, a alface é fonte de fibras, vitaminas, nutrientes e compostos bioativos, conferindo benefícios potenciais relacionados à cardioproteção, efeitos antidiabéticos, anticancerígenos e antienvhecimento (Shi et al., 2022). Contudo, sua composição fitoquímica varia de acordo com a cultivar, o estágio de maturidade e a coloração das folhas (Kim et al., 2018). A alface roxa apresenta maior atividade antioxidante lipofílica, além de maiores teores de ácido ascórbico e compostos fenólicos, comparada à alface verde e a outros vegetais (Kim et al., 2018; Martínez-Ispizua et al., 2022).

Como hipóteses deste estudo, acredita-se que: i) A aplicação de concentrações elevadas de ferro e zinco na solução nutritiva aumenta o acúmulo desses micronutrientes nos tecidos foliares da alface baby roxa e verde, sem comprometer a produtividade e o desenvolvimento das plantas; ii) as cultivares apresentarão respostas distintas à biofortificação com ferro e zinco, podendo a roxa ser mais promissora na absorção, translocação e acúmulo desses micronutrientes; iii) a biofortificação agrônômica com ferro e zinco melhora a qualidade nutricional e funcional das folhas, elevando também o teor de compostos antioxidantes, especialmente na alface roxa, devido ao seu maior potencial antioxidante.

Diante do exposto, com o presente estudo, objetivo-se avaliar os efeitos das concentrações de ferro e zinco, na solução nutritiva, sobre características morfofisiológicas e qualidade nutricional de alfaces *baby leaf* roxa e verde cultivadas em sistema hidropônico *deep water technique*.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Carência nutricional em humanos

Segundo Bhardwaj et al. (2022), em um futuro próximo, o crescimento acelerado da população, somado aos impactos previstos das mudanças climáticas, tornará ainda mais desafiadora a conquista da segurança alimentar e nutricional. Nesse cenário, Stewart et al. (2010) lembram que, globalmente, mais pessoas sofrem com a carência de micronutrientes do que com a baixa ingestão calórica ou a má qualidade geral da dieta.

Os micronutrientes são uma categoria de nutrientes que o corpo humano necessita em quantidades muito pequenas (Srivastav et al., 2022). Estes desempenham papel fundamental em todas as etapas da resposta imunológica e, quando estão em concentrações insuficientes, podem comprometer tanto a imunidade inata quanto a adaptativa, levando à supressão do sistema imune e, conseqüentemente, aumentando a vulnerabilidade a infecções (Gorji e Ghadiri, 2021). Para Sayah et al. (2021), essa relação é de via dupla: infecções agravam o estado de deficiência nutricional e elevam a demanda do organismo por micronutrientes.

Em muitas regiões do mundo, especialmente onde há maior prevalência de deficiências nutricionais, a base da alimentação é composta por cereais (Cakmak, 2010). A falta de frutas, hortaliças, alimentos de origem animal e outras fontes ricas em nutrientes são algumas das principais causas da desnutrição, pois grande parte da população de baixa renda não tem acesso a esses alimentos, recorrendo, assim, a cereais e produtos básicos de menor custo que possuem característica principal de fonte energética (Bhardwaj et al., 2022).

Entre 2019 e 2021, a fome atingiu 7,9% da população da América do Sul. Mais de 1 bilhão de pessoas no mundo apresentam deficiências de micronutrientes, que podem se manifestar sob a forma de anemia, deficiência de vitamina A ou até mesmo dificuldades de aprendizagem decorrentes de carências nutricionais nos primeiros anos de vida (Weffort e Lamounier, 2024). No Brasil, a situação também é preocupante: segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2020), em 2018, a insegurança alimentar aumentou 62,4% em relação a 2013, revelando que 36,7% dos domicílios viviam algum grau dessa condição: leve (24,0% ou 16,5 milhões

de lares), moderada (8,1% ou 5,6 milhões) ou grave (40,6% ou 3,1 milhões). Esse cenário recolocou o país no “Mapa da Fome” (Weffort e Lamounier, 2024).

O acesso a uma nutrição adequada é amplamente reconhecido como um direito humano essencial; todavia, essa ainda não é uma realidade alcançada por todos. Bayati et al. (2025) reiteram que as deficiências nutricionais geralmente ocorrem em situações de pobreza econômica, juntamente com problemas de moradia, analfabetismo dos pais e transtornos comportamentais e mentais. Além disso, conflitos, normas culturais e políticas de saúde são fatores que também contribuem (Ruelas et al., 2024). Fatores ambientais, como as mudanças climáticas que afetam as culturas, o uso desequilibrado de fertilizantes e a degradação do solo, têm restringido ainda mais o acesso a dietas nutritivas baseadas em produtos agrícolas, especialmente entre populações em situação de pobreza (Rani et al., 2025).

Entre os nutrientes para a saúde humana, destacam-se o iodo, o ferro, o zinco, o selênio e a vitamina A, cujas deficiências representam as formas mais comuns de desnutrição por micronutrientes (Bai et al., 2024; Rani et al., 2025). No Brasil, entretanto, segundo a FAO (2019), observa-se um cenário preocupante: o consumo médio de frutas e hortaliças é de apenas 141 g por pessoa ao dia, quantidade que representa menos da metade da ingestão mínima recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), que corresponde a 400 g.

Em escala global, estima-se que aproximadamente 2 bilhões de pessoas sofram de desnutrição, predominantemente em países em desenvolvimento (Ritchie et al., 2018). Segundo Chouraqui (2023) a ingestão inadequada de micronutrientes e a chamada fome oculta são particularmente graves em populações vulneráveis, podendo ainda ser agravadas em indivíduos que seguem dietas restritas por razões religiosas, éticas ou médicas. Mesmo em países de alta renda, observa-se elevada prevalência de deficiências de nutrientes, associadas ao baixo valor nutritivo da dieta e a padrões alimentares pouco saudáveis. Além dos impactos diretos na saúde, as deficiências de nutrientes representam um elevado custo social, incluindo perdas de produtividade, aumento dos gastos médicos e redução dos anos de vida ajustados por incapacidade (Wieser et al., 2017).

Apesar de a problemática envolver múltiplos micronutrientes, o ferro e o zinco têm recebido atenção especial devido à sua relevância para o crescimento, o

desenvolvimento e a saúde geral. Weffort e Lamounier (2024) apontam que 17% das crianças não atingem a ingestão adequada de zinco e que 18% das menores de cinco anos sofrem de anemia ferropriva. Do ponto de vista econômico, estima-se que a deficiência de ferro e zinco possa reduzir o Produto Interno Bruto (PIB) de países em desenvolvimento em até 2–11% (Khan et al., 2022). Diante desse cenário, torna-se urgente intensificar os esforços na busca por soluções eficazes e sustentáveis para reverter esse quadro.

### **2.1.1 Ferro**

O ferro, um elemento que faz parte da hemoglobina, é essencial para o transporte de oxigênio pelos eritrócitos e, também, compõe proteínas musculares, como a mioglobina, e diversas enzimas. Sua deficiência leva à anemia, condição caracterizada pela redução das concentrações de hemoglobina no sangue, com impactos diretos na aptidão física, no desenvolvimento cognitivo e no crescimento. Na Índia, 38% das mulheres grávidas apresentam anemia, assim como 43% das crianças menores de 5 anos (Rani et al., 2025). A prevalência é maior em bebês e mulheres em idade fértil, em grande parte devido a perdas sanguíneas menstruais (Buzala et al., 2015). Além disso, filhos de mães anêmicas costumam nascer com baixas reservas de ferro, o que aumenta suas necessidades além do que o leite materno pode suprir, comprometendo crescimento e desenvolvimento (Shoeb e Hefferon, 2022). Já na adolescência, a demanda por ferro volta a crescer em função do aumento do volume sanguíneo e do desenvolvimento muscular (Buzala et al., 2015).

A identificação precoce da deficiência de ferro é essencial, pois ela pode se instalar antes mesmo da queda nas concentrações de hemoglobina. Clinicamente, é diagnosticada por meio de baixa ferritina sérica (< 30 ng/mL em homens e < 15 ng/mL em mulheres) e pela saturação de transferrina reduzida (Tsat < 20%), indicadores de estoques corporais esgotados (Short et al., 2023).

As consequências da anemia por deficiência de ferro são graves e vão além da saúde individual. Ela reduz o quociente de inteligência (QI), prejudica a capacidade de aprendizagem, compromete o crescimento físico e limita funções mentais e motoras, o que afeta diretamente o desenvolvimento socioeconômico dos países

(Bayati et al., 2025). O ferro também exerce papéis menos evidentes, mas igualmente relevantes, como no desenvolvimento do tecido epitelial e na geração de espécies reativas de oxigênio envolvidas no combate a infecções (Inoue et al., 1998). A ingestão adequada do nutriente, portanto, está associada não apenas à melhora da capacidade aeróbica, mas também à resistência a infecções respiratórias. Isso se deve à sua participação em proteínas essenciais, como a hemoglobina, e em enzimas cruciais para o metabolismo do DNA e RNA, incluindo a ribonucleotídeo redutase e a DNA primase (Drakesmith e Prentice, 2008; Kim et al., 2016).

Na dieta, o ferro está presente em duas formas principais: o ferro heme, proveniente de alimentos de origem animal, e o ferro não heme, predominante em vegetais e utilizado em suplementos (Buzala et al., 2015). Embora o ferro heme seja mais facilmente absorvido, o aumento do consumo de carne não é uma solução viável do ponto de vista ambiental, econômico e de saúde pública, já que sua ingestão elevada tem sido associada a um risco 31% maior de doença arterial coronariana (Li et al., 2023; Buzala et al., 2015). Nesse contexto, estratégias como a biofortificação nos cultivos agrícolas ganham destaque, pois permitem elevar o conteúdo e em alguns casos a biodisponibilidade do elemento nos alimentos vegetais, contribuindo para a segurança nutricional em escala populacional.

Ainda, a absorção de ferro dietético sofre limitações impostas por fatores antinutricionais. Compostos como fitatos e taninos reduzem sua biodisponibilidade ao formar complexos insolúveis com nutrientes, como ferro, zinco e cálcio, dificultando sua assimilação pelo trato digestivo (Fuqua et al., 2012; Skrovanek et al., 2014). Nas plantas, o cenário é igualmente desafiador: enquanto folhas, caules e raízes apresentam altas concentrações de ferro, os grãos, principais componentes da dieta humana, são relativamente pobres nesse nutriente (Bhardwaj et al., 2022). O transporte de ferro na planta ocorre por meio de formas queladas, principalmente citrato e malato no xilema, e nicotianamina e derivados no floema, mecanismo necessário para contornar a baixa solubilidade e a alta reatividade do metal. Assim, moléculas quelantes específicas controlam os estados redox do ferro, garantindo sua mobilidade entre as formas ferrosa e férrica (Connorton e Balk, 2019).

### 2.1.2 Zinco

O zinco é considerado o micronutriente que determina o maior número de funções vitais críticas no organismo (Lowe et al., 2024). Assim como nas plantas, desempenha papéis cruciais também na saúde humana, atuando como cofator e constituinte funcional em mais de 300 enzimas. Dessa forma, influencia diretamente processos relacionados ao crescimento, à cognição, ao sistema imunológico e à fertilidade (Hess e King, 2009). Quando em quantidades inadequadas, sua deficiência está associada a desfechos graves, como restrição do crescimento infantil, maior suscetibilidade a infecções, prejuízos no desenvolvimento cognitivo, cegueira e complicações na gravidez. Estima-se que aproximadamente 2 milhões de pessoas em todo o mundo sofram de desnutrição por Zn, configurando um dos principais casos de “fome oculta” (Veena et al., 2025).

As funções biológicas do zinco podem ser agrupadas em três categorias principais: catalíticas, estruturais e regulatórias (Haase et al., 2020). Sua deficiência crônica compromete diversas vias metabólicas e resulta em sintomas como retardo de crescimento, atrofia tímica e resposta imunológica prejudicada, o que aumenta a suscetibilidade a infecções. Além disso, está associada à diminuição da cicatrização de feridas e à regeneração deficiente de lesões teciduais (Wessels et al., 2021).

Esse quadro torna-se ainda mais alarmante em países cuja dieta básica é composta predominantemente por grãos e tubérculos cultivados em solos pobres em nutrientes. Nessas regiões, a deficiência de Zn é generalizada, resultando em altas taxas de nanismo, mortalidade infantil e baixo desempenho escolar (Joy et al., 2015). A principal causa está associada tanto à ingestão alimentar inadequada quanto à insegurança alimentar persistente, que limitam o acesso a fontes diversificadas de nutrientes.

Para mitigar esse problema de saúde pública, diversas estratégias vêm sendo implementadas, como a suplementação direta de zinco, a fortificação industrial de alimentos e, mais recentemente, a biofortificação de culturas alimentares básicas (Lowe et al., 2024). Entre essas medidas, a biofortificação agrônômica tem ganhado destaque, pois enriquece as partes comestíveis das plantas com micronutrientes

como o Zn, ampliando sua disponibilidade nutricional para populações vulneráveis (Bhardwaj et al., 2022).

Um exemplo emblemático desse avanço foi a criação, em 2008, do HarvestZinc Fertilizer Project, uma iniciativa internacional coordenada pela HarvestPlus em parceria com universidades, centros de pesquisa agrícola e a indústria de fertilizantes. O projeto foi concebido para avaliar e promover práticas de biofortificação agrônômica, aplicando fertilizantes enriquecidos com zinco em culturas básicas como milho, arroz e trigo. Suas ações se estenderam por países da América do Sul, Ásia e África, abrangendo experimentos de campo em larga escala, estudos de eficiência agrônômica e análises de impacto nutricional. Os resultados mostraram que a aplicação de Zn via fertilizantes não apenas aumenta o rendimento agrícola, mas também eleva a concentração e a biodisponibilidade de Zn nos grãos, reforçando a relevância global da biofortificação como estratégia de combate à desnutrição oculta (HarvestZinc, 2024).

Esse enfoque tem importância particular para o arroz, alimento básico de aproximadamente metade da população mundial. Apesar de seu papel central na dieta global, o arroz é naturalmente pobre em Zn biodisponível, o que evidencia a necessidade urgente de biofortificação como medida efetiva para reduzir os impactos da deficiência desse micronutriente em milhões de pessoas (Veena et al., 2025).

## **2.2 Potencial mitigador da alface na carência nutricional**

A evolução da humanidade esteve intimamente ligada ao consumo de vegetais, que sempre desempenharam papel central na oferta de nutrientes. Contudo, a ingestão insuficiente desses alimentos tem sido apontada como uma das principais causas do aumento de doenças crônicas não transmissíveis. Isso ocorre porque os vegetais constituem uma fração substancial da dieta humana, fornecendo calorias, micronutrientes e compostos bioativos fundamentais para a manutenção da saúde e prevenção de enfermidades (Buturi et al., 2021).

O hábito de consumir hortaliças traz inúmeros benefícios à saúde. Além de serem fontes relevantes de sais minerais, fibras, vitaminas e antioxidantes, contribuem para a manutenção do metabolismo, fortalecem a defesa imunológica e participam na

redução do risco de doenças crônicas. Adicionalmente, atuam como aliados na hidratação do organismo, ampliando ainda mais sua importância dietética (Torsian, 2024).

Entre as hortaliças, a alface se destaca por características agrônômicas e nutricionais relevantes. Do ponto de vista da horticultura, trata-se de uma pequena planta herbácea com ciclo curto de crescimento, grande fração comestível (o que minimiza o desperdício) e ampla acessibilidade comercial durante todo o ano. Pode ser cultivada em diferentes sistemas de produção, como em campo, cultivo protegido ou fábricas de plantas com luz artificial, o que amplia sua disponibilidade (Burgess et al., 2024). Outro aspecto importante é que, por ser consumida predominantemente crua, a alface preserva maior quantidade de nutrientes em comparação a vegetais frequentemente submetidos ao cozimento (Yang et al., 2021).

Do ponto de vista nutricional, a alface é reconhecida como uma hortaliça de baixa densidade calórica, baixo teor de gordura e sódio, mas com aporte relevante de fibras alimentares, folato, vitamina C e nutrientes essenciais, como o ferro. Além disso, contém metabólitos secundários de grande interesse à saúde humana, incluindo compostos fenólicos e carotenoides, associados a atividades antioxidante, anti-inflamatória, antidiabética, anticancerígena e cardioprotetora (Kim et al., 2016).

Além disso, os diferentes tipos de alface apresentam composições e conteúdos fitoquímicos variados, o que amplia seu valor nutricional e funcional (Shi et al., 2022). Na última década, um grande número de estudos tem demonstrado a importância dos pigmentos vegetais e, mais especificamente, aqueles presentes na cultura da alface (Oliveira et al., 2019). Diferentes atributos da planta, como a cor da folha, podem influenciar a qualidade nutricional. Um exemplo claro é a pigmentação da folha, que, frequentemente, está associada à presença de compostos antioxidantes. A alface roxa se destaca por sua atividade antioxidante lipofílica e conteúdo de ácido ascórbico e fenólico em comparação com outros vegetais folhosos (chicória, alface verde, alface-de-cordeiro, mizuna, rúcula, espinafre, acelga e outras) (Martínez-Ispizua et al., 2022). Além disso, a alface roxa tem ganhado destaque nos últimos anos como ingrediente de saladas mistas, principalmente pelo seu maior teor de antocianinas e compostos fenólicos, quando comparada à alface verde. Essas características conferem às alfaces roxas maior potencial antioxidante e benefícios adicionais à saúde, tornando-

a uma fonte relevante de fitoquímicos na dieta diária. As antocianinas, como pigmentos polifenólicos, são responsáveis pela coloração vermelha da alface e apresentam efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e antidiabéticos (Shi et al., 2022). Em média, o valor de compostos fenólicos totais na alface roxa foi três vezes maior do que em rúcula e agrião e, quatro vezes maior que na alface verde, revelando que comer alface roxa tem um efeito diferente do que comer alface verde (Aires et al., 2013).

O vegetal de folhas verdes pode ser considerado uma das boas fontes naturais de vitamina K (Shi et al., 2022). Além disso, evidências de estudos epidemiológicos indicam que a ingestão regular de vegetais está associada à redução do risco de doenças cardiovasculares, destacando-se, nesse contexto, os vegetais folhosos verdes, como a alface. Por exemplo, Nicolle et al. (2004) investigaram que a dieta de ratos contendo 20% de alface pode ter um efeito cardioprotetor, melhorando o metabolismo do colesterol e a capacidade antioxidante do plasma. Por outro lado, pesquisas apontam que a ingestão insuficiente de vegetais folhosos na alimentação pode estar associada a um maior risco de desenvolvimento de câncer. O pigmento clorofila em variedades verdes com cores escuras pode ter um efeito protetor contra câncer específico, como câncer de cólon e câncer de fígado. O mecanismo da clorofila é ligar hidrocarbonetos, aflatoxinas e outras moléculas hidrofóbicas, que estão relacionadas ao câncer, em vez de eliminá-los (Donaldson, 2004).

### **2.3 *Baby leaf* e a segurança alimentar**

Atualmente, observa-se crescente demanda dos consumidores por vegetais prontos para consumo, impulsionada pelo interesse por alimentos saudáveis, frescos e práticos. Nesse contexto, os vegetais de folhas do tipo *baby leaf* têm ganhado destaque, pois apresentam ampla diversidade de texturas, cores e sabores, tornando-se altamente atrativos ao consumo (Giménez et al., 2020). Essa tendência também é fortalecida pela estratégia de marketing dos produtores, que visam maior lucratividade por meio de ciclos de cultivo mais curtos, e pela percepção dos consumidores de que plantas jovens possuem maior valor nutricional (Yang et al., 2021).

É importante diferenciar as mini-hortaliças das hortaliças *baby leaf*. As primeiras correspondem a manejo específico, colheita antecipada ou cultivares desenvolvidas geneticamente para porte reduzido, o que exige aquisição de sementes específicas e, conseqüentemente, eleva os custos de produção. Já as *baby leaf* são obtidas sem a necessidade de sementes especiais, mas com a colheita antecipada, quando as folhas ainda estão jovens, atingindo o máximo de 15 cm de comprimento (Torsian et al., 2024). Ou seja, as *baby leaf* representam uma categoria recente de hortaliças folhosas, caracterizadas por serem colhidas ainda na fase juvenil e frequentemente utilizadas em misturas compostas por diferentes espécies ou cultivares de folhas jovens (Takahama et al., 2019). Além destas categorias, têm-se os microverdes que consistem em plântulas com cotilédones totalmente desenvolvidos com ou sem as folhas verdadeiras parcialmente expandidas (Bhaswant et al., 2023).

Nos últimos anos, tem crescido o interesse de consumidores e pesquisadores por alimentos que, além de suprirem as necessidades nutricionais básicas, também promovam benefícios adicionais à saúde, como bem-estar, prevenção de doenças e maior longevidade. Nesse cenário, os fitocompostos bioativos, especialmente fenóis e polifenóis presentes em espécies vegetais têm ganhado destaque por conferirem qualidade nutracêutica aos alimentos. Esses compostos estão associados a uma ampla gama de efeitos biológicos, incluindo ações anticancerígenas, anti-inflamatórias, antimicrobianas, cardioprotetoras, hipoglicêmicas e neuroprotetoras (Rizvi et al., 2022).

Segundo Mallor et al. (2023), os *microgreens* (microverdes) e *baby greens* (vegetais bebês), que são uma nova categoria de alimentos funcionais de origem vegetal, têm se destacado como boas fontes de fitoquímicos. Muitas vezes, eles apresentam concentrações maiores desses compostos que em plantas adultas. Os autores destacam que, para hortaliças folhosas como acelga e chicória, a fase *baby* costuma ter concentrações mais altas de ácidos graxos. Os autores ainda destacam que, espécies como acelga, alface, espinafre, borragem e chicória apresentam maior quantidade de polifenóis totais na fase *baby*, especialmente borragem, alface e chicória, seguidos pelos microverdes e plantas adultas. No caso da alface, os compostos fenólicos são menos abundantes na fase adulta, enquanto na fase *baby* eles aparecem em níveis bem mais altos do que nos microverdes.

Considerando esse potencial funcional, estudos recentes têm buscado avaliar o conteúdo de compostos bioativos em hortaliças de interesse para a dieta humana, como a alface. Martínez-Ispizua et al. (2022), ao analisarem cultivares de alface em estádios de desenvolvimento, evidenciaram que o perfil nutricional e funcional varia de acordo com o ciclo de cultivo. Os resultados mostraram que o estágio *baby leaf* apresentou os maiores teores de clorofila, com valores médios 27,7% acima dos *microgreens* e 15,8% maiores que nas plantas adultas, em todas as cultivares avaliadas. De forma semelhante, as concentrações de carotenoides também foram mais elevadas nesse estágio, correspondendo a aumentos médios de 893,5% em relação aos *microgreens* e 230,9% em comparação às plantas adultas. Além disso, a maior concentração de ácido ascórbico foi registrada tanto nos estádios *microgreen* quanto *baby leaf*, que também se destacaram pelo teor médio de fenóis, cerca de 79% superior ao encontrado em plantas adultas. Seguindo esse padrão, as atividades antioxidantes mais expressivas foram observadas nos estádios iniciais, com valores médios de 71,5% para *microgreens* e 71,1% para *baby leaf*.

Do ponto de vista produtivo, o cultivo de alface *baby leaf* é altamente intensivo. Essa característica, somada à crescente aceitação comercial, consolidou as hortaliças *baby leaf* como uma inovação de mercado. Além de estimular o consumo de hortaliças pela população, esses produtos têm atraído, sobretudo, consumidores com maior poder aquisitivo, crianças e adeptos de estilos de vida saudáveis e fitness, devido à sua praticidade, coloração diferenciada e menor desperdício de alimentos (Torsian, 2024). No entanto, o domínio da técnica e a disseminação do cultivo podem reduzir preço do produto e, assim, alcançar maior parte da população.

O mercado de *baby leaf* é diversificado, além dos supermercados tradicionais. Restaurantes, hotéis e buffets têm explorado seu tamanho reduzido, formato diferenciado e coloração variada para compor cardápios mais sofisticados e visualmente atrativos, o que contribui para a valorização gastronômica do produto (Silva et al., 2024). Entre as espécies mais utilizadas como *baby leaf* destacam-se alface, rúcula, agrião, espinafre e mostarda, que podem ser comercializadas individualmente ou em misturas para saladas, representando uma forma recente e crescente de apresentação no mercado de hortaliças (Torsian, 2024).

## 2.4 Biofortificação de hortaliças como estratégia no combate à fome oculta

A biofortificação é um método que aumenta a densidade nutricional de culturas básicas (Rani et al., 2025), podendo ser realizado por meio de técnicas agronômicas, tecnologia transgênica ou melhoramento genético convencional de plantas (Srivastav et al., 2022). O foco intensificado na maximização da produção de alimentos levou, involuntariamente, a um declínio no conteúdo de micronutrientes das culturas, impactando a nutrição global (Rani et al., 2025). Essa abordagem tem gradualmente levado à desnutrição por micronutrientes em todo o mundo.

Embora o foco recente tenha sido em suplementos de micronutrientes e fortificação industrial de alimentos para atingir segmentos vulneráveis da sociedade, os impactos sustentáveis e de longo prazo também podem ser alcançados pela fortificação de micronutrientes na fase de produção agrícola por meio de sua assimilação natural pelas plantas (Bhardwaj et al., 2022). Em geral, aumentar a concentração de nutrientes em cereais, vegetais, frutas e outros alimentos locais ajudaria a combater os efeitos adversos das mudanças climáticas ou de qualquer outra crise global (econômica ou induzida por pandemia) por meio da disponibilidade de alimentos em menor quantidade, porém mais ricos (Bhardwaj et al., 2022).

Do ponto de vista agronômico, a biofortificação depende de fatores como maior absorção de nutrientes, eficiente translocação e acúmulo nas partes comestíveis da planta (Bhardwaj et al., 2022). Em sistemas intensivos, o uso de fertirrigação, cultivo sem solo e adubações foliares tem se mostrado eficiente, especialmente quando se combina aplicação no solo e foliar, resultando em maior eficiência produtiva (Buturi et al., 2021; Bhardwaj et al., 2022). Evidências também mostram que agricultores estão dispostos a cultivar e comercializar hortaliças biofortificadas, e os consumidores têm aceitado positivamente esses produtos, mesmo quando ofertados a preços mais elevados (Buturi et al., 2021; Timpanaro et al., 2020).

No contexto atual, marcado por mudanças nos hábitos alimentares, há uma tendência crescente de redução ou eliminação do consumo de produtos de origem animal, seja por motivos econômicos, religiosos, ambientais, seja de saúde (Singh e Neelam, 2010). Em fases específicas da vida como crescimento, gravidez, lactação e em atletas a restrição alimentar pode aumentar o risco de deficiências (Kowalska et

al., 2020). Nesse cenário, hortaliças biofortificadas surgem como veículos importantes por serem consumidas frescas, de preparo rápido, com baixa densidade energética e ricas em vitaminas, nutrientes e compostos bioativos.

Vegetais folhosos, cultivados e consumidos em quase todos os continentes, exibem notável diversidade de tipos e cultivares devido às características únicas de cada região geográfica. Geralmente, a produção de vegetais aumenta globalmente devido ao reconhecimento dos benefícios destes e ao crescimento populacional, especialmente em áreas urbanas (Knez et al., 2024). Assim, a biofortificação de hortaliças representa uma alternativa factível, considerando que este grupo de plantas é, em grande parte, consumido cru, o que favorece a preservação de suas características nutraceuticas. Os vegetais de folhas verdes, em particular, são componentes centrais de padrões alimentares saudáveis e constituem fontes relevantes de nutrientes, vitaminas, fibras alimentares, flavonoides, compostos fenólicos e carotenoides (Li et al., 2021). Evidências indicam que tanto o consumo de vegetais crus quanto o de vegetais cozidos estão associado à menor mortalidade por doenças cardiovasculares e por todas as causas (Leenders et al., 2013). O processo de cozimento, embora possa reduzir o teor de alguns nutrientes sensíveis ao calor, não compromete totalmente o valor nutricional, uma vez que os vegetais folhosos ainda preservam folatos, vitamina C e compostos fenólicos. A fervura, por sua vez, pode até favorecer a nutrição, aumentando a biodisponibilidade do elemento pela redução do ácido oxálico (García-Herrera et al., 2020). Assim, o preparo térmico exerce um papel duplo: ao mesmo tempo em que diminui determinados nutrientes, contribui para a degradação de compostos antinutricionais e de toxinas presentes em vegetais crus (Knez et al., 2024).

## **2.5 Biofortificação agrônômica**

A biofortificação agrônômica tem ganhado destaque como uma ferramenta estratégica para promover a segurança nutricional, sobretudo em um cenário marcado por desafios como mudanças climáticas e crises globais, a exemplo da pandemia de COVID-19 (Bhardwaj et al., 2022). Diferentemente de outras abordagens, trata-se de uma medida simples e rápida, baseada principalmente no uso de fertilizantes

enriquecidos com micronutrientes, capaz de melhorar o estado nutricional da cultura e, conseqüentemente, da população consumidora (Cakmak e Kutman, 2017). A biofortificação agrônômica está relacionada à aplicação de fertilizantes, à solubilização dos elementos no solo e à sua mobilização até os órgãos de interesse (Bhardwaj et al., 2022).

Embora a biofortificação genética seja uma alternativa de longo prazo, seu uso ainda é limitado devido a altos custos de pesquisa, tempo de desenvolvimento e restrições legais relacionadas a organismos geneticamente modificados (OGMs) (Buturi et al., 2021). Nesse sentido, a biofortificação agrônômica destaca-se por envolver técnicas simples, representando uma abordagem sustentável para aumentar o teor de micronutrientes nas plantas e contribuir para a segurança alimentar (Silva et al., 2025). Diversas estratégias podem ser empregadas para otimizar esse processo, incluindo a correção da alcalinidade do solo, a aplicação de micronutrientes, a rotação de culturas e o uso de microrganismos benéficos capazes de favorecer a disponibilidade e absorção do elemento (Burgess et al., 2024).

Apesar de seu potencial, a biofortificação agrônômica ainda enfrenta desafios de adoção no campo, uma vez que pode não resultar em incremento de produtividade agrícola, o que reduz o interesse imediato de produtores. No entanto, quando bem planejada considerando a forma, o método e o momento da aplicação dos fertilizantes, a biofortificação agrônômica representa uma alternativa de baixo custo e com elevado impacto nutricional (Bhardwaj et al., 2022).

### **2.5.1 Biofortificação agrônômica da alface**

A alface (*Lactuca sativa* L.) destaca-se como um cultivo estratégico nesse processo, especialmente as cultivares roxas, que apresentam naturalmente maiores concentrações de antocianinas e atividade antioxidante (Clemente, 2021). Entretanto, segundo Buturi et al. (2021), a maioria dos estudos sobre biofortificação de alface concentra-se nos elementos selênio e iodo, havendo ainda lacunas importantes relacionadas ao ferro e zinco. Além disso, pesquisas sobre biofortificação simultânea com múltiplos elementos são escassas, embora fundamentais para potencializar benefícios nutricionais.

Apesar do fornecimento global de fertilizantes inorgânicos garantir reservas suficientes de elementos como Fe, Zn, Cu, Ca, Mg e I por muitos séculos (White e Broadley, 2009), observou-se que as concentrações nutrientes em alimentos diminuíram ao longo das últimas décadas, possivelmente devido ao uso de cultivares modernas de alta produtividade e mudanças nas práticas agrícolas (Davis, 2009; White e Broadley, 2005, 2009). Esse declínio reforça a importância da biofortificação como alternativa viável para recuperar o valor nutricional dos vegetais frescos.

Como a alface é uma hortaliça cada vez mais presente em diversos pratos, além de ser de fácil preparo e baixo custo, qualquer estratégia que vise aprimorar a biofortificação agrônômica nesta hortaliça pode resultar em benefícios à saúde (Graciano et al., 2020). Diversos estudos têm demonstrado a viabilidade da biofortificação agrônômica da alface, com resultados expressivos para micronutrientes. Graciano et al. (2020) observaram respostas positivas na melhoria do valor nutricional da alface ao enriquecimento com Zn aplicado via folha. Em complemento, Moraes et al. (2022) verificaram que o teor foliar de Zn pode aumentar até 18 vezes em função da dose aplicada ao solo, reforçando a eficiência dessa estratégia. Mais recentemente, Ortiz et al. (2024) destacaram que complexos como Zn-glicina e Zn-citrato se apresentam como alternativas ambientalmente mais sustentáveis em relação ao tradicional  $ZnSO_4$ , promovendo não apenas maior acúmulo de Zn em folhas jovens, mas também o incremento da fração solúvel em folhas maduras. Além do Zn, a aplicação foliar de Fe também se mostrou promissora, os resultados de Preciado-Rangel et al. (2022) indicam que a biofortificação com Fe favoreceu a qualidade nutracêutica, elevou a capacidade antioxidante e aumentou a concentração de ferro nas folhas de alface, sem comprometer o rendimento da cultura. Buturi et al. (2022) demonstraram que a adição de 1 mM de Fe, na forma de Fe-HBED, à solução nutritiva não apenas aumentou o teor do elemento nas folhas, mas também estimulou a síntese e o acúmulo de compostos bioativos relacionados à promoção da saúde.

## **2.5.2 Principais métodos de biofortificação agrônômica**

### **2.5.2.1 Biofortificação agrônômica com fertilização via solo**

Embora a aplicação de micronutrientes via solo seja o método mais utilizado na agricultura, sua adoção tem sido direcionada prioritariamente para o aumento da produtividade, e não para fins de biofortificação. Além disso, trata-se de uma prática considerada menos eficiente no aproveitamento dos fertilizantes e que pode elevar os custos de produção (Savithri et al., 1999; Bhardwaj et al., 2022).

Um dos principais fatores que pode reduzir o aproveitamento dos fertilizantes é o pH do solo, o qual é considerado a variável principal da química do solo devido ao seu profundo impacto em inúmeras reações químicas que envolvem nutrientes para as plantas (Penn e Camberato 2019). Além disso, Matos et al. (2024) reiteram que, no solo, a disponibilidade de micronutrientes pode ser afetada por diversos fatores além do pH, como textura, teor de matéria orgânica e concentração de outros elementos.

Zafeiriou et al. (2022), ao estudarem a biofortificação agrônômica da alface com selênio, observaram que os tratamentos com selenato promoveram concentrações de Se nos brotos até 10 vezes maiores em comparação ao selenito. Ortiz et al. (2023) verificaram que a aplicação de Zn na forma de citrato e glicinato promoveu efeito positivo na biofortificação da parte comestível da alface, resultando em maiores teores de Zn acumulados nas folhas. Ramos et al. (2023), ao utilizarem bioquelatos de ferro produzidos a partir de borra de café, observaram que as plantas de alface biofortificadas apresentaram até três vezes mais teor de Fe em comparação às não biofortificadas.

### **2.5.2.2 Biofortificação agrônômica com fertilização via foliar**

Com a aplicação de fertilizantes foliares (spray), os micronutrientes entraram pela cutícula e estômatos presentes na superfície da folha e acumularam diretamente no floema; portanto, esse caminho seria mais curto do que a absorção pela raiz e esse modo de aplicação pode ser mais eficiente do ponto de vista da biofortificação. A aplicação foliar é a técnica mais adotada para biofortificação com micronutrientes, pois é simples de adotar, mais eficiente no uso de fertilizantes, requer menos infraestrutura

e não exige conhecimento técnico que pode ser necessário para técnicas como nutripriming e cultivo sem solo (Bhardwaj et al., 2022).

Graciano et al. (2020) avaliaram a aplicação foliar de cinco doses de zinco (0, 400, 800, 1200 e 1600 g ha<sup>-1</sup>) em alface e verificaram que a dose de aproximadamente 700 g ha<sup>-1</sup> é a mais recomendada para obter biofortificação com zinco associada a maior produtividade da cultura.

### **2.5.2.3 Biofortificação agrônômica com priming de sementes**

Nutripriming ou priming de sementes é a imersão de sementes antes do plantio em uma solução contendo nutrientes (Bhardwaj et al., 2022). O condicionamento das sementes é um método econômico e resiliente que aumenta a tolerância das plantas ao estresse, melhorando a qualidade das sementes (Veena et al., 2025). O priming de sementes com micronutrientes é econômico, ecologicamente correto e resulta em melhor conteúdo de micronutrientes e rendimento da colheita (Bhardwaj et al., 2022).

Quispe et al. (2025), ao produzirem mudas de brócolis a partir de priming de sementes com selênio observaram favoreceu a absorção de Se e melhorou desempenho do brócolis. Poudel et al. (2023) sugerem que o priming de nutrientes de sementes é viável para enriquecer microgreens de ervilha e girassol com Zn, além de reduzir quantidades de ácido fítico. Carmona et al. (2020) observaram que o condicionamento das sementes de beterraba em soluções enriquecidas com Zn beneficia a resposta fisiológica das plantas, promovendo aumentos no crescimento, produção e biofortificação das raízes da beterraba.

### **2.5.2.4 Biofortificação agrônômica via fertilização em cultivo sem solo**

Uma estratégia eficiente para superar a baixa fitodisponibilidade de nutrientes em solos, especialmente em condições alcalinas e calcárias, onde ocorre a forte adsorção de micronutrientes (Alloway, 2008), é o cultivo sem solo. Esses sistemas, que incluem a hidroponia e aeroponia, vêm se destacando como alternativas sustentáveis para diferentes culturas (Bhardwaj et al., 2022).

Entre eles, o sistema hidropônico é amplamente utilizado, sobretudo na produção de alface, já que promove maior taxa de crescimento e produtividade em

comparação ao cultivo no solo, sob as mesmas condições. Além disso, apresenta vantagens como menor consumo de água, devido ao reuso da solução nutritiva, e redução do risco de doenças transmitidas pelo solo (Mampholo et al., 2016). O contato contínuo das raízes com a solução fertilizante também favorece a absorção, translocação e acúmulo de nutrientes, resultando em qualidade nutricional mais consistente (Rouphael e Kyriacou, 2018).

O cultivo hidropônico tem se mostrado promissor para a biofortificação de hortaliças, com evidências de aumento no conteúdo de nutrientes em tecidos vegetais (Buturi et al., 2021). Por exemplo, já foi demonstrado que a hidroponia eleva os teores de zinco e selênio em alface (Sahin, 2020), de zinco em repolho branco (Barrameda-Medina et al., 2017) e ferro e zinco em alface (Silva et al., 2024).

Dentre as modalidades hidropônicas, o sistema flutuante destaca-se como uma estratégia simples, rentável e eficiente para a produção de hortaliças folhosas jovens. Nesse método, bandejas flutuam sobre uma solução nutritiva em sistema fechado, permitindo o cultivo em alta densidade, com ciclos curtos, altos rendimentos e produtos comerciais de qualidade e livres de contaminantes do solo (Nicola et al., 2015).

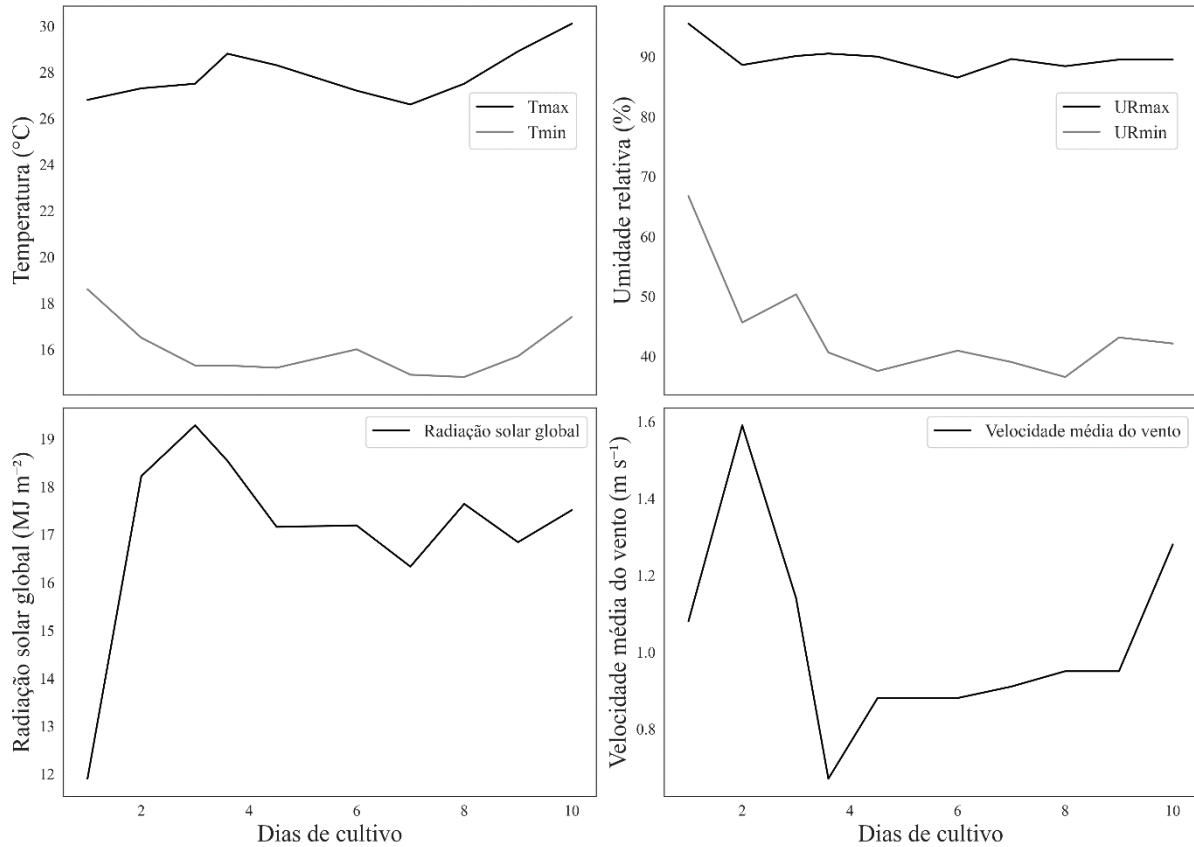
Por outro lado, a aplicação direta de micronutrientes no solo, além de apresentar menor eficiência de uso e maior custo, pode causar acúmulo excessivo de nutrientes não aproveitados, comprometendo a sustentabilidade do sistema (Bhardwaj et al., 2022). Assim, os cultivos hidropônicos configuram-se como alternativas vantajosas tanto para a eficiência agrônômica quanto para a biofortificação de hortaliças.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Localização e caracterização da área experimental**

Os experimentos foram realizados em casa de vegetação, de 16 de abril a 8 de maio de 2025, na Unesp, Câmpus de Jaboticabal, cidade localizada a 21°14'33" Sul, 48°17'10" Oeste e altitude de 565 metros. O clima da região é classificado como tropical, com verão chuvoso e inverno seco, pluviosidade média anual de 1425 mm e

temperatura média de 22°C (Alvares et al., 2013). Durante o período experimental, foram anotados os valores de parâmetros climáticos e encontram-se apresentados na Figura 1.

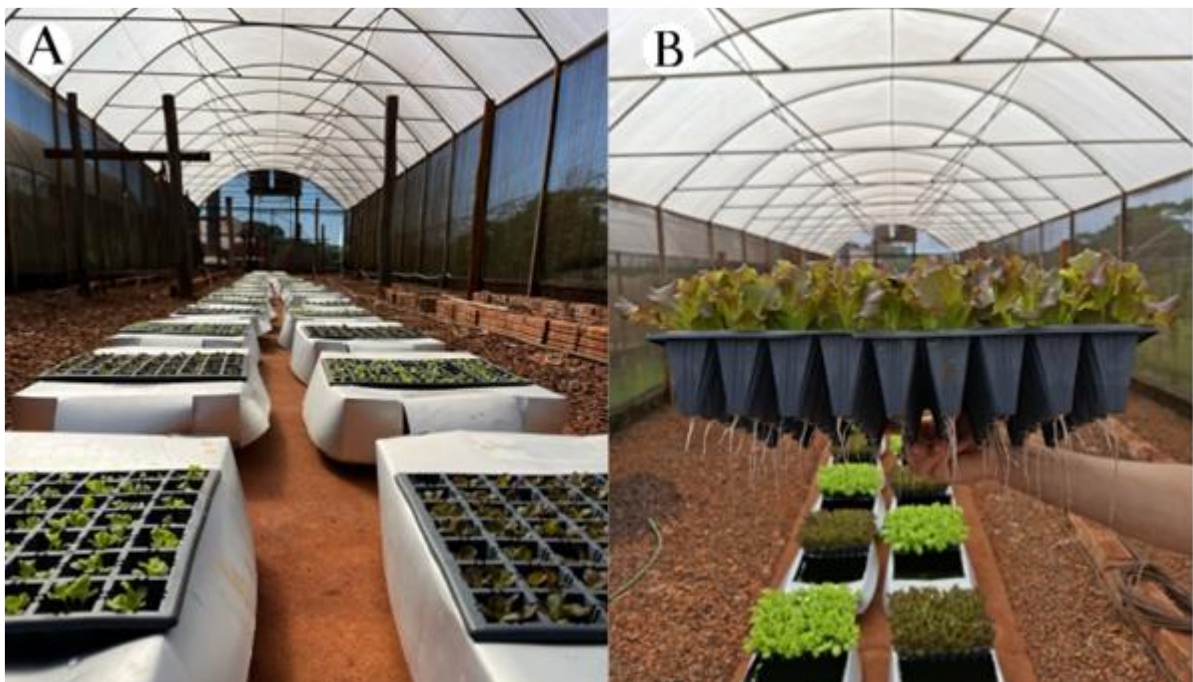


**Figura 1.** Parâmetros climáticos durante o período experimental (28/04 à 08/05/2025). Tmax= temperatura do ar máxima, Tmin= temperatura do ar mínima, URmáx= umidade relativa do ar máxima, URmín= umidade relativa do ar mínima. Dados obtidos da estação agroclimatológica da UNESP, Jaboticabal-SP.

### 3.2 Tratamentos, delineamento e unidade experimental

Os dois experimentos foram conduzidos concomitantemente na casa de vegetação (Figura 2), sendo um com a alface 'Vanda' (Sakata Seed Sudamerica®), de folhas crespas e verdes, e outro com a alface 'Luminosa' (Agristar do Brasil®), de folhas crespas e arroxeadas. Em cada experimento, avaliaram-se seis tratamentos, em delineamento de blocos casualizados, em esquema fatorial 3 × 2 correspondentes às concentrações de Fe (2,0, 4,0 e 8,0 mg L<sup>-1</sup>) e Zn (0,06 e 0,24 mg L<sup>-1</sup>), com quatro repetições. As concentrações de 2,0 e 0,06 mg L<sup>-1</sup> são as de Fe e Zn, respectivamente,

recomendadas por Furlani et al. (1999) para cultivos de hortaliças folhosas em hidroponia. Utilizaram-se como fontes nutricionais o Rexene Ferro Q48 (6% de Fe com EDDHA) e o sulfato de zinco (22% de Zn). Cada unidade experimental (Figura 2) foi composta por uma bandeja com 63 plantas, apoiada nas extremidades de um reservatório de polietileno com capacidade total de 20 litros, preenchida com 17 litros de solução nutritiva, proporcionando o cultivo em sistema hidropônico *deep water technique* (DWT). A bandeja possuía 63 células, cada uma medindo 3,8 × 3,8 × 6,0 cm (comprimento, largura e profundidade, respectivamente). Cada célula recebeu uma espuma fenólica contendo três plântulas.

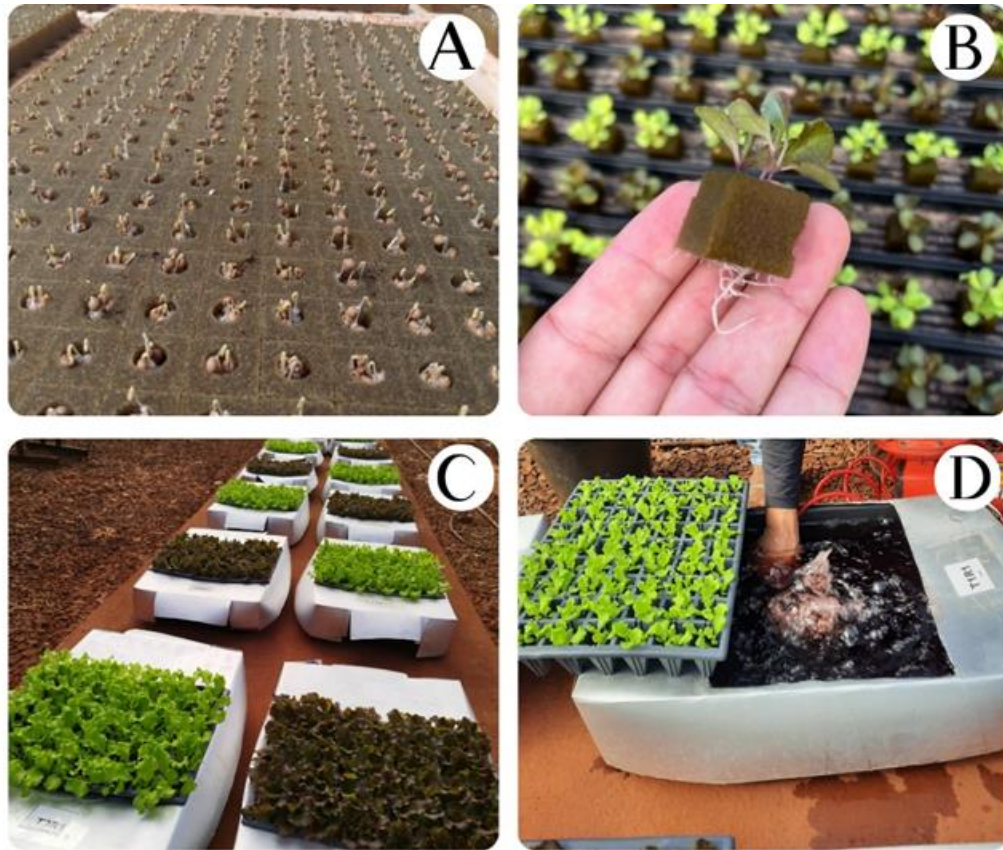


**Figura 2.** Visualização parcial do experimento na casa de vegetação com observação do reservatório de solução nutritiva e bandeja de baby leaves em fase inicial de crescimento (A) e da *baby leaf* ‘Luminosa’ após 8 dias no sistema *deep water technique* (B).

### 3.3 Condução do experimento

As sementes foram semeadas em placas de espuma fenólica (Green up®), cujas células cúbicas mediam 1,9 × 1,9 × 1,9 cm. As bandejas permaneceram inicialmente em ambiente escuro por dois dias, favorecendo a germinação rápida e

uniforme. Posteriormente, foram transferidas para o viveiro, onde as plântulas cresceram sob irrigação exclusiva com água (Figura 3A).



**Figura 3.** Placas de espuma fenólica com plântulas recém germinadas (A) espuma com plântulas enraizadas na espuma e transferidas para o berçário hidropônico em sistema *nutrient film technique* (B), fase do desenvolvimento das alfaces baby leaf em sistema hidropônico *deep water technique* (C), e aeração diária da solução nutritiva (D).

Após cinco dias, quando os cotilédones estavam totalmente expandidos, as células das placas de espuma foram individualizadas (Figura 3B) e encaminhadas para o berçário hidropônico em sistema *nutrient film technique* (NFT), constituído por canais de polipropileno de 5 cm de largura e inclinação de 5%. As plântulas receberam solução nutritiva para hortaliças folhosas proposta por Furlani et al. (1999), cujas concentrações dos nutrientes eram: 24; 174; 39; 183; 142; 38; 52; 0,3; 0,02; 2,0; 0,40; 0,06 e 0,06 mg L<sup>-1</sup> de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn,

respectivamente. O espaçamento entre as plantas foi 0,05 x 0,05 m. Após cinco dias de permanência no berçário, as células de espuma fenólica foram transferidas para bandejas de polietileno, em sistema hidropônico DWT, sendo em cada célula da bandeja de polietileno foi colocada uma espuma fenólica contendo três plântulas (Figura 3C).

No sistema hidropônico DWT também foi utilizada a solução nutritiva de Furlani et al. (1999), aeradas diariamente por meio de um compressor (Figura 3D). O volume inicial (17 L) dos reservatórios era recomposto diariamente com reposição de água de pH 6,2. Após 10 dias de cultivo no sistema DWT, as plantas foram colhidas por meio do corte dos pecíolos na base, junto à superfície da espuma fenólica.

### 3.4 Características avaliadas

Após a colheita, foram avaliados: a) massa fresca da parte aérea ( $\text{g planta}^{-1}$ ), em que as plantas de cada parcela foram colhidas, as folhas cortadas rente à espuma fenólica e a massa fresca determinada imediatamente após o corte; b) comprimento da maior folha (cm), para a qual foram medidas a maior folha de cada planta, com régua graduada, em mm; c) área foliar ( $\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$ ), usando-se o integrador de área eletrônico LI-COR 3100, no qual todas as folhas das plantas tiveram a área quantificada; d) massa seca da parte aérea ( $\text{mg planta}^{-1}$ ), as folhas das *baby leaves* foram secas em estufa com circulação forçada de ar a  $65^\circ\text{C}$ , por 72 horas e pesadas em balança de precisão; e) produtividade ( $\text{kg m}^{-2}$ ), estimada a partir da massa fresca da parte aérea e área ocupada pelas *baby leaves*; f) teores de clorofila a, b total e carotenoides ( $\text{mg g}^{-1} \text{ MF}$ ), conforme metodologia proposta por Lichtenthaler (1983), foram preparadas triplicatas das amostras e realizadas leituras em espectrofotômetro à 663 nm (Clorofila a), 647 nm (Clorofila b), 652 nm (Clorofila total), e 470 nm (Carotenoides), sendo calculados os teores de acordo com as fórmulas propostas; g) antocianinas, conforme proposto por Francis (1982), com leitura em espectrofotômetro à 535 nm, com triplicata das amostras; h) ácido ascórbico ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1} \text{ MF}$ ), foram preparadas triplicatas das amostras e determinados os teores conforme descrito por Strohecker; Henning (1967); i) teor de compostos fenólicos, sendo a quantificação realizada por espectrofotometria a partir de um extrato obtido conforme a metodologia

descrita por Larrauri et al. (1997), utilizando-se soluções de acetona a 70% e metanol a 50%, no qual o extrato foi submetido à reação com o reagente de Folin–Ciocalteu, que se baseia em um processo de oxirredução em meio alcalino, sendo os compostos fenólicos oxidados e o reagente de Folin reduzido, resultando no desenvolvimento de coloração azul da reação, cuja absorvância foi determinada a 700 nm e os resultados expressos em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 g de massa fresca (MF); j) teores foliares de micronutrientes catiônicos Fe e Zn ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), e macronutrientes Ca e Mg ( $\text{g kg}^{-1}$ ), no qual as folhas foram lavadas em água deionizada, secas em estufa com circulação forçada de ar a  $65^{\circ}\text{C}$ , moídas e submetidas à digestão para determinação dos teores de micronutrientes catiônicos, conforme Miyazawa et al. (2009).

### 3.5 Análises estatísticas

Para cada experimento (cultivares de alface), os dados de cada característica avaliada foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o teste F a 5% de probabilidade de erro, por meio do programa AgroEstat (Barbosa; Maldonado Júnior, 2015). Para comparação das médias dos fatores, foi usado o teste de Tukey, também a 5% de probabilidade. Adicionalmente, quando a razão dos quadrados médios dos resíduos dos experimentos foi menor que 7, realizou-se a análise conjunta dos experimentos.

## 4 RESULTADOS

Na Figura 1, observam-se folhas e plantas de *baby leaf* ‘Vanda’ e ‘Luminosa’ no dia da colheita, 10 dias após iniciado o cultivo em hidoponia DWT e 22 dias após a semeadura (Figura 4).



**Figura 4.** Representação das plantas no momento da coleta, cultivadas sob combinações de ferro e zinco na solução nutritiva: A) 2 mg de Fe L<sup>-1</sup> + 0,06 mg de Zn L<sup>-1</sup>; B) 2 mg de Fe L<sup>-1</sup> + 0,24 mg de Zn L<sup>-1</sup>; C) 4 mg de Fe L<sup>-1</sup> + 0,06 mg de Zn L<sup>-1</sup>; D) 4 mg de Fe L<sup>-1</sup> + 0,24 mg de Zn L<sup>-1</sup>; E) 8 mg de Fe L<sup>-1</sup> + 0,06 mg de Zn L<sup>-1</sup>; F) 8 mg de Fe L<sup>-1</sup> + 0,24 mg de Zn L<sup>-1</sup>.

Conforme evidenciado na análise conjunta dos experimentos, não foi observada interação significativa entre tratamentos (concentrações de Fe e Zn) e cultivares de alface para produtividade, massa fresca e seca da parte aérea, número de folhas, comprimento da maior folha, área foliar, vitamina C, antocianinas, carotenoides, cálcio, magnésio e zinco (Tabela 1). Estas características, exceção à área foliar, foram influenciadas pelo fator cultivar.

**Tabela 1.** Resumo das análises conjuntas das características produtividade (Prod), massas fresca (MFPA) e seca da parte aérea (MSPA), número de folhas (NF), comprimento da maior folha (CF), área foliar (AF), e teores de vitamina C (Vit C), compostos fenólicos (Fenóis), antocianinas (Ant), clorofilas a (Chl a), b (Chl b) e total (Chl t), carotenoides (Carot), cálcio (Ca), magnésio (Mg), ferro (Fe) e zinco (Zn) das cultivares de alface *baby leaf* 'Vanda' e 'Luminosa' (Experimentos) em função das concentrações de ferro e zinco (Tratamentos) na solução nutritiva.

Valores de F							
	Prod	MFPA	MSPA	NF	CF	AF	Vit C
Tratamentos (T)	3,66 <sup>ns</sup>	3,51 <sup>ns</sup>	2,10 <sup>ns</sup>	8,08*	3,83 <sup>ns</sup>	2,00 <sup>ns</sup>	9,56*
Experimentos (E)	30,36**	28,75**	32,66**	33,84**	163,74**	2,36 <sup>ns</sup>	27,70**
T x E	0,80 <sup>ns</sup>	0,83 <sup>ns</sup>	1,15 <sup>ns</sup>	0,27 <sup>ns</sup>	0,64 <sup>ns</sup>	1,35 <sup>ns</sup>	1,96 <sup>ns</sup>
	Fenóis	Ant	Chl a	Chl b	Chl t	Carot	
Tratamentos (T)	2,32 <sup>ns</sup>	1,42 <sup>ns</sup>	0,37 <sup>ns</sup>	0,16 <sup>ns</sup>	0,38 <sup>ns</sup>	0,55 <sup>ns</sup>	
Experimentos (E)	255,31**	31,67**	27,57**	60,98**	36,70**	58,96**	
T x E	2,94*	0,86 <sup>ns</sup>	10,98**	3,63*	8,89**	1,83 <sup>ns</sup>	
	Ca	Mg	Fe	Zn			
Tratamentos (T)	2,02 <sup>ns</sup>	13,15**	2,27 <sup>ns</sup>	19,67**			
Experimentos (E)	291,73**	16,04*	14,35*	7,69*			
T x E	0,41 <sup>ns</sup>	0,22 <sup>ns</sup>	7,09**	1,43 <sup>ns</sup>			

\* e \*\* = significativo a 5 e 1%, respectivamente, pelo teste F; <sup>ns</sup> = não significativo pelo teste F.

'Vanda' apresentou maiores valores para as características biométricas (exceto para área foliar), para produtividade e teor de cálcio que 'Luminosa' (Tabela 2). 'Vanda' apresentou produtividade 12,9% maior que a 'Luminosa', além da massa fresca (13%) e massa seca (17,3%), confirmando seu elevado potencial produtivo em sistema hidropônico. Também, exibiu maior desempenho em atributos morfológicos, com incremento de 4,3% no número de folhas e 13,4% no comprimento da maior folha.

**Tabela 2.** Médias das análises conjuntas de experimentos (cultivares de alface *baby leaf* 'Vanda' e 'Luminosa') para produtividade (Prod), massa fresca (MFPA) e seca da parte aérea (MSPA), número de folhas (NF), comprimento da maior folha (CF) e área foliar (AF), vitamina C (Vit C), compostos fenólicos (Fenóis) e clorofilas *a* (Chl *a*), *b* (Chl *b*) e total (Chl *t*), carotenoides (Carot), cálcio (Ca), magnésio (Mg), ferro (Fe) e zinco (Zn).

	Prod (kg m <sup>-2</sup> )	MFPA (g planta <sup>-1</sup> )	MSPA (mg planta <sup>-1</sup> )	NF (folhas planta <sup>-1</sup> )	CF cm	AF cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup>
'Vanda'	3,138a	1,282a	63,273a	4,129a	12,811a	34,932a
'Luminosa'	2,779b	1,135b	52,902b	3,959b	11,294b	33,566a
	Vit C .....(mg 100g <sup>-1</sup> ) .....	Antoc (mg kg <sup>-1</sup> )	Fenóis (mg kg <sup>-1</sup> )	Chl <i>a</i> ..... (mg g <sup>-1</sup> ) .....	Chl <i>b</i> (mg g <sup>-1</sup> )	Chl <i>t</i> (mg g <sup>-1</sup> )
'Vanda'	36,280b	8,663b	5,741b	0,271b	0,103b	0,347b
'Luminosa'	44,715a	10,542a	19,255a	0,507a	0,190a	0,682a
	Carot (mg g <sup>-1</sup> )	Ca ..... (g kg <sup>-1</sup> ) .....	Mg (mg kg <sup>-1</sup> )	Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	
'Vanda'	0,021b	13,779a	2,658b	127,000b	50,270b	
'Luminosa'	0,035a	11,763b	2,782a	157,330a	53,490a	

Letras diferentes na coluna indicam diferença pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Por outro lado, quanto às características de qualidade nutricional da *baby leaf* (Tabela 2), 'Luminosa' apresentou maiores valores que 'Vanda'. Os teores de vitamina C foram 23,2% maiores, enquanto o de compostos fenólicos foi três vezes maior. Da mesma forma, os pigmentos fotossintéticos apresentaram diferenças entre as cultivares, com concentrações 87% maiores de clorofila *a*, 84% de clorofila *b* e 96% de clorofila total na 'Luminosa'. O teor de carotenoides foi 66,7% maior, enquanto os teores de magnésio, ferro e zinco foram maiores em 4,7; 23,9 e 6,4%, respectivamente, em relação aos observados na parte aérea da 'Vanda'.

Nas Tabelas 3 a 5 são apresentados os resultados das análises de variância para as características que não foram influenciadas pela interação tratamentos e experimentos. Na Tabela 3, de acordo com a análise de variância, a produtividade, a massa fresca e seca da parte aérea, bem como o número de folhas não apresentaram diferenças significativas em função das concentrações de Fe e Zn, nem pela interação entre esses nutrientes, enquanto o comprimento da maior folha, a área foliar e o teor de vitamina C foram influenciados pela concentração de Fe na solução nutritiva.

**Tabela 3.** Resumo das análises de variância e médias de produtividade (Prod), massa fresca (MFPA) e seca da parte aérea (MSPA), número de folhas (NF), comprimento da maior folha (CF), área foliar (AF) e vitamina C (Vit C) da alface *baby leaf* (dados médios das cultivares, Experimentos) em função das concentrações de ferro e zinco na solução nutritiva.

Fontes de variação	Prod	MFPA	MSPA	NF	CF	AF	Vit C
	Valores F						
Ferro (Fe)	3,87 <sup>ns</sup>	4,10 <sup>ns</sup>	2,09 <sup>ns</sup>	2,56 <sup>ns</sup>	5,25*	7,45*	39,49**
Zinco (Zn)	1,26 <sup>ns</sup>	0,11 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	1,99 <sup>ns</sup>
Fe x Zn	1,06 <sup>ns</sup>	1,59 <sup>ns</sup>	2,52 <sup>ns</sup>	2,29 <sup>ns</sup>	0,26 <sup>ns</sup>	0,20 <sup>ns</sup>	2,32 <sup>ns</sup>
C.V. (%)	5,15	5,83	7,08	3,17	2,66	4,45	6,27
	Médias						
Fe (mg L <sup>-1</sup> )	(kg m <sup>-2</sup> )	(g planta <sup>-1</sup> )	(mg planta <sup>-1</sup> )	(folha planta <sup>-1</sup> )	(cm)	(cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup> )	(mg 100g <sup>-1</sup> )
2	2,79a	1,14a	55,32a	3,95a	11,85b	32,32b	45,80a
4	3,00a	1,24a	59,07a	4,07a	11,92ab	34,91a	42,47a
8	3,00a	1,25a	59,86a	4,12a	12,40a	35,52a	33,23b
Zn (mg L <sup>-1</sup> )							
0,06	2,97a	1,22a	58,09a	4,04a	12,07a	34,19a	41,34a
0,24	2,89a	1,20a	58,09a	4,05a	12,04a	34,31a	39,66a

\* e \*\* = significativo a 5 e 1%, respectivamente, pelo teste F; <sup>ns</sup> = não significativo pelo teste F. Para cada característica, médias na coluna seguidas por diferentes letras diferem pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

Na mesma tabela, observa-se que a concentração de 2 mg L<sup>-1</sup> de Fe na solução nutritiva não diferiu da de 4 mg L<sup>-1</sup> para comprimento da maior folha, mas foi menor do que a obtida com 8 mg L<sup>-1</sup>. Para área foliar, 4 e 8 mg L<sup>-1</sup> de Fe proporcionaram maior valor em comparação quando a *baby leaf* foi cultivada com 2 mg L<sup>-1</sup>. Por outro lado, verificou-se redução no teor de vitamina C, que passou de 45,80 mg 100 g<sup>-1</sup>, na dose de 2 mg L<sup>-1</sup> de Fe, para 33,23 mg 100 g<sup>-1</sup>, na dose de 8 mg L<sup>-1</sup>. A concentração de Zn na solução nutritiva não influenciou estas características.

Os teores de antocianinas, carotenoides e cálcio não foram influenciados pelas concentrações de Fe e Zn, isoladamente ou pela interação. Verificou-se efeito do Fe no teor de magnésio (Mg), e efeito da concentração de Zn e interação da concentração dos micronutrientes no teor de Zn. Maiores teores de Mg foram observados com 4 e 8 mg L<sup>-1</sup> de Fe na solução nutritiva (Tabela 4).

**Tabela 4.** Resumo das análises de variância e médias de antocianina (Ant), carotenoides (Carot), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e zinco (Zn) da alface *baby leaf* (dados médios das cultivares, Experimentos) em função das concentrações de ferro e zinco na solução nutritiva.

Fontes de	Ant	Carot	Ca	Mg	Zn
Valores de F					
Ferro (Fe)	1,34 <sup>ns</sup>	0,61 <sup>ns</sup>	0,37 <sup>ns</sup>	10,36 <sup>**</sup>	1,66 <sup>ns</sup>
Zinco (Zn)	0,72 <sup>ns</sup>	2,09 <sup>ns</sup>	0,36 <sup>ns</sup>	2,56 <sup>ns</sup>	309,77 <sup>**</sup>
Fe x Zn	1,33 <sup>ns</sup>	0,14 <sup>ns</sup>	0,70 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>	39,29 <sup>**</sup>
C.V. (%)	8,12	8,24	4,02	4,33	2,38
Médias					
Fe (mg L <sup>-1</sup> )					
2	9,63a	0,0268a	12,73a	2,55b	51,40a
4	9,20a	0,0282a	12,65a	2,77a	51,61a
8	9,93a	0,0280a	12,90a	2,85a	52,61a
Zn (mg L <sup>-1</sup> )					
0,06	9,43a	0,0284a	12,83a	2,77a	46,76b
0,24	9,74a	0,0269a	12,69a	2,68a	57,00a

\* e \*\* = significativo a 5 e 1%, respectivamente, pelo teste F; <sup>ns</sup> = não significativo pelo teste F. Para cada característica, médias na coluna seguidas por diferentes letras diferem pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

Em relação ao teor de Zn, de acordo com a interação das concentrações dos micronutrientes na solução nutritiva (Tabela 5), independentemente da concentração de Fe, a maior concentração de Zn na solução nutritiva sempre proporcionou maior teor de Zn na parte aérea da *baby leaf*. Entretanto, na menor concentração de Zn, o aumento da concentração de Fe causou incremento no teor de Zn na parte aérea, enquanto na maior concentração de Zn na solução, o aumento de Fe causou efeito contrário.

Nas Tabelas 6 e 7, são observados os resultados das análises de variância para teores de compostos fenólicos, clorofilas *a*, *b* e total, e ferro na parte aérea da alface 'Vanda' e 'Luminosa', respectivamente. Houve efeito significativo da interação entre tratamentos (concentrações de Fe e de Zn), bem como para as cultivares (Tabela 1). Em ambas cultivares, os teores de compostos fenólicos foram influenciados somente pela concentração de Fe, com o maior teor obtido na maior concentração do micronutriente (Tabelas 6 e 7). Para cada cultivar, os teores de

clorofila a e total responderam diferentemente aos fatores. Enquanto na 'Vanda' verificou-se interação dos micronutrientes para clorofila a e total (Tabela 6), na 'Luminosa', somente houve interação dos fatores na clorofila a e teor de ferro (Tabela 7). Para ambas cultivares, não houve efeito dos fatores, isolado ou em interação na clorofila b.

**Tabela 5.** Teor de zinco ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) na parte aérea da alface *baby leaf* em função da interação concentrações de ferro e zinco na solução nutritiva.

Zinco ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Fe ( $\text{mg L}^{-1}$ )		
	2	4	8
0,06	43,07cB	46,60bB	50,60aB
0,24	59,73aA	56,63bA	54,63bA

Médias na linha seguidas por diferentes letras minúsculas e na coluna por diferentes letras maiúsculas diferem pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 6.** Resumo das análises de variância e médias dos teores de compostos fenólicos (Fenóis), clorofilas a (Chl a), b (Chl b) e total (Chl t) e ferro (Fe) da alface 'Vanda' em função das concentrações de ferro e zinco na solução nutritiva.

Fontes de variação	Fenóis	Chl a	Chl b	Chl t	Fe
	Valores de F				
Ferro (Fe)	5,63*	1,11 <sup>ns</sup>	0,21 <sup>ns</sup>	0,47 <sup>ns</sup>	7,25*
Zinco (Zn)	0,06 <sup>ns</sup>	0,08 <sup>ns</sup>	0,76 <sup>ns</sup>	0,10 <sup>ns</sup>	2,67 <sup>ns</sup>
Fe x Zn	0,36 <sup>ns</sup>	6,44*	4,05 <sup>ns</sup>	6,25*	0,98 <sup>ns</sup>
C.V. (%)	11,43	12,34	13,13	13,00	5,73
Médias					
Fe ( $\text{mg L}^{-1}$ )	( $\text{mg kg}^{-1}$ )	.....	( $\text{mg g}^{-1}$ ) .....	.....	( $\text{mg kg}^{-1}$ )
2	5,13b	-	0,1000a	-	119,50b
4	5,70ab	-	0,1033a	-	126,10ab
8	6,40a	-	0,1050a	-	135,42a
Zn ( $\text{mg L}^{-1}$ )					
0,06	5,78a	-	0,1000a	-	129,81a
0,24	5,70a	-	0,1056a	-	124,20a

\* e \*\* = significativo a 5 e 1%, respectivamente, pelo teste F; <sup>ns</sup> = não significativo pelo teste F. Para cada característica, médias na coluna seguidas por diferentes letras diferem pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os teores de compostos fenólicos foram influenciados somente pela concentração de Fe, em ambas cultivares, com o maior teor obtido na maior concentração do micronutriente (Tabelas 6 e 7). Para cada cultivar, os teores de clorofila *a* e total responderam diferentemente aos fatores. Enquanto na 'Vanda' verificou-se interação dos micronutrientes para clorofila *a* e total (Tabela 6), na 'Luminosa', somente houve interação dos fatores na clorofila *a* e teor de ferro (Tabela 7). Para ambas cultivares, não houve efeito dos fatores, isolado ou em interação, na clorofila *b*.

**Tabela 7.** Resumo das análises de variância e médias dos teores de compostos fenólicos (Fenóis), clorofilas *a* (Chl *a*), *b* (Chl *b*) e total (Chl *t*) e ferro (Fe) da alface 'Luminosa' em função das concentrações de ferro e zinco na solução nutritiva.

Fontes de variação	Fenóis	Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	Chl <i>t</i>	Fe
		Valores de F			
Ferro (Fe)	12,05*	14,23**	0,46 <sup>ns</sup>	11,41**	28,84**
Zinco (Zn)	0,09 <sup>ns</sup>	11,36**	3,26 <sup>ns</sup>	8,33*	7,69*
Fe x Zn	0,76 <sup>ns</sup>	4,59*	3,41 <sup>ns</sup>	3,94 <sup>ns</sup>	5,68*
C.V. (%)	10,32	9,24	11,00	9,46	6,66
		Médias			
Fe (mg L <sup>-1</sup> )	(mg kg <sup>-1</sup> )	..... (mg g <sup>-1</sup> ) .....			(mg kg <sup>-1</sup> )
2	16,07b	0,4250b	0,1833a	0,5800b	139,32b
4	20,30a	0,5367a	0,1933a	0,7450a	149,49b
8	21,40a	0,5600a	0,1933a	0,7200a	183,20a
Zn (mg L <sup>-1</sup> )					
0,06	19,11a	0,5444a	0,1989a	0,7256a	150,48b
0,24	19,40a	0,4700b	0,1811a	0,6378b	164,18a

\* e \*\* = significativo a 5 e 1%, respectivamente, pelo teste F; <sup>ns</sup> = não significativo pelo teste F. Para cada característica, médias na coluna seguidas por diferentes letras diferem pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

Na alface 'Vanda', com 0,06 mg L<sup>-1</sup> de Zn na solução nutritiva, os teores de clorofila *a* diminuíram com o aumento da concentração de Fe, ao passo que na 'Luminosa' ocorreu o contrário. Em ambas, os teores de clorofila *a* não diferiram com o aumento da concentração de Fe quando foi utilizado 0,24 mg L<sup>-1</sup> de Zn na solução. Com as concentrações de 2 e 4 mg L<sup>-1</sup> Fe, os teores de clorofila *a* não diferiram com o enriquecimento da solução com Zn, enquanto na maior concentração de Fe a

resposta diferiu conforme a cultivar. A clorofila total, que também foi influenciada pela interação, porém somente na 'Vanda', teve seus teores seguindo o mesmo padrão descrito pela clorofila a (Tabela 8). Na 'Luminosa', a clorofila total foi menor na menor concentração de Fe e na maior de Zn (Tabela 7).

O teor de Fe na 'Vanda' foi influenciado somente pela concentração de Fe, sendo que quanto maior na solução nutritiva, maior seu teor na parte aérea (Tabela 7), representando incremento de 13,3% entre as concentrações de 2 e 8 mg L<sup>-1</sup>. Na 'Luminosa', houve interação das concentrações de Fe e Zn na solução nutritiva. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 8, independentemente da concentração de Zn na solução nutritiva, maiores teores de Fe na parte aérea foram observados com 8 mg L<sup>-1</sup> de Fe, cujos valores foram maiores em 24 e 38% aos obtidos com 2 mg L<sup>-1</sup> de Fe nas concentrações de 0,06 e 0,24 mg L<sup>-1</sup> de Zn, respectivamente. Entre as concentrações de Zn, o teor de Fe só diferiu na maior concentração de Fe na solução nutritiva, sendo o maior teor de Fe na parte aérea obtido com 0,24 mg L<sup>-1</sup> (Tabela 8).

**Tabela 8.** Médias dos teores de clorofila a (Chl a) e total (Chl t) da cultivar de alface *baby leaf* 'Vanda' e de clorofila a e de ferro da cultivar 'Luminosa' em função da interação concentrações de ferro e zinco na solução nutritiva.

Zinco (mg L <sup>-1</sup> )	Ferro (mg L <sup>-1</sup> )			Ferro (mg L <sup>-1</sup> )		
	2	4	8	2	4	8
cv. Vanda (crespa-verde)						
	Chl a (mg g <sup>-1</sup> )			Chl t (mg g <sup>-1</sup> )		
0,06	0,3100aA	0,2800abA	0,2167bB	0,3933aA	0,3567abA	0,2800bB
0,24	0,2633aA	0,2567aA	0,3000aA	0,3267aA	0,3333aA	0,3900aA
cv. Luminosa (crespa-roxa)						
	Chl a (mg g <sup>-1</sup> )			Fe (mg kg <sup>-1</sup> )		
	2	4	8	2	4	8
0,06	0,4233bA	0,5933aA	0,6167aA	133,51bA	152,27abA	165,67aB
0,24	0,4267aA	0,5267aA	0,4567aB	145,12bA	146,70bA	200,72aA

Para cada característica, médias na linha seguidas por diferentes letras minúsculas e na coluna por diferentes letras maiúsculas diferem pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

## 5 DISCUSSÃO

Para as características de crescimento e produtividade, não houve interação entre cultivares e concentrações de micronutrientes. Entretanto, com exceção da área foliar, as demais características foram influenciadas pelas cultivares (Tabela 1). 'Vanda' (crespa-verde) apresentou maiores massas fresca e seca da parte aérea, número de folhas e comprimento da maior folha, quando comparada a 'Luminosa' (crespa-roxa) (Tabela 2), evidenciando maior capacidade de acúmulo de biomassa, refletindo a maior produtividade. Tais diferenças provavelmente estão relacionadas às particularidades genéticas e fisiológicas de cada cultivar, que determinam o balanço de fotoassimilados e seu uso no crescimento e desenvolvimento do vegetal. Carillo et al. (2020) também verificaram que a alface 'Green Salad Bowl' (crespa-verde) apresentou crescimento (massa seca) e produtividade maior que a 'Red Salad Bowl' (crespa-roxa). O melhor desempenho da alface verde, segundo Rouphael et al. (2019), se deve à sua menor resistência estomática, o que permite maior difusão de CO<sub>2</sub> e aumento da fotossíntese, mesmo com a menor concentração de clorofila observada em nosso experimento, proporcionando maior eficiência, crescimento e produção. Rosa et al. (2014) observaram que, apesar de apresentar maiores concentrações de clorofilas, a cultivar Mimosa Rosa Grenadine exibiu taxa máxima de assimilação de CO<sub>2</sub> menor à da cultivar Mimosa Verde Salad Bowl, associando-a ao seu menor crescimento e produtividade. Becker et al. (2015) observaram menor número de folhas na alface roxa em comparação à verde. Os autores atribuíram ao resultado, o fato de parte do carbono assimilado ser direcionado à biossíntese de fenólicos, maior na roxa que na verde, em detrimento do crescimento.

Por outro lado, exceto para o comprimento da maior folha e área foliar, que apresentaram maiores valores com 8 mg de Fe L<sup>-1</sup>, sem diferirem dos valores obtidos com 4 mg L<sup>-1</sup>, concentrações de Fe e Zn não influenciaram as características de crescimento e, conseqüentemente, de produtividade da alface *baby leaf* (Tabela 3). Puccinelli et al. (2024) também não observaram diferenças significativas no crescimento de plantas de alface verde cv Nelson cultivadas sob concentrações crescentes de zinco na solução nutritiva. O fato de as concentrações de Zn não terem influenciado as características de crescimento da alface pode estar associado à sua

inserção na família Asteraceae, a qual é reconhecida como hiperacumuladora de Zn (Clemens, 2017). Ademais, os vegetais têm mecanismos de compartimentalização do elemento nos tecidos ou, ainda, de sua precipitação no apoplasto (Barrameda-Medina et al., 2014). Dessa forma, o aumento da disponibilidade do micronutriente não resultou em efeitos negativos nem em incrementos expressivos no crescimento das plantas. Quanto ao Fe, de acordo com Rai et al. (2021), as plantas desenvolveram estratégias multifacetadas para absorção, armazenamento e metabolismo deste nutriente, e regulam esses processos para manter a homeostase para o desenvolvimento ideal da planta. Ainda em conformidade com esses autores, Briat et al. (2007) ressaltaram que, para evitar a toxicidade associada ao Fe livre, as plantas apresentam mecanismos eficientes de armazenamento e remobilização desse micronutriente, sendo o vacúolo e os plastídios reconhecidos como compartimentos-chave na regulação e reserva interna do micronutriente.

Com relação à qualidade da *baby leaf*, verificaram-se efeitos de cultivares e das concentrações de Fe e Zn, e às vezes da interação destes fatores (Tabelas 2 a 8). O teor de vitaminas, em especial da vitamina C, constitui um dos parâmetros mais relevantes para a avaliação da qualidade nutricional de frutas e hortaliças (Medina-Lozano et al., 2021). El-Nakhel et al. (2019) relataram concentrações maiores de vitamina C em alfaces de coloração roxa, cerca de seis vezes maior que na verde. Os resultados obtidos no presente estudo atestam que a cultivar roxa apresentou maior teor de vitamina C que a verde, porém, aproximadamente, 23% maior (Tabela 2). Assim, considerando apenas a coloração da alface, ao se consumir 100 g de *baby leaf*, o indivíduo terá uma ingestão de 23% a mais de vitamina C se preferir alface roxa. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RDC nº 269, a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de vitamina C para adultos é de 45 mg dia<sup>-1</sup> (Brasil, 2005). Considerando que a concentração de vitamina C nas folhas de alface *baby leaf* variou de 33,23 a 45,80 mg 100 g<sup>-1</sup> de massa fresca (Tabela 3), dependendo da concentração de Fe na solução nutritiva, para atender à IDR estabelecida pela ANVISA, seriam necessários 98 e 135 g da alface fresca se fossem cultivadas na menor (2 mg L<sup>-1</sup>) e maior concentração de Fe, respectivamente. Observa-se, portanto, que o aumento da concentração de Fe reduziu progressivamente os teores de vitamina C na alface *baby leaf*.

O teor de compostos fenólicos foi influenciado pela interação das cultivares com os micronutrientes (Tabela 1). O maior teor observado na alface 'Luminosa' (roxa) que na 'Vanda' (verde) (Tabela 2) pode estar associado a uma estratégia diferenciada de alocação de recursos. Conforme descrito por Becker et al. (2015), cultivares avermelhadas tendem a direcionar o metabolismo para a síntese de metabólitos secundários, em vez de priorizar o crescimento e a produtividade, o que explica os maiores teores observados. No presente estudo, por exemplo, o teor de fenóis na alface roxa foi 235% maior ao da cultivar verde (Tabela 2), resultado que corrobora com os achados de Stojanović et al. (2023), que também identificaram as cultivares vermelhas como mais ricas em compostos fenólicos. Essa resposta pode ser compreendida sob a perspectiva da “teoria da defesa da planta”, segundo a qual o maior investimento em metabólitos secundários acarreta um custo metabólico adicional. Assim, parte do carbono assimilado é desviado para a biossíntese desses compostos, reduzindo proporcionalmente o investimento em crescimento vegetativo (Neilson et al., 2013).

Em ambas as cultivares, o teor de fenóis não foi influenciado estatisticamente pelas concentrações de Zn na solução nutritiva. Em contrapartida, ambas responderam de forma significativa ao aumento de Fe, uma vez que o incremento desse micronutriente pode ser percebido pelas plantas como uma condição de estresse metálico, resultando na produção de espécies reativas de oxigênio e, conseqüentemente, no estímulo à síntese de antioxidantes não enzimáticos, como os fenóis (Hasanuzzaman et al., 2020; Buturi et al., 2022). De maneira semelhante, ao avaliar três concentrações de Fe (0,02; 1,02 e 2,02 mmol L<sup>-1</sup>), os autores observaram que o aumento das concentrações culminou com pico no teor de fenóis na maior concentração de Fe.

De forma semelhante, em nossos resultados, verificou-se que a alface 'Luminosa' (roxa) apresentou 87% mais clorofila *a*, 84% mais clorofila *b* e, no total, 97% mais clorofilas que a cultivar 'Vanda' (verde) (Tabela 2). Estes resultados concordam com os relatados por Rosa et al. (2014), que ao comparar cultivares de alface Mimosa verde e roxa, evidenciaram que a variante roxa apresentou teores médios de clorofila total significativamente maiores aos da verde, com incremento de aproximadamente 53%, sobretudo em sistemas hidropônicos. Também, Becker et al.

(2015) observaram teores mais elevados de clorofila *b* na alface roxa em comparação à verde. Tal fato pode estar associado a um maior teor de nitrogênio nesta cultivar, visto que El-Nakhel et al. (2019) encontraram teores de nitrogênio e enxofre significativamente maiores a partir do oitavo dia de cultivo em solução nutritiva. É importante destacar que, embora a alface roxa apresentou maior teor de clorofila, sua coloração arroxeada, conferida pela presença principalmente de antocianinas, pode mascarar a tonalidade verde das folhas, gerando a impressão equivocada de que possui menor teor clorofiliano.

Na cultivar de alface 'Vanda' (verde), observou-se interação significativa entre as concentrações de Fe e Zn para os teores de clorofila *a* e clorofila total (Tabela 6). Na menor concentração de Zn, o incremento de Fe resultou em redução da concentração de clorofila (Tabela 8), indicando que o desequilíbrio nutricional entre esses micronutrientes pode comprometer a síntese ou a estabilidade dos pigmentos fotossintéticos. Apesar de exercerem funções bastante distintas nas células, o Fe e o Zn apresentam interações em suas redes de homeostase devido à similaridade entre seus raios iônicos e às geometrias de coordenação, sendo que isso pode levar ao uso comum de transportadores e moléculas quelantes, favorecendo a competição entre eles (Hanikenne e Bouché, 2023). Esse resultado não se repetiu quando as plantas foram cultivadas na maior concentração de Zn, condição em que o incremento de Fe não reduziu o teor de clorofila. Por outro lado, os efeitos das doses de Zn tornaram-se evidentes apenas na presença da maior concentração de Fe (Tabela 8), sugerindo que a síntese de clorofila depende do equilíbrio entre esses nutrientes, de modo que concentrações elevadas de Fe devem estar acompanhadas por suprimento elevado de Zn. Isso ocorre porque, embora o Fe seja indispensável à síntese de clorofila, a disponibilidade de Zn também exerce papel crucial na manutenção da clorofila foliar (Hanjagi e Singh, 2016). Kaya et al. (1999) destacaram que o Zn pode competir com o Fe em uma etapa de sua aquisição durante a biossíntese da clorofila. Esse efeito, entretanto, foi observado apenas na alface roxa, na qual, sob concentrações elevadas de Zn, mesmo na presença de altas concentrações de Fe, verificou-se redução no teor de clorofila *a*.

O aumento da concentração de Zn reduziu os teores de clorofila *a* na alface 'Luminosa' (roxa) (Tabela 8), possivelmente porque o Zn pode inativar a molécula de

clorofila ao substituir o Mg presente na estrutura da porfirina, durante o processo fotossintético (Sharma et al., 2019). Ciriello et al. (2022), ao trabalharem com manjeriço, também observaram que maiores concentrações de Zn resultaram na diminuição do teor de clorofila. Por sua vez, o Fe promoveu o aumento do teor de clorofila nesta cultivar, o que está de acordo com o esperado para diversas espécies, visto que esse micronutriente participa ativamente da síntese de clorofila e contribui para a eficiência dos processos de respiração e fotossíntese (Pal et al., 2019). Além disso, o principal local de acumulação de Fe nas plantas é o aparato fotossintético, sendo a maior parte do elemento encontrada nos cloroplastos (Fodor, 2024).

O cultivo de alface 'Luminosa', em comparação à alface 'Vanda', apresenta um apelo nutricional ao consumidor devido ao acúmulo elevado de antocianinas, pigmentos antioxidantes predominantemente localizados na epiderme foliar, responsáveis pela coloração característica que confere a tonalidade roxa às folhas (Qin et al., 2023; Das et al., 2024). No presente estudo, observou-se que tanto as antocianinas quanto os carotenoides foram influenciados pelas cultivares, com a alface roxa apresentando 22 e 66% maiores teores de antocianinas e de carotenoides que a alface verde. Além do efeito visual, as antocianinas exercem funções fisiológicas relevantes, como a fotoproteção e, de forma geral, cultivares roxas acumulam maiores concentrações não apenas de carotenoides, mas também de antocianinas, fenóis totais e flavonoides, em comparação às cultivares verdes (Liu et al., 2024; Kim et al., 2018). A maior produção de antocianinas em cultivares roxas está associada a diferenças genéticas que modulam a biossíntese desses pigmentos. Segundo Wada et al. (2022), embora cultivares de alface verde possuam genes funcionais para a síntese de antocianinas, a expressão desse fenótipo muitas vezes não é consistente, pois a via biossintética pode ser interrompida na penúltima etapa do processo.

Os teores de Mg, Fe e Zn foram superiores na alface roxa em comparação à verde. Em contrapartida, a cultivar 'Vanda' apresentou maiores teores de Ca (Tabela 2), evidenciando que a diferenciação entre genótipos influencia não apenas a síntese de pigmentos e metabólitos secundários, mas também a dinâmica de acúmulo de nutrientes. De forma semelhante, El-Nakhel et al. (2019) verificaram que, ao longo do período de crescimento avaliado, a cultivar Butterhead verde Salanova apresentou teores significativamente superior de Ca. Diversos fatores estão envolvidos na

genética da planta. El-Nakhel et al. (2019) observaram que a absorção cumulativa de água na alface roxa foi substancialmente maior que a verde, demonstrando um aumento exponencial ao longo do período de crescimento, fato que pode estar associado a maiores teores de nutrientes nesta cultivar, uma vez que a maior absorção de água favorece também a absorção de nutrientes.

Embora o Fe e o Mg sejam frequentemente considerados competitivos na absorção pelas plantas, o aumento no teor do micronutriente na parte aérea das *baby leaves*, em resposta ao aumento de sua concentração na solução nutritiva (Tabelas 6 e 7) foi acompanhada por incremento de Mg na *baby leaf*, cerca de 12% (Tabela 4), não revelando o antagonismo relatado em literatura. O resultado assemelha-se ao de Buturi et al. (2022), que verificaram aumento médio de 35% no teor de Mg em alface 'Longifolia' do grupo Romana quando a concentração de Fe passou de 0,02 para 1,02 mmol L<sup>-1</sup> na solução nutritiva. O incremento da concentração de Fe na solução nutritiva resultou em maior teor desse micronutriente na parte aérea de ambas as cultivares, evidenciando o potencial da biofortificação agrônômica como estratégia eficaz para a alface. Observou-se na cultivar verde um aumento médio de 13,3% no teor de Fe, ao passo que na roxa esse incremento atingiu 31,5%, demonstrando maior capacidade de resposta ao enriquecimento da solução nutritiva. Tal resultado era esperado e encontra respaldo nos trabalhos de Buturi et al. (2022) e Giordano et al. (2019), que igualmente reportaram êxito na biofortificação de alface com Fe, destacando a cultivar roxa como a mais responsiva e promissora para o enriquecimento nutricional. Assim, para atender a demanda diária recomendada de Fe, 14 mg dia<sup>-1</sup> para adultos (Brasil, 2005, Resolução RDC nº 269), um indivíduo necessita consumir, aproximadamente, 76,5 g de alface roxa ao dia. No caso da alface verde, esse valor corresponde a 103,4 g. Esses resultados foram obtidos considerando o nível máximo de biofortificação alcançado neste estudo, associado à maior concentração de Fe aplicada na solução nutritiva.

A elevação na concentração de Zn na solução nutritiva de 0,06 para 0,24 mg L<sup>-1</sup> promoveu aumento médio de 39%, 22% e 8% nos teores de Zn nas plantas de alface, considerando as concentrações de 2, 4 e 8 mg L<sup>-1</sup> Fe na solução nutritiva, evidenciando a viabilidade da biofortificação dessas cultivares com Zn. A viabilidade da biofortificação da alface com alta concentração de Zn é maximizada quando

associada a baixas concentrações de Fe, evidenciando que o sucesso da biofortificação depende de estratégias precisas e bem direcionadas. Considerando a ingestão diária recomendada de Zn para adultos, estabelecida em 7 mg dia<sup>-1</sup> (Brasil, 2005, Resolução RDC nº 269), verificou-se que porções de aproximadamente 38,3 g de alface roxa e 51,7 g de alface verde seriam suficientes para atender às necessidades nutricionais de indivíduos adultos.

Esses resultados indicam que a baby leaf roxa apresenta maior potencial de biofortificação para compostos antioxidantes e elementos essenciais, sobretudo em relação ao Fe, Mg e Zn.

## 6 CONCLUSÕES

Do ponto de vista varietal, a 'Vanda' mostra-se mais produtiva, enquanto 'Luminosa' tem maior valor nutracêutico.

Quanto à resposta das cultivares às concentrações dos micronutrientes, constatou-se que características de crescimento, produtividade, teores foliares de carotenoides e antocianinas de ambas cultivares não foram influenciados pelo aumento das concentrações de Fe e Zn na solução nutritiva, mas houve aumento no teor de compostos fenólicos. A biofortificação agrônômica de alfaces para *baby leaf*, em hidroponia *deep water technique*, mostra-se viável e comprova a importância de se avaliar o efeito da fertilização para cultivares, pois verificou-se resposta diferenciada das cultivares para os incrementos de Fe e Zn na solução nutritiva e biofortificação das *baby leaves* com os micronutrientes. Enquanto a *baby leaf* 'Vanda' (crespa, verde) mostrou-se biofortificada somente com Fe, com melhor resultado obtido com 8 mg de Fe na solução nutritiva, 'Luminosa' (crespa, roxa) foi biofortificada com ambos micronutrientes, para o que se recomenda as maiores concentrações dos micronutrientes (8 mg L<sup>-1</sup> Fe e 0,24 mg L<sup>-1</sup> Zn).

## 7 REFERÊNCIAS

- Aires A, Marques E, Carvalho R, Rosa E, Saavedra M (2013) Evaluation of biological value and appraisal of polyphenols and glucosinolates from organic baby-leaf salads as antioxidants and antimicrobials against important human pathogenic bacteria. **Molecules** 18:4651–4668. <https://doi.org/10.3390/molecules18044651>
- Almeida HJ, Carmona VMV, Inocêncio MF, Furtini Neto AE, Cecílio Filho AB, Mauad M (2020) Soil type and zinc doses in agronomic biofortification of lettuce genotypes. **Agronomy** 10:1–9. <https://doi.org/10.3390/agronomy10010124>
- Bai S, Zhang M, Tang S, Li M, Wu R, Wan S, Chen L, Wei X, Feng S (2024) Effects and impact of selenium on human health: a review. **Molecules** 30:1–22. <https://doi.org/10.3390/molecules30010050>
- Barbosa JC, Maldonado Júnior W (2015) Experimentação Agronômica e AgroEstat: Sistema para Análises Estatísticas de Ensaios Agronômicos. Gráfica Multipress Ltda: Jaboticabal, Brazil; p. 396.
- Barrameda-Medina Y, Blasco B, Lentini M, Esposito S, Baenas N, Moreno DA, Ruiz JM (2017) Zinc biofortification improves phytochemicals and amino-acidic profile in *Brassica oleracea* cv. Bronco. **Plant Science** 258:45–51. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.02.004>
- Barrameda-Medina Y, Montesinos-Pereira D, Romero L, Blasco B, Ruiz JM (2014) Role of GSH homeostasis under Zn toxicity in plants with different Zn tolerance. **Plant Science** 227:110–121. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.07.010>
- Bayati M, Arkia E, Emadi M (2025) Socio-economic inequality in the nutritional deficiencies among the world countries: evidence from Global Burden of Disease Study 2019. **Journal of Health, Population and Nutrition** 44:8. <https://doi.org/10.1186/s41043-025-00739-z>
- Becker C, Urlić B, Jukić M, Kläring HP, Krumbein A, Baldermann S, Ban SG, Perica S, Schwarz D (2015) Nitrogen limited red and green leaf lettuce accumulate flavonoid glycosides, caffeic acid derivatives, and sucrose while losing chlorophylls,  $\beta$ -carotene and xanthophylls. **PLoS One** 10:1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142867>.
- Bhardwaj AK, Chejara S, Malik K, Kumar R, Kumar A, Yadav RK (2022) Agronomic biofortification of food crops: an emerging opportunity for global food and nutritional security. **Frontiers in Plant Science** 13:1–23. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1055278>
- Bhaswant M, Shanmugam DK, Miyazawa T, Abe C, Miyazawa T (2023) Microgreens—A comprehensive review of bioactive molecules and health benefits. **Molecules** 28:867. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules28020867>

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (2005) **Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 set. 2005.

Briat JF, Curie C, Gaymard F (2007) Iron utilization and metabolism in plants. **Current Opinion in Plant Biology** 10:276–282. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.04.003>

Burgess AJ, Pranggono R, Escribà-Gelonch M, Hessel V (2024) Biofortification for space farming: maximising nutrients using lettuce as a model plant. **Future Foods** 9:1–20. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2024.100317>

Buturi CV, Mauro RP, Fogliano V, Leonardi C, Giuffrida F (2021) Mineral biofortification of vegetables as a tool to improve human diet. **Foods** 10:1–23. <https://doi.org/10.3390/foods10020223>

Buturi CV, Sabatino L, Mauro RP, Navarro-León E, Blasco B, Leonardi C, Giuffrida F (2022) Iron biofortification of greenhouse soilless lettuce: an effective agronomic tool to improve the dietary mineral intake. **Agronomy** 12:1–16. <https://doi.org/10.3390/agronomy12081793>

Buzala M, Janicki B, Buzala M, Słomka A (2015) Heme iron in meat as the main source of iron in the human diet. **Journal of Elementology** 21:303–314. <https://doi.org/10.5601/jelem.2015.20.1.850>

Cakmak I, Kutman UB (2017) Agronomic biofortification of cereals with zinc: a review. **European Journal of Soil Science** 69:172–180. <https://doi.org/10.1111/ejss.12437>

Calder PC (2020) Nutrition, immunity and COVID-19. **BMJ Nutrition, Prevention & Health** 3:74–92. <https://doi.org/10.1136/bmjnph-2020-000085>

Carillo P, Giordano M, Raimondi G, Di Stasio E, Napolitano F, Kyriacou MC, Sifola MI, Chouraqui JP (2023) Risk assessment of micronutrients deficiency in vegetarian or vegan children: not so obvious. **Nutrients** 15:1–15. <https://doi.org/10.3390/nu15092129>

Carmona VMV, Cecílio Filho AB, Almeida HJ, Silva GC, Reis AR (2020) Agronomic biofortification of beet plants with zinc via seed priming. **Revista Caatinga** 33(1):116–123. <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252020v33n113rc>

Chouraqui J-P (2023) Avaliação de risco de deficiência de micronutrientes em crianças vegetarianas ou veganas: não tão óbvio. **Nutrients** 15:2129. <https://doi.org/10.3390/nu15092129>

Ciriello M, Formisano L, Kyriacou M, Soteriou GA, Graziani G, De Pascale S, Roupael Y (2022) Zinc biofortification of hydroponically grown basil: stress physiological responses and impact on antioxidant secondary metabolites of genotypic variants. **Frontiers in Plant Science** 13:1–17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1049004>

Clemens S (2016) How metal hyperaccumulating plants can advance Zn biofortification. **Plant and Soil** 411:111–120. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2920-3>

Clemente AA (2021) **Teores de antocianinas, carotenoides e clorofilas em germoplasma de alface roxa e verde a partir de imagens obtidas com aeronave remotamente pilotada**. 71 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Informações Geoespaciais) – Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo.

Connorton JM, Balk J (2019) Iron biofortification of staple crops: lessons and challenges in plant genetics. **Plant and Cell Physiology** 60:1447–1456. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcz079>

Das PR, Del Moro DS, Givens SR, Armstrong SP, Walters KJ (2024) Propagation light intensity influences yield, morphology, and phytochemistry of purple-leaf butterhead lettuce (*Lactuca sativa*). **Journal of Agriculture and Food Research** 16:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101210>

Donaldson MS (2004) Nutrition and cancer: a review of the evidence for an anti-cancer diet. **Nutrition Journal** 3:1–21. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-3-19>

Drakesmith H, Prentice A (2008) Infecção viral e metabolismo do ferro. **Nature Reviews Microbiology** 6:541–552. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1930>

El-Nakhel C, Giordano M, Pannico A, Carillo P, Fusco GM, De Pascale S, Roupheal Y (2019) Cultivar-specific performance and qualitative descriptors for butterhead Salanova lettuce produced in closed soilless cultivation as a candidate salad crop for human life support in space. **Life** 9:1–19. <https://doi.org/10.3390/life9030061>

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (2019) **FAOSTAT Statistical Database**. Rome: FAO.

Fodor F (2024) Iron nutrition and its biochemical interactions in plants: iron uptake, biofortification, bacteria, and fungi in focus. **Plants** 13:1–3. <https://doi.org/10.3390/plants13050561>

Francis FJ (1982) Analysis of anthocyanins. In: Markakis P (ed) *Anthocyanins as Food Colors*. **Academic Press**: New York, NY, USA; pp. 181–207.

Fuqua BK, Vulpe CD, Anderson GJ (2012) Intestinal iron absorption. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology** 26:115–119. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2012.04.007>

Furlani PR, Silveira LCP, Bolonhezi D, Faquin V (1999) *Cultivo hidropônico de plantas*. Instituto Agrônômico de Campinas: Campinas, Brazil.

García-Herrera P, Morales P, Cámara M, Fernández-Ruiz V, Tardío J, Sánchez-Mata MC (2020) Nutritional and phytochemical composition of Mediterranean wild vegetables after culinary treatment. **Foods** 9:1–17. <https://doi.org/10.3390/foods9121761>

Giménez A, Fernández JA, Pascual JA, Ros M, Saez-Tovar J, Martinez-Sabater E, Gruda NS, Egea-Gilabert C (2020) Promising composts as growing media for the production of baby leaf lettuce in a floating system. **Agronomy** 10:1–17. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101540>

Giordano M, El-Nakhel C, Pannico A, Kyriacou MC, Stazi SR, De Pascale S, Rouphael Y (2019) Iron biofortification of red and green pigmented lettuce in closed soilless cultivation impacts crop performance and modulates mineral and bioactive composition. **Agronomy** 9:1–21. <https://doi.org/10.3390/agronomy9060290>

Góis HMMN, Oliveira FA, Oliveira RRT, Pinto FFB, Aroucha EMM, Queiroz GCM, Almeida JGL, Oliveira CEA (2024) Lettuce growing in different hydroponic systems and nutrient concentrations of the nutrient solution. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 28:1–9. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v28n8e279686>

Gorji A, Ghadiri MK (2021) Potential roles of micronutrient deficiency and immune system dysfunction in the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. **Nutrition** 82:111047. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.111047>

Graciano PD, Jacinto ACP, Silveira AJ, Castoldi R, Lima TM, Charlo HCO, Silva IG, Marin MV (2020) Agronomic biofortification with zinc in curly lettuce cultivars. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias – Brazilian Journal of Agricultural Sciences** 15:1–9. <https://doi.org/10.5039/agraria.v15i4a8456>

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. <https://doi.org/10.1007/s11157-016-9390-1>

Haase H, Ellinger S, Linseisen J, Neuhäuser-Berthold M, Richter M (2020) Revised D-A-CH-reference values for the intake of zinc. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology** 61:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126536>

Hanikenne M, Bouché F (2023) Iron and zinc homeostasis in plants: a matter of trade-offs. **Journal of Experimental Botany** 74:5426–5430. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad304>

Hanjagi PS, Singh B (2016) Interactive regulation of iron and zinc nutrition in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Indian Journal of Plant Physiology** 22:70–78. <https://doi.org/10.1007/s40502-016-0272-x>

Hasanuzzaman M, Bhuyan MHM, Zulfiqar F, Raza A, Mohsin S, Mahmud J, Fujita M, Fotopoulos V (2020) Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator. **Antioxidants** 9:1–52. <https://doi.org/10.3390/antiox9080681>

Hess SY, King JC (2009) Effects of maternal zinc supplementation on pregnancy and lactation outcomes. **Food and Nutrition Bulletin** 30:60–78. <https://doi.org/10.1177/15648265090301s105>

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2020) **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017-2018: análise da segurança alimentar no Brasil**. Coordenação de Trabalho e Rendimento. Rio de Janeiro: IBGE.

Inoue M, Matsui T, Nishibu A, Nihei Y, Iwatsuki K, Kaneko F (1998) Efeitos regulatórios da 1alfa,25-di-hidroxivitamina D3 nas respostas inflamatórias na psoríase. **European Journal of Dermatology** 8:16–20.

Joy EJM, Stein AJ, Young SD, Ander EL, Watts MJ, Broadley MR (2015) Zinc-enriched fertilisers as a potential public health intervention in Africa. **Plant and Soil** 389:1–24. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2430-8>

Kaya C, Higgs D, Burton A (1999) Foliar application of iron as a remedy for zinc toxic tomato plants. **Journal of Plant Nutrition** 22:1829–1837. <https://doi.org/10.1080/01904169909365759>

Khan ST, Malik A, Alwarthan A, Shaik MR (2022) The enormity of the zinc deficiency problem and available solutions; an overview. **Arabian Journal of Chemistry** 15:1–31. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103668>

Kim DE, Shang X, Assefa AD, Keum YS, Saini RK (2018) Metabolite profiling of green, green/red, and red lettuce cultivars: variation in health beneficial compounds and antioxidant potential. **Food Research International** 105:361–370. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.028>

Kim H, Jang M, Kim Y, Choi J, Jeon J, Kim J, Hwang YI, Kang JS, Lee WJ (2016) Red ginseng and vitamin C increase immune cell activity and decrease lung inflammation induced by influenza A virus/H1N1 infection. **Journal of Pharmacy and Pharmacology** 68:406–420. <https://doi.org/10.1111/jphp.12529>

Kim MJ, Moon Y, Tou JC, Mou B, Waterland NL (2016) Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Composition and Analysis** 49:19–34. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.03.004>

Knez M, Mattas K, Gurinovic M, Gkotzamani A, Koukounaras A (2024) Revealing the power of green leafy vegetables: cultivating diversity for health, environmental benefits, and sustainability. **Global Food Security** 43:1–15. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2024.100816>

Kowalska K, Brodowski J, Pokorska-Niewiada K, Szczuko M (2020) The change in the content of nutrients in diets eliminating products of animal origin in comparison to a regular diet from the area of Middle-Eastern Europe. **Nutrients** 12:1–22. <https://doi.org/10.3390/nu12102986>

Lara-Ramos L, Fernández-Bayo J, Delgado G, Fernández-Arteaga A (2023) Agronomic iron-biofortification by activated hydrochars of spent coffee grounds. **Frontiers in Sustainable Food Systems** 7:1–8. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1092306>

- Laužikė K, Sutulienė R, Valtakaitė-Kairienė V, Brazaitytė A (2025) The combined effect of lighting and zinc on the nutritional quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in hydroponics. **Horticulturae** 11:284. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11030284>
- Leenders M, Sluijs I, Ros MM, Boshuizen HC, Siersema PD, Ferrari P, Weikert C, Tjønneland A, Olsen A, Boutron-Ruault MC (2013) Fruit and vegetable consumption and mortality. **American Journal of Epidemiology** 178:590–602. <https://doi.org/10.1093/aje/kwt006>
- Li M, Watanabe S, Gao F, Dubos C (2023) Iron nutrition in plants: towards a new paradigm? **Plants** 12:1–15. <https://doi.org/10.3390/plants12020384>
- Li N, Wu X, Zhuang W, Xia L, Chen Y, Wang Y, Wu C, Rao Z, Du L, Zhao R (2021) Green leafy vegetable and lutein intake and multiple health outcomes. **Food Chemistry** 360:130145. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130145>
- Lichtenthaler HK, Wellburn AR (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions** 11:591–592.
- Liu C, Yu H, Liu Y, Zhang L, Li D, Zhao X, Zhang J, Sui Y (2024) Promoting anthocyanin biosynthesis in purple lettuce through sucrose supplementation under nitrogen limitation. **Horticulturae** 10:1–20. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10080838>
- Livneh Y, Leor-Librach E, Agmon D, Makov-Bouaniche T, Tiwari V, Shor E, Yeselson Y, Masci T, Schaffer A, Charuvi D (2025) Combined enhancement of ascorbic acid,  $\beta$ -carotene and zeaxanthin in gene-edited lettuce. **Plant Biotechnology Journal** 23:1954–1967. <https://doi.org/10.1111/pbi.70018>
- López A, García-Alonso J, Fenoll J, Hellín P, Flores P (2014) Chemical composition and antioxidant capacity of lettuce: comparative study of regular-sized (romaine) and baby-sized (little gem and mini romaine) types. **Journal of Food Composition and Analysis** 33:39–48. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.10.001>
- Lowe NM, Hall AG, Broadley MR, Foley J, Boy E, Bhutta ZA (2024) Preventing and controlling zinc deficiency across the life course: a call to action. **Advances in Nutrition** 15:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.advnut.2024.100181>
- Mallor C, Bertolín JR, Paracuellos P, Juan T (2023) Nutraceutical potential of leafy vegetables landraces at microgreen, baby, and adult stages of development. **Foods** 12:1–20. <https://doi.org/10.3390/foods12173173>
- Martínez-Ispizua E, Calatayud Á, Marsal JI, Cannata C, Basile F, Abdelkhalik A, Soler S, Valcárcel JV, Martínez-Cuenca MR (2022) The nutritional quality potential of microgreens, baby leaves, and adult lettuce: an underexploited nutraceutical source. **Foods** 11:1–23. <https://doi.org/10.3390/foods11030423>

MATOS CHL, MONTENEGRO RA, UCHÔA SCP, VALE JÚNIOR JF, SABÓIA VHC, TAVARES IN (2024) Soil micronutrients: dynamics, availability, and fertilization management. **Biological and Agricultural Sciences: Theory and Practice** 1:1-21. <http://dx.doi.org/10.56238/sevned2024.008-007>

Medina-Lozano I, Bertolín JR, Díaz A (2021) Nutritional value of commercial and traditional lettuce (*Lactuca sativa* L.) and wild relatives: vitamin C and anthocyanin content. **Food Chemistry** 359:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129864>

Miyazawa M, Pavan MA, Muraoka T, Santana do Carmo CAF, Melo WJ de (2009) Análise química de tecido vegetal. Parte 2, cap. 2. In: Silva FC (ed) **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**, 2nd ed. Embrapa Informática Tecnológica: Brasília, Brazil; pp. 191–233.

Mou B (2005) Genetic variation of beta-carotene and lutein contents in lettuce. **Journal of the American Society for Horticultural Science** 130:870–876.

Neilson EH, Goodger JQD, Woodrow IE, Møller BL (2013) Plant chemical defense: at what cost? **Trends in Plant Science** 18:250–258. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.01.001>

Nicola S, Egea-Gilabert C, Niñirola D, Conesa E, Pignata G, Fontana E, Fernández JA (2015) Nitrogen and aeration levels of the nutrient solution in soilless cultivation systems as important growing conditions affecting inherent quality of baby leaf vegetables: a review. **Acta Horticulturae** 1099:167–177. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1099.17>

Nicolle C, Cardinault N, Gueux E, Jaffrelo L, Rock E, Mazur A, Amouroux P, Rémésy C (2004) Health effect of vegetable-based diet: lettuce consumption improves cholesterol metabolism and antioxidant status in the rat. **Clinical Nutrition** 23:605–614. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2003.10.009>

Ning X, Lin M, Huang G, Mao J, Gao Z, Wang X (2023) Research progress on iron absorption, transport, and molecular regulation strategy in plants. **Frontiers in Plant Science** 14:1–11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1190768>

Nunes ACS, Kalkmann DC, Aragão FJL (2009) Folate biofortification of lettuce by expression of a codon optimized chicken GTP cyclohydrolase I gene. **Transgenic Research** 18:661–667. <https://doi.org/10.1007/s11248-009-9256-1>

Oliveira AHG, Maciel GM, Siquieroli ACS, Jacinto ACP, Silveira AJ, Silva EC (2019) Estimates of genetic parameters of pigments and agronomic traits in green and purple lettuce. **Ciência e Agrotecnologia** 43:1–8. <https://doi.org/10.1590/1413-7054201943013219>

Ortiz R, Gascó G, Méndez A, Obrador A, González D, Almendros P (2024) Zinc biofortification of lettuce using environmentally friendly zinc sources in an acidic soil. **Scientia Horticulturae** 338:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113620>

- Ortiz R, Gascó G, Méndez A, Sanchez-Martín L, Obrador A, Almendros P (2023) Comparative study of traditional and environmentally friendly zinc sources applied in alkaline Fluvisol soil: lettuce biofortification and soil zinc status. **Agronomy** 13:1–12. <https://doi.org/10.3390/agronomy13123014>
- Pal V, Singh G, Dhaliwal SS (2019) Yield enhancement and biofortification of chickpea (*Cicer arietinum* L.) grain with iron and zinc through foliar application of ferrous sulfate and urea. **Journal of Plant Nutrition** 42(15):1789-1802. <http://dx.doi.org/10.1080/01904167.2019.1648675>
- PENN C, CAMBERATO J (2019) A critical review on soil chemical processes that control how soil pH affects phosphorus availability to plants. **Agriculture** 9(6):120. <http://dx.doi.org/10.3390/agriculture9060120>
- Pérez-Massot E, Banakar R, Gómez-Galera S, Zorrilla-López U, Sanahuja G, Arjó G, Miralpeix B, Vamvaka E, Farré G, Rivera SM (2012) The contribution of transgenic plants to better health through improved nutrition: opportunities and constraints. **Genes & Nutrition** 8(1):29-41. <http://dx.doi.org/10.1007/s12263-012-0315-5>
- Poudel P, Di Gioia F, Lambert JD, Connolly EL (2023) Zinc biofortification through seed nutri-priming using alternative zinc sources and concentration levels in pea and sunflower microgreens. **Frontiers in Plant Science** 14:1-16. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2023.1177844>
- Prajharaj S, Skalicky M, Maitra S, Bhadra P, Shankar T, Brestic M, Hejnak V, Vachova P, Hossain A (2021) Zinc biofortification in food crops could alleviate the zinc malnutrition in human health. **Molecules** 26(12):1-17. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26123509>
- Preciado-Rangel P, Valenzuela-García AA, Pérez-García LA, González-Salas U, Ortiz-Díaz SA, Buendía-García A, Rueda-Puente EO (2022) La biofortificación foliar con hierro mejora la calidad nutracéutica y la capacidad antioxidante en lechuga. **Revista Terra Latinoamericana** 40:1-7. <http://dx.doi.org/10.28940/terra.v40i0.1060>
- Puccinelli M, Padova A de, 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** 10(7):1-16. <http://dx.doi.org/10.3390/horticulturae10070726>
- Qin H, Xu Y, Liu B, Gao Y, Zheng Y, Li Q (2023) UV-A supplement improved growth, antioxidant capacity, and anthocyanin accumulation in purple lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Horticulturae** 9(6):1-14. <http://dx.doi.org/10.3390/horticulturae9060634>

Quispe APV, Morais EG, Prado DT, Machado GGL, Benevenuto PAN, Cezar JVC, Boas EVBVB, Lopes G, Guilherme LRG (2025) Seedling priming with selenium enhances the biofortification strategies in the production of broccoli florets. **Agronomy** 15(9):2207. <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy15092207>

Rai S, Singh PK, Mankotia S, Swain J, Satbhai SB (2021) Iron homeostasis in plants and its crosstalk with copper, zinc, and manganese. **Plant Stress** 1:1-9. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2021.100008>

Rani J, Beniwal D, Dhull SS, Gulia V, Sangwan P, Abdi G (2025) Biofortification of *Cicer arietinum* to enhance nutrient-rich diets in semi-arid regions. **Discover Sustainability** 6(1):1-25. <http://dx.doi.org/10.1007/s43621-025-01554-6>

Ritchie H, Reay DS, Higgins P (2018) Quantifying, projecting, and addressing India's hidden hunger. **Frontiers in Sustainable Food Systems** 2:1-13. <http://dx.doi.org/10.3389/fsufs.2018.00011>

Rizvi A, Sharma M, Saxena S (2022) Microgreens: a next generation nutraceutical for multiple disease management and health promotion. **Genetic Resources and Crop Evolution** 70(2):311-332. <http://dx.doi.org/10.1007/s10722-022-01506-3>

Rosa AM, Seó HLS, Volpato MB, Foz NV, Silva TC, Oliveira JLB, Pescador R, Ogliari JB (2014) Production and photosynthetic activity of Mimosa Verde and Mimosa Roxa lettuce in two farming systems. **Revista Ceres** 61(4):494-501. <http://dx.doi.org/10.1590/0034-737x201461040007>

Rouphael Y (2020) Physiological and nutraceutical quality of green and red pigmented lettuce in response to NaCl concentration in two successive harvests. **Agronomy** 10(9):1-18. <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy10091358>

Rouphael Y, Kyriacou MC (2018) Enhancing quality of fresh vegetables through salinity eustress and biofortification applications facilitated by soilless cultivation. **Frontiers in Plant Science** 9:1-6. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2018.01254>

Rouphael Y, Kyriacou MC, Carillo P, Pizzolongo F, Romano R, Sifola MI (2019) Chemical eustress elicits tailored responses and enhances the functional quality of novel food *Perilla frutescens*. **Molecules** 24:1-20. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24010185>

Ruelas MG, Alvarado-Gamarra G, Aramburu A, Dolores-Maldonado G, Cueva K, Rojas-Limache G, Diaz-Parra CP, Lanata CF (2024) A comparative analysis of heme vs non-heme iron administration: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **European Journal of Nutrition** 64:1-21. <http://dx.doi.org/10.1007/s00394-024-03564-y>

Sahin O (2020) Combined biofortification of soilless grown lettuce with iodine, selenium and zinc and its effect on essential and non-essential elemental composition. **Journal of Plant Nutrition** 44:673-678. <http://dx.doi.org/10.1080/01904167.2020.1849300>

Savithri P, Perumal R, Nagarajan R (1999) Soil and crop management technologies for enhancing rice production under micronutrient constraints. **Nutrient Cycling in Agroecosystems** 53:83-92. <http://dx.doi.org/10.1023/a:1009753729599>

Sayah FA, McAlister FA, Ohinmaa A, Majumdar SR, Johnson JA (2021) The predictive ability of EQ-5D-3L compared to the LACE index and its association with 30-day post-hospitalization outcomes. **Quality of Life Research** 30:2583-2590. <http://dx.doi.org/10.1007/s11136-021-02835-z>

Scharff LB, Saltenis VLR, Jensen PE, Baekelandt A, Burgess AJ, Burow M, Ceriotti A, Cohan JP, Geu-Flores F, Halkier BA (2021) Prospects to improve the nutritional quality of crops. **Food and Energy Security** 11:1-14. <http://dx.doi.org/10.1002/fes3.327>

Schulz MT, Rink L (2025) Zinc deficiency as a possible link between immunosenescence and age-related diseases. **Immunity & Ageing** 22:19. <https://doi.org/10.1186/s12979-025-00511-1>

Sharma A, Kumar V, Shahzad B, Ramakrishnan M, Sidhu GPS, Bali AS, Handa N, Kapoor D, Yadav P, Khanna K (2019) Photosynthetic response of plants under different abiotic stresses: a review. **Journal of Plant Growth Regulation** 39:509-531. <http://dx.doi.org/10.1007/s00344-019-10018-x>

Shi M, Gu J, Wu H, Rauf A, Emran TB, Khan Z, Mitra S, Aljohani ASM, Alhumaydhi FA, Al-Awthan YS (2022) Phytochemicals, nutrition, metabolism, bioavailability, and health benefits in lettuce—a comprehensive review. **Antioxidants** 11:1-23. <http://dx.doi.org/10.3390/antiox11061158>

Shoeb E, Hefferon K (2022) Crop biofortification and food security. **Plant Nutrition and Food Security in the Era of Climate Change**:423-436. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-822916-3.00018-4>

Short MW, Domagalski JE (2013) Iron deficiency anemia: evaluation and management. **American Family Physician** 87:98-104.

Silva ABP, Borges LFS, Lucini F, Silva GN, Santos EF (2025) Technologies in agronomic biofortification with zinc in Brazil: a review. **Plants** 14:1-24. <http://dx.doi.org/10.3390/plants14121828>

Silva VB, Ribera LM, Medelo MJY, Almeida HJ, Cecílio Filho AB (2024) Effects of Fe and Zn on growth, biofortification and quality of lettuce grown in hydroponics. **Revista Caatinga** 37:1-7. <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252024v3712187rc>

Singh VP, Neelam S (2010) Meat species specifications to ensure the quality of meat—a review. **International Journal of Meat Science** 1:15-26. <http://dx.doi.org/10.3923/ijmeat.2011.15.26>

Skrovanek S, Diguilio K, Bailey R, Huntington W, Urbas R, Mayilvaganan B, Mercogliano G, Mullin JM (2014) Zinc and gastrointestinal disease. **World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology** 5:496-513. <http://dx.doi.org/10.4291/wjgp.v5.i4.496>

Srivastav P, Vutukuru M, Ravindran G, Awad MM (2022) Biofortification—present scenario, possibilities and challenges: a scientometric approach. **Sustainability** 14:1-21. <http://dx.doi.org/10.3390/su141811632>

Stewart CP, Dewey KG, Ashorn P (2010) The undernutrition epidemic: an urgent health priority. **The Lancet** 375:282. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(10\)60132-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(10)60132-8)

Stojanović M, Savić S, Delcourt A, Hilbert JL, Hance P, Maksimović JD, Maksimović V (2023) Phenolics and sesquiterpene lactones profile of red and green lettuce: combined effect of cultivar, microbiological fertiliser, and season. **Plants** 12:1-20. <http://dx.doi.org/10.3390/plants12142616>

Strohecker RL, Henning HM (1967) **Análisis de vitaminas: métodos comprobados**. Paz Montalvo: Madrid, Spain.

Sumi MJ, Jahan N, Thamid SS, Tarik MEI, Hassannejad S, Rahimi M, Imran S (2025) LED light effect on growth, pigments, and antioxidants of lettuce (*Lactuca sativa* L.) baby greens. **BMC Plant Biology** (25):1-12.

Szerement J, Szatanik-Kloc A, Mokrzycki J, Mierzwa-Hersztek M (2021) Agronomic biofortification with Se, Zn, and Fe: an effective strategy to enhance crop nutritional quality and stress defense—a review. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** (22):1129-1159. <http://dx.doi.org/10.1007/s42729-021-00719-2>

Takahama M, Kawagishi K, Sugawara A, Araki K, Munekata S, Nicola S, Araki H (2019) Classification and screening of baby-leaf vegetables on the basis of their yield, external appearance and internal quality. **The Horticulture Journal**, Tokyo, 88(3):387-400. <https://doi.org/10.2503/hortj.UTD-033>

Timpanaro G, Bellia C, Foti VT, Scuderi A (2020) Consumer behaviour of purchasing biofortified food products. **Sustainability** (12):1-14. <http://dx.doi.org/10.3390/su12166297>

Torsian WS (2024) **Aplicação de ultrassom e bioestimulante na germinação, crescimento e qualidade de hortaliças baby leaf**. 61 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Veena M, Sen A, Faseela P, Puthur JT (2025) Priming and foliar application as potent methods for agronomic biofortification, enhancing zinc bioavailability, photosynthetic traits and yield in rice. **Journal of Plant Nutrition** 48:2513-2531. <http://dx.doi.org/10.1080/01904167.2025.2482095>

Wada KC, Inagaki N, Sakai H, Yamashita H, Nakai Y, Fujimoto Z, Yonemaru J, Itoh H (2022) Genetic effects of Red Lettuce Leaf genes on red coloration in leaf lettuce under artificial lighting conditions. **Plant-Environment Interactions** 3:179-192. <http://dx.doi.org/10.1002/pei3.10089>

Weffort VRS, Lamounier JA (2024) Hidden hunger – a narrative review. **Jornal de Pediatria** 100:10-17. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jped.2023.08.009>

Wessels I, Fischer HJ, Rink L (2021) Dietary and physiological effects of zinc on the immune system. **Annual Review of Nutrition** 41:133-175. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-nutr-122019-120635>

White PJ, Broadley MR (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. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02738.x>

White PJ, Broadley SR (2005) Variação histórica na composição mineral de produtos hortícolas comestíveis. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology** 80:660-667. <https://doi.org/10.1080/14620316.2005.11511995>

Wieser S, Brunner B, Tzogiou C, Plessow R, Zimmermann MB, Farebrother J, Soofi S, Bhatti Z, Ahmed I, Bhutta ZA (2017) Societal costs of micronutrient deficiencies in 6- to 59-month-old children in Pakistan. **Food and Nutrition Bulletin** 38:485-500. <http://dx.doi.org/10.1177/0379572117720012>

Yang X, Gil MI, Yang Q, Tomás-Barberán FA (2021) Bioactive compounds in lettuce: highlighting the benefits to human health and impacts of preharvest and postharvest practices. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** 21:4-45. <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12877>

Zafeiriou I, Gasparatos D, Ioannou D, Kalderis D, Massas I (2022) Selenium biofortification of lettuce plants (*Lactuca sativa* L.) as affected by Se species, Se rate, and a biochar co-application in a calcareous soil. **Agronomy** 12:1-14. <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy12010131>