

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

**FORTIFICAÇÃO DA BATATA E BIOFORTIFICAÇÃO
AGRONÔMICA DA BETERRABA COM ZINCO**

Victor Manuel Vergara Carmona

Engenheiro Agrônomo

2018

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

**FORTIFICAÇÃO DA BATATA E BIOFORTIFICAÇÃO
AGRONÔMICA DA BETERRABA COM ZINCO**

Victor Manuel Vergara Carmona

Orientador: Prof. Dr. Arthur Bernardes Cecílio Filho

Coorientador: Dr. Hilário Júnior de Almeida

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

2018

C287f Carmona, Victor Manuel Vergara
Fortificação da batata e biofortificação agrônômica da beterraba com zinco / Victor Manuel Vergara Carmona. – – Jaboticabal, 2018
xiv, 60 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2018
Orientador: Arthur Bernardes Cecílio Filho
Coorientador: Hilário Júnior de Almeida
Banca examinadora: Gilmara Pereira da Silva, Luis Felipe Villani Purquerio, Alexson Filgueiras Dutra, André Rodrigues dos Reis
Bibliografia

1. *Solanum tuberosum* L. 2. *Beta vulgaris* var. *vulgaris*. 3. micronutriente. 4. Biofortificação. 5. Ácido fítico. 6. Valor nutricional. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.811:635.21:635.112

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: FORTIFICAÇÃO DA BATATA E BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA DA BETERRABA COM ZINCO

AUTOR: VÍCTOR MANUEL VERGARA CARMONA
ORIENTADOR: ARTHUR BERNARDES CECILIO FILHO
COORIENTADOR: HILÁRIO JÚNIOR DE ALMEIDA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ARTHUR BERNARDES CECILIO FILHO
Departamento de Produção Vegetal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. ANDRÉ RODRIGUES DOS REIS
Câmpus Experimental de Tupã / UNESP

Pós-doutoranda GILMARA PEREIRA DA SILVA
Departamento de Solos e Adubos / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. ALEXSON FILGUEIRAS DUTRA
Vitorino Cardassi / Instituto Municipal de Ensino Superior Bebedouro

Pesquisador Dr. LUIS FELIPE VILLANI PURQUERIO
Divisão de Horticultura / IAC / Campinas/SP

Jaboticabal, 20 de fevereiro de 2018

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

VICTOR MANUEL VERGARA CARMONA – nascido em 23 de julho de 1987 na cidade de Talca, Chile, filho de Victor Manuel Vergara Letelier e María Teresa Carmona Campos. Iniciou estudos de Engenharia em Agronomia na Faculdade de Ciências Agrárias, pertencente à Universidade de Talca, em 2006, onde participou do projeto de avaliação do cultivo hidropônico de morango chileno (*Fragaria chiloensis*) a cargo da Profa. Dra. Gilda Carrasco Silva. Em setembro de 2012 formou-se como Engenheiro Agrônomo e em março de 2013 ingressou na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, para realizar Mestrado no curso de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal) sob a orientação do Prof. Dr. Arthur Bernardes Cecílio Filho, concluindo-o em fevereiro de 2015. Logo em seguida, em março do mesmo ano, iniciou-se como aluno de doutorado na mesma casa de estudos sob a mesma orientação e com a coorientação do Dr. Hilário Júnior de Almeida, obtendo o título de doutor em Agronomia (Produção Vegetal) em fevereiro de 2018.

*“A experiência não é o que nos
acontece, mas o que fazemos com
aquilo que nos acontece”*

Aldous Huxley

Aos meus pais María Teresa Carmona Campos e Victor Manuel Vergara Letelier, aos meus irmãos Marco Antonio e Juan Pablo pelo constante apoio e sustento durante essa longa jornada, e a minha amada companheira Karen por todo o amor, respeito e parceria que foi fundamental nessa conquista. Amo vocês!!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Meus mais sinceros agradecimentos a todos os que participaram de forma direta ou indireta nessa etapa da minha vida, pois sem a sua fundamental contribuição o caminho tivesse sido muito mais difícil.

Agradeço a minha família pelo enorme suporte anímico durante todos esses anos. O caminho tem sido longo, distante e as vezes asfixiante, porém com o seu apoio a minha força e bondade de conseguir o objetivo manteve-se firme.

A Karen, por sua companhia, suporte em momentos difíceis, compreensão e muita dedicação. Sem você isto não seria tão brilhante e doce como é hoje.

Ao prof. Dr. Arthur Bernardes Cecílio Filho, pela orientação e valiosíssimas contribuições para a realização do trabalho, além dos ensinamentos, confiança, amizade e atenção dada durante todos esses anos de pós-graduação.

A minha primeira mentora, profa. Dra. Gilda Carrasco Silva, pela enorme oportunidade oferecida e por ter acreditado em mim.

Ao meu coorientador e amigo, Dr. Hilário Júnior de Almeida, por toda a ajuda e a confiança oferecida durante o doutorado.

A todos os professores da FCAV/UNESP que foram parte da minha formação como doutor. Especialmente gostaria de agradecer à profa. Dra. Priscila Lupino Gratão tanto pelos ensinamentos como pela ajuda na realização de análises laboratoriais, com o qual aproveito de agradecer à Sra. Sonia Maria R. Carregari pela valiosa contribuição e orientação no laboratório.

Aos funcionários da Horta da faculdade Inauro, Reinaldo e Claudio pela enorme ajuda, pelos ensinamentos e pela simpatia durante todos esses anos.

Aos amigos e colegas de pós-graduação que teve o enorme prazer de conhecer: Claudia, Juan, Natália, Tatiana, Matheus, Anderson, Rodrigo, Carolina, Camila, Eliza, Danilo, Leonardo, Rodolfo, Alexson, Miguel, Sergio, Paulo Henrique, Juliana, entre muitos outros.

Aos amigos Gila, Pelotas, Val, Akida, Madalena, Quem, Scooby, Fabricio, Jorge, Chris, Verinha, Franguinho, Gian, etc., por todos os excelentes momentos compartilhados.

Ao programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal) da FCAV/UNESP, pela oportunidade.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro para a realização do curso de doutorado.

ETERNAMENTE AGRADECIDO!

SUMÁRIO

RESUMO.....	x
ABSTRACT	xii
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xiii
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1.1 INTRODUÇÃO	1
1.2 REVISÃO DE LITERATURA	2
1.2.1 Zn no solo	2
1.2.2 Zn em plantas	4
1.2.3 A batata, a beterraba e a segurança alimentar	7
1.2.4 Biofortificação agrônômica com Zn	8
1.2.5 Impacto da biofortificação com Zn na nutrição e saúde humana	12
1.3 REFERÊNCIAS.....	15
CAPÍTULO 2 - Fortificação e biodisponibilidade de Zn em batata	22
2.1 INTRODUÇÃO	23
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
2.2.1 Localização da área experimental	24
2.2.2 Tratamentos e delineamento experimental	24
2.2.3 Determinação do teor de Zn	25
2.2.4 Determinação da biodisponibilidade de Zn	25
2.2.5 Análise estatística	26
2.3 RESULTADOS	26
2.4 DISCUSSÃO	30
2.5 CONCLUSÃO	33
2.6 REFERÊNCIAS.....	33

CAPÍTULO 3 – Biofortificação agronômica da beterraba com Zn via condicionamento osmótico de utrículos.	37
3.1 INTRODUÇÃO	38
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	39
3.2.1 Local	39
3.2.2 Tratamentos e delineamento experimental	39
3.2.3 Instalação e condução dos experimentos	40
3.2.4 Características analisadas.....	41
3.2.5 Análise estatística	42
3.3 RESULTADOS	42
3.3.1 Trocas gasosas.....	42
3.3.2 Teor de Zn foliar ([ZnF])	46
3.3.3 Crescimento e biofortificação com Zn ([ZnR])	47
3.4 DISCUSSÃO	51
3.5 CONCLUSÕES	555
3.6 REFERÊNCIAS.....	555

FORTIFICAÇÃO DA BATATA E BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA DA BETERRABA COM ZINCO

RESUMO – A deficiência de zinco (Zn) afeta à população mundial há muito tempo e, apesar dos esforços realizados, o problema ainda não tem sido resolvido. Dessa forma, o incremento de Zn em hortaliças pode contribuir à diminuição do consumo inadequado do micronutriente. Assim, objetivou-se avaliar o efeito do condicionamento osmótico com Zn sobre o aumento do teor do micronutriente em batata e beterraba. Para isto, tubérculos de batata foram condicionados em soluções com 0, 10, 20 e 30 mg mL⁻¹ Zn (como sulfato) durante 12, 16, 20 e 24 horas, enquanto para utrículos de beterraba utilizaram-se concentrações de 0, 10 e 30 mg mL⁻¹ Zn, como sulfato e cloreto, durante 12, 16, 20 e 24 horas e, posteriormente, cultivados em casa de vegetação em duas épocas diferentes (primavera de 2015 e outono-inverno de 2016). Em batata houve incremento do teor e biodisponibilidade de Zn nos tubérculos, principalmente, em função da concentração do micronutriente em solução, sendo que com 10 mg mL⁻¹ Zn e 12 horas de condicionamento conseguiu-se substancial fortificação. Em beterraba, todas as características avaliadas nas plantas foram melhoradas com a presença de Zn em solução, principalmente como sulfato, sendo obtido com 30 mg mL⁻¹ Zn maior teor de Zn na raiz, enquanto o tempo influenciou somente características de crescimento, sendo 16 horas o tratamento mais recomendável. Portanto, conclui-se que o condicionamento osmótico com Zn apresenta potencial para ser utilizada em programas de biofortificação agronômica dessas hortaliças.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L., *Beta vulgaris* var. *vulgaris*, micronutriente, biofortificação, ácido fítico, valor nutricional

POTATO FORTIFICATION AND AGRONOMIC BIOFORTIFICATION OF BEETROOT WITH ZINC

ABSTRACT – Zinc (Zn) deficiency has affected the world's population for a long time, and despite the efforts made, the problem has not yet been resolved. Thus, the increase of Zn in vegetables can contribute to the reduction of inadequate micronutrient consumption. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of Zn priming on the increase of micronutrient content in potato and beet. For this, potato tubers were primed in solutions with 0, 10, 20 and 30 mg mL⁻¹ Zn (as sulfate) for 12, 16, 20 and 24 hours, while for beet utricles were used concentrations of 0, 10 and 30 mg mL⁻¹ Zn, as sulfate and chloride, for 12, 16, 20 and 24 hours and then grown in a greenhouse at two different times (spring 2015 and autumn-winter 2016). In potato there was increase in the content and bioavailability of Zn in the tubers, mainly as a function of the concentration of the micronutrient in solution, and with 10 mg mL⁻¹ Zn and 12 hours of priming a substantial fortification was achieved. In beet, all characteristics evaluated in the plants were improved with the presence of Zn in solution, mainly as sulfate, being obtained with 30 mg mL⁻¹ Zn higher Zn content in the root, whereas the time influenced only growth characteristics, being 16 hours the most recommended treatment. Therefore, it is concluded that the Zn priming presents potential to be used in programs of agronomic biofortification of these vegetables.

Keywords: *Solanum tuberosum* L., *Beta vulgaris* var. *vulgaris*, micronutrient, biofortification, phytic acid, nutritional value

Lista de Tabelas

Capítulo 2

Tabela 1. Teor de Zn, massa seca (MS), acúmulo de Zn e quantidade de batata necessária para suprir o requerimento diário de Zn, em diferentes partes de tubérculos de batata 'Ágata' submetidos a condicionamento osmótico com Zn.....30

Capítulo 3

Tabela 1. Resumo da análise conjunta de experimentos (2015 e 2016) para as características avaliadas em plantas de beterraba 'Tall Top Early Wonder'.....42

Tabela 2. Resumo da análise de variância para as características avaliadas em plantas de beterraba 'Tall Top Early Wonder' cultivadas em 2015 em função da concentração, fonte e tempo de condicionamento osmótico de utrículos em soluções enriquecidas com Zn.....43

Tabela 3. Resumo da análise de variância para os parâmetros avaliados em plantas de beterraba 'Tall Top Early Wonder' cultivadas em 2016 em função da concentração, fonte e tempo de imersão de utrículos em soluções enriquecidas com Zn.....43

Lista de Figuras

Capítulo 2

Figura 1. Teor de Zn (média $\pm$ EP., n=3) em periderme (●), em córtex (○) e em região central (▼) de tubérculo de batata 'Ágata' em função da concentração de Zn em solução.....27

Figura 2. Teor de Zn (média $\pm$ EP., n=3) no córtex de tubérculos de batata 'Ágata' imersos em soluções enriquecidas com Zn em função do tempo de condicionamento osmótico.....28

Figura 3. Biodisponibilidade de Zn no córtex (barras brancas, letras minúsculas) e na região central (barras negras, letras maiúsculas) em tubérculos de batata 'Ágata' submetidos a condicionamento osmótico com Zn por 12 (a); 16 (b); 20 (c) e 24 (d) horas.....29

Capítulo 3

Figura 1. Efeito da concentração e da fonte de Zn (Sulfato (○) e Cloreto (●)) utilizada em solução de imersão de utrículos sobre a taxa transpiratória (*E*), condutância estomática (*gs*) e taxa fotossintética (*A*) de plantas de beterraba 'Tall Top Early Wonder', cultivadas em 2015 (a,c,e) e em 2016 (b,d,f).....44

Figura 2. Efeito da concentração e do tempo de condicionamento osmótico (12(Δ), 16(▼), 20(○) e 24(●) horas) de utrículos sobre a taxa fotossintética (*A*) de plantas de beterraba 'Tall Top Early Wonder' cultivadas em 2016, aos 55 dias após a semeadura.....46

Figura 3. Teor de Zn foliar na beterraba 'Tall Top Early Wonder' em função do condicionamento osmótico de utrículos em soluções com Zn, cultivadas em 2015 (●) e em 2016 (○).....47

Figura 4. Área foliar (○) e massa seca da parte aérea (●) de beterraba 'Tall Top Early Wonder' em função do condicionamento osmótico de utrículos em soluções enriquecidas com Zn, cultivadas em 2015 (a) e em 2016 (b).....48

Figura 5. Efeito do tempo de condicionamento osmótico com Zn em utrículos de beterraba 'Tall Top Early Wonder' cultivada em 2015 sobre a massa seca da parte aérea.....49

Figura 6. Massa fresca (●) e seca (○) de raiz de beterraba 'Tall Top Early Wonder' em função da imersão de utrículos em soluções com Zn (0, 10 e 30 mg mL⁻¹ Zn), cultivadas em 2015 (a) e em 2016 (b).....50

Figura 7. Efeito do tempo de condicionamento osmótico de utrículos em solução enriquecida com Zn sobre a massa fresca da raiz de beterraba 'Tall Top Early Wonder' cultivada em 2015 (●) e em 2016 (○).....51

Figura 8. Teor de Zn em raiz de beterraba 'Tall Top Early Wonder' em função do condicionamento osmótico de utrículos em soluções enriquecidas com Zn, cultivada em 2015 (●) e em 2016 (○).....51

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1.1 INTRODUÇÃO

Para manter o metabolismo e ter vida saudável e produtiva, os seres humanos necessitam de, pelo menos, 50 nutrientes em quantidades adequadas (WHITE; BROADLEY, 2005; BOUIS; WELCH, 2010). Neste sentido, as plantas constituem o início da cadeia alimentar, e aumentos na absorção de nutrientes e seus acúmulos nos tecidos comestíveis promovem melhorias nas dietas humanas e animais.

Embora a produção de alimentos tenha acompanhado o crescimento populacional, problemas de deficiências nutricionais atingem grande parte da população. Estima-se que mais de 60% das seis bilhões de pessoas no planeta estão deficientes em ferro, mais de 30% em Zn e iodo e 15% em selênio, sendo os países em desenvolvimento os mais afetados (BEAL et al., 2017; FAO/OPS, 2017; IFPRI, 2017). Portanto, acredita-se que, se não são adotadas medidas de controle, esses problemas podem aumentar drasticamente (WHO, 2017), uma vez que, nas próximas três décadas, estima-se que o planeta abrigará mais de nove bilhões de pessoas (UNITED NATIONS, 2017).

Esta situação tem sido atribuída à produção de culturas agrícolas em solos com baixa disponibilidade de micronutrientes (ALLOWAY, 2009) e ao consequente consumo de alimentos de conteúdo nutricional abaixo do recomendado, agravada mais ainda pela ausência de produtos de origem animal na dieta (WESSELLS; BROWN, 2012), sendo a deficiência de Zn considerada um dos mais graves problemas da saúde pública ao redor do planeta. O Zn é constituinte de mais de 300 metaloenzimas e a sua homeostase deve estar presente para a função normal do sistema imunológico, respostas de estresse oxidativo, funções estruturais e cicatrização de feridas, entre muitas outras (COMINETTI; COZZOLINO, 2009; STEIN, 2010).

Neste contexto, o problema da deficiência de Zn pode ser resolvido através da diversificação da dieta, pelo uso de suplementação mineral, pela fortificação de alimentos e/ou do aumento da concentração biodisponível do elemento em partes

comestíveis de plantas cultivadas, seja por meio de intervenção agrícola (biofortificação agronômica) ou por seleção genética (biofortificação genética) (WHO/FAO, 2017; BOUIS; SALTZMAN, 2017).

A biofortificação de alimentos tem-se tornado uma excelente estratégia para combater a desnutrição, uma vez que considera um sistema alimentar integrado, visando a reduzir de forma sustentável a desnutrição, principalmente, na população mais necessitada, com resultados positivos em nível mundial (CAKMAK; MCLAUGHLIN; WHITE, 2017). Contudo, apesar do progresso realizado, a deficiência de Zn, como de outros nutrientes, prevalece na maioria dos países em desenvolvimento (BEAL et al., 2017), portanto, elevar o teor de Zn em hortaliças pode contribuir à diminuição do consumo deficitário do micronutriente.

Dessa forma, elevar o valor nutricional de tubérculos de batata e raízes de beterraba pode ser de grande importância para combater a desnutrição, pois ambas são produzidas na maioria dos países no Mundo (FAOSTAT, 2017) e o seu consumo é recomendado pelas suas propriedades nutritivas (SUBRAMANIAN et al., 2011; CHEN et al., 2015). Por outro lado, a biofortificação agronômica com Zn através do manejo da fertilização (edáfica e foliar) nesse tipo de hortaliças, deve enfrentar alguns desafios, como a sua baixa redistribuição dentro das plantas, baixa disponibilidade no solo e a sua elevada regulação genética (WHITE; BROADLEY, 2011), dificultando a obtenção de melhores resultados. Portanto, o presente trabalho apresenta a alternativa de elevar o teor de Zn em batata e beterraba pelo condicionamento osmótico.

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1 Zn no solo

O Zn é um dos 25 elementos químicos mais abundantes na crosta terrestre, o seu teor varia de 17 a 125 mg dm⁻³ nos diferentes solos, sendo o teor médio de 64 mg dm⁻³ (KABATA-PENDIAS, 2011). Estas diferenças observadas estão ligadas tanto ao material de origem dos solos como a seu intemperismo, que irão, por sua vez, determinar a mineralogia destes. Além disso, atividades antropogênicas e o

cultivo continuado também podem aumentar de forma considerável os teores de Zn (ALLOWAY, 2009).

Na solução do solo, o Zn movimenta-se por fluxo de massa até as raízes das plantas, sendo o seu teor considerado baixo. Dependendo da classe do solo e dos métodos utilizados para a extração, a concentração do elemento na solução do solo varia de 4 a 270 $\mu\text{g L}^{-1}$ (KABATA-PENDIAS, 2011). Sua disponibilidade está diretamente relacionada com o teor de Zn em solução, a sua especiação, pH do meio, textura do solo, teor de matéria orgânica e com a sua interação com outros nutrientes (ALLOWAY, 2009). A deficiência de Zn ainda ocorre normalmente em todas as regiões áridas e semiáridas do mundo, devido à sua baixa solubilidade e à elevada adsorção em tais condições (SADEGHZADEH, 2013), o que muitas vezes acaba por diminuir a produtividade e a qualidade das culturas agrícolas, com evidente impacto sobre a saúde da população (WESSELLS; BROWN, 2012).

Dentre os micronutrientes, a deficiência de Zn representa maior impacto sobre a produção de alimentos, sendo que quase a metade dos solos do mundo apresentam teores disponíveis baixos desse metal (ALLOWAY, 2009). Para Maynard e Hochmuth (2007), dependendo da espécie e do método de extração utilizado, o nível crítico de Zn no solo varia de 0,6 a 2,0 mg kg^{-1} , com teores foliares na faixa de 10 a 150 mg kg^{-1} de massa seca (MS). No Brasil, o teor de Zn disponível no solo é baixo. No Estado de São Paulo, Valladares et al. (2009) verificaram que, se bem os teores de Zn total são relativamente altos, uma pequena fração deste encontra-se na forma disponível às plantas, sendo que a grande maioria das amostras analisadas apresentou teores DTPA de Zn inferiores a 0,5 mg dm^{-3} , o qual é considerado baixo nas classes de interpretação para o Estado.

Determinadas técnicas de manejo do solo, tais como a calagem e a adubação fosfatada excessiva, podem agravar a deficiência deste elemento (BROADLEY et al., 2012), uma vez que a disponibilidade e a solubilidade do Zn estão negativamente correlacionadas com a saturação de cálcio e compostos de fósforo (P) nos solos (KABATA-PENDIAS, 2011). Contudo essa interação P-Zn, embora tenha sido bastante estudada, ainda não foi totalmente esclarecida, pois existem muitos trabalhos na literatura demonstrando o efeito negativo do excesso da aplicação de P sobre o teor de Zn nos cultivos em campo (BROADLEY et al., 2012).

Por outro lado, em hidroponia, tal efeito não foi verificado (OVA et al., 2015), o qual estaria relacionado ao efeito negativo do elevado nível de P sobre a colonização das micorrizas do solo, as quais contribuem significativamente na absorção de Zn pelas plantas (MARSCHNER, 2012).

Essa interação P-Zn em regiões tropicais é ainda mais complicada, pois estas regiões caracterizam-se por apresentar solos altamente intemperizados, pobres em matéria orgânica, ácidos, com elevada presença de sesquióxidos de Fe e Al e, portanto, elevada fixação de P, necessitando de adubação fosfatada corretiva, que muitas vezes é excessiva, o que leva à deficiência de Zn nos cultivos (FERNANDES et al., 2017). No Brasil por exemplo, uma grande quantidade de fertilizantes fosfatados é utilizada na cultura da batata, devido às características edáficas mencionadas anteriormente e, também, à baixa eficiência de absorção de P da batateira em solos com baixa disponibilidade do nutriente (SORATTO et al., 2015), dessa forma a biofortificação agrônômica com Zn em tubérculos de batata pode ser extremamente complicado.

1.2.2 Zn em plantas

O Zn é considerado elemento essencial, tanto para as plantas, quanto para os humanos e animais. Em plantas, devido a sua baixa redistribuição, os sintomas típicos da deficiência manifestam-se nos órgãos mais novos e caracterizam-se pelo reduzido crescimento das plantas, diminuição do florescimento e baixa produtividade das culturas (BROADLEY et al., 2012; WHITE et al., 2012).

Em altas concentrações, esse metal é tóxico. A toxicidade em plantas ocasionada pelo excesso de Zn promove a limitação da capacidade fotossintética e taxa respiratória, redução tanto da produção de massa seca da parte aérea, quanto da biomassa radicular, a necrose da radícula ao entrar em contato com o solo, a morte da plântula e a inibição do crescimento vegetal, o que tem sido atribuído, principalmente, à alteração no funcionamento e desenvolvimento de células guarda (SAGARDOY et al., 2009; 2010) e, conseqüentemente, à condutância estomática foliar. Em batata, a aplicação foliar excessiva de Zn ($>30 \text{ kg ha}^{-1} \text{ Zn}$) provocou queda

de, aproximadamente, 18% na produtividade (WHITE et al., 2012), não sendo constatados sintomas visuais de toxicidade nas plantas.

A maioria das plantas cultivadas exigem concentrações foliares de Zn na faixa de 15 a 30 mg kg⁻¹ de massa seca para crescer e atingir sua máxima produtividade. Entretanto, algumas espécies vegetais, consideradas hiperacumuladoras, podem crescer e desenvolver normalmente apresentando concentrações 100 vezes maiores às de plantas normais cultivadas em condições de campo (CLEMENS, 2017), uma vez que o Zn é necessitado em elevadas concentrações para a síntese proteica. Dessa forma, as espécies de plantas diferem tanto na necessidade quanto na tolerância às altas concentrações em seus tecidos (BROADLEY et al., 2012).

O Zn é absorvido pelas células das raízes como cátion divalente (Zn²⁺) e, em algumas espécies de plantas, pode ser absorvido, também, na forma de complexos orgânicos (BROADLEY et al., 2012) via diferentes sistemas de transportadores. Para isto, deve ser interceptado pelas raízes em crescimento (MCGRATH; LOBELL, 2013), ou movimentado no solo, seja por difusão e/ou seja por fluxo de massa, sendo que o primeiro é determinante em condições de baixa disponibilidade do micronutriente, enquanto o segundo é motivado pela perda de água das plantas por meio da transpiração (SADEGHZADEH, 2013). Após sua absorção, o Zn é transportado aos feixes vasculares xilemáticos tanto pela via simplástica como pela via apoplástica, através dos tecidos radiculares (WHITE, 2012), para, posteriormente, ser transportado pelo fluxo transpiratório das plantas.

Embora os canais permeáveis ao Ca²⁺ na membrana plasmática também o sejam ao Zn (PINTO; FERREIRA, 2015), acredita-se que a maior parte do influxo de Zn para o citoplasma das células das raízes seja de forma ativa e mediada por proteínas do tipo *zinc regulated transporter* (ZRT) e *iron-regulated transporter-like protein* (ZIP1, ZIP3 e ZIP4) (OVEČKA; TAKÁČ, 2014). Enquanto, os membros da família *cation diffusion facilitator* (CDF), tais como as proteínas de tolerância a metais MTP1 e MTP3, o canal antiporte Mg²⁺/H⁺ - MHX (ELBAZ et al., 2006) e o transportador ZIF1 (HAYDON; COBBETT, 2007) parecem transportar o Zn para o vacúolo através de um mecanismo antiporte Zn²⁺/H⁺, enquanto os transportadores NRAMPs têm sido responsáveis pela mobilização deste nutriente no vacúolo (OVEČKA; TAKÁČ, 2014).

Como o citoplasma das células vegetais contém proteínas que se ligam ao Zn em grandes quantidades, este cátion tende a se apresentar em concentrações citoplasmáticas muito baixas. No citoplasma, o Zn pode ser complexado por proteínas, fitoquelatinas, glutatona e nicotianaminas, apresentando, conseqüentemente, baixas concentrações (CLEMENS, 2014). Nos vacúolos das células das raízes e das folhas, é armazenado, em grande parte, na forma de Zn^{2+} ou complexado com ácidos orgânicos como o citrato ou como o malato (SARRET et al., 2009; BROADLEY et al., 2012), verificado também no xilema de plantas, o qual é considerado mecanismo de tolerância ao excesso de Zn. Por outro lado, na seiva do floema, os teores de Zn^{2+} são escassos, neste caso, acredita-se que o Zn transportado esteja complexado com nicotianamina ou em pequenas proteínas (CLEMENS, 2014). Contudo, embora a mobilidade do Zn no floema seja geralmente considerada baixa, isto não pode ser aceito como regra geral. Aplicações foliares têm demonstrado efeito sobre a sua concentração em grãos de trigo (CAKMAK et al., 2010) e tubérculos de batata (WHITE et al., 2012; KROMANN et al., 2017), sendo a movimentação no floema mediada pela sua complexação a compostos nitrogenados como a nicotianamina, existindo correlação entre a biofortificação agrônômica com Zn e a fertilização nitrogenada.

O Zn está distribuído de forma irregular dentro da planta. Quando este nutriente é absorvido através da rizosfera, suas concentrações nos tecidos geralmente diminuem na ordem: raiz $\approx$ parte aérea > frutos, sementes e tubérculos (BROADLEY et al., 2012). Assim, as concentrações de Zn são, na maioria das vezes, maiores em culturas de raízes e folhas do que em grãos, frutas e tubérculos (WHITE; BROADLEY, 2011).

Durante o crescimento vegetativo e em condições de deficiência nutricional, a redistribuição de nutrientes desde órgãos desenvolvidos (p.e. folhas maduras) para órgãos em desenvolvimento (p.e. folhas novas, raízes) é fundamental para as plantas conseguirem completar o seu ciclo de vida (WHITE, 2012), principalmente em plantas de ciclo curto, como as hortaliças. Nesse sentido, plantas como a beterraba e a batata, que apresentam dois estágios de desenvolvimento bem diferenciados (vegetativo e reprodutivo), em primeira instância desenvolvem as suas estruturas vegetativas com intensivo acúmulo de fotoassimilados nos seus

tecidos de reserva, que desde a sua formação tornam-se o dreno principal (GONDIM et al., 2011; SORATTO; FERNANDES; SOUZA-SCHLICK, 2011), para dessa forma, no seguinte estágio, dar início à formação das estruturas reprodutivas, o qual é de grande importância para o objetivo da biofortificação dessas culturas com Zn.

Dentro de cada órgão, o Zn é acumulado por tipos específicos de células. Nas raízes, pode ser encontrado em regiões distintas, especialmente na zona de alongamento. A distribuição do elemento nos caules e nas folhas varia entre as espécies de plantas. Em tubérculos de batata, por exemplo, cerca de 17% do Zn total está presente na casca (SUBRAMANIAN et al., 2011), pelo que esses padrões de distribuição refletem tanto no transporte do Zn local, quanto a longa distância dentro da planta. Dessa forma, a sua distribuição em tubérculos, por exemplo, reduzirá o potencial dietético na ingestão deste nutriente quando são consumidos tubérculos descascados.

1.2.3 A batata, a beterraba e a segurança alimentar

Nas últimas seis décadas a população mundial triplicou-se (FAOSTAT, 2017) e espera-se que nas próximas três, o planeta abrigue mais de 9 bilhões de pessoas (UNITED NATIONS, 2017). Com isto, se faz necessário produzir alimento de qualidade em quantidade suficiente para garantir a saúde pública e a segurança alimentar.

No caso da batata (*Solanum tuberosum* L.), por ser a terceira cultura mais plantada no mundo (20 milhões de hectares), perdendo somente do arroz e do trigo (FAOSTAT, 2017), e pelo seu elevado consumo, principalmente em países em desenvolvimento, vem ganhando espaço como uma cultura alvo para combater a desnutrição na população (KROMANN et al., 2017). Dessa forma, justifica-se que os países mais populosos do planeta, como a China (1,4 bilhões de habitantes) e a Índia (1,3 bilhões de habitantes), sejam os maiores produtores de batata do mundo, com cerca de 100 e 40 milhões de toneladas, respectivamente (FAOSTAT, 2017).

No Brasil a produção de batata não supera as 4 milhões de toneladas por ano, no entanto, isto é suficiente para abastecer o seu mercado interno de batata *in natura*, sem precisar de importações (EMBRAPA, 2015). A produção brasileira

distribui-se em mais de 30 regiões dentro de sete estados, sendo que em 2016 a produtividade média nacional (29,6 t ha⁻¹) foi superior à mundial (19,5 t ha⁻¹), contudo inferior à produtividade alcançada em países desenvolvidos (>40 t ha⁻¹) (FAOSTAT, 2017).

A beterraba (*Beta vulgaris* L.), por outro lado, não é uma cultura tão expressiva quanto a batata, com produção mundial que não supera as 280 milhões de toneladas em pouco mais de 4 milhões de hectares, sendo os maiores produtores Estados Unidos (33,5 milhões de toneladas), França (33,7 milhões de toneladas) e Rússia (51,3 milhões de toneladas). Contudo, caracteriza-se por apresentar produtividade média mundial muito elevada (>60 t ha⁻¹) (FASOTAT, 2017). Além disso, pelas suas comprovadas propriedades anticancerígenas (CHEN et al., 2015), antioxidantes, antiinflamatórias e antimicrobianas (CHEN et al., 2017a), a beterraba está sendo cada vez mais procurada pelas indústrias e exigida como parte da merenda infantil.

Cabe mencionar também, que a beterraba está sendo comercializada na forma de *Baby leaf*, nicho ainda bastante restrito para a população em geral, pois trate-se de um mercado novo de produção e comercialização de hortaliças no Brasil (PURQUERIO; MELO, 2011), diferente à realidade de países desenvolvidos onde esse tipo de produtos pode ser encontrado facilmente em prateleiras de mercados, restaurantes, merendas infantis, etc. Assim, fortalece-se a ideia de biofortificar essa cultura com Zn, uma vez que é possível o consumo completo da planta (folhas e raízes) e sem precisar de processamento específico.

1.2.4 Biofortificação agrônômica com Zn

A deficiência nutricional com Zn tem sido considerada um dos mais graves problemas na saúde pública, afetando mais de 2 bilhões de pessoas (BEAL et al., 2017). Estima-se que, pelo menos, um terço da população mundial sofre com a sua deficiência, principalmente crianças e mulheres lactantes (WHO, 2017). A baixa ingestão dietética em grande parte da população é consequência do baixo consumo de alimentos de origem animal, principalmente, em países de baixa renda (WESSELLS; BROWN, 2012) e ao alto consumo de alimentos com baixos teores do

nutriente (CAKMAK et al., 2010; PINTO; FERREIRA, 2015), em decorrência da produção de alimentos ser realizada, principalmente, em áreas com baixa disponibilidade deste nutriente no solo (ALLOWAY, 2009), espalhadas pelo mundo inteiro (ZOU et al., 2008; SINGH, 2008).

Tal condição tem motivado diversos pesquisadores e organizações mundiais a desenvolverem métodos que permitam aumentar, em partes comestíveis das plantas, o teor biodisponível de Zn aos seres humanos e animais (BOUIS; SALTZMAN, 2017; WHO, 2017). Assim, na agricultura, duas possibilidades têm sido trabalhadas: a fertilização de culturas (POBLACIONES; RENGEL, 2016) e o melhoramento genético de plantas (WHITE; BROADLEY, 2011). Essas estratégias têm sido denominadas de biofortificação agrônômica e genética, respectivamente. Sendo que, a biofortificação genética, embora seja considerada a estratégia mais viável para combater a desnutrição em nível mundial, por ser mais demandante em recursos (p.e. tempo, infraestrutura e custos) não permite uma solução a curto prazo (WHITE; BROADLEY, 2011).

A biofortificação com Zn tem como objetivo aumentar as concentrações biodisponíveis nos alimentos, de modo que, com sua ingestão, seja possível manter em teores adequados o nutriente no organismo humano e animal, além de incrementar a produtividade das culturas em solos inférteis (BOUIS; SALTZMAN, 2017). Para uma eficiente biofortificação com Zn nos tecidos das plantas, com aumento na produtividade das culturas, algumas barreiras fisiológicas devem ser consideradas. A capacidade de absorção da solução do solo pelas raízes, e no caso de aplicações foliares pelas folhas, deve ser aumentada, e a redistribuição deve ser efetiva dentro da planta, acumulando-se de forma não tóxica nos tecidos comestíveis das culturas (WELCH; GRAHAM, 2005). Dessa forma, a biofortificação agrônômica com Zn pode ser realizada a partir de três métodos, sendo eles: a aplicação do fertilizante diretamente ao solo, pulverizações foliares (POBLACIONES; RENGEL, 2016; KROMANN et al., 2017) e tratamento de semente por condicionamento osmótico com Zn (HARRIS et al., 2007, FAROOQ; WAHID; SIDDIQUE, 2012).

Essa última estratégia agrônômica, para aumentar a concentração de Zn nas culturas, tem sido eficiente em promover incrementos na produtividade (HARRIS et

al., 2007; HARRIS et al., 2008), porém, trabalhos visando a biofortificação agrônômica por meio do condicionamento osmótico de sementes em soluções enriquecidas com Zn por enquanto são escassos.

Sementes enriquecidas com Zn, semeadas em solos pobres neste nutriente, possuem maior viabilidade e vigor das plântulas, formando estandes mais densos, resultando em menor erosão do solo, permitindo taxas de semeadura inferiores e com menores custos aos agricultores e o estabelecimento mais precoce das raízes das plântulas no solo/substrato culminando no uso mais eficiente da água e de nutrientes do solo, diminuindo o consumo de fertilizantes (FAROOQ; WAHID; SIDDIQUE, 2012). Neste sentido, verifica-se que sementes enriquecidas com Zn resultam em maiores produtividades das culturas em comparação com as sementes não tratadas (MUNAWAR et al., 2013), trazendo diversos benefícios econômicos aos agricultores.

Alguns trabalhos envolvendo biofortificação com Zn em hortaliças têm sido realizados e obtidos excelentes resultados. Em ervilha, Poblaciones e Rengel (2016) conseguiram elevar a concentração de Zn em mais de 90% em relação às plantas sem aplicação do nutriente, no entanto, após o cozimento dos grãos verificaram, aproximadamente, 30% de perda. Em repolho cultivado em sistema hidropônico, Barrameda-Medina et al. (2017) conseguiram elevar o teor de Zn foliar em mais de 7 vezes com a aplicação de $100 \mu\text{M L}^{-1}$ Zn, em comparação às plantas controle ($10 \mu\text{M L}^{-1}$ Zn), além de obter impacto positivo sobre o teor de aminoácidos, glucosinolatos e compostos fenólicos que, por sua vez, são substâncias com reconhecida ação benéfica sobre a saúde humana.

No caso da batateira os resultados não têm sido tão expressivos, pois apesar da utilização de diversos métodos de aplicação e de grandes quantidades do micronutriente, o máximo valor verificado não superou as 30 mg kg^{-1} MS (WHITE et al., 2012; KROMANN et al., 2017), o qual sugere grande dificuldade em biofortificar culturas cujas partes comestíveis são frutos, sementes ou tubérculos, pois, para elevar o teor de Zn nesses órgãos, é necessária maior movimentação do micronutriente no floema das plantas (WHITE; BROADLEY, 2011), tornando a aplicação de Zn diretamente às partes comestíveis das culturas em uma alternativa a ser considerada.

Além disso, os teores de Zn contidos nos alimentos dependem da presença de outros componentes orgânicos para se tornarem biodisponíveis e serem prontamente absorvidos pelo trato gastrointestinal humano. Estas substâncias são divididas em promotores da biodisponibilidade de nutrientes, cuja função seria aumentar a sua absorção, e antinutrientes que inibem a absorção do nutriente. Existem evidências da ação promotora na absorção de Zn de certos quelantes de baixa massa molecular, como o ácido ascórbico, o ácido piconílico e alguns aminoácidos como a metionina, cisteína e histidina (CLEMENS, 2014). Em contrapartida, os antinutrientes, inibidores da biodisponibilidade do Zn, incluem o ácido fítico, o ácido oxálico, alguns taninos e polifenóis, e, também, alguns metais pesados, especialmente o cádmio (HOTZ; BROWN, 2004; BOUIS; WELCH, 2010).

O ácido fítico (AF) apresenta papel destacado como antinutriente para o Zn, sendo que a análise dessa substância tem sido utilizada recorrentemente na avaliação da sua biodisponibilidade em alimentos (WESSELLS; BROWN, 2012; POBLACIONES; RENGEL, 2016). O AF pode ser encontrado na forma de mio-inositol-1,2,3,4,5,6-hexadiidrogênio-fosfato, ou seja, pode apresentar até seis grupos fosfatos esterificados com as hidroxilas do mio-inositol (SHEARS; TURNER, 2007), o qual lhe confere grande capacidade de formar complexos altamente insolúveis com cátions di e trivalentes como Zn^{2+} , $Fe^{2+/3+}$, Ca^{2+} , entre outros (KUMAR et al., 2010) no intestino, impedindo sua absorção pelo organismo humano.

A especiação do AF varia entre as espécies, sendo que em frutas e hortaliças a forma hexa-fosfatada (IP_6) encontra-se em menor quantidade do que em cereais, pois cabe salientar que o AF é o principal composto de reserva de grupos fosfato em sementes (cerca de 80% do P presente em cereais e hortaliças encontram-se na forma de AF) (BROADLEY et al., 2012). Por outro lado, hortaliças de raízes, bulbos e tubérculos podem concentrar até 0,3% de IP_6 na massa seca, sendo a forma mais predominante nesses alimentos (PHILLIPPY; LIN; RASCO, 2004).

Dessa forma, a razão molar entre AF:Zn tem sido proposta como indicador adequado da biodisponibilidade de Zn nos alimentos (HOTZ; BROWN, 2004), sendo que dietas com razão molar AF:Zn acima de 15 apresentam baixa biodisponibilidade de Zn (10% a 15%), entre 5 e 15 apresentam média biodisponibilidade de Zn (~30%), e abaixo de 5 apresentam alta biodisponibilidade (~50%).

Apesar do progresso realizado no suprimento de alimentos e energia à população mundial, a deficiência de Zn, como de outros nutrientes, prevalece na maioria dos países em desenvolvimento (WESSELLS; BROWN, 2012; JOY et al., 2015). Segundo estudo realizado por Beal et al. (2017), a disponibilidade de energia para a população mundial tem incrementado em 26,6% desde 1961 a 2011, sendo que, nesse mesmo período, os autores estimaram que ainda existe em torno de 30% de consumo inadequado de Zn. Para Zhao et al. (2009), isto seria, em grande parte, atribuído à diminuição no fornecimento de nutrientes por culturas melhoradas geneticamente. Os autores verificaram que com o lançamento de novas cultivares de trigo ao mercado, o fornecimento de Se, Fe e, principalmente, Zn diminuiu drasticamente, sendo que o Fe e o Zn têm sido considerados dentre os 20 maiores fatores de risco à saúde humana (STEIN, 2010).

Dessa forma, tanto a fortificação como a biofortificação de alimentos, atualmente, são consideradas a melhor alternativa para o combate à desnutrição (DIMKPA; BINDRABAN, 2016). Neste contexto, mais pesquisas em relação ao tema devem ser desenvolvidas, visando o aumento da disponibilidade de nutrientes à população, abrangendo a maior quantidade de produtos possíveis, e não, somente, limitando-se ao enriquecimento de cereais e os seus derivados, pois, embora existam grandes avanços nesta questão (BOUIS; SALTZMAN, 2017; CAKMAK; MCLAUGHLIN; WHITE, 2017), ainda falta um longo caminho para alcançar a meta da biofortificação com Zn, que é de 40 mg kg⁻¹ MS (CHEN et al., 2017b).

1.2.5 Impacto da biofortificação com Zn na nutrição e saúde humana

A enorme preocupação em aumentar a produtividade das culturas para atender à demanda da população mundial em constante expansão (UNITED NATIONS, 2017) tem provocado diminuição na qualidade nutricional das culturas comestíveis, e esse fenômeno veio a se tornar o principal responsável pelo aumento dos casos de desnutrição em seres humanos no planeta (ZHAO et al., 2009). Entre todos os micronutrientes para os humanos e animais, a deficiência de Zn tem sido identificada como sendo a mais preocupante, gerando, em função disto, grande

interesse na comunidade científica e nas organizações de saúde internacionais (BOUIS; SALTZMAN, 2017; WHO, 2017).

O Zn, depois do ferro, é o segundo micronutriente mais abundante no corpo humano, sendo considerado adequado o intervalo de 70 a 150 $\mu\text{g dL}^{-1}$ no plasma sanguíneo (COMINETTI; COZZOLINO, 2009). Este é encontrado em todas as principais classes enzimáticas, sendo constituinte de mais de 300 metaloenzimas, com as quais o Zn desempenha papel importante nas reações enzimáticas antioxidantes, agindo como fator de proteção, mantendo a integridade estrutural e funcional das membranas (BROADLEY et al., 2012). Contudo, não existe estoque do micronutriente no organismo, uma vez que este é eliminado constantemente pelas fezes. Assim, torna-se indispensável o seu consumo adequado de forma permanente.

A diminuição do teor de Zn no corpo humano prejudica uma vasta gama de funções bioquímicas e fisiológicas, provocando: maior vulnerabilidade a diversos tipos de câncer, infertilidade (hipogonadismo), diminuição de massa, queda de cabelo, unhas deformadas, perda do paladar, atraso no desenvolvimento esquelético, mental e na maturidade sexual, diminuição da capacidade de aprendizagem, dermatites, diarreia persistente, diminuição da recuperação do sistema imunológico e alta suscetibilidade a doenças infecciosas e dificuldade na cicatrização de feridas (COMINETTI; COZZOLINO, 2009; STEIN, 2010). Contudo, a intoxicação com Zn é muito menos comum do que a sua deficiência, pois é necessário o consumo de elevadas quantidades para provocar danos ao organismo das pessoas. Estima-se que a dose na qual começam a se apresentar sintomas de intoxicação, como náuseas e vômitos, dor abdominal e diarreia persistente, está entre 225 a 400 mg Zn (PLUM; RINK, HAASE, 2010).

Diversas intervenções têm sido aplicadas para diminuir a deficiência de Zn na população (WHO/FAO, 2017). Estas podem ser classificadas como: nutracêuticas, que incluem a suplementação farmacêutica e dietética e, também, a diversificação da dieta alimentar nas pessoas. Outra estratégia de intervenção é a biofortificação, que, como explicado anteriormente, inclui a modificação genética dos cultivos e/ou a adequação das práticas agronômicas com o intuito de aumentar o teor de Zn nas partes comestíveis das plantas. As nutracêuticas são intervenções seguras, bem

controladas e de ação rápida no organismo humano, porém muito restritivas para atingir áreas rurais pobres, em função da pouca assistência médica (DEVELOPMENT INITIATIVES, 2017). Sendo assim, a biofortificação, principalmente, agronômica é considerada a forma mais rápida e economicamente viável de superar os problemas relacionados a deficiência de Zn.

Dessa forma, para estimar o impacto da biofortificação com Zn na população, tem-se utilizado a abordagem sobre os anos de vida ajustada por incapacidade (*disability-adjusted life-years* - DALYs) (FIEDLER et al., 2013). Os DALYs equivalem aos anos de “vida saudável” perdidos, ou seja, por meio de estudos de carga de doenças, os DALYs resumem o impacto da mortalidade e incapacidade associada a doenças específicas, mediante a somatória dos anos de vida perdidos no caso de morte prematura e os anos de vida perdidos devido à incapacidade (STEIN, 2010).

Nesse sentido, Joy et al. (2015), com base nos teores de Zn obtidos em 26 trabalhos de fertilização com o micronutriente em diferentes cereais, estimaram o potencial do enriquecimento de fertilizantes com Zn na diminuição da deficiência do nutriente em países africanos, calculando a redução dos DALYs devido à deficiência de Zn. Os autores estimaram que em Malawi existe maior potencial com o uso de fertilizantes granulados enriquecidos com Zn, sendo a redução estimada nos DALYs pela deficiência de Zn de, aproximadamente, 15% e incremento de 4,5% na quantidade de Zn absorvível na dieta das pessoas. Contudo, os autores estimaram que ainda existe em torno de 24 a 66% de pessoas que consomem quantidades deficientes de Zn nos países estudados.

É por isto que, para outorgar maior confiabilidade e impacto da biofortificação agronômica com Zn e outros nutrientes sobre a saúde da população, trabalhos multidisciplinares devem ser desenvolvidos relacionando as áreas do melhoramento genético de plantas, práticas agronômicas e nutrição humana, com o intuito de esclarecer a relação da biofortificação com Zn dos cultivos e a nutrição e estado de saúde das pessoas que consomem esse tipo de alimentos, o qual irá contribuir, indubitavelmente, na conquista do objetivo 2 para o desenvolvimento sustentável, aprovado na Assembleia Geral das Nações Unidas em 2015, que busca erradicar a fome, promover a segurança alimentar, melhorar a nutrição e promover a agricultura sustentável para o ano 2030 (FAO/OPS, 2017).

1.3 REFERÊNCIAS

ALLOWAY, B. J. Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. **Environmental Geochemistry and Health**, Amsterdam, v. 31, n. 5, p.537-548, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10653-009-9255-4>>.

BARRAMEDA-MEDINA, Y.; BLASCO, B.; LENTINI, M.; ESPOSITO, S.; BAENAS, N.; MORENO, D. A.; RUIZ, J. M. Zinc biofortification improves phytochemicals and amino-acidic profile in *Brassica oleracea* cv. Bronco. **Plant Science**, Limerick, v. 258, p. 45-51, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.02.004>>.

BEAL, T.; MASSIOT, E.; JOANNE E. ARSENAULT, J. E.; MATTHEW R. SMITH, M. R.; HIJMAN, R. J. Global trends in dietary micronutrient supplies and estimated prevalence of inadequate intakes. **Plos One**, San Francisco, v. 12, p. 1-20, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175554>>.

BOUIS, H. E.; SALTZMAN, A. Improving nutrition through biofortification: A review of evidence from HarvestPlus, 2003 through 2016. **Global Food Security**, v. 12, p. 49-58, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.gfs.2017.01.009>>.

BOUIS, H. E.; WELCH, R. M. Biofortification – a sustainable agricultural strategy for reducing micronutrient malnutrition in the global south. **Crop Science**, Madison, v. 50, p. 20-32, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2009.09.0531>>.

BROADLEY, M.; BROWN, P.; CAKMAK, I.; RENGEL, Z.; ZHAO, F. Function of nutrients: Micronutrients. In: MARSCHNER, P. (Ed.). **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3. ed. London: Academic Press, 2012. cap. 7, p. 191-248. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00007-8>>.

CAKMAK, I.; KALAYCI, M.; KAYA, Y.; TORUN, A. A.; AYDIN, N.; WANG, Y.; ARISOY, Z.; ERDEM, H.; YAZICI, A.; GOKMEN, O.; OZTURK, L.; HORST, W. J. Biofortification and localization of zinc in wheat grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, n. 16, p. 9092-9102, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/jf101197h>>.

CAKMAK, I.; MCLAUGHLIN, M. J.; WHITE, P. Zinc for better crop production and human health. **Plant and Soil**, The Hauge, v. 411, p.1-4, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-016-3166-9>>.

CHEN, M.; ZHAO, Z.; MENG, H.; YU, S. The antibiotic activity and mechanisms of sugar beet (*Beta vulgaris*) molasses polyphenols against selected food-borne pathogens. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 82, p. 354-360, 2017a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.063>>.

CHEN, M.; MENG, H.; ZHAO, Y.; CHEN, F.; YU, S. Antioxidant and in vitro anticancer activities of phenolics isolated from sugar beet molasses. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 15, n. 313, p. 1-8, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s12906-015-0847-5>>.

CHEN, X-P.; ZHANG, Y-Q.; TONG, Y-P.; XUE, Y-F.; LIU, D-Y.; ZHANG, W.; DENG, Y.; MENG, Q-F.; YUE, S-C.; YAN, P.; CUI, Z-L.; SHI, X-J.; GUO, S-W.; SUN, Y-X.; YE, Y-L.; WANG, Z-H.; JIA, L-L.; MA, W-Q.; HE, M-R.; ZHANG, X-Y.; KOU, C-L.; LI, Y-T.; TAN, D-S.; CAKMAK, I.; ZHANG, F-S.; ZOU, C-Q. Harvesting more grain zinc of wheat for human health. **Scientific Reports**, Tokyo, v. 7, n. 7016, p. 1-8, 2017b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-07484-2>>.

CLEMENS, S. Zn and Fe biofortification: The right chemical environment for human bioavailability. **Plant Science**, Limerik, v. 225, p. 52-57, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.05.014>>.

CLEMENS, S. How metal hyperaccumulating plants can advance Zn biofortification. **Plant and Soil**, The Hauge, v. 411, n. 1-2, p. 111-120, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-016-2920-3>>.

COMINETTI, C.; COZZOLINO, S. M. F. **Funções plenamente reconhecidas de nutrientes - Zinco**. São Paulo: International Life Science Institute do Brasil (ILSI Brasil), 2009. 20 p.

DEVELOPMENT INITIATIVES. **Global nutrition reports 2017: Nourishing the SDGs**. Bristol: Development Initiative, 2017. 122 p.

DIMKPA, C. O.; BINDRABAN, P. S. Fortification of micronutrients for efficient agronomic production: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 36, n. 7, p. 1-27, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s13593-015-0346-6>>.

ELBAZ, B.; SHOSHANI-KNAANI, N.; DAVID-ASSAEL, O.; MIZRACHY-DAGRI, T.; MIZRAHI, K.; SAUL, H.; BROOK, E.; BEREZIN, I.; SHAUL, O. High expression in leaves of the zinc hyperaccumulator *Arabidopsis halleri* of AhMHX, a homolog of an *Arabidopsis thaliana* vacuolar metal/proton exchanger. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 29, n. 6, p. 1179-1190, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01500.x>>.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema de produção da batata**. Brasília: EMBRAPA Hortaliças, 2015. 252 p.

FAO – Organização das nações unidas para a alimentação e agricultura; OPS – Organização Panamericana da saúde. **2016 América latina y el caribe: Panorama de la seguridad alimentaria y nutricional, sistemas alimentarios sostenibles para poner fin al hambre y la malnutrición**. Santiago: FAO-OPS/OMS, 2017. 163 p.

FAOSTAT. **Data base: Crops Productions, 2017.** Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/OA>>. Acesso em: 24 abr. 2017.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; SIDDIQUE K. H. M. Micronutrient application through seed treatments - a review. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Temuco, v. 12, n. 1, p. 125-142, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162012000100011>>.

FERNANDES, A. M.; SORATTO, R. P.; SOUZA, E. F. C.; JOB, A. L. G. Nutrient uptake and removal by potato cultivars as affected by phosphate fertilization of soils with different levels of phosphorus availability. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 41, p. 1-23, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/18069657rbcs20160288>>.

FIEDLER, J. L.; LIVIDINI, K.; KABAGHE, G.; ZULU, R.; TEHINSE, J.; BERMUDEZ, O. I.; JALLIER, V.; GUYONDET, C. Assessing Zambia's industrial fortification options: Getting beyond changes in prevalence and cost-effectiveness. **Food and Nutrition Bulletin**, Tokyo, v. 34, n. 4, p. 501-519, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1177/156482651303400413>>.

GONDIM, A. R. O.; CORREIA, M. A. R.; ALVES, A. U.; PRADO, R. M.; CECÍLIO FILHO, A. B. Crescimento e marcha de acúmulo de nutrientes em plantas de beterraba cultivadas em sistema hidropônico. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 4, p. 526-535, 2011.

HARRIS, D.; RASHID, D.; MIRAJ, G.; ARIF, M.; SHAH, H. On farm seed priming with zinc sulphate solution-A cost-effective way to increase the maize yields of resource-poor farmers. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 102, n. 2, p. 119-127, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2007.03.005>>.

HARRIS, D.; RASHID, A.; MIRAJ, G.; ARIF, M.; YUNAS, M. 'On-farm' seed priming with zinc in chickpea and wheat in Pakistan. **Plant and Soil**, The Hague, v. 306, n. 1-2, p. 3-10, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-007-9465-4>>.

HAYDON, M. J.; COBBETT, C. S. A novel major facilitator super family protein at the tonoplast influences zinc tolerance and accumulation in Arabidopsis. **New Phytologist**, Cambridge, v. 143, n. 4, p. 1705-1719, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1104/pp.106.092015>>.

HOTZ, C.; BROWN, K. H. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. **Food and Nutrition Bulletin**, Tokyo, v. 25, p. S94-S203, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182010000200014>>.

JOY, E. J. M.; STEIN, A. J.; YOUNG, S. D.; ANDER, E. L.; WATTS, M. J.; BROADLEY, M. B. Zinc-enriched fertilizers as a potential public health intervention in Africa. **Plant and Soil**, The Hague, v. 389, p. 1-24, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-015-2430-8>>.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. New York: CRC Press, 2011. 505 p.

KROMANN, P.; VALVERDE, F.; ALVARADO, S.; VÉLEZ, R.; PISUÑA, J.; POTOSÍ, B.; TAPE, A.; CABALLERO, D.; CABEZAS, A.; DEVAUX, A. Can Andean potatoes be agronomically biofortified with iron and zinc fertilizers?. **Plant and Soil**, The Hauge, v. 411, n. 1-2, p. 121-138, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-016-3065-0>>.

KUMAR, V.; SINHA, A. K.; MAKAR, H. P. S.; BECKER, K. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. **Food Chemistry**, London, v. 120, n. 4, p. 945-959, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.052>>.

MARSCHNER, P. Rhizosphere Biology. In: _____. **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3. ed. London: Academic Press, 2012. cap. 15, p. 369-388. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00015-7>>.

MAYNARD, D. N.; HOCHMUTH, G. J. **Knott's handbook for vegetable growers**. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2007. 621 p.

MCGRATH, J. M.; LOBELL, D. B. Reduction of transpiration and altered nutrient allocation contribute to nutrient decline of crops grown in elevated CO₂ concentrations. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 36, p. 697-705, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/pce.12007>>.

MUNAWAR, M.; IKRAM, M.; IQBAL, M.; RAZA, M. M.; HABIB, S.; HAMMAD, G.; NAJEEBULLAH, M.; SALEEM, M.; ASHRAF, R. Effect of seed priming with zinc, boron and manganese on seedling health in carrot (*Daucus carota* L.). **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, London, v. 5, n. 22, p. 2697-2702, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/IJACS/2013/5-22/2697-2702>>.

OVA, E. A.; KUTMAN, U. B.; OZTURK, L.; CAKMAK, I. High phosphorus supply reduced zinc concentration of wheat in native soil but not in autoclaved soil or nutrient solution. **Plant and Soil**, The Hauge, v. 393, n. 1-2, p. 147-162, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-015-2483-8>>.

OVEČKA, M.; TAKÁČ, T. Managing heavy metal toxicity stress in plants: Biological and biotechnological tools. **Biotechnology Advances**, New York, v. 32, n. 1, p. 73-86, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.11.011>>.

PHILLIPPY, B. Q.; LIN, M.; RASCO, B. Analysis of phytate in raw and cooked potatoes. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 17, n. 2, p. 217-226, 2004. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2003.08.001>>.

PINTO, E.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O. Cation transporters/channels in plants: Tools for nutrient biofortification. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 179, p. 64-82, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2015.02.010>>.

PLUM, L. M.; RINK, L.; HAASE, H. The essential toxin: impact of zinc on human health. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Basel, v. 7, n. 4, p. 1342-1365, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/ijerph7041342>>.

POBLACIONES, M. J.; RENGEL, Z. Soil and foliar zinc biofortification in field pea (*Pisum sativum* L.): Grain accumulation and bioavailability in raw and cooked grains. **Food Chemistry**, London, v. 212, p. 427-433, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.189>>.

PURQUERIO, L. F. V.; MELO, P. C. T. Hortaliças pequenas e saborosas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 1-1, 2011.

SADEGHZADEH, B. A review of zinc nutrition and plant breeding. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Temuco, v. 13, n. 4, p. 905-927, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162013005000072>>.

SAGARDOY, R.; MORALES, F.; LÓPEZ-MILLÁN, A. F.; ABADÍA, A.; ABADÍA, J. Effects of zinc toxicity on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants grown in hydroponics. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 11, n. 3, p. 339-350, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1438-8677.2008.00153.x>>.

SAGARDOY, R.; VÁZQUEZ, S.; FLOREZ-SARASA, I. D.; ALBACETE, A.; RIBAS-CARBÓ, M.; FLEXAS, J.; ABADÍA, J.; MORALES, F. Stomatal and mesophyll conductances to CO₂ are the main limitations to photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*) plants grown with excess zinc. **New Phytologist**, Cambridge, v. 187, n. 1, p. 145-158, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03241.x>>.

SARRET, G.; WILLEMS, G.; ISAURE, M. P.; MARCUS, M. A.; FAKRA, S. C.; FRÉROT, H.; PAIRIS, S.; GEOFFROY, N.; MANCEAU, A.; SAUMITOU LAPRADE, P. Zinc distribution and speciation in *Arabidopsis halleri* × *Arabidopsis lyrata* progenies presenting various zinc accumulation capacities. **New Phytology**, Cambridge, v. 184, n. 3, p. 581-595, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02996.x>>.

SHEARS, S. B.; TURNER, B. L. Nomenclature and terminology of inositol phosphates: clarification and a glossary of terms. In: TURNER, B. L.; RICHARDSON, A. E.; MULLANEY, E. J. (Eds.). **Inositol Phosphates: linking agriculture and the environment**. Pondicherry: CABI/SPi, 2007. cap. 1, p. 1-6.

SINGH, M. V. Micronutrient deficiencies in crops and soils in India. In: ALLOWAY, B. (Ed.). **Micronutrient deficiencies in global crop production**. Dordrecht: Springer, 2008. cap. 4, p. 93-126.

SORATTO, R. P.; FERNANDES, A. M.; SOUZA-SCHLICK, G. D. Extração e exportação de nutrientes em cultivares de batata: II – micronutrientes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, n. 6, p. 2057-2071, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832011000600021>>.

SORATTO, R. P.; PILON, C.; FERNANDES, A. M.; MORENO, L. A. Phosphorus uptake, use efficiency, and response of potato cultivars to phosphorus levels. **Potato Research**, Wageningen, v. 58, p. 121-134. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11540-015-9290-8>>.

STEIN, A. J. Global impacts of human mineral malnutrition. **Plant and Soil**, The Hague, v. 335, n. 1-2, p. 133-154, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-009-0228-2>>.

SUBRAMANIAN, N. K.; WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R.; RAMSAY, G. The three-dimensional distribution of mineral in potato tubers. **Annals of Botany**, London, v. 107, n. 4, p. 681-691, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcr009>>.

UNITED NATIONS. **The impact of population momentum on future population growth**. New York: United Nations, 2017.

VALLADARES, G. S.; SANTOS, G. C. G. dos.; ABREU, C. A. de.; CAMARGO, O. A. de.; FERRERO, J. P. Zinco total e disponível em amostras de perfis de solos do Estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 4, p. 1105-1114, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052009000400031>>.

WELCH, R. M.; GRAHAM, R. D. Agriculture: the real nexus for enhancing bioavailable micronutrients in food crops. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, New York, v. 18, n. 4, p. 299-307, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.03.001>>.

WESSELLS, K. R.; BROWN, K. H. Estimating the global prevalence of zinc deficiency: results based on zinc availability in national food supplies and the prevalence of stunting. **Plos One**, San Francisco, v. 7, n. 11, p. 1-11. 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0050568>>.

WHITE, P. Long-distance transport in the xylem and phloem. In: MARSCHNER, P. (Ed.). **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3. ed. London: Academic Press, 2012. cap. 3, p. 49-70. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00003-0>>.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Physiological limits to zinc biofortification of edible crops. **Frontiers in Plant Science**, London, v. 2, n. 80, p. 1-11, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2011.00080>>.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R.; HAMMOND, J. P.; RAMSAY, G.; SUBRAMANIAN, N. K.; THOMPSON, J.; WRIGHT, G. Biofortification of potato tubers using foliar zinc-fertilizer. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v. 87, n. 2, p. 123-129, 2012.

WHO. **Global Data base on Child Growth and Malnutrition: Joint child malnutrition estimates - Levels and trends, 2017**. Disponível em: <<http://apps.who.int/gho/data/node.wrapper.nutrition-2016?lang=en>>. Acesso em: 15 mai. 2017.

WHO/FAO. **Guías para la fortificación de alimentos con micronutrientes**. Switzerland: WHO/FAO, 2017.

ZHAO, F. J.; SU, Y. H.; DUNHAM, S. J.; RAKSZEGLI, M.; BEDO, Z.; MCGRATH, S. P.; SHEWRY, P. R. Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin. **Journal of Cereal Science**, London, v. 49, n. 2, p. 290-295, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2008.11.007>>.

ZOU, C.; GAO, X.; SHI, R.; FAN, X.; ZHANG, F. Micronutrient deficiencies in crop production in China. In: ALLOWAY, B. (Ed). **Micronutrient deficiencies in global crop production**. Dordrecht: Springer, 2008. cap. 5, p. 127-148.

CAPÍTULO 2 - Fortificação e biodisponibilidade de Zn em batata

RESUMO - A maioria dos solos no mundo apresentam baixo teor de Zn disponível às culturas, resultando em significativa redução de produtividade e problemas de saúde à população. Contudo, o condicionamento osmótico de tubérculos de batata em soluções contendo Zn pode ser um efetivo método para a sua fortificação. Para avaliar o efeito da concentração de Zn e do tempo de condicionamento osmótico sobre a fortificação e a biodisponibilidade de Zn, tubérculos de batata foram completamente imersos em soluções com 0, 10, 20 e 30 mg mL⁻¹ Zn durante 12, 16, 20 e 24 horas. A massa seca dos tubérculos e os teores de Zn e de ácido fítico (AF) foram avaliados para obter a razão molar AF:Zn. O aumento do tempo de condicionamento osmótico incrementou o teor de Zn no córtex dos tubérculos. O aumento da concentração de Zn na solução incrementou o teor do nutriente de forma linear no córtex e na região central dos tubérculos, enquanto na periderme os teores ajustaram-se ao modelo matemático não linear logístico, com saturação a partir de 10 mg mL⁻¹ Zn na solução. Verificou-se aumento da biodisponibilidade de Zn com o aumento da concentração em solução. Substancial incremento na biodisponibilidade de Zn foi obtido pelo condicionamento osmótico dos tubérculos por 12 horas e com a concentração de 10 mg mL⁻¹ Zn.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L., biofortificação, ácido fítico, micronutriente

2.1 INTRODUÇÃO

O Zn é essencial ao homem. Mesmo requerido em pequenas quantidades, participa de importantes processos metabólicos como ativador enzimático, da síntese de proteínas e carboidratos, da replicação do ácido desoxirribonucleico (ADN) e da transcrição do ácido ribonucleico (ARN), além de fazer parte da estrutura da cromatina (ALLOWAY, 2009; BROADLEY et al., 2012). Contudo, cerca de 30% da população mundial apresenta deficiência desse micronutriente, situação que leva as pessoas a terem alta probabilidade de sofrerem doenças infecciosas, dano no ADN, limitado crescimento e funcionamento do sistema imunológico (COMINETTI; COZZOLINO, 2009; WHO, 2013).

A carência de Zn em grande parte da população é consequência do baixo consumo de alimentos de origem animal, principalmente, em países de baixa renda (WESSELLS; BROWN, 2012) e ao alto consumo de alimentos com baixos teores do nutriente (CAKMAK et al., 2010; PINTO; FERREIRA, 2015). Como causa de alimentos pobres em Zn, tem-se a grande quantidade de solos agrícolas deficientes no micronutriente, superando, em algumas regiões do mundo, 49% das áreas agricultáveis (ALLOWAY, 2009). Tal condição motiva pesquisadores a desenvolver métodos que permitam aumentar, em partes comestíveis das plantas, o teor biodisponível de elementos essenciais aos seres humanos e animais (WHITE; BROADLEY, 2011; HUSSAIN et al., 2012; WHITE et al., 2012). Na agricultura, duas possibilidades têm sido trabalhadas: a biofortificação agronômica (CAKMAK, 2009; LIU et al., 2016) e a biofortificação genética (WHITE; BROADLEY, 2009; BOUIS; SALTZMAN, 2017).

Do Zn presente nos alimentos consumidos pelos humanos, somente uma parte encontra-se biodisponível e pode ser prontamente absorvida pelo trato gastrointestinal. Existem componentes orgânicos, intrínsecos aos vegetais, que podem diminuir a sua biodisponibilidade, como o AF (LAZARTE et al., 2015). Esse composto vem-se tornando de grande importância para a saúde pública e a nutrição humana, uma vez que a sua estrutura química lhe confere forte capacidade para formar sais altamente insolúveis com cátions divalentes e trivalentes como o Zn^{2+} , o $\text{Fe}^{2+/3+}$ e o Ca^{2+} (KUMAR et al., 2010). Assim, a razão molar entre AF:Zn tem sido

proposta como indicador adequado da biodisponibilidade de Zn nos alimentos (HOTZ; BROWN, 2004) e amplamente utilizada na literatura (HUSSAIN et al., 2012; WESSELLS; BROWN, 2012; POBLACIONES; RENGEL, 2016).

Por ser uma cultura altamente produtiva, estar presente na dieta da maioria da população mundial e ser um alimento de boa digestibilidade (PHILLIPPY; LIN; RASCO, 2004; BURLINGAME; MOUILLÉ; CHARRONDIÈRE, 2009; SUBRAMANIAN et al., 2011), a batata tem excelente potencial para a biofortificação agronômica. Contudo, aumentar o teor de Zn nos tubérculos por meio de práticas agronômicas tem sido um desafio, principalmente, devido à baixa mobilidade desse micronutriente no floema (BROADLEY et al., 2012; WHITE et al., 2012; KROMANN et al., 2017) e à forte adsorção do Zn aos constituintes do solo (HAN et al., 2011), tornando-se a fortificação em pós-colheita em uma alternativa a ser considerada (DIMKPA; BINDRABAN, 2016).

Dessa forma, para aumentar o teor de Zn em tubérculos de batata e a sua biodisponibilidade para o organismo humano, testou-se a hipótese que o condicionamento osmótico de tubérculos em soluções com Zn pode ser uma efetiva estratégia para a sua fortificação. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da concentração de Zn e o tempo de condicionamento osmótico de tubérculos sobre a fortificação e a biodisponibilidade de Zn.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Localização da área experimental

O experimento foi realizado em laboratório da Universidade Estadual Paulista (UNESP), câmpus de Jaboticabal-SP, Brasil.

2.2.2 Tratamentos e delineamento experimental

Tubérculos de batata (*Solanum tuberosum* L. 'Ágata') com massa média de 85 ± 5 g foram usados. Inicialmente, foram lavados em água corrente e em água deionizada e deixados sobre a bancada para secar durante 12 horas.

Os tubérculos foram totalmente imersos em soluções preparadas com água deionizada ($\text{pH} = 7,0$) e $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Synth®: 22,7% Zn – 11,1% S), com concentrações de 0, 10, 20 e 30 mg mL^{-1} Zn (0Zn, 10Zn, 20Zn e 30Zn, respectivamente), durante 12, 16, 20 e 24 horas, permanecendo durante o tratamento, no laboratório, sob temperatura ambiente (21 a 27°) e ausência de luz. Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4×4 , com cinco repetições. Cada unidade experimental foi constituída por dez tubérculos imersos em um litro de solução. Ao fim do tempo de condicionamento osmótico, os tubérculos foram retirados das soluções, e novamente submetidos à lavagem em água corrente, solução de 0,1M HCl, solução de detergente neutro (3mL L^{-1}), e água deionizada (BOARETTO et al., 2009). Em seguida, foram colocados sobre a bancada forrada com papel toalha por 12 horas para secar.

2.2.3 Determinação do teor de Zn

Três tubérculos de cada unidade experimental foram separados em periderme, córtex (aproximadamente um centímetro de profundidade) e em região central. Foram colocados em estufa com circulação forçada de ar, a 65°C, até atingirem massa constante. O material seco foi pesado em balança de precisão, e determinada a massa seca (MS) de cada parte dos tubérculos. Posteriormente, o material foi moído em moinho tipo Wiley e passado por peneira de 2 mm, para ser submetido à digestão nitroperclórica para a determinação do teor de Zn (MIYAZAWA et al., 2009). O teor de Zn e a MS foram utilizadas para calcular o acúmulo de Zn em cada parte analisada dos tubérculos.

2.2.4 Determinação da biodisponibilidade de Zn

Foi realizada a avaliação da biodisponibilidade de Zn através da razão molar AF:Zn (POBLACIONES; RENGEL, 2016) nas partes principalmente consumidas dos tubérculos, ou seja, córtex e região central. Para a extração e determinação de AF, foi utilizada a metodologia descrita por Haug e Lantzsch (1983) modificada. As amostras de batata foram colocadas em tubos de polipropileno, contendo 2 mL de

meio de extração (solução de 0,2M HCl), e agitadas por, aproximadamente, três horas à temperatura ambiente. Em seguida, o extrato foi centrifugado a $4.500 \times g$ por 20 minutos. Para a precipitação com Fe, uma alíquota de 0,5 mL do sobrenadante de cada amostra foi colocada em tubo de vidro com tampa rosca, ao qual se agregou 1 mL de solução ácida de Fe^{3+} (0,067 g de FeCl_3 diluído em 1 L de 0,2M HCl) e, posteriormente, colocados em banho de água a ebulição durante 30 minutos. Após o resfriamento à temperatura ambiente, a mistura foi centrifugada novamente a $4.500 \times g$ por 20 minutos. Finalmente, foi pipetado 1 mL do sobrenadante e misturado com 1,5 mL de solução de bipyridina a 1% (5 g de bipyridina e 5 mL de ácido tioglicólico diluído em 500 mL de água deionizada). Realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 519 nm, sendo os valores transformados em mg de AF por 100 g MS, com o uso de uma curva de calibração externa, construída a partir de soluções de concentrações de fitato de sódio (SIGMA), que passaram pelo mesmo procedimento supradito.

2.2.5 Análise estatística

Foi realizada análise de variância dos dados. Para o teor de Zn em cada parte do tubérculo, realizou-se o estudo de regressão polinomial e não linear para ajustes de modelos matemáticos em função da concentração de Zn e do tempo de condicionamento osmótico, escolhendo-se a equação significativa e com maior coeficiente de determinação (R^2). Para cada tempo de condicionamento osmótico, a biodisponibilidade de Zn foi comparada pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, em cada região (córtex e central) do tubérculo.

2.3 RESULTADOS

O teor de Zn foi afetado pela concentração do micronutriente nas três partes do tubérculo, enquanto o tempo de condicionamento osmótico somente teve efeito no teor de Zn no córtex do tubérculo. Não houve efeito da interação dos fatores avaliados sobre essa característica.

O tratamento que promoveu os maiores teores de Zn nas diferentes partes do tubérculo foi o 30Zn, sendo a periderme da batata a região que apresentou os maiores valores (Figura 1), aproximadamente, 26 e 74% maior que o verificado no córtex e na região central, respectivamente.

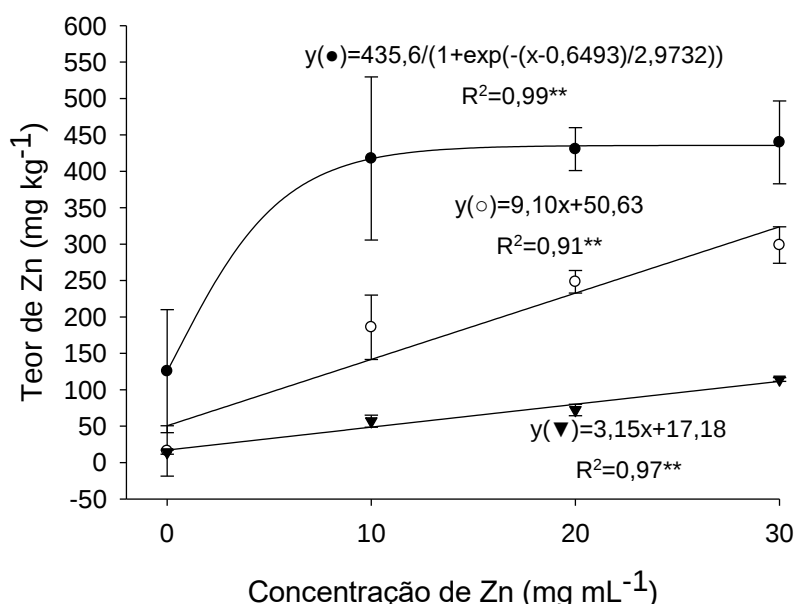


Figura 1. Teor de Zn (média $\pm$ EP., $n = 3$) em periderme (●), em córtex (○) e em região central (▼) de tubérculo de batata 'Ágata' em função da concentração de Zn em solução. ** denota significância a 1% de probabilidade pelo teste F.

O aumento no teor de Zn na periderme do tubérculo de batata ajustou-se ao modelo matemático não linear logístico de três parâmetros, pois esse representa de forma eficiente ($R^2=0,99$) a resposta da variável em função das concentrações do micronutriente na solução. Dessa forma, pode-se observar que a partir do tratamento 10Zn não houve incremento do teor de Zn na periderme, com saturação em, aproximadamente, 435 mg kg⁻¹ MS (Figura 1). Por outro lado, o ponto de inflexão da curva foi obtido com a concentração estimada de 0,65 mg mL⁻¹ Zn, ou seja, com essa concentração o 50% do máximo teor na periderme foi alcançado (217,7 mg kg⁻¹ MS).

No córtex dos tubérculos observou-se incremento linear do teor de Zn motivado pelo aumento das concentrações do micronutriente em solução. Assim, pode-se verificar mais de seis vezes de incremento entre o valor obtido com o

tratamento 30Zn (323,7 mg kg⁻¹ MS) em relação ao tratamento 0Zn (50,6 mg kg⁻¹ MS).

Semelhante ao observado no córtex do tubérculo, houve incremento linear nos teores de Zn na região central, obtendo-se 111,6 mg kg⁻¹ MS com o tratamento 30Zn (Figura 1), valor que é cerca de seis vezes maior ao verificado com o tratamento 0Zn.

No córtex dos tubérculos, houve incremento linear do teor de Zn em função do tempo de condicionamento osmótico (Figura 2). Maior teor de Zn foi observado nos tubérculos imersos por 24 horas (204,2 mg kg⁻¹ MS), valor 16,6% superior ao menor tempo de imersão (170,2 mg kg⁻¹ MS), que, por sua vez, foi cerca de 9% menor que o verificado para os tempos de 16 e 20 horas, os quais não se diferenciaram significativamente entre si (Figura 2).

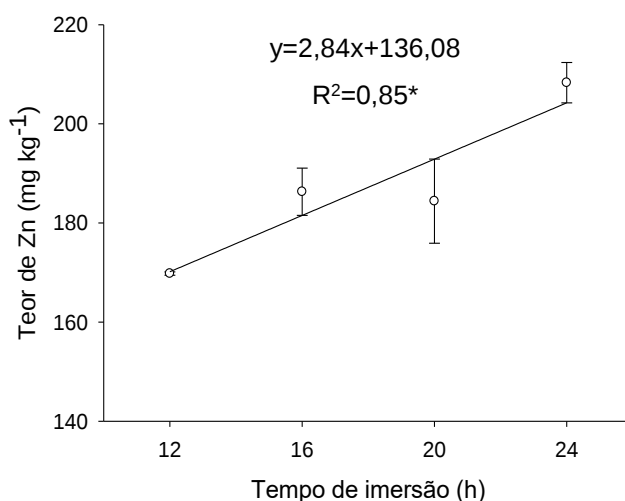


Figura 2. Teor de Zn (média $\pm$ EP., $n = 3$) no córtex de tubérculos de batata 'Ágata' imersos em soluções enriquecidas com Zn em função do tempo de condicionamento osmótico. * denota significância a 5% de probabilidade pelo teste F.

Com relação à biodisponibilidade, os valores obtidos variaram de moderado a alto, principalmente em função da ausência ou presença de Zn na solução. De acordo com a classificação de Hotz e Brown (2004), tanto no córtex como na região central do tubérculo observou-se biodisponibilidade moderada com o tratamento 0Zn, independentemente do tempo de condicionamento osmótico utilizado, sendo que com a adição do micronutriente em solução a biodisponibilidade passou a ser alta para todos os tratamentos (Figura 3).

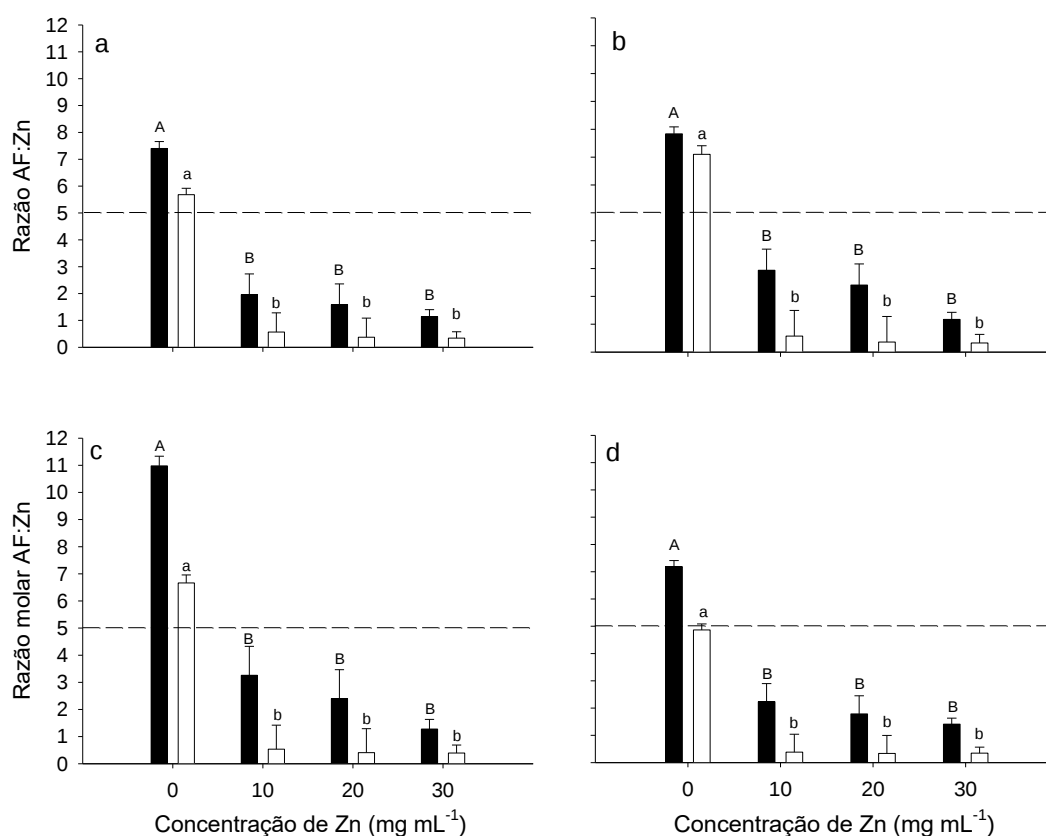


Figura 3. Biodisponibilidade de Zn no córtex (barras brancas, letras minúsculas) e na região central (barras negras, letras maiúsculas) em tubérculos de batata 'Ágata' submetidos a condicionamento osmótico com Zn por 12 (a); 16 (b); 20 (c) e 24 (d) horas. Valores acima e abaixo da linha pontuada indicam biodisponibilidade moderada (Razão molar 5-15) e alta (Razão molar <5), respectivamente (HOTZ; BROWN, 2004).

Verificou-se diferença na quantidade de Zn acumulada entre as partes do tubérculo. De forma geral, o córtex foi a parte que apresentou o maior acúmulo do micronutriente, em função da sua maior MS, seguida pela periderme, que apresentou substancial diferença quanto ao teor de Zn alcançado (Tabela 1).

Com a presença de Zn em solução, incrementou-se a quantidade total do micronutriente acumulada nos tubérculos, sendo que os valores verificados nos tratamentos 10Zn, 20Zn e 30Zn foram 3,6; 4,7 e 5,3 vezes maiores aos do tratamento 0Zn, respectivamente (Tabela 1), com o qual é possível determinar que a quantidade necessária para suprir o requerimento diário de um homem adulto, alimentado somente de batata (incluindo a periderme), diminui em mais de 70%.

Tabela 1. Teor de Zn, massa seca (MS), acúmulo de Zn e quantidade de batata necessária para suprir o requerimento diário de Zn, em diferentes partes de tubérculos de batata 'Ágata' submetidos a condicionamento osmótico com Zn.

Tratamentos	Teor de Zn mg kg ⁻¹	MS do tubérculo g	Acúmulo de Zn no tubérculo mg	Quantidade de batata ^(a) kg
0Zn				
Periderme	125,0	4,5	0,56	
Córtex	50,6	11,2	0,57	
Região central	17,2	10,0	0,17	
Total		25,7	1,30	1,04
10Zn				
Periderme	435,6	4,9	2,13	
Córtex	141,7	15,9	2,25	
Região central	48,7	5,2	0,25	
Total		26,0	4,63	0,29
20Zn				
Periderme	435,6	5,0	2,18	
Córtex	232,7	14,7	3,42	
Região central	80,1	6,1	0,49	
Total		25,8	6,09	0,22
30Zn				
Periderme	435,6	4,8	2,08	
Córtex	323,7	12,3	3,98	
Região central	111,6	7,4	0,83	
Total		24,5	6,89	0,19

^(a) Requerimento de 11 mg dia⁻¹ Zn (WHITE et al., 2012).

2.4 DISCUSSÃO

A fortificação mostrou-se viável pelo condicionamento osmótico com Zn em tubérculos de batata, pois o método foi direto e rápido em comparação aos resultados obtidos com biofortificação agrônômica na cultura (WHITE et al., 2012; KROMANN et al., 2017). O elevado teor de P disponível no meio de cultivo tem sido associado à diminuição do teor de Zn em tubérculos de batata (FERNANDES et al., 2017), o qual é agravado com a aplicação de fertilizantes fosforados nestas condições, o que por sua vez, nessa cultura, muitas vezes é realizada sem seguir recomendações técnicas.

Efeitos positivos da concentração e do tempo de condicionamento osmótico foram verificados, pois mostraram-se eficientes em elevar o teor de Zn no tubérculo da batata. O condicionamento osmótico por 12 horas proporcionou grande incremento no teor de Zn (Figura 2), em comparação aos valores apresentados na literatura (WHITE et al., 2012; LAZARTE et al., 2015; FERNANDES et al., 2017).

Contudo, considerando o ajuste linear obtido no córtex do tubérculo (Figura 2) e em função de ser um trabalho inédito na implementação dessa metodologia em batata, provavelmente, o condicionamento osmótico com Zn possa ser efetivo na fortificação do alimento utilizando-se tempos menores e concentrações maiores às testadas no presente trabalho.

Verificou-se que ao colocar tubérculos em soluções com Zn, o micronutriente foi absorvido e acumulado em tecidos de diferentes regiões, com menor teor à medida que mais se aproxima do centro do tubérculo (Figura 1). Diferenças na partição de minerais e compostos orgânicos têm sido verificados em tubérculos de batata (PHILLIPPY; LIN; RASCO, 2004; SUBRAMANIAN et al., 2011). Com base na massa seca, Subramanian et al. (2011) observaram que os tecidos mais externos dos tubérculos apresentam maior teor de fósforo e cloro que as porções mais internas. A presença desses minerais pode ter obstruído a difusão do Zn através dos tecidos do tubérculo, atuando como uma barreira química devido à sua carga negativa.

A partir do tratamento 10Zn, conseguiu-se biodisponibilizar 50% do Zn presente no tubérculo (biodisponibilidade alta) em função da diminuição da razão molar AF:Zn, sem serem verificadas diferenças em relação aos tratamentos 20Zn e 30Zn (Figura 3). Além disso, com dito tratamento, incrementou-se o teor de Zn em mais de 64% em comparação aos teores alcançados com o tratamento 0Zn em todas as partes dos tubérculos analisadas (Figura 1). Portanto, pode-se afirmar que a presença de Zn em solução incrementou a biodisponibilidade do micronutriente nos tubérculos, passando de moderada a alta, independentemente do tempo utilizado para o condicionamento osmótico (Figura 3). Dessa forma, a fortificação foi alcançada, pois o indivíduo alimenta-se do tubérculo como um todo e não só de determinada parte dele. Por outro lado, o maior teor de Zn na periderme confirma a importância de se consumir o tubérculo por inteiro, inclusive com a casca. De acordo com Subramanian et al. (2011), a casca ou periderme da batata é a porção do tubérculo mais rica em Zn.

Os resultados obtidos no presente trabalho concordam com os verificados por Subramanian et al. (2011), que observaram maior teor de Zn na periderme de tubérculos de batata, pois a suberização natural da mesma em tubérculos maduros

limita, em parte, a passagem de íons, ficando, portanto, concentrados nas porções mais externas. Assim, explica-se a grande diferença no teor de Zn verificado na periderme do tubérculo em relação ao córtex e à região central (Figura 1).

Considerando a necessidade de consumir diariamente 11 mg de Zn e que o máximo teor do micronutriente obtido em trabalhos de biofortificação agrônômica em batata chegou a 30 mg kg⁻¹ MS (WHITE et al., 2012; KROMANN et al., 2017), uma pessoa que se alimenta com 200 g dessa batata biofortificada teria seu requerimento atendido em 11,5%, ou dito de outra forma, a pessoa precisaria consumir diariamente 8,7 porções de batata (1,74 kg) para atender o seu requerimento total de Zn, o qual é, no mínimo, inviável. No entanto, com os resultados obtidos no presente trabalho (Tabela 1), seria necessário consumir 40; 83; 87 e 89% menos batata para atender o requerimento da pessoa, com os tratamentos 0Zn; 10Zn; 20Zn e 30Zn, respectivamente.

Com esses resultados fica demonstrado o impacto e os benefícios que pode trazer a fortificação de tubérculos de batata mediante o condicionamento osmótico, uma vez que a partir do tratamento 10Zn, o consumo de, aproximadamente, 200 g de batata seria suficiente para garantir o requerimento diário de Zn (Tabela 1). Contudo, cabe salientar que o processamento dos alimentos (p.e. batata cozida), muitas vezes, diminui o seu valor nutritivo para a saúde humana (LAZARTE et al., 2015), o que pode aumentar a quantidade de batata a ser consumida para atender à demanda no micronutriente. Também há necessidade de avanços em biomarcadores e definição de padrões (COMINETTI; COZZOLINO, 2009), que permitam identificar valores mais apropriados de Zn na população (RUOCCO et al., 2017).

Dessa forma, considerando que a batata é um alimento produzido e consumido mundialmente (KROMANN et al., 2017) e que para o seu cultivo, de forma geral, são utilizados tubérculos sementes, frente aos resultados obtidos, o condicionamento osmótico com Zn pode ser usado como um método de biofortificação agrônômica. Contudo, é necessário a condução de mais trabalhos para testar a efetividade desse método sobre a biofortificação e biodisponibilidade de Zn em tubérculos de batata.

2.5 CONCLUSÃO

Substancial incremento na biodisponibilidade de Zn é obtida pelo condicionamento osmótico de tubérculos de batata durante 12 horas e com a concentração de 10 mg mL⁻¹ Zn, constituindo-se em efetiva estratégia para a sua fortificação.

2.6 REFERÊNCIAS

ALLOWAY, B. J. Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. **Environmental Geochemistry and Health**, Amsterdam, v. 31, n. 5, p.537-548, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10653-009-9255-4>>.

BOARETTO, A. E.; RAIJ, B. VAN.; SILVA, F. C. DA.; CHITOLINA, J. C.; TEDESCO, M. J.; CARMO, C. A. F. S. DO. Amostragem, acondicionamento e preparo de amostras de plantas para análise química. In: SILVA, F. C. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA, 2009, cap. 2, p. 59-86.

BOUIS, H. E.; SALTZMAN, A. Improving nutrition through biofortification: A review of evidence from HarvestPlus, 2003 through 2016. **Global Food Security**, Washington, v. 12, p. 49-58. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.gfs.2017.01.009>>.

BROADLEY, M.; BROWN, P.; CAKMAK, I.; RENGEL, Z.; ZHAO, F. Function of nutrients: Micronutrients. In: MARSCHNER, P. (Ed.). **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3. ed. London: Academic Press, 2012. cap. 7, p. 191-248. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00007-8>>.

BURLINGAME, B.; MOUILLÉ, B.; CHARRONDIÈRE, R. Nutrients, bioactive non-nutrients and anti-nutrients in potatoes. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 22, n. 6, p. 494-502, 2009. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2009.09.001>>.

CAKMAK, I. Enrichment of fertilizers with zinc: An excellent investment for humanity and crop production in India. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, New York, v. 23, n. 4, p. 281-289, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jtemb.2009.05.002>>.

CAKMAK, I.; KALAYCI, M.; KAYA, Y.; TORUN, A. A.; AYDIN, N.; WANG, Y.; ARISOY, Z.; ERDEM, H.; YAZICI, A.; GOKMEN, O.; OZTURK, L.; HORST, W. J. Biofortification and localization of zinc in wheat grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, n. 16, p. 9092-9102, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/jf101197h>>.

COMINETTI, C.; COZZOLINO, S. M. F. **Funções plenamente reconhecidas de nutrientes - Zinco**. São Paulo: International Life Science Institute do Brasil (ILSI Brasil), 2009. 20 p.

DIMKPA, C. O.; BINDRABAN, P. S. Fortification of micronutrients for efficient agronomic production: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 36, n. 7, p. 1-27, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s13593-015-0346-6>>.

FERNANDES, A. M.; SORATTO, R. P.; SOUZA, E. F. C.; JOB, A. L. G. Nutrient uptake and removal by potato cultivars as affected by phosphate fertilization of soils with different levels of phosphorus availability. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 41, p. 1-23, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/18069657rbcs20160288>>.

HAN, X.; LI, X.; UREN, N.; TANG, C. Zinc fractions and availability to soybeans in representative soils of Northeast China. **Journal of Soils and Sediments**, Berlin, v. 11, n. 4, p. 596-606, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11368-011-0336-5>>.

HAUG, W.; LANTZSCH, H. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 34, p. 1423-1426, 1983. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2740341217>>.

HOTZ, C.; BROWN, K. H. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. **Food and Nutrition Bulletin**, Tokyo, v. 25, p. S94-S203, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182010000200014>>.

HUSSAIN, S.; MAQSOOD, M. A.; RENGEL, Z.; AZIZ, T. Biofortification and estimated human bioavailability of zinc in wheat grain as influenced by methods of zinc application. **Plant and Soil**, The Hague v. 361, p. 279-290, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-012-1217-4>>.

KROMANN, P.; VALVERDE, F.; ALVARADO, S.; VÉLEZ, R.; PISUÑA, J.; POTOSÍ, B.; TAIPE, A.; CABALLERO, D.; CABEZAS, A.; DEVAUX, A. Can Andean potatoes be agronomically biofortified with iron and zinc fertilizers?. **Plant and Soil**, The Hague, v. 411, n. 1-2, p. 121-138, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-016-3065-0>>.

KUMAR, V.; SINHA, A. K.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. **Food Chemistry**, London, v. 120, n. 4, p. 945-959, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.052>>.

LAZARTE, C. E.; CARLSSON, N.; ALMGREN, A.; SANDBERG, A.; GRANFELDT, Y. Phytate, zinc, iron and calcium content of common Bolivian food, and implications for mineral bioavailability, **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 39, 111-119, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2014.11.015>>.

LIU, H.; GAN, W.; RENGEL, Z.; ZHAO, P. Effects of zinc fertilizer rate and application method on photosynthetic characteristics and grain yield of summer maize. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Temuco, v. 16, n. 2, p. 550-562, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162016005000045>>.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; MURAOKA, T.; CARMO, C. A. F. S.; MELO, W. J. Análises químicas de tecido vegetal. In: SILVA, F. C. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília:EMBRAPA, 2009, cap. 2, p. 191-233.

PHILLIPPY, B. Q.; LIN, M.; RASCO, B. Analysis of phytate in raw and cooked potatoes. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 17, n. 2, p. 217-226, 2004. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2003.08.001>>.

PINTO, E.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O. Cation transporters/channels in plants: Tools for nutrient biofortification. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 179, p. 64-82, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2015.02.010>>.

POBLACIONES, M. J.; RENGEL, Z. Soil and foliar zinc biofortification in field pea (*Pisum sativum* L.): Grain accumulation and bioavailability in raw and cooked grains. **Food Chemistry**, London, v. 212, p. 427-433, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.189>>.

RUOCCO, M. A. C., CECHINATTI, E. D. P., BARBOSA JUNIOR, F., NAVARRO, A. M. Zinc and selenium status in critically ill patients according to severity stratification. **Nutrition**, New York, (in press), 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2017.07.009>>.

SUBRAMANIAN, N. K.; WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R.; RAMSAY, G. The three-dimensional distribution of mineral in potato tubers. **Annals of Botany**, London, v. 107, n. 4, p. 681-691, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcr009>>.

WESSELLS, K. R.; BROWN, K. H. Estimating the global prevalence of zinc deficiency: results based on zinc availability in national food supplies and the prevalence of stunting. **Plos One**, San Francisco, v. 7, n. 11, p. 1-11, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0050568>>.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets-iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. **New Phytologist**, Cambridge, v. 182, n. 1, p. 49-84, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02738.x>>.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Physiological limits to zinc biofortification of edible crops. **Frontiers in Plant Science**, London, v. 2, n. 80, p. 1-11, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2011.00080>>.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R.; HAMMOND, J. P.; RAMSAY, G.; SUBRAMANIAN, N. K.; THOMPSON, J.; WRIGHT, G. Biofortification of potato tubers using foliar zinc-fertilizer. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v. 87, n. 2, p. 123-129, 2012.

WHO – World Health Organization. **The world health report 2013: research for universal health coverage**. Luxembourg: WHO, 2013. 146 p.

CAPÍTULO 3 – Biofortificação agronômica da beterraba com Zn via condicionamento osmótico de utrículos.

RESUMO – Um terço da população mundial consome quantidades deficitárias de Zn e as medidas adotadas, ainda não são suficientes para resolver o problema. O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o condicionamento osmótico de utrículos de beterraba em soluções enriquecidas com Zn sobre o desempenho agrônomo, fisiológico e capacidade de biofortificação da raiz. Para isto, foram realizados dois experimentos em casa de vegetação, em primavera de 2015 e em outono de 2016. Foram testadas todas as combinações de concentração de Zn (0, 10, e 30 mg mL⁻¹), fonte do micronutriente (sulfato e cloreto) e tempos de condicionamento (12, 16, 20 e 24 horas) de utrículos de beterraba. As plantas foram cultivadas em vasos preenchidos com fibra de casca de coco e fertirrigadas com solução nutritiva sem Zn. A concentração de Zn em solução, principalmente como sulfato, afetou todas as características avaliadas nas plantas de beterraba, sendo que com 30 mg mL⁻¹ Zn foi possível obter o maior teor de Zn na raiz, enquanto o tempo de condicionamento osmótico influenciou somente características de crescimento, sendo 16 horas o tratamento mais recomendável. Dessa forma, pode-se concluir que a imersão de utrículos de beterraba em soluções enriquecidas com Zn pode ser considerada em programas de biofortificação agronômica da cultura.

Palavras-chave: *Beta vulgaris* var. *vulgaris*, valor nutricional, tratamento de sementes, micronutriente

3.1 INTRODUÇÃO

Nas últimas seis décadas, a população mundial triplicou-se (FAOSTAT, 2017), e espera-se que, nas próximas três, o planeta abrigue mais de 9 bilhões de pessoas (UNITED NATIONS, 2017). Com isto, os problemas relacionados à desnutrição, que já são recorrentes e de grande preocupação para as autoridades internacionais, podem aumentar drasticamente (IFPRI, 2017; WHO, 2017).

Dentre as estratégias propostas para combater a desnutrição, a biofortificação tem sido muito importante para melhorar a saúde da população mundial (BOUIS; SALTZMAN, 2017), aumentando tanto a concentração de nutrientes nas partes comestíveis dos alimentos como também a produtividade das culturas (HUSSAIN et al., 2012; WHITE et al., 2012; FIGUEIREDO et al., 2017), beneficiando, assim, a consumidores e a produtores.

A adequação da fertilização, seja por meio de aplicações no solo e/ou foliares, têm apresentado resultados positivos em diferentes culturas (WHITE; BROADLEY, 2011; LIU et al., 2016). No entanto, no caso do Zn, existem alguns fatores que podem causar menor impacto das intervenções, podendo-se mencionar o alto grau de adsorção do mineral à constituintes do solo (HAN et al., 2011), a baixa mobilidade no floema das plantas (BROADLEY et al., 2012), além da sua elevada regulação genética (WHITE; BROADLEY, 2011).

Dessa forma, existe controvérsia entre os resultados da biofortificação agrônômica com Zn em cultivos cujas partes comestíveis não são folhas, pois existem pesquisas onde verificou-se grande incremento do teor com a aplicação do micronutriente (HUSSAIN et al., 2012; POBLACIONES; RENGEL, 2016), enquanto em outras os teores necessários para alcançar o objetivo da biofortificação (40 mg kg⁻¹) não são atingidos (CHEN et al., 2017). Em batata, por exemplo, mesmo aumentando o teor de Zn nos tubérculos, por meio de elevadas aplicações foliares e ao solo, os valores obtidos não superaram as 30 mg kg⁻¹ (WHITE et al., 2012; KROMANN et al., 2017), e em alguns casos com perda de produtividade. Por outro lado, a beterraba, embora haja pouca informação ao respeito, pode ser uma excelente opção para combater a desnutrição com Zn, pois além das suas comprovadas propriedades antioxidantes (CHEN et al., 2015), tem-se verificado

grande incremento no teor de Zn, tanto na folha como na raiz, com a aplicação de fertilizantes orgânicos (GARTLER et al., 2013).

O condicionamento osmótico de sementes em soluções enriquecidas com sais inorgânicos tem sido utilizado em diversas culturas agrícolas na busca de melhorar a germinação, emergência e no estabelecimento inicial das plântulas em regiões sob condições ambientais desfavoráveis (FOTI et al., 2008; MUNAWAR et al., 2013). Contudo, essa técnica pode vir a contribuir também para o aumento na qualidade dos produtos agrícolas, uma vez que é possível aumentar o teor de nutrientes nas partes comestíveis das plantas (HARRIS et al., 2007; FAROOQ; WAHID; SIDDIQUE, 2012). Por tanto, no presente trabalho, testou-se a hipótese que o condicionamento osmótico de utrículos de beterraba pode ser útil para a sua biofortificação agrônômica com Zn.

Dessa forma, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de determinar a melhor concentração de Zn, fonte do micronutriente e tempo de condicionamento osmótico de utrículos de beterraba sobre o desempenho agrônômico, fisiológico e capacidade de biofortificação da raiz.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Local

Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação não climatizada da UNESP, no município de Jaboticabal, SP, situada a 21°15'22" Sul, 48°18'58" Oeste e altitude de 575 metros. As temperaturas médias dentro da casa de vegetação e a umidade relativa do ar, durante os períodos experimentais, oscilaram entre 21,4 a 30,4°C e 20 a 70% em 2015 (setembro a novembro), e de 14,7 a 26,1°C e 53 a 91% em 2016 (maio a julho), respectivamente.

3.2.2 Tratamentos e delineamento experimental

Em cada experimento foram avaliados 24 tratamentos resultantes da combinação de três fatores: concentração de Zn (0, 10 e 30 mg mL⁻¹ Zn), fontes do

micronutriente (sulfato e cloreto de Zn p.a.) e tempo de condicionamento osmótico dos utrículos (12, 16, 20 e 24 horas). Cada experimento foi instalado em delineamento experimental de blocos casualizados, com os tratamentos arranjados em esquema fatorial $3 \times 2 \times 4$, com quatro repetições.

3.2.3 Instalação e condução dos experimentos

A completa imersão dos utrículos de beterraba (*Beta vulgaris* L.), cultivar Tall Top Early Wonder, foi realizada em sacos de polietileno, mantidos na ausência de luz à temperatura ambiente ($\sim 24^{\circ}\text{C}$) durante o tempo requerido para cada tratamento. Utilizou-se a proporção de 2 g de utrículos (aproximadamente 15 utrículos) para 10 mL de solução (MUNAWAR et al., 2013), preparada com água deionizada ($\text{pH} = 7,0$), e quantidades calculadas de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Synth®: 22,7% Zn – 11,1% S) e ZnCl_2 (Dinâmica®: 48% Zn) para os respectivos tratamentos.

Os utrículos tratados foram semeados em bandejas de polietileno de 200 células, utilizando-se vermiculita como substrato. As bandejas foram mantidas em casa de vegetação para o crescimento inicial das plântulas. As mudas foram irrigadas periodicamente com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), preparada com água deionizada, sem fornecimento de Zn e com 50% da força iônica.

O transplante das mudas foi realizado, 18 dias após a semeadura (DAS), em vasos com capacidade de seis dm^3 , preenchidos com fibra de casca de coco (AMAFIBRA, Golden Mix 98), sem fertilizantes, e previamente umedecida com água deionizada. Foram colocadas duas mudas por vaso, com 10 cm de distância entre elas. Os vasos foram separados entre si em 5 cm.

A partir de 24 e 30 DAS, em 2015 e 2016, respectivamente, até o final do experimento, as plantas foram fertirrigadas com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), preparada com água deionizada ($\text{pH} = 5,8 - 6,2$), sem fornecimento de Zn e com 100% da força iônica. A fertirrigação foi realizada até se observar drenagem da solução. Alternou-se, diariamente, a fertirrigação com irrigação de água deionizada, para evitar salinização do substrato. Os experimentos foram concluídos aos 66 DAS.

3.2.4 Características analisadas

a) Trocas gasosas: a taxa fotossintética (A), a condutância estomática (g_s) e a taxa transpiratória (E) de uma folha completamente desenvolvida e sem presença de injúrias de todas as plantas foram avaliadas, aos 47 e 55 DAS em 2015 e 2016, respectivamente, utilizando-se um analisador de gases infravermelho portátil (IRGA, LCPro System, ADC), sob concentração de CO_2 ambiente ($370 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e fluxo de fótons fotossinteticamente ativo (FFFA) de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

b) Teor de Zn foliar ($[\text{ZnF}]$): logo após a realização da análise de trocas gasosas, foi coletada uma folha recém-desenvolvida de cada planta de beterraba, conforme método proposto por Trani et al. (1997). As folhas foram lavadas em água corrente, logo com solução de 0,1M de HCl e lavagem em detergente neutro (3 mL L^{-1}), enxague em água corrente e, finalmente, em água deionizada (BOARETTO et al., 2009). Posteriormente, as amostras foram secas sobre papel toalha, embaladas e identificadas, para a desidratação a 65°C em estufa com circulação forçada de ar até atingirem massa constante. A seguir, o material foi moído em moinho tipo Wiley e passado por peneira de 2 mm, para a determinação do teor de Zn (mg kg^{-1}), no Laboratório Central da FCAV-UNESP, conforme método descrito por Miyazawa et al. (2009).

c) Características de crescimento: em ambos os experimentos, aos 66 DAS, a área foliar (AF) de todas as plantas foi avaliada em medidor eletrônico LI-COR 3100® (cm^2 por planta). Logo após a medição da área foliar, as folhas foram secas até atingirem massa constante, como descrito para o teor foliar de Zn, e foi quantificada a massa seca da parte aérea (MSPA) em g por planta. Imediatamente após a colheita das plantas, foi obtida a massa fresca da raiz (MFR) em balança de precisão. As raízes foram fatiadas e secas em estufa de circulação forçada de ar, conforme já descrito para a quantificação da MSPA, e quantificou-se a massa seca da raiz (MSR).

d) Biofortificação com Zn: após a colheita dos experimentos, avaliou-se o teor do micronutriente (mg kg^{-1}) na massa seca da raiz ($[\text{ZnR}]$). Os procedimentos para preparo das amostras de raízes para avaliação do Zn seguiram os mesmos descritos para o teor de Zn foliar.

3.2.5 Análise estatística

Foi realizada análise de variância dos dados para cada experimento. Quando a razão entre quadrados médios dos resíduos de uma determinada característica foi menor que sete (PIMENTEL GOMES, 2000), foi realizada a análise conjunta dos experimentos para essa característica. Quando na análise conjunta verificou-se efeito significativo para experimentos, realizou-se a interpretação do efeito dos tratamentos separadamente para cada experimento na característica analisada. Para os fatores concentração de Zn e tempo de condicionamento osmótico realizou-se estudo de regressão polinomial e optou-se pela equação significativa e com maior coeficiente de determinação (R^2). O efeito do fator fonte de Zn foi avaliado pelo teste F da análise de variância.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Trocas gasosas

Tanto para as características fisiológicas relacionadas às trocas gasosas das plantas de beterraba, quanto para o [ZnF], de acordo com a análise conjunta, houve efeito dos experimentos e não foi verificada interação entre os tratamentos e os experimentos, à exceção da A (Tabela 1). Portanto, as épocas de cultivo da beterraba causaram diferenças nas características analisadas.

Tabela 1. Resumo da análise conjunta de experimentos (2015 e 2016) para as características avaliadas em plantas de beterraba 'Tall Top Early Wonder'.

	Tratamento (T)	Experimento (E)	T x E	CV (%)
Taxa transpiratória (E)	1,73 ^{ns}	487,06 ^{**}	1,54 ^{ns}	17,0
Condutância estomática (gs)	2,89 ^{**}	156,3 ^{**}	1,34 ^{ns}	19,5
Taxa fotossintética (A)	3,43 ^{**}	10,85 ^{**}	2,23 ^{**}	9,8
Teor de Zn foliar ([ZnF])	1,48 ^{ns}	639,99 ^{**}	1,23 ^{ns}	14,8
Área foliar (AF)	5,36 ^{**}	31,59 ^{**}	1,22 ^{ns}	29,6
Massa seca da parte aérea (MSPA)	3,65 ^{**}	780,53 ^{**}	0,66 ^{ns}	19,9
Massa fresca da raiz (MFR)	4,47 ^{**}	83,84 ^{**}	1,42 ^{ns}	23,7
Massa seca da raiz (MSR)	4,60 ^{**}	124,80 ^{**}	0,87 ^{ns}	25,3
Teor de Zn na raiz ([ZnR])	1,50 ^{ns}	688,02 ^{**}	1,46 ^{ns}	18,0

^{**} e ^{ns} denotam significância a 1% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente.

No experimento de 2015, observou-se efeito da interação entre a concentração de Zn em solução e as fontes do micronutriente utilizadas para o

condicionamento osmótico dos utrículos de beterraba, sobre a *E*, *gs* e *A* (Tabela 2), enquanto em 2016, a concentração de Zn e a fonte do micronutriente agiram separadamente sobre a *E* e sobre a *gs* das plantas. Por outro lado, em 2016, houve interação entre a concentração de Zn e a fonte utilizada e, também, entre a concentração de Zn e o tempo de condicionamento osmótico dos utrículos sobre a *A* (Tabela 3). Em ambos os experimentos, somente a concentração de Zn em solução causou efeito sobre o [ZnF].

Tabela 2. Resumo da análise de variância para as características avaliadas em plantas de beterraba ‘Tall Top Early Wonder’ cultivadas em 2015 em função da concentração, fonte e tempo de condicionamento osmótico de utrículos em soluções enriquecidas com Zn.

	Concentração (C)	Fonte (F)	Tempo (T)	C x F	C x T	F x T	C x F x T	CV (%)
<i>E</i>	10,8**	10,5**	0,3 ^{ns}	6,0**	0,7 ^{ns}	1,4 ^{ns}	0,9 ^{ns}	13,5
<i>gs</i>	8,6**	8,9**	1,5 ^{ns}	5,4**	0,6 ^{ns}	1,1 ^{ns}	1,0 ^{ns}	18,3
<i>A</i>	21,3**	51,8**	1,4 ^{ns}	26,8**	0,4 ^{ns}	1,0 ^{ns}	0,8 ^{ns}	7,2
[ZnF]	5,6**	2,4 ^{ns}	4,6 ^{ns}	1,5 ^{ns}	0,8 ^{ns}	1,4 ^{ns}	0,5 ^{ns}	10,9
AF	30,2**	1,3 ^{ns}	0,7 ^{ns}	0,1 ^{ns}	0,6 ^{ns}	0,5 ^{ns}	0,7 ^{ns}	29,2
MSPA	7,7**	1,3 ^{ns}	3,2*	0,1 ^{ns}	1,0 ^{ns}	1,5 ^{ns}	0,9 ^{ns}	15,3
MFR	9,4**	0,1 ^{ns}	3,1*	0,6 ^{ns}	1,0 ^{ns}	0,9 ^{ns}	0,8 ^{ns}	20,7
MSR	10,4**	0,8 ^{ns}	1,9 ^{ns}	1,8 ^{ns}	0,8 ^{ns}	1,4 ^{ns}	0,7 ^{ns}	21,3
[ZnR]	10,3**	2,9 ^{ns}	1,7 ^{ns}	1,6 ^{ns}	1,4 ^{ns}	1,0 ^{ns}	1,2 ^{ns}	13,8

*, ** e ^{ns} denotam significância a 5%, 1% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente.

Tabela 3. Resumo da análise de variância para os parâmetros avaliados em plantas de beterraba ‘Tall Top Early Wonder’ cultivadas em 2016 em função da concentração, fonte e tempo de imersão de utrículos em soluções enriquecidas com Zn.

	Concentração (C)	Fonte (F)	Tempo (T)	C x F	C x T	F x T	C x F x T	CV (%)
<i>E</i>	3,2*	4,3*	2,5 ^{ns}	1,1 ^{ns}	1,5 ^{ns}	0,8 ^{ns}	0,1 ^{ns}	24,6
<i>gs</i>	7,1**	17,8**	1,1 ^{ns}	0,8 ^{ns}	0,6 ^{ns}	1,5 ^{ns}	1,0 ^{ns}	20,6
<i>A</i>	21,6**	3,6 ^{ns}	2,9*	4,7*	2,3*	1,3 ^{ns}	0,5 ^{ns}	12,1
[ZnF]	5,5**	0,6 ^{ns}	0,7 ^{ns}	0,8 ^{ns}	0,8 ^{ns}	1,6 ^{ns}	0,5 ^{ns}	23,1
AF	38,8**	0,3 ^{ns}	1,8 ^{ns}	0,7 ^{ns}	0,7 ^{ns}	1,3 ^{ns}	0,9 ^{ns}	29,3
MSPA	6,5**	1,9 ^{ns}	2,1 ^{ns}	0,8 ^{ns}	0,2 ^{ns}	0,7 ^{ns}	0,1 ^{ns}	29,7
MFR	54,5**	3,3 ^{ns}	5,3**	2,7 ^{ns}	1,1 ^{ns}	0,4 ^{ns}	1,3 ^{ns}	28,2
MSR	23,1**	0,1 ^{ns}	2,0 ^{ns}	1,2 ^{ns}	1,1 ^{ns}	0,0 ^{ns}	1,5 ^{ns}	31,6
[ZnR]	4,1*	0,2 ^{ns}	0,6 ^{ns}	2,5 ^{ns}	1,3 ^{ns}	0,5 ^{ns}	0,6 ^{ns}	29,3

*, ** e ^{ns} denotam significância a 5%, 1% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente.

Em 2015, quando se utilizou sulfato como fonte do micronutriente, houve resposta linear da *E* das plantas (Figura 1a), sendo que plantas cujos utrículos foram condicionados em solução contendo 30 mg mL⁻¹ Zn tiveram 13,2% maior *E* do que as plantas que não receberam Zn. Por outro lado, quando a fonte utilizada foi

cloreto, observou-se resposta quadrática dessa característica, com o valor máximo obtido na concentração estimada de 21 mg mL⁻¹ Zn, equivalente a 45,3% de incremento.

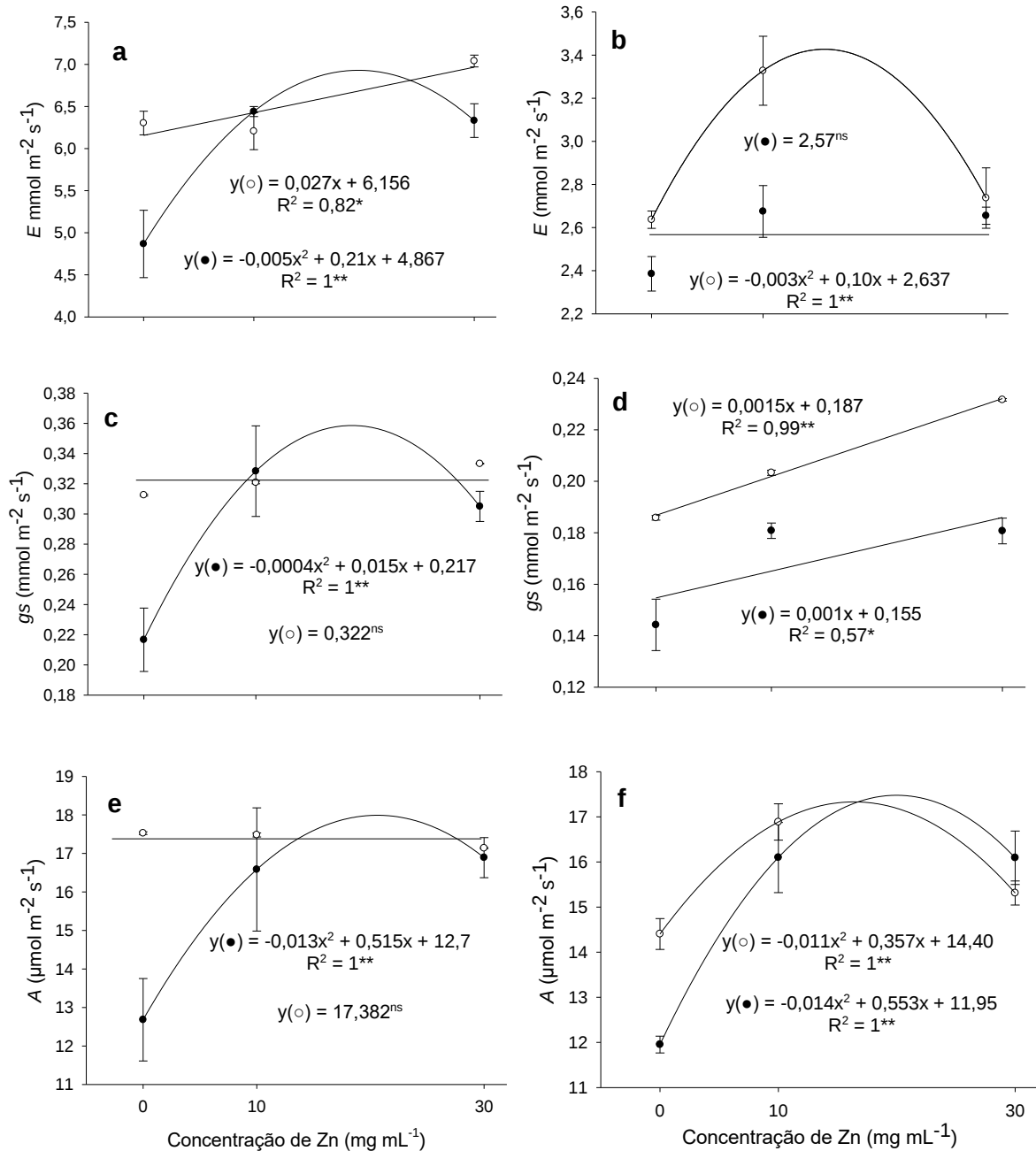


Figura 1. Efeito da concentração e da fonte de Zn (Sulfato (○) e Cloreto (●)) utilizada em solução de imersão de utrículos sobre a taxa transpiratória (E), condutância estomática (gs) e taxa fotossintética (A) de plantas de beterraba ‘Tall Top Early Wonder’, cultivadas em 2015 (a, c, e) e em 2016 (b, d, f). *, ** e ^{ns} denotam significância a 5%, 1% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente.

Diferentemente do verificado em 2015, em 2016, houve resposta da *E* das plantas somente quando se utilizou a fonte sulfato. Com a utilização dessa fonte, a concentração de Zn em solução promoveu aumento com ajuste quadrático na variável (Figura 1b). Verificou-se que com a concentração estimada de 17 mg mL^{-1} Zn em solução, a *E* das plantas aumentou cerca de 31,6% em relação a plantas sem Zn na solução de imersão.

Em 2015, a aplicação de cloreto de Zn em solução promoveu o aumento da *gs* em plantas de beterraba, em função da concentração do micronutriente em solução, enquanto com sulfato não foi verificada resposta significativa (Figura 1c). Incremento de, aproximadamente, 65% foi verificado na *gs* com a concentração estimada de 19 mg mL^{-1} Zn na fonte cloreto. Por outro lado, conforme o aumentou a concentração do micronutriente em solução, a *gs* aumentou linearmente nas plantas cultivadas em 2016 (Figura 1d). Com a utilização da fonte sulfato de Zn, os valores observados foram maiores, em todas as concentrações de Zn, aos verificados quando se utilizou cloreto como fonte do micronutriente, sendo que na máxima concentração de Zn houve incremento de 24,1 e 19,5% respectivamente para as fontes sulfato e cloreto, em relação ao controle.

No cultivo da beterraba em 2015, a *A* das plantas foi alterada apenas quando se utilizou a fonte cloreto de Zn, sendo encontrado maior *A* na maior concentração estimada de 20 mg mL^{-1} Zn, que incrementou em 40,2% o valor de *A* em relação ao controle (Figura 1e).

Em 2016, a *A* das plantas respondeu de forma quadrática em função da concentração de Zn em solução, em ambas as fontes do micronutriente (Figura 1f). Quando se utilizou sulfato como fonte de Zn, o máximo valor para a característica foi obtido com a concentração estimada de 16 mg mL^{-1} Zn, enquanto para o cloreto o máximo valor foi obtido com a concentração aproximada de 20 mg mL^{-1} Zn. Além disso, é possível observar que o incremento da *A* em plantas que receberam o Zn na forma de cloreto (46%) foi maior que em plantas que receberam o micronutriente na forma de sulfato (20%).

Ao analisar o efeito da interação entre a concentração de Zn e o tempo de condicionamento osmótico sobre a *A*, em plantas cultivadas em 2016 (Tabela 3), é possível verificar que as plantas, cujos utrículos permaneceram por 16, 20 e 24

horas, apresentaram A com ajuste quadrático à concentração de Zn em solução, enquanto o condicionamento por 12 horas não promoveu resposta significativa (Figura 2).

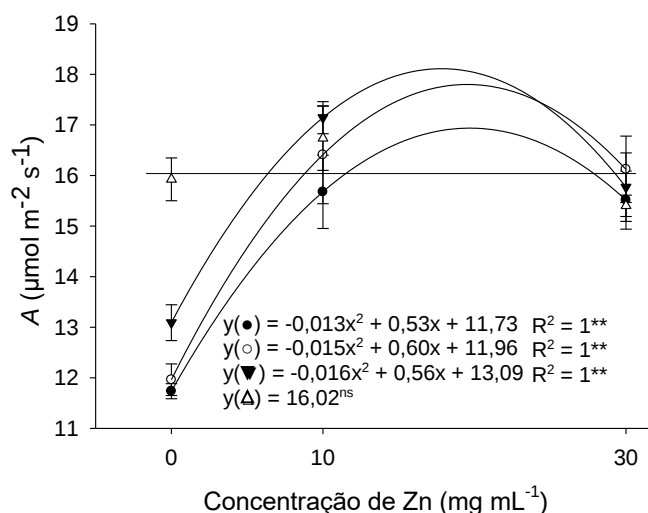


Figura 2. Efeito da concentração e do tempo de condicionamento osmótico (12(Δ), 16(▼), 20(○) e 24(●) horas) de utrículos sobre a taxa fotossintética (A) de plantas de beterraba 'Tall Top Early Wonder' cultivadas em 2016, aos 55 dias após a semeadura. ** e ^{ns} denotam significância a 1% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente.

Os tempos de 20 e 24 horas apresentaram o maior valor para a característica analisada com a concentração estimada de 20 mg mL⁻¹ Zn, atingindo incrementos de 50 e 46%, respectivamente. No caso do condicionamento por 16 horas dos utrículos de beterraba, a maior A foi obtida com a concentração de 18 mg mL⁻¹ Zn, o qual foi equivalente a 37% de incremento em comparação às plantas sem Zn na solução.

3.3.2 Teor de Zn foliar ([ZnF])

O [ZnF] em plantas de beterraba foi afetado apenas pela concentração do micronutriente na solução, em ambos os experimentos (Tabelas 2 e 3).

No experimento de 2015, o [ZnF] aumentou de forma linear conforme o aumento da concentração de Zn, sendo a solução enriquecida com 30 mg mL⁻¹ Zn a que proporcionou aumento de, aproximadamente, 9% em relação às plantas controle (Figura 3). Por outro lado, em 2016, o [ZnF] teve ajuste quadrático, com valor máximo de 50,3 mg kg⁻¹, na concentração estimada de 18 mg mL⁻¹ Zn,

equivalente a 41,6% de incremento no teor de Zn em relação à imersão sem Zn. Dessa forma, como média geral, pode-se observar que o [ZnF] foi maior em 2015, na ordem de, aproximadamente, 112% em relação ao verificado em 2016.

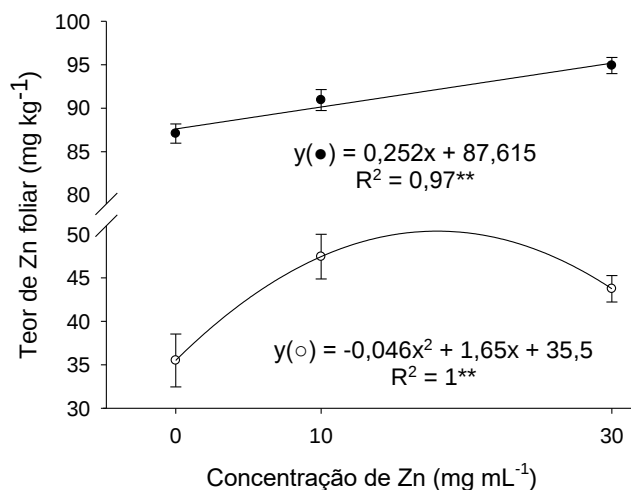


Figura 3. Teor de Zn foliar na beterraba ‘Tall Top Early Wonder’ em função do condicionamento osmótico de utrículos em soluções com Zn, cultivadas em 2015 (●) e em 2016 (○). ** denota significância a 1% de probabilidade pelo teste F.

3.3.3 Crescimento e biofortificação com Zn ([ZnR])

Tanto as características de crescimento como a biofortificação da raiz de beterraba ([ZnR]), de acordo com a análise conjunta, foram afetadas pelo fator experimentos e não foi verificada interação entre os tratamentos e os experimentos (Tabela 1). Portanto, as épocas de cultivo da beterraba causaram diferenças nessas características também.

Em ambos os experimentos, a concentração de Zn em solução teve efeito sobre a AF, a MSPA, a MFR, a MSR e sobre a biofortificação com Zn da raiz de beterraba (Tabelas 2 e 3). As características MSPA e MFR foram influenciadas pelo tempo de condicionamento osmótico em 2015, enquanto em 2016, percebeu-se efeito, somente, na produção de MFR. Não houve interação entre os fatores sobre as características analisadas.

No experimento de 2015, verificou-se ajuste quadrático da AF com o aumento da concentração de Zn em solução (Figura 4a). O máximo valor da característica foi obtido com a concentração estimada de 19 mg mL⁻¹ Zn, atingindo-se 2.112 cm² por

planta, o qual equivale a 125% de incremento em relação à AF de plantas cujos utrículos não foram tratados com Zn. Por outro lado, a produção de MSPA das plantas teve incremento linear em função do aumento da concentração de Zn (Figura 4a).

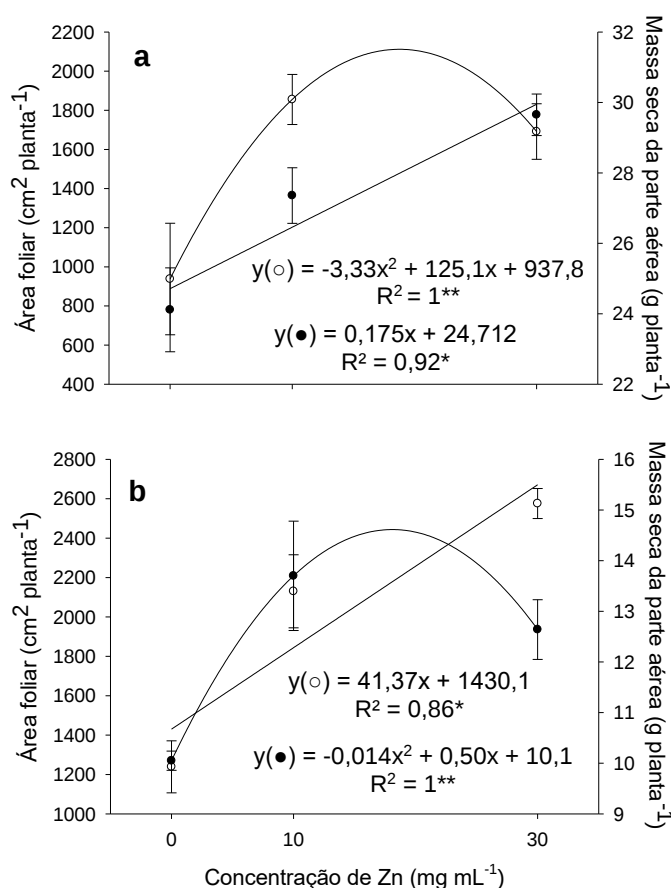


Figura 4. Área foliar ($\circ$) e massa seca da parte aérea ($\bullet$) de beterraba ‘Tall Top Early Wonder’ em função do condicionamento osmótico de utrículos em soluções enriquecidas com Zn, cultivadas em 2015 (a) e em 2016 (b). * e ** denotam significância a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

Aumento linear da AF com o incremento da concentração de Zn em solução foi constatado no cultivo das plantas em 2016 (Figura 4b), verificando-se incremento de 86% em relação ao valor verificado em plantas cujos utrículos não receberam Zn. Por outro lado, houve resposta quadrática da MSPA conforme o aumento da concentração de Zn em solução (Figura 4b). Observou-se que o ponto de maior produção estimada se obteve em concentração de 18 mg mL^{-1} Zn com $14,6 \text{ g}$ por planta, o qual equivale a 44% de maior produção em relação às plantas controle.

Com o aumento do tempo de condicionamento osmótico, verificou-se diminuição linear na produção de MSPA das plantas de beterraba cultivadas em 2015 (Figura 5). Dessa forma, a máxima produção foi obtida com 12 horas de condicionamento (28,5 g), valor 11% maior à produção obtida com 24 horas.

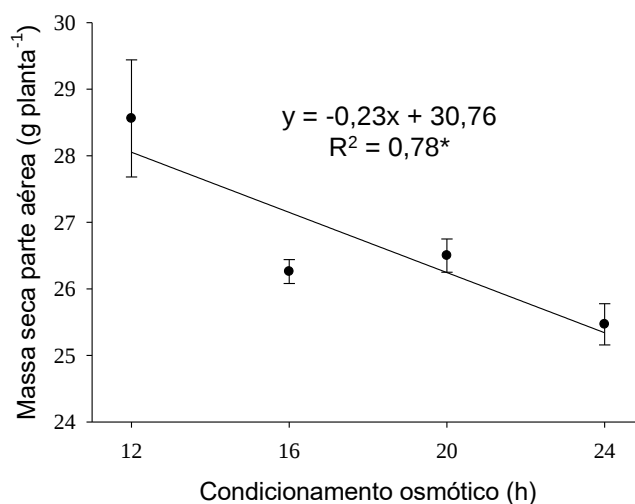


Figura 5. Efeito do tempo de condicionamento osmótico com Zn em utrículos de beterraba 'Tall Top Early Wonder' cultivada em 2015 sobre a massa seca da parte aérea. * denota significância a 5% de probabilidade pelo teste F.

Tanto em 2015 como em 2016, houve resposta quadrática da MFR para a concentração de Zn em solução, enquanto a MSR teve ajuste linear (Figura 6). Em ambos os experimentos, o maior valor da MFR foi obtido com a concentração estimada de 18 mg mL⁻¹ Zn, verificando-se valores de 283 e 242 g, respectivamente, com incrementos de 37% (76 g) e 196% (160 g) em relação às plantas do tratamento controle.

Semelhante ao verificado com o [ZnF] (Figura 3), em 2015, houve cerca de 55% maior produção de beterraba que em 2016 (Figura 6). No entanto, em 2016, o aumento de produção foi maior conforme o aumento da concentração de Zn em solução.

A maior produção de MSR, em ambos os experimentos, foi obtida com a concentração de 30 mg mL⁻¹ Zn em solução, atingindo-se valores de 23,6 e 17,3 g por planta, respectivamente em 2015 e 2016 (Figura 6), o qual equivale a aumentos de, aproximadamente, 27 e 68% em relação à massa seca de raiz obtida em plantas controle.

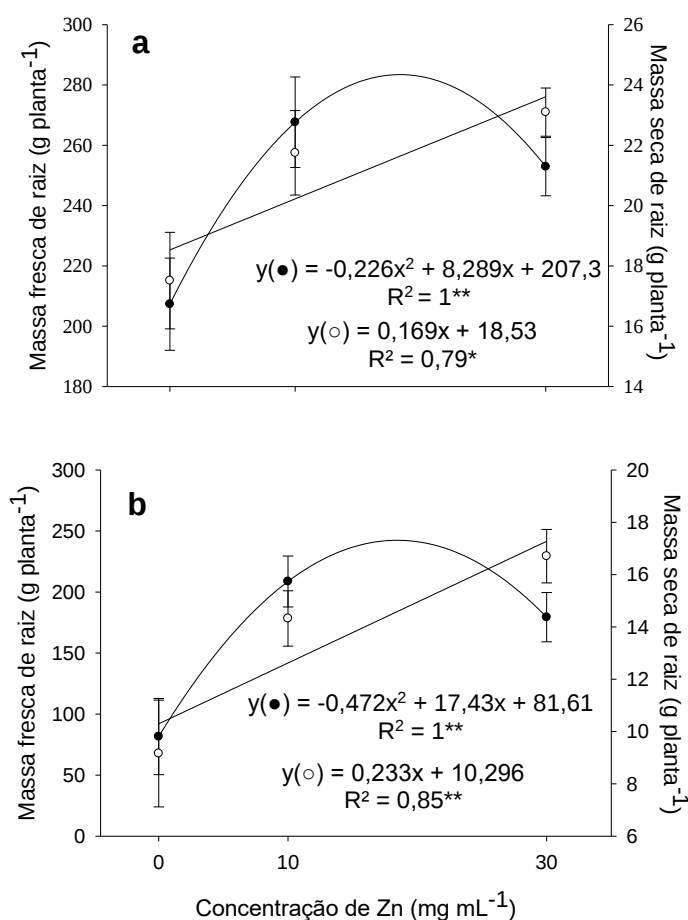


Figura 6. Massa fresca (●) e seca (○) de raiz de beterraba ‘Tall Top Early Wonder’ em função da imersão de utrículos em soluções com Zn (0, 10 e 30 mg mL⁻¹ Zn), cultivadas em 2015 (a) e em 2016 (b). * e ** denotam significância a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

O tempo de condicionamento osmótico dos utrículos de beterraba proporcionou incremento com ajuste quadrático da produção de MFR, em ambos os experimentos (Figura 7). Dessa forma, observou-se que com o tempo estimado de, aproximadamente, 18 horas foi possível alcançar a maior produção de 275 e 181 g por planta em 2015 e 2016, respectivamente.

Ajuste linear foi obtido para o [ZnR] da beterraba em 2015 (Figura 8). O valor máximo estimado foi de 122,8 mg kg⁻¹, quando os utrículos foram imersos em solução contendo 30 mg mL⁻¹ do micronutriente, valor 19% maior em comparação ao verificado em plantas que não receberam Zn em solução. Por outro lado, em 2016, verificou-se resposta quadrática do [ZnR] em relação à concentração do micronutriente em solução (Figura 8), atingindo-se 45 mg kg⁻¹ com a concentração

estimada de 19 mg mL^{-1} Zn, equivalente a 33% de incremento em relação às plantas controle.

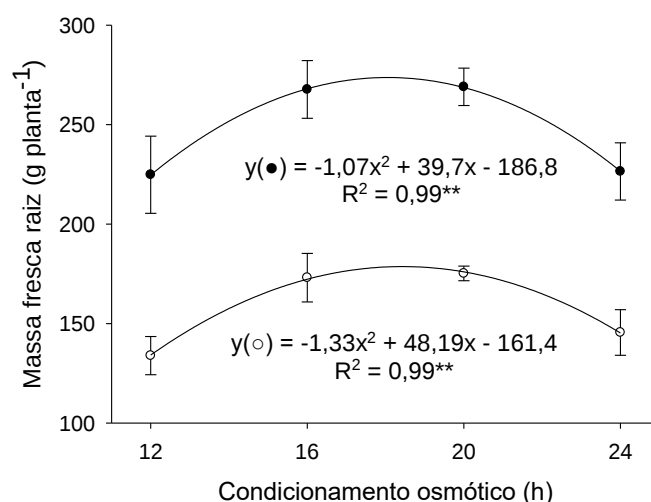


Figura 7. Efeito do tempo de condicionamento osmótico de utrículos em solução enriquecida com Zn sobre a massa fresca da raiz de beterraba ‘Tall Top Early Wonder’ cultivada em 2015 (●) e em 2016 (○). ** denota significância a 1% de probabilidade pelo teste F.

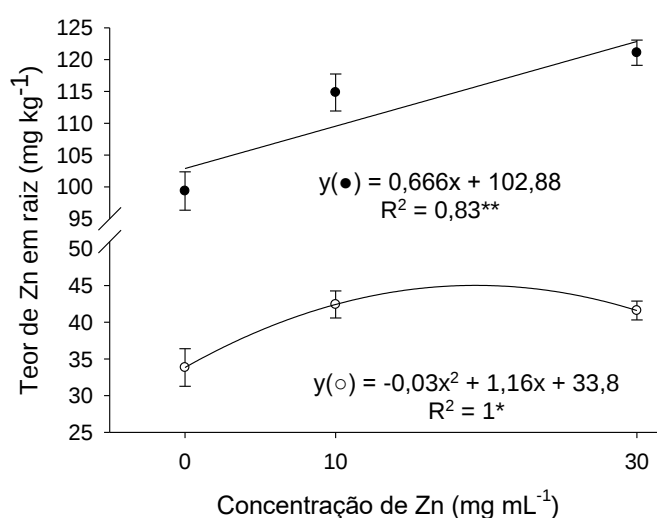


Figura 8. Teor de Zn em raiz de beterraba ‘Tall Top Early Wonder’ em função do condicionamento osmótico de utrículos em soluções enriquecidas com Zn, cultivada em 2015 (●) e em 2016 (○). * e ** denotam significância a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

De forma geral, em 2015, percebe-se que a raiz apresentou maior teor de Zn (Figura 8) em comparação ao verificado na folha das plantas (Figura 3), para todas as concentrações do micronutriente em solução, enquanto, em 2016, verificaram-se teores do micronutriente semelhantes nos tecidos da parte aérea e raiz. Além disso,

como para o observado no [ZnF], em 2015, houve em média, aproximadamente, 182% maior [ZnR] do que o verificado em 2016.

3.4 DISCUSSÃO

Embora a concentração do micronutriente em solução promoveu o aumento do [ZnF] em plantas de beterraba em ambos os experimentos (Figura 3), os teores verificados nas plantas sem tratamento de Zn nos utrículos mantiveram-se dentro da faixa considerada adequada para a cultura, de 20 a 100 mg kg⁻¹ (TRANI et al., 1997). Contudo, o condicionamento osmótico de utrículos de beterraba em soluções contendo Zn aumentou, de forma geral, os valores obtidos em todas as características analisadas, em comparação ao tratamento controle.

A concentração da solução foi o fator mais determinante na resposta da cultura, independente da época de cultivo (Tabelas 2 e 3), o que se deve ao Zn ser micronutriente de plantas, com participação na ativação de inúmeras enzimas, estar envolvido na tolerância ao estresse, participar do crescimento reprodutivo e ser constituinte de estruturas celulares (BROADLEY et al., 2012). Dessa forma, a sua maior presença melhora o desempenho agrônomo das culturas (FOTI et al., 2008; MUNAWAR et al., 2013), desde que não haja toxicidade nas plantas (SAGARDOY et al., 2009; 2010).

O tempo de condicionamento teve função secundária no presente trabalho, uma vez que afetou somente características de crescimento das plantas (MSPA e MFR) e não foram verificados efeitos sobre a biofortificação ou sobre o [ZnF]. Entretanto, esses resultados deixam em evidência que, para a aplicação do método de condicionamento osmótico com Zn, é necessária a determinação do período ideal de tratamento, segundo o objetivo desejado, que faça mais efetivo e eficaz o método (FAROOQ; WAHID; SIDDIQUE, 2012). Dessa forma, na literatura existem diversos trabalhos de condicionamento osmótico de sementes em diferentes culturas (HARRIS et al., 2007; FOTI et al., 2008; MUNAWAR et al., 2013), cada um deles com resultados conclusivos quanto ao tempo requerido. Contudo, o seu efeito sobre a biofortificação agrônomo ainda permanece pouco explorado.

No presente trabalho, mesmo não obtendo efeito do tempo de condicionamento sobre a biofortificação da raiz de beterraba, o tratamento por 16 horas seria o mais recomendado, uma vez que proporcionou maior MFR da cultura (Figura 7).

O aumento da AF considera-se como fator chave para a produção da beterraba (JAGGARD; QI, 2006). Zeinab, Soudi e El-Shenawy (2011) verificaram aumento da AF em plantas de beterraba sob aplicação foliar de Zn, com consequente aumento de produtividade. Esse efeito do Zn nas plantas tem sido atribuído à sua participação no metabolismo do ácido indolacético (BROADLEY et al., 2012). Dessa forma, uma série de respostas são explicadas, uma vez que o aumento do tamanho da área fotossintética implica maior interceptação de luz pelas plantas, com o qual a A e, conseqüentemente, a E , a g_s e a produtividade das culturas podem ser incrementadas. Para Engels, Kirkby e White (2012), o aumento de produtividade das culturas agrícolas pode ser conseguido através do aumento da atividade fotossintética foliar e/ou através do aumento da AF.

Tanto a transpiração como a g_s das plantas são processos que participam na perda de água na forma de vapor através das fendas estomáticas foliares, e a temperatura tem forte influência sobre tais processos (TAIZ et al., 2017). Além disso, cabe salientar que os nutrientes são translocados, principalmente, pela via transpiratória através do xilema das plantas (WHITE, 2012). Nesse sentido, quando se trata de nutrientes com pouca mobilidade dentro das plantas, como o Zn, pode-se esperar que órgãos com maior E apresentem maior concentração do micronutriente do que aqueles com menor (KABATA-PENDIAS, 2011). Dessa forma, explica-se o verificado na Figura 3 do presente trabalho, onde plantas cultivadas em 2015 apresentaram [ZnF] maior ao verificado em plantas cultivadas em 2016, em função da maior E verificada em 2015, uma vez que nesse experimento, tanto a temperatura ambiente como a temperatura foliar foram, em média, 5,5 e 8,0°C mais elevadas do que em 2016, respectivamente.

A A das plantas tem relação direta com os processos fisiológicos antes mencionados, pois considera-se que a perda de água através da transpiração é necessária para conseguir a absorção e posterior assimilação do carbono atmosférico, ou seja, para realizar a fotossíntese (ARAÚJO; FERNIE; NUNES-NESI,

2011; TAIZ et al., 2017), além de ser o principal mecanismo de regulação térmico. Assim, o aumento da E e da g_s têm sido relacionadas ao aumento da fotossíntese em plantas cultivadas sob condições adequadas (SAGARDOY et al., 2009), de acordo com o verificado nesse trabalho. Dessa forma, o aumento da A melhorou a produção em beterraba em função da aplicação de Zn nos utrículos (Figura 6). Com isto, é possível explicar que a MFR da beterraba cultivada em época de maior temperatura (primavera de 2015) foi mais elevada que quando cultivada em condição mais amena (outono-inverno de 2016), considerada ideal para o cultivo de beterraba (TIVELLI et al., 2011; TULLIO et al., 2013).

Aumentos de produtividade são atribuídos à aplicação de Zn em diversos cultivos (WHITE et al., 2012; FIGUEIREDO et al., 2017). No entanto, para a beterraba tem-se afirmado que é pouco responsiva ao suprimento do micronutriente, sendo que os sintomas de deficiência são incomuns (CHRISTENSON; DRAYCOTT, 2006). Contudo, trabalhos mais recentes demonstram que com a aplicação de Zn houve aumento significativo na produtividade e qualidade da beterraba (GOBARAH et al., 2014; BARŁÓG; NOWACKA; BŁASZYK, 2016).

No presente trabalho, de forma geral, o condicionamento osmótico de utrículos de beterraba em soluções contendo sulfato de Zn foi o que proporcionou melhor desempenho nas plantas. Os sulfatos são as formas químicas mais utilizadas para aplicação de micronutrientes, em função da sua alta solubilidade em água e baixo custo, podendo ser utilizados em cultivos hidropônicos, como fertilizantes foliares e/ou ao solo e para o tratamento de sementes (FAROOQ; WAHID; SIDDIQUE, 2012). Além disso, o menor tamanho das moléculas e à maior solubilidade do sulfato em comparação a outras fontes do micronutriente, resulta em maior disponibilidade e penetração nos tecidos (PRADO; NATALE; MOURO, 2007).

No experimento de 2015, houve elevado $[ZnR]$, quase três vezes mais Zn do que em 2016, o qual pode estar relacionado à grande quantidade de fotoassimilados formados nas folhas das plantas, que possivelmente, puderam ter sido alocados no órgão de reserva. Embora não tenha sido quantificado o $[ZnF]$ na colheita da raiz de beterraba, podemos inferir que o maior $[ZnR]$ obtido em plantas cultivadas em 2015 deveu-se à redistribuição do micronutriente na planta. Salienta-se que a beterraba é cultura que apresenta dois estádios bem marcados, o vegetativo e o reprodutivo,

portanto, durante o primeiro, a planta desenvolve as suas estruturas vegetativas, com intensivo acúmulo de fotoassimilados na sua raiz, que desde a sua formação tornam-se no principal dreno da cultura (GRANGEIRO et al., 2007; GONDIM et al., 2011), para dessa forma, no seguinte estágio, dar início à formação das estruturas reprodutivas (MILFORD, 2006). Portanto, embora a mobilidade do Zn no floema seja geralmente considerada baixa, isto não pode ser aceito como regra geral, pois há translocação do Zn dentro das plantas, direcionada, principalmente, aos pontos de crescimento.

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, a MSR equivale a 10% da MFR. Com isto, e considerando o consumo de 160 g de beterraba crua por um adulto, cujo requerimento diário é de 11 mg dia⁻¹ Zn (WHITE et al., 2012), em função dos valores obtidos nas raízes biofortificadas com 30 mg mL⁻¹ Zn (Figura 8), a pessoa, alimentando-se com beterrabas dos experimentos de 2015 e 2016, teria atendida a sua demanda diária pelo micronutriente em, aproximadamente, 17 e 6%, respectivamente. Portanto, pode-se afirmar que a biofortificação de beterraba a partir do condicionamento osmótico de utrículos com Zn é uma estratégia com potencial para ser considerada em programas de biofortificação agrônômica.

3.5 CONCLUSÕES

O condicionamento osmótico com Zn beneficia as respostas fisiológicas nas plantas de beterraba promovendo o crescimento, a produção e a biofortificação da raiz, sendo o tratamento de 16 horas o mais eficiente para aumentar a MFR, e o condicionamento dos utrículos em 30 mg mL⁻¹ Zn como sulfato resulta em maior produção de beterraba e incremento do [ZnR] em comparação ao tratamento controle, podendo ser considerado em programas de biofortificação agrônômica.

3.6 REFERÊNCIAS

ARAÚJO, W. L.; FERNIE, A. R.; NUNES-NESI, A. Control of stomatal aperture a renaissance of the old guard. **Plant Signaling and Behavior**, v. 6, n. 9, p. 1305-1311, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4161/psb.6.9.16425>>.

BARŁÓG, P.; NOWACKA, A.; BŁASZYK, R. Effect of zinc band application on sugar beet yield, quality and nutrient uptake. **Plant, Soil and Environment**, Praga, v. 62, n. 1, p. 30-35, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.17221/677/2015-PSE>>.

BOARETTO, A. E.; RAIJ, B. VAN.; SILVA, F. C. DA.; CHITOLINA, J. C.; TEDESCO, M. J.; CARMO, C. A. F. S. DO. Amostragem, acondicionamento e preparo de amostras de plantas para análise química. In: SILVA, F. C. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA, 2009, cap. 2, p. 59-86.

BOUIS, H. E.; SALTZMAN, A. Improving nutrition through biofortification: A review of evidence from HarvestPlus, 2003 through 2016. **Global Food Security**, Washington, v. 12, p. 49-58. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.gfs.2017.01.009>>.

BROADLEY, M.; BROWN, P.; CAKMAK, I.; RENGEL, Z.; ZHAO, F. Function of nutrients: Micronutrients. In: MARSCHNER, P. (Ed.). **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3. ed. London: Academic Press, 2012. cap. 7, p. 191-248. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00007-8>>.

CHEN, M.; MENG, H.; ZHAO, Y.; CHEN, F.; YU, S. Antioxidant and in vitro anticancer activities of phenolics isolated from sugar beet molasses. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 15, n. 313, p. 1-8, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s12906-015-0847-5>>.

CHEN, X-P.; ZHANG, Y-Q.; TONG, Y-P.; XUE, Y-F.; LIU, D-Y.; ZHANG, W.; DENG, Y.; MENG, Q-F.; YUE, S-C.; YAN, P.; CUI, Z-L.; SHI, X-J.; GUO, S-W.; SUN, Y-X.; YE, Y-L.; WANG, Z-H.; JIA, L-L.; MA, W-Q.; HE, M-R.; ZHANG, X-Y.; KOU, C-L.; LI, Y-T.; TAN, D-S.; CAKMAK, I.; ZHANG, F-S.; ZOU, C-Q. Harvesting more grain zinc of wheat for human health. **Scientific Reports**, Tokyo, v. 7, n. 7016, p. 1-8, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-07484-2>>.

CHRISTENSON, D. R.; DRAYCOTT, A. P. Nutrition - phosphorus, sulphur, potassium, sodium, calcium, magnesium and micronutrients - liming and nutrient deficiencies. In: DRAYCOTT, A. P. (Ed.). **Sugar Beet**. Suffolk: Blackwell Publishing, 2006. cap. 9, p. 185-220.

ENGELS, C.; KIRKBY, E.; WHITE, P. Mineral nutrition, yield and source-sink relationships. In: MARSCHNER, P. (Ed.). **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. London: Academic Press, 2012. cap. 5, p. 85-133. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00005-4>>.

FAOSTAT. **Data base**: Annual population, 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/OA>>. Acesso em: 24 abr. 2017.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; SIDDIQUE K. H. M. Micronutrient application through seed treatments - a review. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Temuco, v. 12, n. 1, p. 125-142, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162012000100011>>.

FIGUEIREDO, M. A. DE; BOLDRIN, P. F.; HART, J. J.; ANDRADE, M. J. B. DE.; GUILHERME, L. R. G.; GLAHN, R. P.; LI, L. Zinc and selenium accumulation and their effect on iron bioavailability in common bean seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 111, p. 193-202, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.11.019>>.

FOTI, R.; ABURENI, K.; TIGERE, A.; GOTOSA, J.; GERE, J. The efficacy of different seed priming osmotica on the establishment of maize (*Zea mays* L.) caryopses. **Journal of Arid Environments**, London, v. 72, n. 6, p. 1127-1130, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaridenv.2007.11.008>>.

GARTLER, J.; ROBINSON, B.; BURTON, K.; CLUCAS, L. Carbonaceous soil amendments to biofortify crop plants with zinc. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 465, p. 308-313, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.10.027>>.

GOBARAH, M. E.; TAWFIK, M. M.; ZAGHLOUL, S. M.; AMIN, G. A. Effect of combined application of different micronutrients on productivity and quality of sugar beet plants (*Beta vulgaris* L.). **International Journal of Plant and Soil Science**, London, v. 3, n. 6, p. 589-598, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.9734/IJPSS/2014/8193>>.

GONDIM, A. R. O.; CORREIA, M. A. R.; ALVES, A. U.; PRADO, R. M.; CECÍLIO FILHO, A. B. Crescimento e marcha de acúmulo de nutrientes em plantas de beterraba cultivadas em sistema hidropônico. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 4, p. 526-535, 2011.

GRANGEIRO, L. C.; NEGREIROS, M. Z. DE; SOUZA, B. S. DE; AZEVÊDO, P. E. DE; OLIVEIRA, S. L. DE; MEDEIROS, M. A. DE. Acúmulo e exportação de nutrientes em beterraba. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 267-273, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542007000200001>>.

HAN, X.; LI, X.; UREN, N.; TANG, C. Zinc fractions and availability to soybeans in representative soils of Northeast China. **Journal of Soils and Sediments**, Berlin, v. 11, p. 596-606, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11368-011-0336-5>>.

HARRIS, D.; RASHID, D.; MIRAJ, G.; ARIF, M.; SHAH, H. On farm seed priming with zinc sulphate solution-A cost-effective way to increase the maize yields of resource-poor farmers. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 102, n. 2, p. 119-127, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2007.03.005>>.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. L. **The water culture methods for growing plants without soil**. Berkeley: University of California, 1950. 32p.

HUSSAIN, S.; MAQSOOD, M. A.; RENGEL, Z.; AZIZ, T. Biofortification and estimated human bioavailability of zinc in wheat grain as influenced by methods of zinc application. **Plant and Soil**, The Hague v. 361, p. 279-290, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-012-1217-4>>.

IFPRI - The International Food Policy Research Institute. **2017 Global Food Policy Report**. Washington: IFPRI, 2017. 137 p. Disponível em: <<https://doi.org/10.2499/9780896292529>>.

JAGGARD, K. W.; QI, A. Agronomy. In: DRAYCOTT, A. P. (Ed.). **Sugar Beet**. Suffolk: Blackwell Publishing, 2006. cap. 7, p. 134-168.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. New York: CRC Press, 2011. 505 p.

KROMANN, P.; VALVERDE, F.; ALVARADO, S.; VÉLEZ, R.; PISUÑA, J.; POTOSÍ, B.; TAIPE, A.; CABALLERO, D.; CABEZAS, A.; DEVAUX, A. Can Andean potatoes be agronomically biofortified with iron and zinc fertilizers?. **Plant and Soil**, The Hague, v. 411, n. 1-2, p. 121-138, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-016-3065-0>>.

LIU, H.; GAN, W.; RENGEL, Z.; ZHAO, P. Effects of zinc fertilizer rate and application method on photosynthetic characteristics and grain yield of summer maize. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Temuco, v. 16, n. 2, p. 550-562, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162016005000045>>.

MILFORD, G. F. J. Plant structure and crop physiology. In: DRAYCOTT, A. P. (Ed.). **Sugar Beet**. Suffolk: Blackwell Publishing, 2006, cap. 3, p. 30-49.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; MURAOKA, T.; CARMO, C. A. F. S.; MELO, W. J. Análises químicas de tecido vegetal. In: SILVA, F. C. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA, 2009, cap. 2, p. 191-233.

MUNAWAR, M.; IKRAM, M.; IQBAL, M.; RAZA, M. M.; HABIB, S.; HAMMAD, G.; NAJEEBULLAH, M.; SALEEM, M.; ASHRAF, R. Effect of seed priming with zinc, boron and manganese on seedling health in carrot (*Daucus carota* L.). **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, London, v. 5, n. 22, p. 2697-2702, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/IJACS/2013/5-22/2697-2702>>.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: FEALQ, 2009. 451p.

POBLACIONES, M. J.; RENGEL, Z. Soil and foliar zinc biofortification in field pea (*Pisum sativum* L.): Grain accumulation and bioavailability in raw and cooked grains. **Food Chemistry**, London, v. 212, p. 427-433, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.189>>.

PRADO, R. M.; NATALE, W.; MOURO, M. C. Fontes de zinco aplicado via semente na nutrição e crescimento inicial do milho cv. Fort. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 2, p. 16-24, 2007.

SAGARDOY, R.; MORALES, F.; LÓPEZ-MILLÁN, A. F.; ABADÍA, A.; ABADÍA, J. Effects of zinc toxicity on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants grown in hydroponics. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 11, n. 3, p. 339-350, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1438-8677.2008.00153.x>>.

SAGARDOY, R.; VÁZQUEZ, S.; FLOREZ-SARASA, I. D.; ALBACETE, A.; RIBAS-CARBÓ, M.; FLEXAS, J.; ABADÍA, J.; MORALES, F. Stomatal and mesophyll conductances to CO₂ are the main limitations to photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*) plants grown with excess zinc. **New Phytologist**, Cambridge, v. 187, n. 1, p. 145-158, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03241.x>>.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858p.

TIVELLI, S. W.; FACTOR, T. L.; TERAMOTO, J. R. S.; FABRI, E. G.; MORAES, A. R. A. DE; TRANI, P. E.; MAY, A. **Beterraba: do plantio à comercialização**. Campinas: APTA/IAC, 2011. 45p.

TRANI, P. E.; PASSOS, F. A.; TAVARES, M.; AZEVEDO FILHO, J. A. Beterraba, cenoura, nabo, rabanete e salsa. In: RAIJ, B. VAN.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: IAC, 1997, p. 74.

TULLIO, J. A.; OTTO, R. F.; BOER, A.; OHSE, S. Cultivo de beterraba em ambientes protegido e natural na época de verão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 10, p. 1074-1079, 2013.

UNITED NATIONS. **The impact of population momentum on future population growth**. New York: United Nations, 2017.

WHITE, P. Long-distance transport in the xylem and phloem. In: MARSCHNER, P. (Ed.). **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3. ed. London: Academic Press, 2012. cap. 3, p. 49-70. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00003-0>>.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Physiological limits to zinc biofortification of edible crops. **Frontiers in Plant Science**, London, v. 2, n. 80, p. 1-11, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2011.00080>>.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R.; HAMMOND, J. P.; RAMSAY, G.; SUBRAMANIAN, N. K.; THOMPSON, J.; WRIGHT, G. Biofortification of potato tubers using foliar zinc-fertilizer. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v. 87, n. 2, p. 123-129, 2012.

WHO. **Global Data base on Child Growth and Malnutrition: *Joint child malnutrition estimates - Levels and trends***, 2017. Disponível em: <<http://apps.who.int/gho/data/node.wrapper.nutrition-2016?lang=en>>. Acesso em: 15 mai. 2017.

ZEINAB M. R.; SOUDI A. M. K.; EL-SHENAWY K. M. Productivity and quality of sugar beet as influenced by nitrogen fertilizer and some micronutrients. **Egyptian Journal of Agricultural Research**, Giza, v. 89, n. 3, p. 1005-1018, 2011.