

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

HEITOR PONTES GESTAL REIS

**VARIAÇÃO GENOTÍPICA E BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA COM
SELÊNIO EM ARROZ DE TERRAS ALTAS E RELAÇÕES COM A
QUALIDADE NUTRICIONAL DO GRÃO**

Ilha Solteira

2017



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Ilha Solteira

HEITOR PONTES GESTAL REIS

**VARIAÇÃO GENOTÍPICA E BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA COM
SELÊNIO EM ARROZ DE TERRAS ALTAS E RELAÇÕES COM A
QUALIDADE NUTRICIONAL DO GRÃO**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia – UNESP – Câmpus de Ilha Solteira,
para obtenção do título de Mestre em Agronomia.
Especialidade: Sistemas de Produção.

Prof. PhD. André Rodrigues dos Reis
Orientador

Ilha Solteira

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

- R375v Reis, Heitor Pontes Gestal.
Variação genotípica e biofortificação agronômica com selênio em arroz de terras altas e relações com a qualidade nutricional do grão / Heitor Pontes Gestal Reis. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2017
93 f. : il.
- Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção, 2017
- Orientador: André Rodrigues Dos Reis
Inclui bibliografia
1. Biofortificação agronômica com selênio. 2. Qualidade nutricional de grãos de arroz. 3. Efeitos da variação genotípica no acúmulo de selênio.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Variação genotípica e biofortificação agronômica com selênio em arroz de terras altas e relações com a qualidade nutricional do grão.

AUTOR: HEITOR PONTES GESTAL REIS

ORIENTADOR: ANDRÉ RODRIGUES DOS REIS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA, especialidade: SISTEMAS DE PRODUÇÃO pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ANDRÉ RODRIGUES DOS REIS

Coordenadoria de Curso de Engenharia de Biossistemas / Câmpus Experimental de Tupã

Prof. Dr. ENES FURLANI JUNIOR

Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Prof. Dr. FERNANDO FERRARI PUTTI

Engenharia de Biossistemas / Faculdade de Ciências e Engenharia de Tupã

Ilha Solteira, 12 de janeiro de 2017

DEDICO...

Aos meus pais, Hamilton Luis dos Reis e Rita de Cássia Pontes Gestal Reis, por sempre acreditarem no meu potencial, por todos os sacrifícios, apoio e suporte para lutar pelos meus objetivos, pelos ensinamentos valiosos a mim passados e por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos da minha vida.

OFEREÇO...

A minha namorada Jéssica Pigatto de Queiroz Barcelos por todo apoio, amizade e companheirismo ao longo de todos esses anos, e também por todo amor, carinho, paciência e dedicação.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por todas as bênçãos, paz, saúde e proteção concedidas, além de guiar e iluminar meus caminhos durante minha jornada.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, em especial à Faculdade de Engenharia, campus de Ilha Solteira, por proporcionar excelentes condições de aprendizado aos alunos da instituição.

Aos professores do curso de Pós Graduação em Agronomia da UNESP - Ilha Solteira, pelo empenho e dedicação aos alunos desta universidade, sempre acreditando em um futuro melhor.

Ao meu orientador Prof. PhD. André Rodrigues dos Reis, pelo conhecimento transmitido, confiança, incentivo, paciência e pelas oportunidades manifesto minha gratidão pela grande contribuição em minha vida acadêmica e pessoal.

Ao Prof. Dr. Enes Furlani Junior e Prof. Fernando Ferrari Putti pelo suporte oferecido durante o desenvolvimento do projeto, pelo conhecimento transmitido, pela confiança e amizade.

Aos Professores Martin Broadley e Scott Young da Universidade de Nottingham-Inglaterra pela análise química do teor total de selênio nas amostras provenientes desse estudo.

Aos amigos Orlando Baltazar Junior, Fabricio Hausser, Vinícius Gomes, Pedro Malange, Kézia Tonhoque, Victor Coleta, Henrique Nardy pela amizade, paciência e por todas as boas memórias.

Aos colegas de trabalho Vinicius Martins, Amanda Paixão, Simone Hiraki, Carlos Sanches, Mirella dos Santos, Jailson Aguilar, Felipe Capobianco, Daniel Franchin, Pedro Ehrenberg, e a minha namorada Jéssica, os quais contribuíram para o desenvolvimento deste experimento.

Aos meus avós João Clarindo dos Reis e Lourdes Pigari dos Reis, Laor Antônio de Carvalho Pontes Gestal e Neusa Maria dos Santos Pontes Gestal, e à todos os meus tios e primos, em especial ao meu tio e padrinho Humberto Eduardo dos Reis pelo apoio e suporte dedicados a mim e a minha família.

À Fapesp pelo auxílio financeiro (Processo 2015/11690-3), indispensável para a execução deste experimento.

Enfim, a todos que estiveram juntos nesta caminhada e que de alguma forma contribuíram para a execução deste trabalho.

Variação genotípica e biofortificação agronômica com selênio em arroz de terras altas e relações com a qualidade nutricional do grão

RESUMO

O selênio (Se) é um importante elemento para humanos, animais e plantas, porém o Brasil, em geral, contém solos pobres desse elemento. O arroz é um dos produtos principais da dieta dos brasileiros, portanto a biofortificação agronômica com Se para essa cultura é uma estratégia para aumentar os níveis de Se na população. Pouco sabe-se sobre a variação genotípica no acúmulo de Se em plantas e da possibilidade de uso de plantas mais eficientes e responsivas a aplicação de Se ao solo. Neste trabalho, objetivou-se avaliar diferentes genótipos quanto ao acúmulo de Se e sua relação com a qualidade nutricional dos grãos, além de avaliar a influência do Se na fisiologia e bioquímica para um melhor entendimento da sua distribuição nas partes da planta. Para avaliar genótipos responsivos a adubação com Se, foram avaliados 3 genótipos de arroz de terras altas em condições de campo para avaliar o efeito de doses de Se (0; 10; 25; 50 e 100 g ha⁻¹) na qualidade nutricional do grão e fisiologia da planta. Para avaliar a influência do nitrogênio na eficiência de acumulação de Se em grãos de arroz de terras altas, foi realizado um estudo com 5 doses de nitrogênio (0, 20, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹), 2 doses de Se (0 e 25 g ha⁻¹). No experimento I as cultivares ANa 5015 e AN Cambará se destacaram em relação a ANa 7007 nas variáveis biométricas. A biofortificação com Se promoveu aumento na atividade da redutase do nitrato. Nas menores doses de Se ativou o sistema antioxidativo pelo aumento da atividade da superóxido dismutase e catalase, e redução de peroxidação lipídica e peróxido de hidrogênio. Os teores de Se nas folhas e grãos aumentaram linearmente em função da aplicação do Se via solo. Houve correlação altamente significativa entre teor de Se nas folhas e grãos ($r = 0,99$, $p \leq 0,0001$), indicando alta translocação do nutriente da fonte para o dreno. A aplicação de 10 g ha⁻¹ proporcionou aumentos nos teores de Se nos grãos acima de 0,3 mg kg⁻¹, limite máximo permitido pelo *Codex Alimentarius*. No entanto, a ingestão diária aumentou até 30 µg dia⁻¹, ou seja abaixo da recomendação de ingestão diária de 55 µg dia⁻¹. No experimento II, observou-se aumento linear do índice SPAD (33 a 45), altura de plantas (66 a 82 cm), porcentagem de rendimento de grão (67 a 70%), porcentagem de grãos inteiros (58 a 64%) e produtividade (1280 a 2898 kg ha⁻¹) em resposta as doses aplicadas de N. Os teores de Se variaram de 0,01 a 0,54 mg kg⁻¹ nas folhas e 0,03 a 0,36 mg kg⁻¹ nos grãos. A ingestão diária de Se calculada proveniente do arroz biofortificado com Se variou de 2,05 a 24,7 µg dia⁻¹, o que representa um aumento de 3,72% para 44,9% da necessidade diária de Se por dia. Levando em consideração que a recomendação de ingestão diária de Se para adultos é de 55 µg dia⁻¹, o presente estudo apresenta informações relevantes sobre biofortificação agronômica para aumento do teor de Se nas partes comestíveis, o que pode resultar em benefícios na saúde humana.

Palavras chave: biofortificação agronômica, fertilizantes, saúde humana, selenato de sódio

Genotypic variation and agronomic biofortification of upland rice with selenium and its relation to grain quality

ABSTRACT

Selenium (Se) is an important element for humans, animals and plants, however, there are evidences of Se deficiency in Brazilian soils. Rice is one of the main edible crop in the Brazilian diet, so the agronomic biofortification with Se can be a good strategy to increase Se levels in Brazilian population. There is a lack of information about the genotypic variation on Se accumulation in rice plants and the possibility to screen more efficient and responsive plants to selenium supply. The aim of this study is to evaluate the genotypic differences on Se accumulation and its relationship to nutritional quality of grains. Field experiments were conducted to evaluate the effect of Se levels application (0, 10, 25, 50 and 100 g ha⁻¹) on tree rice genotypes and its relations to grain nutritional quality. In addition, to evaluate the possible interaction between nitrogen and Se metabolism, an experiment was conducted containing five nitrogen levels (0, 20, 40, 80 and 120 kg ha⁻¹), and 2 levels of selenium (0 and 25 g ha⁻¹). There was a linear increase on SPAD index (33 to 45), plant height (66 to 82 cm), percentage of grain yield (67 to 70 %), percentage of whole grains (58 to 64 %) and rice yield (1.280 to 2.898 kg ha⁻¹) in response to levels of N application. The total Se content ranged from 0.01 to 0.54 mg kg⁻¹ in the leaves and 0.03 to 0.36 mg kg⁻¹ in the grains. The calculated daily intake of Se from the biofortified rice grains ranged from 2.05 to 24.7 µg day⁻¹, which represent an increase from 3.72% to 44.9 % of the daily requirement of Se per day. Despite that the recommendation for daily Se intake for adults is 55 µg day⁻¹, the present study show relevant information on agronomic biofortification to increase Se content in edible parts, which can benefits human health.

Keywords: agronomic biofortification, fertilizers, human health, sodium selenate.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Importância da biofortificação agrônômica e acúmulo de selênio em plantas

CAPÍTULO II

Efeito da variação genotípica no acúmulo de selênio em arroz de terras altas

Figura 1	- Dados Climáticos da área experimental durante a fase de semeadura e colheita do experimento na Fazenda de Ensino Pesquisa e Extensão da UNESP, Selvíria-MS.....	32
Figura 2	- Índice SPAD das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.....	38
Figura 3	- Altura de plantas (a), porcentagem de grãos quebrados (b), rendimento de benefício (c) e produtividade (d). das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.....	41
Figura 4	- Atividade da redutase do nitrato (a), e da urease (b) no tecido foliar das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.....	43
Figura 5	- Conteúdo de MDA (a), H ₂ O ₂ (b), atividade da SOD (c), CAT (d) e proteína foliar total (e) no tecido foliar das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.....	46
Figura 6	- Ingestão diária de Se (µg/dia), de acordo com o consumo médio de arroz pela população brasileira, das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.....	55
Figura 7	- Teores de albumina (a), globulina (b), glutelina (c), prolamina (d) e proteína total (e) nos grãos das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.....	60

CAPÍTULO III

Influência do nitrogênio na eficiência de acumulação de Se em grãos de arroz de terras altas

Figura 1	- Dados Climáticos da área experimental durante a fase de semeadura e colheita do experimento na Fazenda de Ensino Pesquisa e Extensão da UNESP, Selvíria-MS.....	70
Figura 2	- Índice SPAD (a), altura de plantas (b), rendimento de benefício (c), porcentagem de grãos inteiros (d), porcentagem de grãos quebrados (e) e produtividade (e) em resposta a aplicação de doses de N na presença ou não de Se na cultivar de arroz de terras altas ANa 5015.....	78

Figura 3	- Conteúdo de MDA (a), conteúdo de proteína foliar total (b), atividade da CAT (c) e SOD (d) no tecido foliar em resposta a aplicação de doses de N na presença ou não de Se na cultivar de arroz de terras altas ANa 5015.....	81
Figura 4	- Ingestão diária de Se ($\mu\text{g}/\text{dia}$) proveniente do arroz biofortificado com Se em resposta a adubação nitrogenada.....	87

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Importância da biofortificação agrônômica e acúmulo de selênio em plantas

Tabela 1	- Teores totais de Se em alguns solos do Brasil.....	17
Tabela 2	- Variação genotípica na acumulação de selênio por diversas culturas.....	20
Tabela 3	- Energia, macronutrientes e fibra na composição de alimentos por 100 gramas de parte comestível.....	22
Tabela 4	- Prevalência de consumo alimentar segundo os brasileiros nos anos de 2008/2009.....	22

CAPÍTULO II

Efeito da variação genotípica no acúmulo de selênio em arroz de terras altas

Tabela 1	- Teores de macronutrientes e selênio no tecido foliar das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.....	50
Tabela 2	- Teores de micronutrientes no tecido foliar das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.....	51
Tabela 3	- Teores de macronutrientes e selênio nos grãos das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.....	56
Tabela 4	- Teores de micronutrientes nos grãos das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.....	57

CAPÍTULO III

Influência do nitrogênio na eficiência de acumulação de Se em grãos de arroz de terras altas

Tabela 1	- Teores de nutrientes no tecido foliar em resposta a aplicação de doses de N na presença ou não de Se na cultivar de arroz de terras altas ANa 5015.....	83
Tabela 2	- Teores de nutrientes nos grãos em resposta a aplicação de doses de N na presença ou não de Se na cultivar de arroz de terras altas ANa 5015.....	86

SUMÁRIO

CAPÍTULO I IMPORTÂNCIA DA BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA E ACÚMULO DE SELÊNIO EM PLANTAS

1.1	INTRODUÇÃO.....	14
1.2	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
1.2.1	IMPORTÂNCIA DO SELÊNIO E DA BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA.....	15
1.2.2	DISPONIBILIDADE DE SELÊNIO.....	16
1.2.3	CLASSIFICAÇÃO DE PLANTAS EM FUNÇÃO DO ACÚMULO DE SELÊNIO.....	18
1.2.4	ABSORÇÃO DO SELÊNIO PELAS RAÍZES.....	18
1.2.5	TRANSPORTE E METABOLISMO DE SELÊNIO EM PLANTAS.....	19
1.2.6	VARIAÇÃO GENOTÍPICA DO ACÚMULO DE SELÊNIO EM PLANTAS.....	19
1.2.7	IMPORTÂNCIA DO ARROZ NA DIETA DA POPULAÇÃO BRASILEIRA.....	21
	REFERÊNCIAS.....	24

CAPÍTULO 2 EFEITO DA VARIAÇÃO GENOTÍPICA NO ACÚMULO DE SELÊNIO EM ARROZ DE TERRAS ALTAS

2.1	INTRODUÇÃO.....	31
2.2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	31
2.2.1	CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL.....	31
2.2.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS.....	33
2.2.3	INSTALAÇÃO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO.....	33
2.2.4	VARIÁVEIS ANALISADAS.....	33
2.2.4.1	<i>Avaliações de crescimento e produtividade.....</i>	<i>33</i>
2.2.4.2	<i>Análise nutricional.....</i>	<i>34</i>
2.2.4.3	<i>Índice de clorofila.....</i>	<i>34</i>
2.2.4.4	<i>Análises enzimáticas.....</i>	<i>34</i>
2.2.4.4.1	<i>Coleta do material.....</i>	<i>34</i>
2.2.4.4.2	<i>Atividade da urease (EC 3.5.1.5).....</i>	<i>35</i>
2.2.4.4.3	<i>Atividade da redutase do nitrato.....</i>	<i>35</i>
2.2.4.4.4	<i>Conteúdo de peróxido de hidrogênio.....</i>	<i>35</i>
2.2.4.4.5	<i>Peroxidação lipídica.....</i>	<i>36</i>
2.2.4.4.6	<i>Extração de proteínas e enzimas antioxidantes.....</i>	<i>36</i>
2.2.4.4.7	<i>Determinação de proteínas.....</i>	<i>36</i>
2.2.4.4.8	<i>Superóxido Dismutase (SOD, EC 1.15.1.1).....</i>	<i>37</i>
2.2.4.4.9	<i>Catalase (CAT, 1.11.1.6).....</i>	<i>37</i>
2.2.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
2.3.1	PARÂMETROS FITOTÉCNICOS.....	38
2.3.2	ENZIMAS DO CICLO DO NITROGÊNIO.....	41
2.3.3	TEOR PROTEICO E ENZIMAS ANTIOXIDATIVAS.....	43
2.3.4	AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DO TECIDO FOLIAR.....	47

2.3.5	AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DOS GRÃOS.....	52
2.3.6	QUALIDADE NUTRICIONAL DOS GRÃOS.....	58
2.4	CONCLUSÃO.....	61
	REFERÊNCIAS.....	62

CAPÍTULO 3 - INFLUÊNCIA DO NITROGÊNIO NA EFICIÊNCIA DE ACUMULAÇÃO DE SE EM GRÃOS DE ARROZ DE TERRAS ALTAS

3.1	INTRODUÇÃO.....	67
3.2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	69
3.2.1	CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL.....	69
3.2.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS.....	70
3.2.3	INSTALAÇÃO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO.....	71
3.2.4	VARIÁVEIS ANALISADAS.....	71
3.2.4.1	Avaliações de crescimento e produtividade.....	71
3.2.4.2	Análise nutricional.....	72
3.2.4.3	Índice de clorofila.....	72
3.2.4.4	Análises enzimáticas.....	72
3.2.4.4.1	Coleta do material.....	72
3.2.4.4.2	Atividade da urease (EC 3.5.1.5).....	73
3.2.4.4.3	Atividade da redutase do nitrato.....	73
3.2.4.4.4	Conteúdo de peróxido de hidrogênio.....	73
3.2.4.4.5	Peroxidação lipídica.....	74
3.2.4.4.6	Extração de proteínas e enzimas antioxidantes.....	74
3.2.4.4.7	Determinação de proteínas.....	75
3.2.4.4.8	Superóxido Dismutase (SOD, EC 1.15.1.1).....	75
3.2.4.4.9	Catalase (CAT, 1.11.1.6).....	75
3.2.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	75
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
3.3.1	PARÂMETROS FITOTÉCNICOS.....	76
3.3.2	TEOR PROTEICO E ENZIMAS ANTIOXIDATIVAS.....	79
3.3.3	AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DO TECIDO FOLIAR.....	81
3.3.4	AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DOS GRÃOS.....	84
3.4	CONCLUSÃO.....	88
	REFERÊNCIAS.....	89

CAPÍTULO I

Importância da biofortificação agrônômica e acúmulo de selênio em plantas

1.1 INTRODUÇÃO

O selênio (Se) é um elemento essencial para a saúde humana. Organismos que apresentam deficiência desse nutriente ficam mais suscetíveis a vários tipos de doenças, como o hipertireoidismo, doenças cardiovasculares e câncer (RAYMAN et al., 2012). Estima-se que 1 bilhão de pessoas apresentam deficiência de selênio (WHITE, 2016).

Como grande parte do Se na dieta humana é derivado, direta ou indiretamente a partir de plantas comestíveis, a deficiência de Se na dieta humana é geralmente atribuída à produção agrícola em solos com baixo teor desse elemento (JOY et al., 2015). A biofortificação agrônômica, que é baseada na aplicação de fertilizantes via solo ou foliar contendo Se, tem sido um método efetivo para aumentar a concentração desse micronutriente em culturas utilizadas para alimentação, aumentando o teor de Se na dieta e melhorando a saúde de animais e seres humanos (ALFTHAN et al., 2015).

Existem fortes evidências de deficiência de selênio (Se) em solos, forragens e produtos agrícolas do Brasil. A faixa de deficiência de Se em solos varia de 100 a 600 $\mu\text{g kg}^{-1}$, no entanto, os valores máximos encontrados, na maioria dos casos, em solos agricultáveis foram aproximadamente 210 $\mu\text{g kg}^{-1}$. A variação genotípica das culturas para acumular Se nas partes comestíveis depende do seu teor no solo e a escolha da variedade ou cultivar com maior capacidade de absorção e acúmulo de Se pode contribuir para melhorar a qualidade dos alimentos. O Brasil possui fortes evidências de deficiência de Se na população, no entanto, nenhuma pesquisa sobre o assunto está disponível (REIS et al., 2014).

Existem duas estratégias de biofortificação visando incrementar o Se ingerido por humanos: a primeira estratégia é aumentar diretamente a ingestão do nutriente, seja por suplementações para animais, por fortificação de alimento direta ou por suplementação com pílulas de Se. Já para a segunda é a estratégia de atividades agrônômicas como melhoramento de plantas e adubação são utilizadas para aumentar o teor de Se em culturas alimentares. Qual estratégia é mais eficiente depende das propriedades naturais e socioeconômicas, dos sistemas alimentícios e agroecológicos de cada local (MILLER e WELCH 2013).

A eficiência da adubação com Se depende da forma de Se utilizado, da dose do adubo, da tecnologia de aplicação empregada e das propriedades do solo, sendo que a eficiência de

absorção pode variar de 1% até 50% (LONGCHAMP et al., 2012; KIKKERT et al., 2013). No entanto, estima-se que em média o aproveitamento do Se aplicado é de 5% (HAUG et al., 2007).

Portanto existe a necessidade de se estabelecer doses de Se a serem aplicadas, pois o limite máximo permitido pelo Codex Alimentarius da concentração de Se em alimentos é de 0,3 mg kg⁻¹ (CHILIMBA et al., 2012), já que a toxidez de Se em humanos resulta em um sintoma conhecido como selenose, que é caracterizado pelo apodrecimento de unhas e queda de cabelos (RAYMAN et al., 2012). Assim, o presente trabalho teve por objetivo estabelecer uma recomendação de adubação com selênio para a cultura do arroz de terras altas, além de estudar os efeitos da variação genotípica no acúmulo deste nutriente e também identificar a influência deste elemento no metabolismo do nitrogênio.

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1 IMPORTÂNCIA DO SELÊNIO E DA BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA

Segundo estimativa de Combs Junior (2001) acredita-se que haja de 0,5 a 1,0 bilhão de pessoas com provável carência de Se. Também tem sido levantado que 2 bilhões de pessoas no mundo estão ingerindo quantidade insuficiente de iodo (I), ao passo que mais de 800 milhões de pessoas são consideradas deficientes desse nutriente (ZIMMERMANN, 2009; LEAL et al., 2012). Há poucas informações sobre selênio no Brasil, todavia são grandes as evidências de deficiência desse micronutriente em algumas regiões do país, conforme estudos avaliando-se teores de Se em solos, produtos agrícolas e dietas (MORAES et al., 2009).

Até o momento a adição de Se em áreas agrícolas juntamente com fertilizantes NPK parece ser a forma efetiva e segura de contornar a problemática da deficiência desse micronutriente na alimentação humana e animal, conforme resultados de décadas de acompanhamento em programas realizados em países do Norte da Europa, ex. Finlândia (HARTIKAINEN, 2005; HAUG et al., 2007; ALFTHAN et al., 2015). Após a adoção dos programas, houve grande redução dos índices de mortalidade, principalmente em relação a doenças do coração, câncer e incidência de deficiência de vitamina E. Uma nutrição adequada em Se também ajuda a reduzir o hipertireoidismo (bócio), uma vez que Se faz parte de uma enzima chave no metabolismo da tireóide.

A desnutrição é consequência da alta ingestão de alimentos básicos (arroz, milho e trigo), pobres em minerais e vitaminas, especialmente ferro (Fe) e zinco (Zn), sendo que a

maior parte desses micronutrientes é removido por moagem. Isto é comum em países de regiões em desenvolvimento, como Ásia, África e América Latina, onde os cereais fazem parte da dieta básica da população (DIBB et al., 2005; BORRILL et al., 2014).

A suplementação da ração de animais com Se é uma possível estratégia para aumentar os níveis de Se na população. Na Finlândia, foi observado um aumento do conteúdo de Se na alimentação após a introdução da suplementação em Se para animais, além disso, a adição de selênio em fertilizantes NPK para uso em culturas e pastagens também tem se mostrado um método efetivo para aumentar o nível de Se na população (ALFTHAN et al., 2015). No mundo existe uma variabilidade substancial em cereais quanto aos teores de Zn, Fe e outros nutrientes (GRAHAM et al., 2007).

1.2.2 DISPONIBILIDADE DE SELÊNIO

O Se é um elemento considerado escasso, com distribuição bastante irregular na crosta terrestre e, além do material de origem, seu teor no solo depende fortemente do regime hídrico de cada região (HAUG et al., 2007). Os teores de Se nos produtos agrícolas alimentares são fortemente dependentes da presença deste elemento no solo e também da regulação em função espécie/genótipo vegetal, embora devido ao pouco número de trabalhos realizados haja dúvidas quanto à significância agrônômica da variação/regulação genotípica em sua acumulação nas plantas cultivadas (LYONS et al., 2005; KOPSELL e KOPSELL, 2006).

A concentração e as formas químicas de Se em solos naturais são determinadas principalmente pela geologia (PILBEAM et al., 2015). As concentrações de selênio na maioria dos solos encontram-se na faixa de 0,01-2,0 mg kg⁻¹ Se, mas solos associados com determinadas características geológicas podem atingir concentrações de 1.200 mg Se kg⁻¹ (PILBEAM et al., 2015). As concentrações de Se em solos jovens são tóxicas para muitas plantas e suportam uma flora particular (ROSENFELD e BEATH, 1964; BROWN e SHRIFT, 1982). Solos seleníferos estão geralmente nas Grandes Planícies dos EUA, Canadá, América do Sul, Austrália, Índia, China e Rússia (PILBEAM et al., 2015).

Embora haja poucos trabalhos de pesquisa sobre selênio no Brasil, os relatos anteriores e os resultados de análise de Se em alguns solos (Tabela 2) evidenciam possíveis regiões com deficiência desse importante micronutriente, sugerindo a necessidade de mais pesquisas para confirmação e tomada de decisões em relação a essa provável deficiência. Considera-se como deficientes teores de Se <100 µg kg⁻¹ em forragens e <50 µg kg⁻¹ para

grãos de cereais. A ingestão de alimentos com teores abaixo desta faixa podem gerar problemas de deficiência, causando doenças em humanos e animais (GISSEL-NIELSEN et al., 1984).

Tabela 1 - Teores totais de Se em alguns solos do Brasil.

Local amostrado	Teores ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Referência
São Paulo	0 – 800	PAIVA NETO& GARGANTINI (1956)
Goiás	1 – 8	FICHTNER et al. (1990)
São Paulo	38 - 212*	ANNO (2001)
Nova Odessa – SP	130*	ZANETTI, M.A.**
São Paulo	68 – 220	FARIA (2009)
Cerrado brasileiro	10 – 80	CARVALHO (2011)
Faixa de teores deficientes	100 - 600	LYONS et al. (2003)

*Teores em mg dm^{-3} ; ** Comunicação pessoal - Prof. Marcus Antonio Zanetti (USP - Pirassununga, SP).

Fonte: elaboração do próprio autor

Existem várias barreiras que precisam ser melhores compreendidas para seleção de plantas visando a maiores acúmulos de micronutrientes (Fe, Zn e Se) nas partes comestíveis (WELCH, 2001). Essas barreiras são resultado do fino controle dos mecanismos homeostáticos que regulam a absorção, translocação e redistribuição de metais em plantas, permitindo acúmulo de níveis adequados, mas não-tóxicos nos tecidos vegetais.

O Selenato (SeO_4^{2-}) é a principal forma de Se solúvel em água em solos oxissolos, que incluindo solos mais cultivadas, ao passo que o selenito (SeO_3^{2-}) predomina, em solos anaeróbicos com um pH de neutro a ácido, tais como solos de várzea (MIKKELSEN et al., 1989; FORDYCE, 2013). Espécies de seleneto (Se^{2-}) são estáveis somente sob condições redox baixas, e raramente estão presentes em solos cultivados. O selenato é relativamente móvel na solução do solo, mas o selenito é fortemente adsorvido por óxidos e hidróxidos de ferro e de alumínio, e em menor extensão, por argilas e matéria orgânica (FORDYCE, 2013; PILBEAM et al., 2015). Portanto a adição de selenato no solo facilita o acúmulo imediato de Se pelas plantas, enquanto o selenito fornece um fertilizante com uma liberação mais lenta de Se (BROADLEY et al., 2006; FORDYCE, 2013; PILBEAM et al., 2015).

1.2.3 CLASSIFICAÇÃO DE PLANTAS EM FUNÇÃO DO ACÚMULO DE SELÊNIO

A disponibilidade de Se no solo determina a ecologia das plantas. A maioria das plantas não podem crescer em solos seleníferos. A maioria das plantas que crescem em solos seleníferos acumulam menos de 100 mg Se kg⁻¹ de matéria seca e não toleram grandes concentrações de Se no seu tecido. No entanto, algumas espécies de plantas têm evoluído quanto a tolerância ao Se, e geralmente acumulam em seus tecidos concentrações superiores a 100 mg de matéria seca Se kg⁻¹. Estas plantas são consideradas acumuladoras de Se. Algumas espécies podem ainda acumular concentrações de 1.000-15.000 mg Se kg⁻¹ de matéria seca, e são chamadas de hiperacumuladoras de Se(ex:*Stanleya pinnata*) (WHITE, 2016).

O selênio não é considerado um elemento essencial para plantas (angiospermas), embora seja considerado um elemento benéfico, uma vez que pode estimular o crescimento, conferir tolerância a fatores ambientais que induzem o stress oxidativo, e proporciona resistência a patógenos e herbívoros (QUINN et al., 2007; PILON-SMITS et al., 2009; WHITE & BROWN, 2010; EL MEHDAWI & PILON-SMITS, 2012; FENG et al., 2013). As angiospermas foram divididas em três tipos ecológicos de acordo com a sua capacidade de acumular Se em seus tecidos, sendo não acumuladoras, acumuladoras e hiperacumuladoras selênio (ROSENFELD & BEATH, 1964; BROWN & SHRIFT, 1982; WHITE et al., 2007; WHITE, 2016).

Plantas hiperacumuladoras possuem algumas modificações que permitem acúmulo elevado de Se, como: expressão gênica diferenciada para transportadores de alta afinidade ao Se/Enxofre(S) na raiz (SCHIAVON et al., 2015). Alguns desses transportadores possuem modificações em sua sequência de aminoácidos (CABANNES et al., 2011). E acredita-se que esses transportadores modificados são seletivos ao Se em plantas hiperacumuladoras de Se e seletivos ao S nas demais plantas (WHITE, 2016).

1.2.4 ABSORÇÃO DO SELÊNIO PELAS RAÍZES

As raízes das plantas podem absorver Se na forma de selenato, selenito ou compostos orgânicos, como selenometionina (SeMet) e selenocisteína (SeCys), porém são incapazes de absorver Se na forma coloidal ou de metais selenidos. A absorção de Se pelas células das raízes da rizosfera é catalisada por transportadores de sulfato de alta afinidade (HASTs), homólogos com os transportadores de *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* [L.] Heynh.) AtSULTR1;1 e AtSULTR1;2. Em *Arabidopsis*, o transportador AtSULTR1; 1 contribui pouco para a absorção de selenato em plantas com teores elevados de S, mas a sua

contribuição é significativamente maior quando as plantas apresentam deficiência de S. Transportadores de fosfato, como o de arroz OsPT2, catalisam a absorção de HSeO_3^- , e homólogos do canal de aquaporina de arroz OsNIP2;1 (ZHANG et al, 2014.) catalisam a absorção de H_2SeO_3 (POMMERENIG et al., 2015). Transportadores que catalisam a absorção e a movimentação de cisteína e metionina pelas plantas podem transportar selenocisteína e selenometionina (TEGEDER, 2012).

1.2.5 TRANSPORTE E METABOLISMO DE SELÊNIO EM PLANTAS

Transportadores de sulfato de baixa afinidade homólogos de arabidopsis (AtSULTR2;1, AtSULTR2;2 e AtSULTR3;5) possuem relação com o transporte de Se na forma de selenato pelo xilema das plantas (TAKAHASHI et al., 2000; GIGOLASHVILI & KOPRIVA, 2014).

O selenito é rapidamente convertido em compostos orgânicos de selênio na raiz, enquanto que o selenato é imediatamente transportado no xilema (WHITE et al., 2004; XIMENEZ-EMBÚN et al., 2004). Os transportadores de sulfato homólogos à arabidopsis AtSULTR2;1, AtSULTR2;2 and AtSULTR3;5 têm sido utilizados no transporte de selenato a longa distância no xilema (TAKAHASHI et al., 2000; GIGOLASHVILI & KOPRIVA, 2014). O selênio também é transportado, de forma muito limitada, como SeMet e óxido de Se de selenometionina (SeOMet) no xilema (LI et al., 2008). Em arabidopsis, os transportadores de sulfato de baixa afinidade AtSULTR2;1 e AtSULTR2;2 catalisam a captação de selenato em células, enquanto que AtSULTR3;5 aparentemente modula a atividade do AtSULTR2;1, mas não catalisa o próprio transporte (KATAOKA et al., 2004). A expressão de AtSULTR2;1, AtSULTR2;2 e os seus homólogos em outras plantas é induzida pela deficiência de S e pelo aumento da disponibilidade de Se (TAKAHASHI et al., 2000, BUCHNER et al., 2004, VAN HOEWYK et al., 2005, GIGOLASHVILI & KOPRIVA, 2014).

1.2.6 VARIAÇÃO GENOTÍPICA DO ACÚMULO DE SELÊNIO EM PLANTAS

A biofortificação baseia-se no uso das variações genotípicas, intra e interespecíficas, no melhoramento de plantas visando à obtenção de produtos agrícolas alimentares com maior disponibilidade de nutrientes e vitaminas nas partes comestíveis (WELCH et al., 2008; BORRILL et al., 2014). As poucas pesquisas com esse foco são recentes no meio científico brasileiro e tem despertado interesse devido ao seu potencial de aplicação na melhoria da

qualidade dos alimentos, além de avaliar a variação genotípica quanto à acumulação de selênio em plantas cultivadas (Tabela 2).

Tabela 2 - Variação genotípica na acumulação de selênio por diversas culturas.

Tipo de planta	Nº variedades	Variação ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Autor(es)
Festuca – pastagem	15	82 -147	McQUINN et al. (1991)
Pimentão	24	133 - 1.197	GOLUBKINA et al.(2000)
Soja (grãos)	06	12 – 45	YANLING et al. (2002)
Trigo (grãos)	100	9 – 244	LYONS et al. (2005)
Trigo (grãos)	40	37 – 120	LYONS et al. (2005)
Trigo (grãos)	175	33-440	ZHAO et al. (2009)
Trigo (grãos)	42	24-116	BONA et al. (2009)
Triticale (grãos)	96	22-140	BONA et al. (2009)
Arroz (grãos)	151	29 – 103	ZHANG et al. (2006)
Arroz (grãos)	35	15 – 122	MORAES et al. (2009)
Brócolis – híbridos	20	50 – 95	FARNHAM et al. (2007)
Brócolis – linhagens	15	34 – 89	FARNAHM et al. (2007)

Fonte: elaboração do próprio autor

Sabe-se que a biofortificação visa produzir variedades melhoradas que apresentam maior conteúdo de minerais e vitaminas, complementando as intervenções em nutrição existentes, com o objetivo de proporcionar uma maneira sustentável e de baixo custo para alcançar as populações com limitado acesso aos sistemas formais de mercado e de saúde (REIS et al., 2013; ÁVILA et al., 2014). Variedades biofortificadas apresentam o potencial de fornecer benefícios contínuos, ano após ano, nos países em desenvolvimento, a um custo recorrente inferior ao da suplementação e da fortificação pós-colheita (WELCH, 2001; HARVESTPLUS, 2004; GRAHAM et al., 2007).

O entendimento dos fatores envolvidos na variação genotípica quanto ao acúmulo de Se e sua interação com a resposta das culturas ao Se como fertilizante poderá fornecer subsídios para posterior uso dessas informações no melhoramento vegetal, na nutrição mineral e adubação e na produção de alimentos de melhor qualidade nutricional.

Além da grande variação que existe entre espécies quanto a sua capacidade de acumular Se em seus tecidos, também há uma frequentemente variação significativa entre os

genótipos de uma espécie. Observou-se, por exemplo, que os tipos das espécies hiperacumuladoras de Se, *Stanleya pinnata* (FEIST e PARKER, 2001; CAPPA et al., 2014) e *Symphytotrichum ericoides* (L.) GLNesom (EL MEHDAWI et al., 2015) diferem significativamente na concentração de Se na folha quando cultivadas no mesmo ambiente.

O Se pode aumentar o crescimento e melhorar o estado nutricional de plantas vasculares (TERRY et al., 2000; GRAHAM et al., 2007). Ainda é pouco conhecido o papel na formação de grãos, mas Seregina et al. (2001) comprovaram a interação de Se com N no aumento da produtividade de trigo. Os resultados, porém, foram variáveis conforme a cultivar utilizada. Tal fato demonstra a importância da variação genotípica para o acúmulo de nutrientes como o Se.

1.2.7 IMPORTÂNCIA DO ARROZ NA DIETA DA POPULAÇÃO BRASILEIRA

Os alimentos são a fonte primária de nutrientes, e sua demanda cresce com o aumento da população mundial. Em 1800, havia um bilhão de habitantes no planeta Terra. Atualmente, crescendo a uma taxa média de 1,37%, a população mundial é de 7,2 bilhões de habitantes (GERLAND, 2014). Para 2100, estima-se que a população mundial atinja 12,3 bilhões de pessoas (GERLAND, 2014). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a população brasileira aumentou em 10 vezes no período de 1900 a 2000, passando de 17,4 milhões de pessoas para aproximadamente 170 milhões. Atualmente, a população brasileira é de 203 milhões e, em 2050, estima-se que haverá 260 milhões de brasileiros (IBGE, 2015).

A produção de cereais tem mantido a mesma taxa do crescimento populacional. De acordo com estimativas de Ray et al. (2013), até 2050 a produção de alimentos deverá crescer de 60 a 110% para atender a crescente demanda global por alimentos, e ainda, de acordo com a FAO (2013), durante os anos de 2012/2013, o consumo estimado de arroz foi de 67,7 Kg/pessoa. Por outro lado, a desnutrição tem aumentado, atingindo quase metade da população mundial, especialmente mulheres grávidas, adolescentes e crianças (WELCH, 2001; GRAHAM et al., 2007). Isso se deve, em parte, ao melhoramento genético vegetal voltado para ganho em produtividade e, dessa forma, apresentando relação inversa ao conteúdo de minerais nos grãos (GARVIN et al., 2006; MURPHY et al., 2008).

O arroz está entre os cereais mais consumidos do mundo. É capaz de suprir 20% da energia, devido às altas concentrações de carboidratos, e 15% da proteína da necessidade diária de um adulto, além de conter vitaminas e sais minerais, como o fósforo, cálcio e ferro,

segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO). Possui baixo teor de lipídeos, constituindo alimento importante para o equilíbrio alimentar e nutricional (WALTER et al, 2008).

Tabela 3 - Energia, macronutrientes e fibra na composição de alimentos por 100 gramas de parte comestível.

Descrição do alimento	Energia (Kcal)	Proteína (g)	Lipídios totais (g)	Carboidrato (g)	Fibra alimentar total (g)
Arroz (polido, parboilizado, agulha, agulhinha, etc..)	135,62	2,50	1,20	27,78	1,55
Arroz integral	130,95	2,56	1,97	25,56	2,72

Fonte: Adaptado de IBGE, 2011a.

Entre os alimentos tradicionalmente presentes no cardápio das famílias brasileiras, o arroz polido encontra-se em 1º lugar (84%) na prevalência de consumo segundo os alimentos (Tabela 4). O arroz integral é menos consumido, ficando em 44º lugar (3,7%) (IBGE, 2011b).

Tabela 4 - Prevalência de consumo alimentar segundo os brasileiros nos anos de 2008/2009.

Alimento	Prevalência de consumo (%)
Arroz	84,0
Café	79,0
Feijão	72,8
Pão	63,0
Carne bovina	48,7
Sucos/refrescos/sucos em pó reconstituídos	39,8
Óleos e gorduras	37,8
Aves	27,0
Refrigerantes	23,0
Macarrão e preparações à base de macarrão	18,8

Fonte: adaptado de IBGE, 2011b.

A busca pelo aumento do teor de Se na parte comestível das plantas pode provocar mudanças no metabolismo e estado nutricional das culturas, visto que o Se interfere no metabolismo de enxofre e, provavelmente, indiretamente afete também todo o metabolismo de nitrogênio (WHITE et al., 2004; RÍOS et al., 2010) e produtividade de grãos (NAWAZ et

al., 2015). A adição de Se, via fertilizantes, está envolvida na melhoria da qualidade dos produtos agrícolas. A biofortificação agronômica com Se aumenta o teor de selenocisteína e selenometionina, as quais são substâncias essenciais para a saúde humana e animal (RAYMAN, 2012). Portanto, faz-se necessário conhecer melhor a influência do acúmulo de Se e sua influência no metabolismo de nitrogênio, na síntese de açúcares, teores de aminoácidos essenciais, bem como na qualidade nutricional do arroz por ser o principal alimento da dieta brasileira.

REFERÊNCIAS

- ALFTHAN, G.; EUROLA, M.; EKHOLM, P.; VENÄLÄINEN, E.; ROOT, T.; KORKALAINEN, K.; HARTIKAINEN, H.; SALMINEN, P.; HIETANIEMI, V.; ASPILA, P.; ARO, A. Effects of nationwide addition of selenium to fertilizers on foods, and animal and human health in Finland: From deficiency to optimal selenium status of the population. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**. Muenchen, v. 31, p. 142-147, 2015.
- ANNO, R. M. **Determinação de selênio em solos e pastagens**. 2001. 30 f. Trabalho de conclusão do curso (Graduação em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo - USP, Pirassununga, 2001.
- ÁVILA, F.W.; YANG, Y.; FAQUIN, V.; RAMOS, S.J.; GUILHERME, L.R.G.; THANNHAUSER, T.W.; LI, L. Impact of selenium supply on Se-methylselenocysteine and glucosinolate accumulation in selenium biofortified Brassica sprouts. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 165, p. 578-586, 2014.
- BÓNA, L.; ADÁNYI, N.; FARKAS, R.; SZANICS, E.; SZABÓ, E.; HAJÓS, G.Y.; PÉCSVÁRADI, A.; ÁCS, E. Variation in crop nutrient accumulation: selenium content of wheat and triticale grains. **Acta Alimentaria**, Budapest, v. 38, n. 1, p. 9-15, 2009.
- BORRILL, P.; CONNORTON J. M.; BALK, J. Biofortification of wheat grain with iron and zinc: integrating novel genomic resources and knowledge from model crops. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 5, p. 1-8, 2014.
- BROADLEY, M.R.; WHITE, P. J.; BRYSON, R. J.; MEACHAM, M. C.; BOWEN, H.C.; JOHNSON, S.E.; HAWKESFORD, M.J.; MCGRATH, S.P.; ZHAO, F.J.; BREWARD, N.; HARRIMAN, M.; TUCKER, M. Biofortification of UK food crops with selenium. **Proceedings of the Nutrition Society**. Palmerston North, v. 65, n. 2, p. 169-181, 2006. Doi: 10.1079/PNS2006490.
- BROWN, T. A.; SHRIFT, A. Selenium: toxicity and tolerance in higher plants. **Biological Reviews**, Chichester, v. 57, n. 1, p. 59-84, 1982. doi: 10.1111/j.1469-185X.1982.tb00364.x.
- BUCHNER, P.; STUIVER, C. E. E.; WESTERMANN, S. Regulation of sulfate uptake and expression of sulfate transporter genes in Brassica oleracea L. as affected by atmospheric H₂S and pedospheric sulphate nutrition. **Plant Physiology**, Rockville, v. 136, p. 3396-3408, 2004.
- CABANNES, E.; BUCHNER, P.; BROADLEY, M.R.; HAWKESFORD, M. J. A comparison of sulfate and selenium accumulation in relation to the expression of sulfate transporter genes in Astragalus species. **Plant Physiology**, Rockville, v. 157, n. 4, p. 2227-2239, 2011. Doi: 10.1104/pp.111.183897.
- CAPPA, J. J.; PILON-SMITS E. A. H. Evolutionary aspects of elemental hyperaccumulation. **Planta**, Heidelberg, v. 239, p. 267-275, 2014.
- CARVALHO, G.S. **Selênio e mercúrio em solos sob cerrado nativo**. 2011. 93 f. Tese (Doutorado em Ciências do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

COMBS JUNIOR, G.F. Selenium in global food systems. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 85, n. 5, p. 517-547, 2001.

CHILIMBA, A. D. C.; YOUNG, S. D.; BLACK, C. R.; MEACHAM, M. C.; LAMMEL, J.; BROADLEY M. R. Agronomic biofortification of maize with selenium (Se) in Malawi. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 125, p. 118-128, 2012.

DIBB, D.W.; ROBERTS, T.L.; WELCH, R.M. From quantity to quality: the importance of fertilizers in human nutrition. In: INTERNATIONAL PLANT NUTRITION COLLOQUIUM, 15., 2005, Beijing. **Proceeding**. Washington: USDA, 2005. p.20-25.

EL MEHDAWI, A. F.; PILON-SMITS, E. A. H. Ecological aspects of plant selenium hyperaccumulation. **Plant Biology**, Chichester, v. 14, n. 1, p. 1–10, 2012. Doi: 10.1111/j.1438-8677.2011.00535.x.

EL MEHDAWI, A. F.; PASCHKE, M. W.; PILON-SMITS E. A. H. Symphyotrichum coides populations from seleniferous and non seleniferous soil display sing variation in selenium accumulation. **New Phytologist**, Chichester, v. 206, p. 231–242, 2015.

FARIA, L.A. **Levantamento sobre selênio em solos e plantas do Estado de São Paulo e sua aplicação em plantas forrageiras**. 2009. 75 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

FARNHAM, M.W.; HALE, A.J.; GRUSAK, M.A.; FINLEY, J.W. Genotypic and environmental effects on selenium concentration of broccoli heads grown without supplemental selenium fertilizer. **Plant Breeding**, Berlin, v. 26, n. 2, p. 195-200, 2007.

FEIST, L. J.; PARKER, D.R.. Ecotypic variation in selenium accumulation among populations of Stanleya pinnata. **New Phytologist**, Chichester, v. 149, p. 61–69, 2001.

FENG, R.; WEI, C.; TUD, S. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 87, p. 58–68, 2013. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2012.09.002.

FICHTNER, S. S.; PAULA, A. N.; JARDIN, E. C.; SILVA, E. C.; LOPES, H. O. S. Estudo da composição mineral de solos, forragens e tecido animal de bovinos do município de Rio Verde, Goiás: cobre, molibdênio, selênio. **Anais das Escolas de Agronomia e Veterinária**, Goiânia, v. 20, n. 1, p. 1-6, 1990.

FOOD OUTLOOK: BIENNIAL REPORT ON GLOBAL FOOD MARKETS. Roma: Food and Agriculture Organization – FAO, 2016. Disponível em: <<http://www.fao.org/giews>>. Acesso em: 30 jan. 2015.

FORDYCE, F. M. Selenium deficiency and toxicity in the environment. In: SELINUS, O. et al. (Ed.). **Essentials of medical geology**. Dordrecht: Springer, 2013. p. 375–416.

GARVIN, D.F.; WELCH, R.M.; FINLEY, J.W. Historical shifts in the seed mineral micronutrient concentrations of US hard red winter wheat germplasm. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 86, n.13, p. 2213-2220, 2006.

GERLAND, P.; RAFTERY, A.E.; SVCIKOVA, H.; LI, N.; GU, D.; SPOORENBERG, T.; ALKEMA, L.; FOSDICK, B.K.; CHUNN, J.; LALIC, N.; BAY, G.; BUETTNER, T.; HEILIG, G.K.; WILMOTH, J. World population stabilization unlikely this century. **Science**, Washington, v. 346, n. 6206, p. 234-237, 2014.

GIGOLASHVILI, T.; KOPRIVA, S. Transporters in plant sulphur metabolism. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 5, p. 422, 2014. Doi: 10.3389/fpls.2014.00442.

GISSEL-NIELSEN, G.; GUPTA, U.C.; LAMAND, M.; WESTERMARCK, T. Selenium in soils and plants and its importance in livestock and human nutrition. **Advances in Agronomy**, Maryland Heights, v. 37, p. 397-460, 1984.

GOLUBKINA, N.A.; YURIEV, A.N.; GINS, V.K.; KONONKOV, P.F.; HOOTSOPARIA, T.I.; SOKOLOVA, A.J.; PIVOVAROV, V.P.; PYSHNAYA, O.N. The accumulation of selenium in different accessions of sweet pepper. **Capsicum and Enggplant Newsletter**, Grugliasco, v. 19, p. 23-26, 2000.

GRAHAM, R.D.; WELCH, R.M.; SAUNDERS, D.A.; ORTIZ-MONASTERIO, I.; BOUIS, H.E.; BONIERBALE, M.; HAAN, S.; BURGOS, G.; THIELE, G.; LIRIA, R.; MEISNER, C.A.; BEEBE, S.E.; POTTS, M.J.; KADIAN, M.; HOBBS, P.R.; GUPTA, R.K.; TWOMLOW, S. Nutritious subsistence food systems. **Advances in Agronomy**, Maryland Heights, v. 92, p. 1-74, 2007.

HARTIKAINEN, H. Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Muenchen, v. 18, p. 309-318, 2005.

HARVESTPLUS. **Desenvolvendo produtos agrícolas mais nutritivos**. Washington: HarvestPlus, 2004. 4p.

HAUG, A.; GRAHAM, R.D.; CHRISTOPHERSEN, O.A.; LYONS, G.H. How to use the world's scarce selenium resources efficiently to increase the selenium concentration in food. **Microbial Ecology in Health and Disease**, Jaerfaella, v. 19, n. 4, p. 209-228, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Trabalho e Rendimento, Pesquisa de Orçamentos Familiares. **Energia, macronutrientes e fibra na composição de alimentos por 100 gramas de parte comestível**: período 2008-2009. Rio de Janeiro, 2011a.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Trabalho e Rendimento, Pesquisa de Orçamentos Familiares. **Prevalência de consumo alimentar segundo os alimentos**: Brasil: período 2008-2009. Rio de Janeiro, 2011b.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estimativas da população brasileira em 2015. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/>>. Acesso em: 28 jan. 2015.

JOY, E. J. M.; BROADLEY, M. R.; YOUNG, S. D.; BLACK, C. R.; CHILIMBA, A. D.; ANDER, E. L.; BARLOW, T. S.; WATTS, M. J. Soil type influences crop mineral composition in Malawi. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 505, p. 587–595, 2015. Doi:10.1016/j.scitotenv.2014.10.038.

KATAOKA, T.; HAYASHI, N.; YAMAYA, T.; TAKAHASHI, H. Root-to-shoot transport of sulfate in Arabidopsis. Evidence for the role of SULTR3;5 as a component of low-affinity sulfate transport system in the root vasculature. **Plant Physiology**, Rockville, v. 136, n. 4, p. 4198–4204, 2004. Doi: 10.1104/pp.104.045625.

KOPSELL, D.A.; KOPSELL, D.E. Selenium. In: BARKER, A.V.; PILBEAM, D.J. (Ed.). **Handbook of plant nutrition**. Boca Raton: CRC Press, 2006. p. 515-549.

LI, H-F.; MCGRATH, S. P.; ZHAO, F-J. Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. **New Phytologist**, Chichester, v. 178, n. 1, p. 92–102, 2008. Doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02343.x.

LONGCHAMP, M.; ANGELI, N.; CASTREC-ROUELLE, M. Selenium uptake in Zea mays supplied with selenate or selenite under hydroponic conditions. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 362, n. 1, p. 107–117, 2012. Doi: 10.1007/s11104-012-1259-7.

LEAL, V.S.; LIRA, P.I.C.; MENEZES, R.C.E.; OLIVEIRA, J.S.; COSTA, E.C.; ANDRADE, S.L.L.S. Desnutrição e excesso de peso em crianças e adolescentes: uma revisão de estudos brasileiros. **Revista Paulista de Pediatria**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 415-422, 2012.

LYONS, G.; STANGOULIS, J.; GRAHAM, R. High-selenium wheat: biofortification for better health. **Nutrition Research Reviews**, v. 16, n. 1, p. 45-60, 2003.

LYONS, G.; ORTIZ-MONASTERIO, I.; STANGOULIS, J.; GRAHAM, R. Selenium concentration in wheat grain: Is there sufficient genotypic variation to use in breeding. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 269, n. 1-2, p. 369-380, 2005.

McQUINN, S.D.; SLEPER, D.A.; MAYLAND, H.F.; KRAUSE, G.F. Genetic variation for selenium content in tall fescue. **Crop Science**, Madison, v. 31, n. 3, p. 617-620, 1991.

MIKKELSEN, R. L.; PAGE, A. L.; HAGHIA, G.H. Effect of salinity and its composition on the accumulation of selenium by alfalfa. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 107, n. 1, p. 63–67, 1988.

MILLER, D. D.; WELCH, R. M. **Food system strategies for preventing micronutrient malnutrition**. New York: Cornell University, 2013.

MORAES, M.F. **Micronutrientes e metais pesados tóxicos: do fertilizante ao produto agrícola**. São Paulo: Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 2009. 108p.

MURPHY, K.M.; REEVES, P.G.; JONES, S.S. Relationship between yield and mineral nutrient concentrations in historical and modern spring wheat cultivars. **Euphytica**, Dordrecht, v. 163, n. 3, p. 381-390, 2008.

- NAWAZ, F.; ASHRAF, M. Y.; AHMAD, R.; WARAICH, E. A.; SHABBIR, R. N.; BUKHARI, M. A. Supplemental selenium improves wheat grain yield and quality through alterations in biochemical processes under normal and water deficit conditions. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 175, p. 350-357, 2015.
- PAIVA NETO, J. E.; GARGANTINI, H. Dosagem de selênio no solo. **Bragantia**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 13-16, 1956.
- PILBEAM, D. J.; GREATHEAD, H. M. R.; DRIHEM, K. Selenium. In: BARKER, A. V.; PILBEAM, D. J. (Ed.). **A handbook of plant nutrition**. 2nd. ed. Boca Raton: CRC Press, 2015. p. 165–198.
- PILON-SMITS, E. A. H.; QUINN, C. F.; TAPKEN, W.; MALAGOLI, M.; SCHIAVON, M. Physiological functions of beneficial elements. **Current Opinion in Plant Biology**. Kidlington, v. 12, n. 3, p. 267–274, 2009. Doi: 10.1016/j.pbi.2009.04.009.
- POMMERRENIG, B.; DIEHN, T. A.; BIENERT, G. P. Metalloido-porins: essentiality of nodulin 26-like intrinsic proteins in metalloid transport. **Plant Science**, Shannon, v. 238, p. 212–227, 2015. Doi: 10.1016/j.plantsci.2015.06.002.
- QUINN, C. F.; GALEAS, M. L.; FREEMAN, J. L.; PILON-SMITS, E. A. H.. Selenium: deterrence, toxicity, and adaptation. **Integrated Environmental Assessment and Management**, Hoboken, v. 3, n. 3, p. 460–462, 2007. Doi: 10.1897/IEAM_2007-006.
- RAMOS, S.J.; RUTZKE, M.A.; HAYES, R.J.; FAQUIN, V.; GUILHERME L.R.; LI, L. (2011): Selenium accumulation in lettuce germplasm. **Planta**, Heidelberg, v. 233, n. 4, p. 649-660, 2011.
- RAY, D.K.; MUELLER, N.D.; WEST, P.C.; FOLEY, J.A. Yield trends are insufficient to double global crop production by 2050. **PLoS One**, San Francisco, v. 8, n. 6, p. 1-8, 2013.
- RAYMAN, M. P.; BLUNDELL-POUND G.; PASTOR-BARRIUSO R.; GUALLAR, E.; STEINBRENNER, H.; STRANGES, S. A randomized trial of selenium supplementation and risk of type-2 diabetes, as assessed by plasma adiponectin. **PLoS One**, v. 7, n. 9, p. 45269, 2012. Doi: 10.1371/journal.pone.0045269.
- REIS, A.R.; MORAES, M.; RAMOS, S. J.; GUILHERME, L.R.G. Agronomic biofortification of upland rice with selenium to improve human health. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Muenchen, v. 27S1, p. 42-42, 2013.
- REIS, A.R.; FURLANI JUNIOR, E.; MORAES, M.F.; MELO, S.P. Biofortificação agronômica com selênio no Brasil como estratégia para aumentar a qualidade dos produtos agrícolas. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, Tupã, v. 8, n. 2, p. 128-138, 2014.
- RIOS, J.J.; BLASCO, B.; ROSALES, M.A.; SANCHEZ-RODRIGUES, E.; LEYVA, R.; CERVILLA, L.M.; ROMERO, L.; RUIZ, J.M. Response of nitrogen metabolism in lettuce plants subjected to different doses and forms of selenium. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 90, p. 1914-1919, 2010.

ROSENFELD, I.; BEATH, O. A. **Selenium**: geobotany, biochemistry, toxicity, and nutrition. New York: Academic Press, 1964.

SCHIAVON, M.; PILON, M.; MALAGOLI, M.; PILON-SMITS, E. A. H. Exploring the importance of sulphate transporters and ATP sulphurylases for selenium hyperaccumulation—comparison of *Stanleya pinnata* and *Brassica juncea* (Brassicaceae). **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 6, p. 2, 2015. Doi: 10.3389/fpls.2015.00002.

SEREGINA, I.I.; NILOVSKAYA, N.T.; OSTAPENKO, N.O. The role of selenium in the formation of the grain yield in spring wheat. **Agrokhimiya**, Moscow, v.1, p.44-50, 2001.

TAKAHASHI, H.; WATANABE-TAKAHASHI, A.; SMITH, F. W.; BLAKE-KALFF, M.; HAWKESFORD, M. J.; SAITO, K. The roles of three functional sulfate transporters involved in uptake and translocation of sulphate in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Journal**, Chichester, v. 23, n. 2, p. 171–182, 2000. Doi: 10.1046/j.1365-3113x.2000.00768.x.

TEGEDER, M. Transporters for amino acids in plant cells: some functions and many unknowns. **Current Opinion in Plant Biology**, Kidlington, v. 15, n. 3, p. 315–321, 2012. Doi:10.1016/j.pbi.2012.02.001.

TERRY, N.; ZAYED, A.M.; SOUZA, M.P.; TARUM, A.S. Selenium in higher plants. **Annual Review in Plant Physiology and Molecular Biology**, Palo Alto, v.51, p.401-432, 2000.

VAN HOEWYK, D.; GARIFULLINA, G. F.; ACKLEY A. R. Over expression of AtCpNifS enhances selenium tolerance and accumulation in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Rockville, v.139, p. 1518–1528, 2005.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.4, p.1184-1192, 2008.

WELCH, R.M. Micronutrients, agriculture and nutrition: linkages for improved health and well being. In: SINGH, K.; MORI, S.; WELCH, R.M. (Ed). **Perspectives on the Micronutrient Nutrition of Crops**. Jodhpur: Scientific Publishers, 2001. p.247-289.

WELCH, R.M. Linkages between trace elements in food crops and human health. In: ALLOWAY, B.J. (Ed.). *Micronutrient deficiencies in global crop production*. New York: Springer, 2008. Cap.12, p.287-309.

WHITE, P. J.; BOWEN, H. C.; PARMAGURU, P.; FRITZ, M.; SPRACKLEN, W. P.; SPIBY, R. E.; MEACHAM, M. C.; MEAD, A.; HARRIMAN, M.; TRUEMAN, L. J.; SMITH, B. M.; THOMAS, B.; BROADLEY, M. R. Interactions between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, n. 404, p. 1927–1937, 2004.

WHITE, P. J. Selenium accumulation by plants (Review). **Annals of Botany**, Oxford, v. 117, p. 213-235, 2016. Doi: 10.1093/aob/mcv180.

WHITE, P. J.; BROWN, P. H. Plant nutrition for sustainable development and global health. **Annals of Botany**, Oxford, v. 105, p. 1073-1080, 2010.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R.; BOWEN, H. C.; JOHNSON, S. E. Selenium and its relationship with sulfur. In: HAWKESFORD, M. J.; DE KOK, L. J. (Ed). **Sulfur in plants: an ecological perspective**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 225–252.

XIMÉNEZ-EMBÚN, P.; ALONSO, I.; MADRID-ALBARRÁAN, Y.; CÁAMARA, C. Establishment of selenium uptake and species distribution in lupine, Indian mustard, and sunflower plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 52, n. 4, p. 832–838, 2004. Doi: 10.1021/jf034835f.

XUE, T.; HARTIKAINEN, H.; PIIRONEN, V. The antioxidative function of selenium in higher plants: the inhibitive effect of selenium on lipid peroxidation and its enzymatic mechanism. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 38, p. 274–277, 1993.

YANLING, Z.; GENXING, P.; JIN, C.; TONGBAI, X.; YALING, D. Effect of genotype on selenium uptake and accumulation by soybean in low:se soils. **Soybean Science**, [S. l.], v. 21, n. 4, p. 263–266, 2002.

ZHANG, L.; SHI, W.; WANG, X.; ZHOU, X. Genotypic differences in selenium accumulation in rice seedlings at early growth stage and analysis of dominant factors influencing selenium content in rice seeds. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 29, n. 9, p. 1601–1618, 2006.

ZHAO, F.J.; SU, Y.H.; DUNHAM, S.J.; RAKSZEGI, 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.

ZIMMERMANN, M.B. Iodine deficiency. **Endocrine Reviews**, Cary, v. 30, n. 4, p. 376–408, 2009.

CAPÍTULO II

Efeito da variação genotípica no acúmulo de selênio em arroz de terras altas

2.1 INTRODUÇÃO

O selênio (Se) é um mineral essencial para animais e seres humanos, sendo adquirido a partir da alimentação de plantas. A concentração de Se em plantas comestíveis é determinada pela sua disponibilidade no solo. O selênio não é um elemento essencial para as plantas, mas em excesso pode ser tóxico (WHITE, 2016). Embora não obedeça aos critérios de essencialidade o problema é análogo a carência de iodo, o que acarreta em problemas a saúde do homem.

O United States Department of Agriculture (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2003) recomenda a ingestão diária de 50 a 70 ug de Se por pessoa. Porém, estudos revelam que a dieta da maioria da população mundial está deficiente no elemento (WHITE, 2016), o que implica na ocorrência de diversas doenças associadas à falta do Se no metabolismo humano. Visando contornar essa deficiência, a estratégia de biofortificar alimentos com Se é uma proposta para aumentar os teores desse elementos nos alimentos, a fim de proporcionar maior ingestão de Se na dieta humana e animal, satisfazendo a exigência desde ingestão e reduzindo as consequências negativas da deficiência desse nutriente.

Apesar de o arroz não ser considerado uma planta acumuladora de Se, estudos revelam o sucesso dessa cultura na biofortificação agronômica com Se. Utilizar alimentos amplamente consumidos pela população mundial é uma excelente estratégia para a biofortificação agronômica (BOLDRIN, 2015). Portanto o arroz, sendo o alimento de maior prevalência na alimentação da população brasileira é uma cultura de extrema importância para estudos de biofortificação agronômica.

Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da variação genotípica no acúmulo de Se em cultivares de arroz de terras altas, o efeito do Se no acúmulo de macro e micronutrientes nas folhas e nos grãos, na qualidade nutricional, além de avaliar o potencial antioxidante desse nutriente no metabolismo vegetal, possibilitando determinar doses ideais para a utilização deste elemento no agricultura.

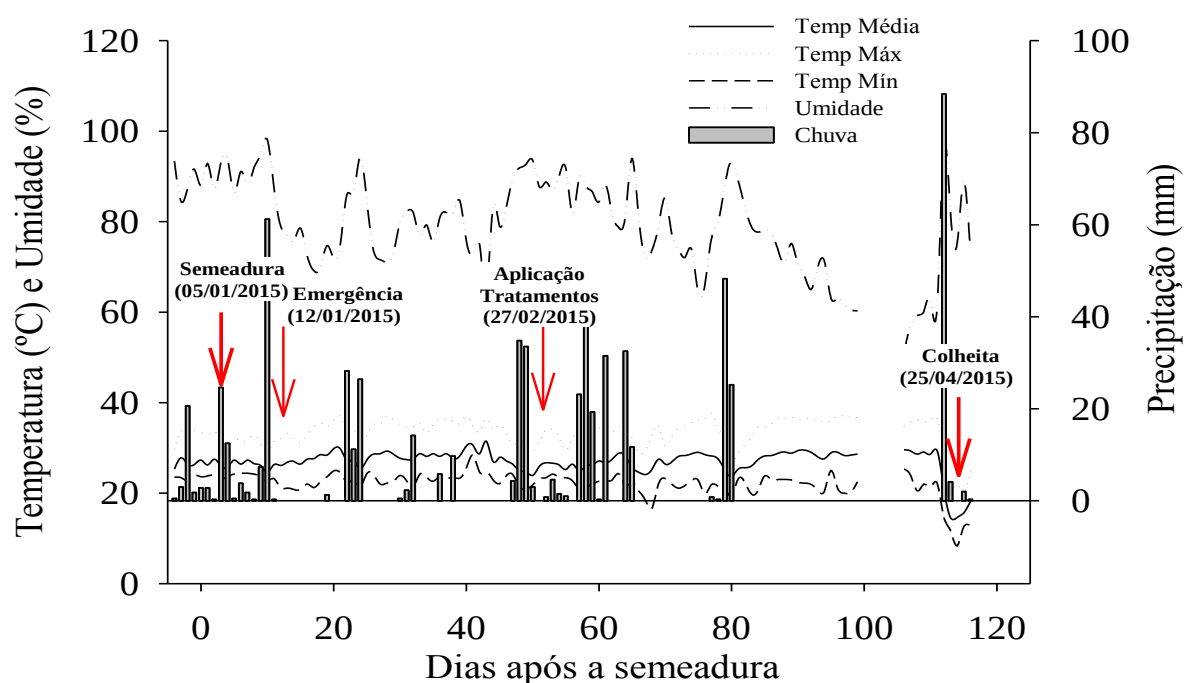
2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL

O estudo foi desenvolvido de janeiro a maio de 2015 na Fazenda de Ensino e Pesquisa da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS/UNESP), localizada em Selvíria, Mato

Grosso do Sul, Brasil (20° 22' S e 51° 22' W, altitude de 335 m). A área experimental pertence ao bioma Cerrado, sendo cultivada há mais de 25 anos e nos últimos 10 anos em sistema de semeadura direta. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Aw, tropical úmido, com estação chuvosa no verão e seca no inverno. A precipitação média anual é 1.232 mm, e a temperatura média anual é 24,5°C (HERNANDEZ; LEMOS FILHO; BUZETTI, 1995). Durante a condução do experimento a temperatura diária média variou entre 15,3°C e 27,2°C, a precipitação média foi de 3,0 mm e a umidade relativa média de 86%, e estão representados na Figura 1.

Figura 1 - Dados climáticos da área experimental durante a fase de semeadura até a colheita do experimento na Fazenda de Ensino e Pesquisa da UNESP, Selvíria-MS.



O solo da área foi classificado como Latossolo Vermelho Distrófico típico (LVd) muito argiloso, e corresponde a ordem *Oxisol* (SOIL SURVEY STAFF, 1999). A análise de solo foi realizada segundo metodologia de Raij et al. (2001) e apresentava as seguintes características químicas: fósforo (resina) 29 mg dm⁻³; matéria orgânica 21 g dm⁻³; pH cloreto de cálcio (CaCl₂) 5,3; potássio 3,5 mmol_c dm⁻³; cálcio 38 mmol_c dm⁻³; magnésio 22 mmol_c dm⁻³; H⁺ + Al mmol_c dm⁻³; alumínio 0 mmol_c dm⁻³; Se 62 μg kg⁻¹; capacidade de troca catiônica 92,5 mmol_c dm⁻³ e saturação de bases (V%) 69%.

2.2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

O estudo foi desenvolvido em delineamento de blocos ao acaso, disposto em esquema fatorial 3 x 5, ao qual corresponde a 3 cultivares de arroz de terras altas de ciclos precoce e médio, mais cultivadas na região dos Cerrados (Cultivar ANa 5015, ANa 7007 e AN Cambará), e 5 doses de Se (equivalente a 0, 10, 25, 50 e 100 g ha⁻¹) aplicadas na forma de selenato de sódio, com 4 repetições, totalizando 60 parcelas. Foi preparada uma solução estoque de Se que posteriormente foi diluída em garrafas de 500 mL de capacidade e foi distribuída no sulco de plantio.

2.2.3 INSTALAÇÃO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi conduzido em sistema de semeadura direta. A correção da acidez do solo não foi realizada visto que a saturação de bases encontrava-se adequada para as exigências do arroz de terras altas. Foi efetuada dessecação da área, 20 dias antes da semeadura, com Roundup Original (glifosato) (4,0 L ha⁻¹), Aurora 400 EC (carfentrazona-etílica) (200 mL ha⁻¹) e 0,5% de óleo mineral.

O cultivares de arroz de terras altas foram semeados com densidade de aproximadamente 70 kg ha⁻¹. As parcelas experimentais consistiram de quatro linhas de 6 m espaçadas 0,35 m, sendo a área útil as duas linhas centrais, excluindo-se 0,5 m das extremidades.

Concomitantemente as sementes foram tratadas com o produto comercial Standak na dose de 2 mL p.c. kg⁻¹ de sementes. Para adubação de semeadura com NPK foram aplicados 250 kg ha⁻¹ do formulado 08-28-16.

O experimento foi semeado no dia 05 de janeiro de 2015, e as plântulas emergiram 7 dias após o plantio, no dia 12 de janeiro de 2015.

Quando necessário, a irrigação foi realizada por um sistema de aspersão do tipo pivô central, com lâmina de água média de 14 mm e turno de rega de 72 h. Durante o ciclo de desenvolvimento das plantas o controle fitossanitário foi efetuado com Ally (metsulfurometílico) (3,3 g ha⁻¹), Premio (clorantraniliprole) (50 mL ha⁻¹), Belt (flubendiamida) (60 mL ha⁻¹) e Connect (imidacloprido + beta-ciflutrina) (0,8 L ha⁻¹).

2.2.4 VARIÁVEIS ANALISADAS

2.2.4.1 Avaliações do crescimento e produtividade

Ao final do experimento, foram coletadas as panículas das 2 linhas centrais e pesados os grãos para a determinação dos componentes de produção.

Após a pesagem, foi determinado o rendimento industrial, coletando-se uma amostra de 100 g de grãos de arroz em casca de cada parcela, a qual foi processada em engenho de prova, por 1 minuto; em seguida, os grãos brunidos (polidos) foram pesados e o valor encontrado foi considerado como rendimento de benefício. Posteriormente, esses grãos brunidos (polidos) foram colocados no “Trieur” e a separação dos grãos foi processada por 30 segundos; os grãos que permaneceram no “Trieur” foram pesados, obtendo-se o rendimento de inteiros e os demais, grãos quebrados.

2.2.4.2 Análise nutricional

Quinze dias após a aplicação dos tratamentos, foram coletadas as folhas bandeira de 20 plantas de cada parcela. O material, após seco, foi utilizado para quantificar os teores foliares dos macro e micronutrientes. Os grãos coletados no final do ciclo também foram analisados.

Os teores de nitrogênio foram determinados pelo método semi-micro Kjeldahl, após digestão sulfúrica (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997). Para quantificação dos demais nutrientes efetuou-se digestão nitroperclórica (JOHNSON; ULRICH, 1959). A determinação foi realizada em espectrofotometria de absorção atômica, com exceção do fósforo e enxofre determinados em espectrofotometria e do potássio por fotometria de chama.

2.2.4.3 Índice SPAD

Quatorze dias após a aplicação dos tratamentos, foram realizadas medições indiretas de clorofila com um medidor eletrônico portátil de intensidade da cor verde das plantas (SPAD), modelo Digital SPAD 502 (MINOLTA). A leitura foi efetuada em três plantas de cada parcela, em cinco pontos da terceira folha da haste principal do terço superior.

2.2.4.4 Análises enzimáticas

2.2.4.4.1 Coleta do material

Foi coletada a folha bandeira das plantas para quantificação da atividade das enzimas urease (EC 3.5.1.5.) e redutase do nitrato, quinze dias após a aplicação dos tratamentos, que foram condicionados em gelo até realização da análise.

Uma segunda coleta foi realizada aos 20 dias após a aplicação dos tratamentos, sendo coletada a folha bandeira de 15 plantas de cada parcela, que foram condicionadas em nitrogênio líquido, e utilizadas para quantificação do conteúdo de peróxido de hidrogênio, peroxidação lipídica, teor de proteína solúvel, superóxido dismutase e catalase. Esse material foi macerado em N líquido e armazenado em freezer -80°C até serem processadas as análises.

2.2.4.4.2 Atividade da urease (EC 3.5.1.5)

A atividade da urease foi determinada em função da produção de N-NH₄, segundo metodologia de McCullough (1967) e o extrato foi obtido segundo metodologia descrita por Hogan, Swift e Done (1983). Após a coleta, 0,2 g da massa fresca foliar foi inserida em 8 mL de tampão fosfato de sódio com ureia pH 7,4 e foram mantidos em banho-maria a 30°C com agitação durante 3 horas para extração. A uma alíquota de 0,5 mL do extrato foi adicionado 2,5 mL do reagente I: fenol (0,1 mol L⁻¹) e nitroprussiato de sódio (SNP) (170 µmol L⁻¹), seguido de agitação, e em seguida 2,5 mL do reagente II: hidróxido de sódio (0,125 mol L⁻¹), fosfato dissódico (0,15 mol L⁻¹) e hipoclorito de sódio (3% Cl₂). Efetuou-se nova incubação em banho-maria a 37°C por 35 minutos. A determinação foi realizada em espectrofotômetro a 625 nm e os resultados expressos em µmol N-NH₄ g⁻¹ MF h⁻¹.

2.2.4.4.3 Atividade da redutase do nitrato

A atividade da nitrato redutase foi determinada por meio da quantificação da produção de NO₂⁻ pela redução de NO₃⁻, segundo a metodologia descrita por Reis et al. (2009). As folhas coletadas foram cortadas retirando-se as pontas e a nervura central, em seguida, foram pesados 0,5 g do material que depois foi cortado em pedaços menores de aproximadamente 0,5cmx0,5cm. O material foi transferido para tubos de ensaio onde foram adicionados 5mL de tampão fosfato de potássio com nitrato de potássio pH 7,5. As amostras foram infiltradas a vácuo 3 vezes durante 2 minutos, e em seguida foram mantidas em banho-maria a 30°C com agitação durante uma hora. Em outros tubos de ensaio foram adicionados 0,5mL de sulfanilamida 1% em HCl 1,5N, 0,5 ml de N-naftil etileno diamino 0,02%, 1,9mL de água deionizada e 0,1 mL de extrato. Cada tubo foi agitado em vórtex e em seguida foi determinada a absorbância em espectrofotômetro a 540 nm e os resultados expressos em µmol N-NO₂ g⁻¹ MF h⁻¹.

2.2.4.4.4 Conteúdo de peróxido de hidrogênio

O conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foi determinado por meio da reação com iodeto de potássio (KI), segundo Alexieva et al. (2001). Foram pesados 100 mg do material vegetal congelado, ao qual foi adicionado 1mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% em eppendorf, esse material foi homogeneizado por meio de agitação em vortex e em seguida foi centrifugado a 10000 rpm por 15 minutos, a 4°C em centrifuga refrigerada. A 200 µL do sobrenadante foram adicionados 200 µL de tampão fosfato de potássio pH 7,5 (100 mM) e

800 μL de solução de KI(1M). As amostras foram mantidas em gelo durante uma hora. Após o resfriamento a temperatura ambiente, foram realizadas leituras de absorbância a 390nm. O conteúdo de peróxido de hidrogênio no tecido foliar foi calculado com base numa curva padrão e os resultados expressos em $\text{nmol g}^{-1} \text{MF}$.

2.2.4.4.5 Peroxidação lipídica

A avaliação da peroxidação lipídica foi determinada por meio da produção de metabólitos reativos a ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), principalmente o malondialdeído, segundo metodologia de Heath e Packer (1968). A extração foi realizada pela homogeneização de 200 mg de material vegetal em 2mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (p/v) + polivinilpolipirrolidona (PVPP) 20%. O material homogeneizado foi centrifugado a 10.000 rpm, por 5 minutos, em centrífuga refrigerada a 4°C. A 250 μL do sobrenadante foi adicionado 1mL de solução de ácido tricloroacético 20% + 0,5% de ácido tiobarbitúrico. As amostras foram mantidas em banho-seco a 95°C durante 30 minutos, e em seguida transferida para gelo onde permaneceu por mais 10 minutos. Em seguida, o material foi novamente centrifugado a 10.000 rpm, durante 10 minutos. Foram realizadas leituras das amostras em dois comprimentos de onda, uma a 535 nm e outra a 600 nm. Os resultados foram expressos em $\text{nmol MDA g}^{-1} \text{MF}$.

2.2.4.4.6 Extração de proteínas e enzimas antioxidantes

O material vegetal armazenado em freezer -80 °C, foi macerado em nitrogênio líquido em um almofariz. Posteriormente, o extrato foi obtido aproximadamente 0,3 g de material vegetal processado, o qual foi transferido para tubos falcon de 15 mL, onde foi adicionado 5 mL de tampão fosfato de potássio 100mM, pH 6,8, contendo ácido etileno diaminotetracético (EDTA) 1mM, ditioneitol (DTT) 3 mM, e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 4% (p/v), utilizando metodologia adaptada de (GOMES JUNIOR et al., 2007). O material foi homogeneizado em mixer e em seguida foi centrifugado em centrífuga refrigerada à 9.000 rpm por 20 minuto à 4°C. O sobrenadante foi transferido para eppendorfs, e posteriormente utilizado para quantificação de proteínas e da atividade das enzimas antioxidativas.

2.2.4.4.7 Determinação de proteínas

A concentração das proteínas solúveis totais foi determinada segundo o método de Bradford (1976), utilizando-se o BSA (“bovine serum albumin”) como padrão. Foram pipetados em tubos de ensaio 100 μL da alíquota e 5 mL do reagente Bradford, que havia sido

preparado previamente. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 595nm e os resultados expressos em mg proteína g⁻¹ MF.

2.2.4.4.8 Superóxido Dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

A atividade da SOD foi determinada de acordo com (GIANNOPOLITIS; RIES,1977). A reação foi conduzida em câmara de reação (caixa), sob iluminação de lâmpada fluorescente de 15 W, a 25°C. Foi adicionado 50 µL da amostra a 5 mL da solução: tampão fosfato de sódio pH 7,8 (50 mmol L⁻¹), metionina (13 mmol L⁻¹), nitroblue tetrazólio (NBT) (75 mmol L⁻¹), EDTA (0,1 mmol L⁻¹) e riboflavina (2 µmol L⁻¹). As amostras foram acondicionadas na caixa, tampada e livre de qualquer luz exterior, e mantidas sob a iluminação da caixa por 15 minutos. Concomitantemente, a mesma solução foi mantida no escuro em tubos de ensaio encapados com papel alumínio, consistindo no branco de cada amostra. Posteriormente as amostras foram homogeneizadas por meio de agitação em vortex. A determinação foi realizada em espectrofotômetro a 560 nm e os resultados expressos em U SOD mg proteína⁻¹.

2.2.4.4.9 Catalase (CAT, 1.11.1.6)

A atividade da catalase foi determinada monitorando-se a degradação de H₂O₂ segundo metodologia de Azevedo et al. (1998). Em 25 µL do extrato proteico foi adicionado 1 mL da solução tampão fosfato de potássio pH 7,5 (100 mM) e 2,5 µL H₂O₂ (30%). Imediatamente após as amostra foram agitadas em vortex. A determinação, da decomposição do H₂O₂,foi efetuada em intervalos de 2 min à 25 °C em espectrofotômetro a 240nm e os resultados expressos em nmol mg proteína⁻¹.

2.2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Em todos os conjuntos de dados considerados, foi analisada a normalidade dos dados, utilizando-se o teste de Anderson-Darling e verificando-se a homocedasticidade dos dados com o teste da equação da variância (ou teste de Levenn's). Os dados foram submetidos à análise de variância, com níveis de significância de 0,05 de probabilidade, pelo teste F. Quando significativas, as médias foram submetidas ao teste Tukey em nível de 0,05 de probabilidade utilizando-se o programa estatístico Minitab e Sigmaplot.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

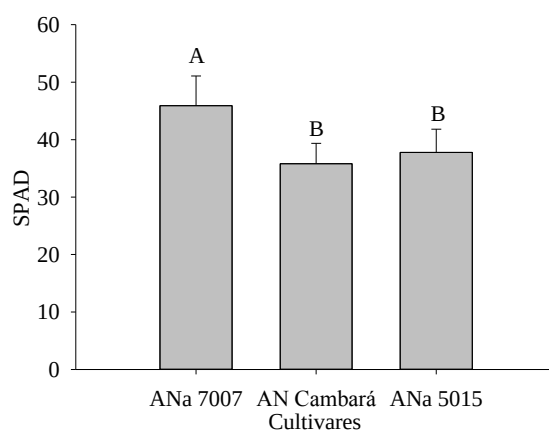
2.3.1 PARÂMETROS FITOTÉCNICOS

De acordo com os valores de índice SPAD apresentados na figura 2, a aplicação de doses de Se nas cultivares utilizadas neste estudo não foram significativas. Houve diferença significativa apenas na comparação entre cultivares, sendo que a cultivar ANa 5015 apresentou maior valor de índice SPAD se comparado com as cultivares ANa 7007 e AN Cambará.

Esse índice estima a quantidade de clorofila presente nas folhas. Em estudo realizado por Pocojeski (2007), utilizando diferentes doses de N e cultivares de arroz irrigado, cultivados nos estados do RS e SC, o autordemonstrou que o clorofilômetro tem potencial para ser utilizado independentemente do cultivar e que há relação entre as leituras do clorofilômetro e o teor de N da folha, ou seja, há um aumento das leituras SPAD conforme aumentam as concentrações de N na planta, porém esta relação existe somente entre a folha em que é realizada a leitura e determinado o teor de N (POCOJESKI et al., 2015).

A cultivar ANa 5015 apresenta ciclo diferente das demais, sendo considerada de ciclo precoce e as demais de ciclo médio. Portanto por ser uma cultivar que completa seu ciclo de forma mais rápida que as cultivares ANa 7007 e AN Cambará, apresenta o pico de assimilação de nutrientes anterior ao das demais, sendo que provavelmente quando houve a medição do índice SPAD as cultivares ANa 7007 e AN Cambará não haviam atingido seu pico de absorção de N.

Figura 2 - Índice SPAD das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.



As médias seguidas de mesma letra, maiúscula comparando as cultivares, não diferem entre si estatisticamente ($p < 0.05$) de acordo com o teste Tukey. As barras de erro indicam o desvio padrão da média de 4 repetições ($n= 4$).

Fonte: elaboração do próprio autor

Assim como esperado, as doses de Se não influenciaram a altura de plantas, já que o Se é um elemento que não atua diretamente em nenhuma rota do crescimento de plantas. A diferença de altura entre as cultivares já era esperada, visto que segundo a AGRONORTE (comunicação pessoal) a cultivar ANa 7007 é de porte baixo e as cultivares AN Cambará e ANa 5015 são de porte médio.

A cultivar ANa 7007 apresentou altura média de 48 cm, sendo a menor cultivar utilizada neste estudo, este valor se aproxima do valor encontrado por Konoboy (2015) em estudos realizados em cultivares de arroz na Costa Rica. A cultivar AN Cambará apresentou média de 90 cm, corroborando com os valores observados por Pigato et al (2010) avaliando o uso de ácido giberélico, e contrasta do valor médio encontrado por Pavão et al (2013), que foi de 117 cm, em estudo realizado comparando efeitos da calagem em diferentes cultivares de arroz de terras altas.

Resultado semelhante foi encontrado por Martinez (2007), onde doses de Se aplicadas via solo ou com tratamento via solo + via foliar não apresentaram diferença significativa, porém as doses de Se quando aplicadas apenas via foliar apresentaram diferença significativa sendo que a altura de plantas apresentou correlação negativa com as doses utilizadas no estudo. Tal efeito foi observado devido a fitotoxidez do produto nas plantas, mostrando que a aplicação via sementes pode ser uma alternativa eficaz.

A aplicação de doses de Se não interferiu significativamente no rendimento de benefício e na porcentagem de grãos quebrados das cultivares de arroz, sendo que esta variável apresentou diferença estatística apenas entre os genótipos, sendo que a cultivar AN Cambará se destacou em relação as demais no rendimento de benefício e a cultivar ANa 7007 apresentou menor quantidade de grãos quebrados do que as cultivares AN Cambará e ANa 5015, que estatisticamente foram consideradas iguais.

O efeito da variação genotípica no rendimento de engenho de arroz de terras altas já é bem conhecido, e fica bastante evidente no estudo realizado por Arf et al (2002) estudando efeitos de irrigação por aspersão e diferentes preparos de solo em dois anos agrícolas, sendo que as cultivares IAC 201, Carajás e Guarani submetidas aos mesmos tratamentos, diferiram

significativamente nos valores de rendimento de benefício, rendimento de grãos inteiros e rendimento de grãos quebrados, e ainda os valores variaram de uma safra agrícola para outra.

O rendimento de benefício de todas as cultivares foi considerado bom, 70% em média, este valor se aproxima dos valores encontrados por Crusciol (1999) estudando diferentes espaçamentos entre as fileiras e densidade de semeadura para o cultivar IAC 201.

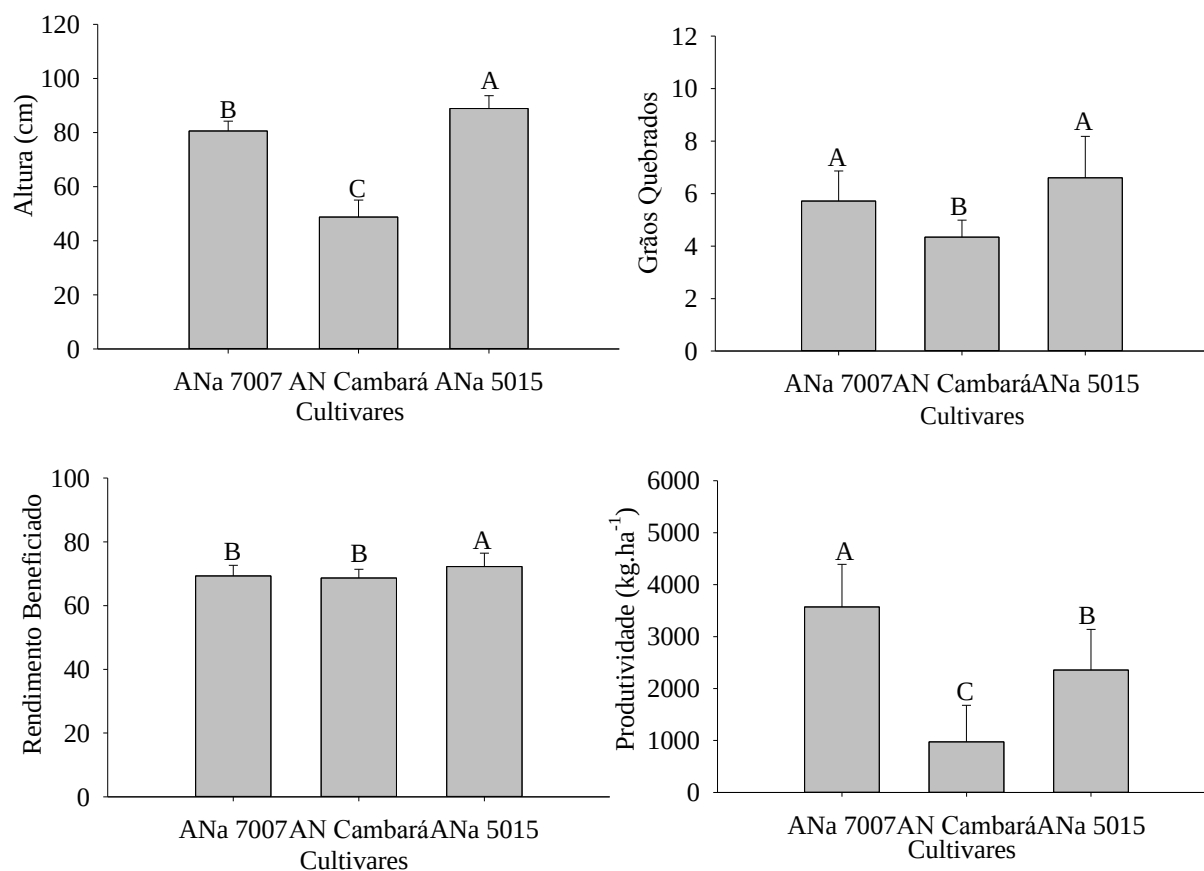
A produtividade, assim como os demais componentes de produção, não apresentou diferença significativa para a aplicação de doses de Se, apenas entre cultivares, sendo que este resultado pode ser atribuído as características intrínsecas de cada genótipo. A maior produtividade foi observada para a cultivar ANa 5015, seguida pela AN Cambará e por último a cultivar ANa 7007.

As doses de Se não interferiram nos componentes de produção da cultura do arroz. Martinez (2007) estudando os efeitos de formas de aplicação e doses de Se na cultura da soja também observou que as doses de Se não interferem na produtividade final da cultura. O mesmo autor observou efeito para a variável produtividade apenas quando o Se foi aplicado via foliar, visto que o mesmo ocasionou efeito fitotóxico na cultura, logo diminui a área foliar e a produção de fotoassimilados, que são necessários para o enchimento de grãos, reduzindo a produtividade.

A cultivar ANa 7007 apresentou menor produtividade em relação as demais, devido a não adaptação ao clima da região onde o experimento foi desenvolvido, já que esta cultivar foi desenvolvida para a região norte do país, onde a temperatura e os índices pluviométricos são distintos. A cultivar AN Cambará apresentou produtividade média de 2.400 kg/ha, sendo um valor a baixo do esperado, já que Pigato et al (2010) obteve produtividade média de 4.500 kg/ha.

Em baixas concentrações o Se tem efeito benéfico em plantas, devido ao aumento da atividade antioxidante, além de retardar a senescência de plantas (LYONS et al., 2009; RAMOS et al., 2011). Por outro lado, em concentrações elevadas compromete o desenvolvimento vegetal, devido a oxidação das células (peroxidação lipídica) e a toxidez (BOLDRIN, 2015).

Figura 3 - Variáveis biométricas das cultivares de arroz de terras altas ANa 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.



Legenda: Altura de plantas (a), porcentagem de grãos quebrados (b), rendimento de benefício (c) e produtividade (d). As médias seguidas de mesma letra, maiúscula comparando as cultivares, não diferem entre si estatisticamente ($p < 0.05$) de acordo com o teste Tukey. As barras de erro indicam o desvio padrão da média de 4 repetições ($n = 4$).

Fonte: elaboração do próprio autor

2.3.2 ENZIMAS DO CICLO DO NITROGÊNIO

A aplicação de Se via solo promoveu um aumento na atividade da redutase do nitrato para as cultivares ANa 5015 e ANa 7007, sendo que, como demonstrado na Figura 2, para a cultivar ANa 5015 a atividade desta enzima atingiu seu pico na dose de 25 g ha^{-1} de Se ($2,2 \text{ umol N-NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$). Já para a cultivar ANa 7007, a atividade enzimática respondeu linearmente com o aumento das doses de Se, atingindo seu maior valor ($1,65 \text{ umol N-NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$) na dose de 100 g ha^{-1} de Se.

O selenato, o sulfato e o molibdato são as formas de oxiânions que as plantas geralmente absorvem do solo, e todos podem utilizar os mesmos transportadores que o sulfato

(SHINMACHI et al., 2010). Portanto a elevada afinidade do transportador de sulfato SULTR1; 2 na membrana plasmática de raízes de *Arabidopsis thaliana* pode mediar a absorção de selenato (Shibagaki et al., 2002). Da mesma forma, o molibdato pode entrar na planta através de *Stylosanthes hamata* que apresenta alta afinidade com o transportador de sulfato SHST1 (FITZPATRICK et al, 2008; TEJADA-JIMÉNEZ et al, 2013). Um maior fornecimento de Mo permite um aumento na atividade da enzima redutase do nitrato, já que o Mo é co-fator deste enzima.

A enzima nitrato redutase é essencial para a utilização do nitrato como um nutriente para as plantas, portanto um aumento na atividade da redutase do nitrato permite uma maior assimilação de nitrato como fonte de N para as plantas, além de desempenhar um papel importante na sinalização de plantas (BOUGUYON et al., 2012; TEJADA-JIMÉNEZ et al, 2013).

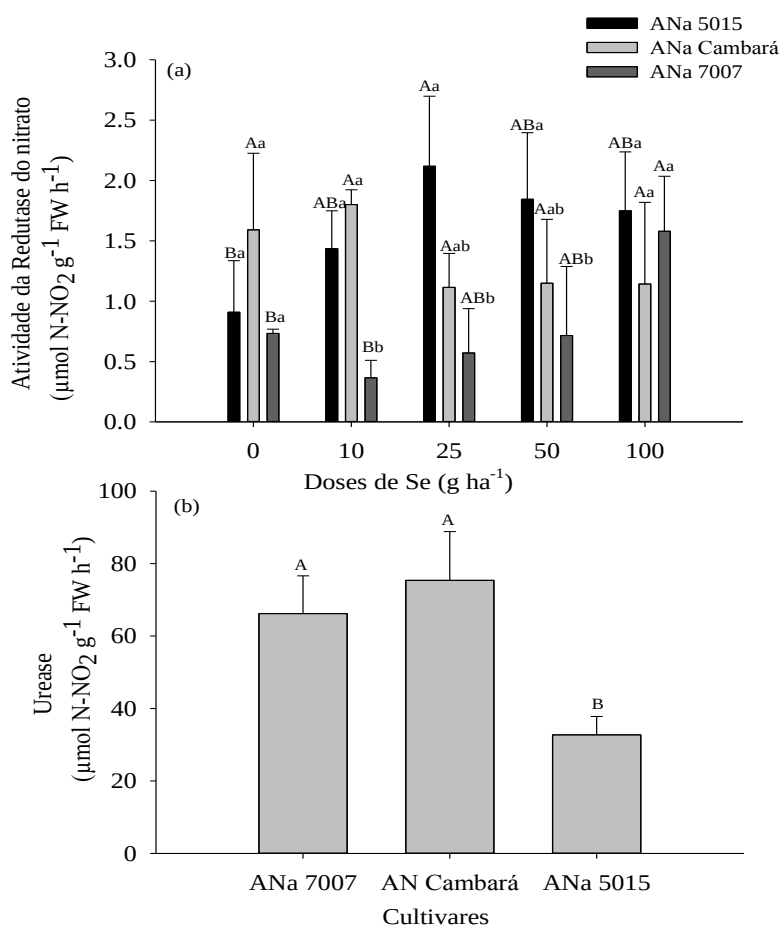
A taxa de fotossíntese líquida e as enzimas relacionadas ao metabolismo do N, como a urease, apresentam diferença significativa dependendo do genótipo de arroz de terras altas e da aplicação de Se (BARCELOS et al., 2015).

A urease é uma enzima que esta presente em todas as plantas analisadas até o momento, sendo responsável por catalisar a reação de hidrólise da uréia a amônia e carbamato, o qual se decompõe para formar uma segunda molécula de amônia e dióxido de carbono (SILVA, 2012).

Neste estudo não foi observado efeito da aplicação de doses de Se, apenas efeito da variação genotípica, sendo que o cultivar AN Cambará apresentou maior valor da enzima urease, seguida pela cultivar ANa 7007 e pela ANa 5015.

De acordo com Barcelos et al (2015), a atividade da urease em estudo realizado com doses de Se em diferentes cultivares de arroz de terras altas observaram que para os cultivares Piaui, IAC 202 e CNA 10928 apresentaram um aumento moderado na atividade desta enzima após a aplicação dos tratamentos. Nowak et al (2002) observaram que baixas doses de Se podem estimular a atividade da urease no solo.

Figura 4 - Atividade das enzimas do ciclo do nitrogênio das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.



Legenda: Atividade nitrato redutase (a) e da urease (b). Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não são significativamente diferentes e acordo com teste t ($p \leq 0,05$) na sequência de uma comparação horizontal de barras a partir de diferentes doses de Se. As barras de erro representam o erro padrão da média ($n = 4$).

Fonte: elaboração do próprio autor

2.3.3 TEOR PROTÉICO E ENZIMAS ANTIOXIDANTES

Para aliviar o dano oxidativo causado pela formação de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), as plantas desenvolveram uma série de sistemas de defesa antioxidativas, incluindo enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione redutase (GR). Esse ciclo de enzimas é responsável pela remoção do peróxido de hidrogênio de diferentes compartimentos celulares. Além disso, cada uma destas enzimas antioxidantes possui isoenzimas, que colaboram para proteger as organelas e minimizar lesões dos tecidos das plantas (XU et al., 2015).

A aplicação de Se via solo promoveu um aumento na concentração foliar de MDA na cultivar ANa 7007 até a dose de 25 g ha⁻¹ de Se, sendo que nas doses seguintes essa concentração foi diminuindo. Para a cultivar AN Cambará foi observado maior concentração de MDA na dose de 100 g ha⁻¹ de Se. Por outro lado, a cultivar ANa 5015 apresentou maiores concentrações de MDA foliar no tratamento controle e na dose de 10 g ha⁻¹ de Se, sugerindo que para esta cultivar o aumento nas doses de Se provoca diminuição na concentração de MDA. Também foi observado efeito da variação genotípica na concentração foliar de MDA, sendo que as cultivares AN Cambará e ANa 5015 apresentam maiores concentrações do que a cultivar ANa 7007.

O uso do Se como estratégia de biofotificação agronômica não interfere na concentração de peróxido de hidrogênio, sendo observado apenas efeito da variação genotípica. Para a cultivar AN Cambará, ao contrário do que foi observado para a concentração de MDA, a concentração de peróxido de hidrogênio foi a menor em relação as demais, sendo que as cultivares ANa 7007 e ANa 5015 não diferiram estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade.

A aplicação de doses de Se influencia diretamente a peroxidação lipídica das plantas. Nos estudos realizados por Hartiken (2005) fica evidente que a aplicação de baixas doses de Se diminuem a peroxidação lipídica, e ainda é possível inferir que em plantas mais velhas a adição de Se previne a peroxidação lipídica.

Espécies reativas de oxigênio são comumente produzidos, porém essa produção é aumentada sob condições de estresse, dessa forma a ativação de mecanismos antioxidantes, enzimáticos e não enzimáticos, é importante para a manutenção do estado fisiológico da planta (THAKUR; SOHAL, 2013).

A SOD atua na primeira linha de defesa contra espécies reativas de oxigênio, sendo responsável por dismutar o superóxido (O₂⁻) em formas menos tóxicas H₂O₂ e O₂. Em seguida CAT e POD são responsáveis por transformar o H₂O₂ em H₂O e O₂ (THAKUR; SOHAL, 2013).

Observa-se que a SOD foi influenciada pela aplicação de doses de Se (Figura 4). Para a cultivar ANa 7007, a partir da dose de 25 g ha⁻¹ de Se, houve um aumento linear da atividade dessa enzima. Por outro lado, a cultivar ANa 5015 teve a atividade da SOD reduzida quando aplicadas as doses de Se, sendo que o tratamento controle foi o que apresentou maior valor de atividade (15,36 U mg⁻¹ proteína). A cultivar AN Cambará não foi afetada pela

aplicação de doses de Se. Também foi observado efeito da variação genotípica na atividade da SOD, sendo que a cultivar ANa 5015 apresentou maior média, seguida pela ANa 7007 e por fim a AN Cambará. Portanto pode-se inferir que cada cultivar apresenta um limiar de tolerância a concentração de Se nos seus tecidos.

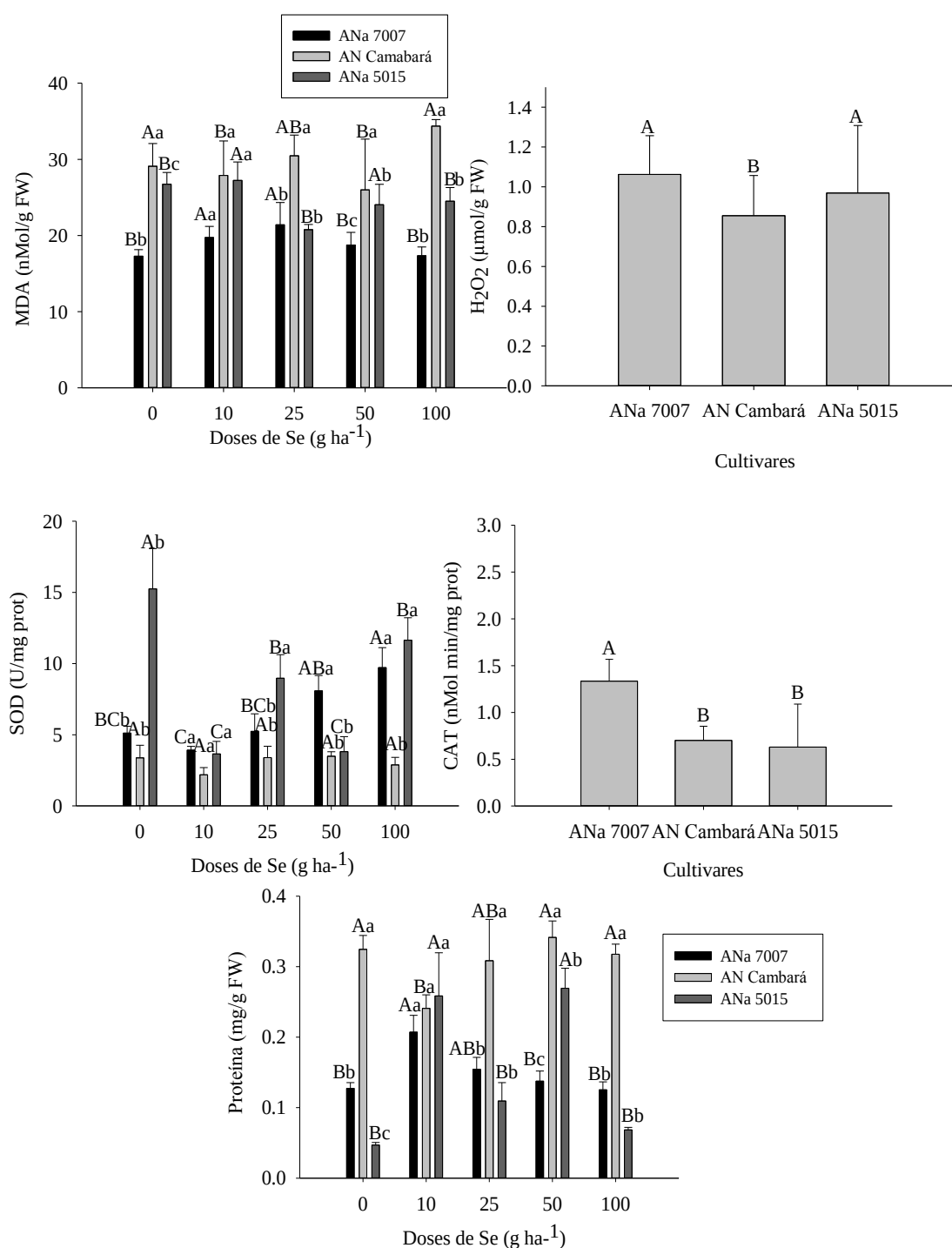
Hartikainen (2005) estudando os efeitos da aplicação de doses de Se no sistema antioxidante das plantas observou que em um dos experimentos o aumento nas doses de Se diminuiu a atividade da SOD, e em outro experimento a atividade aumentou na dose de 10 mg kg⁻¹.

A atividade da catalase não foi influenciada pela aplicação de doses de Se. Houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade apenas comparando os genótipos. A cultivar ANa 7007 apresentou maior atividade da catalase do que as cultivares ANa 5015 e AN Cambará, que foram estatisticamente iguais.

A aplicação de doses de Se nas cultivares de arroz de terras altas promoveu alterações no conteúdo de proteína foliar total. A cultivar ANa 7007 apresentou máximo teor de proteína nas folhas na dose de 10 g ha⁻¹ de Se. A cultivar ANa 5015 apresentou maiores valores de proteína nas doses de 10 e 50 g Se ha⁻¹. A cultivar AN Cambará não apresentou diferença estatística a 5% de probabilidade, assim como para todas as enzimas antioxidantes.

Portanto pode-se dizer que o Se exerce efeito duplo no sistema antioxidativo das plantas, pois de uma maneira geral, quando aplicado em baixas doses atua com um antioxidante, e quando aplicado em doses mais elevadas atua como um pro - oxidante.

Figura 5 - Teor protéico e enzimas antioxidativas das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.



Legenda: conteúdo de malondialdeído (MDA) (a), H₂O₂(b), atividade da superóxido dismutase (SOD) (c), atividade da catalase(CAT) (d) e proteína foliar total (e). Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não são significativamente diferentes e acordo com teste t ($p \leq 0,05$) na sequência de uma comparação horizontal de barras a partir de diferentes doses de Se. As barras de erro representam o erro padrão da média ($n = 4$).

Fonte: elaboração do próprio autor

2.3.4 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DO TECIDO FOLIAR

Nesse estudo, observou-se variação genotípica para a concentração foliar de N, sendo que a cultivar ANa 7007 apresentou a maior média. Credita-se este resultado ao efeito de diluição, visto que esta cultivar apresentou menor porte que as demais. Já as cultivares AN Cambará e ANa 5015, como apresentaram padrões semelhantes de crescimento, pode-se dizer que a cultivar AN Cambará possui maior capacidade de acumular N em seus tecidos. Comparando a aplicação de doses de Se dentro de cada cultivar, pode-se afirmar que as cultivar ANa 7007 e AN Cambará apresentaram aumento nos teores foliares de N com o acréscimo nas doses aplicadas de Se, sendo significativo a 5% apenas para a cultivar ANa 7007. Para a cultivar ANa 5015 não foi encontrado efeito significativo. Boldrin (2015) estudando o efeito da variação genotípica na biofortificação agrônômica com selênio em trigo observou aumento nos teores de N para duas cultivares estudadas, sendo que as demais não apresentaram resposta a aplicação de Se.

Portanto fica evidente que efeitos da aplicação da Se na concentração foliar de N varia de genótipo para genótipo e ainda mais entre espécies diferentes. Por isso mais estudos devem ser realizados visam entender os efeitos do Se no metabolismo do N.

O teor foliar de P não foi influenciado pela aplicação de doses de Se nas cultivares ANa 7007 e AN Cambará, no entanto a cultivar ANa 5015 apresentou decréscimo no teor de P de acordo com o aumento das doses de Se aplicadas. Também observou-se efeito da variação genotípica para os valores de P no tecido vegetal, sendo que a cultivar que mais acumulou este nutriente nas folhas foi a ANa 7007 (1,89 mg/kg), seguida pela AN Cambará (1,51 mg/kg) e pela ANa 5015 (1,40 mg/kg). Boldrin (2015) estudando a biofortificação agrônômica em trigo, observou que o teor foliar de P na cultivar de IAC 24 diminuiu com a aplicação de doses de selenato de sódio.

De acordo com os teores foliares apresentados na Tabela 1, fica evidente que para a cultivar ANa 7007 o aumento nas doses aplicadas de Se no solo, além de promover maior absorção de Se causou uma redução na absorção de S pelas plantas. Os teores foliares de S variaram de 3,32 a 1,90 g kg⁻¹ na cultivar ANa 7007. Não foi observado o mesmo efeito para as cultivares ANa 5015 e AN Cambará.

Este resultado pode ser explicado já que quando há elevada disponibilidade de Se ele substitui o S na constituição dos aminoácidos cisteína e metionina, que geram selenocisteína e selenometionina, respectivamente (ZHU et al., 2009). Essa substituição ocorre devido à

semelhança estrutural entre S e Se e a utilização dos mesmos transportadores de membranas e rotas de assimilação (SORS et al., 2005).

Alguns trabalhos consideram que o efeito do Se na nutrição mineral de plantas iniba a absorção de sulfato e promova diminuição do teor de S no tecido vegetal (FERRARI e RENOSTO, 1972). Essa inibição foi observada por Barack e Goldman (1997), em que a alta disponibilidade de selenato diminuiu o teor de S na cultura da cebola, o que pode estar relacionado à inibição competitiva com o sulfato, promovida pelo excesso de selenato em solução de cultivo.

Os teores foliares de K, Ca e Mg não apresentaram resposta significativa para a aplicação de doses de Se em nenhuma das cultivares utilizadas neste estudo. Foi verificado apenas efeito significativo na comparação de médias entre as cultivares. Em estudos realizados por Zembala et al (2010), Souza et al (2013) e Nasser (2015) a aplicação de selenato de sódio não influencia nos teores foliares de Mg, K e Ca, respectivamente.

Com relação aos micronutrientes, as concentrações foliares de B, Mn, Fe, Cu, Zn e Mo sofreram efeito da variação genotípica, sendo que para algum desses nutrientes uma das cultivares se destacou em relação as demais. A resposta as doses de Se apresentaram efeitos diferentes para cada nutriente e para cada cultivar.

O B apresentou maior concentração foliar na cultivar ANa 5015, 24,88 mg kg⁻¹ MS, sendo bastante superior a média das cultivares ANa 7007 e AN Cambará com médias de 10,19 e 10,32 mg kg⁻¹ MS, respectivamente. A cultivar AN Cambará não apresentou resposta a aplicação de doses de Se. A cultivar ANa 7007 apresentou maior teor foliar de B na dose de 10 g ha⁻¹ de Se e a cultivar ANa 5015 apresentou aumento nos teores foliares de B até a dose de 50 g ha⁻¹, seguida de uma queda na dose de 100 g ha⁻¹.

Para o Mn também foi observado efeito da variação genotípica, sendo que os três cultivares diferiram estatisticamente, apresentando médias de 635, 47 mg kg⁻¹ MS na cultivar ANa 5015, 838,10 mg kg⁻¹ MS na cultivar ANa 7007 e 1040,11 mg kg⁻¹ MS para a cultivar AN Cambará. Com relação a aplicação de doses de Se, apenas a cultivar AN Cambará apresentou resultado significativo, sendo que nas doses de 50 e 100 g ha⁻¹ de Se os teores foliares de Mn foram superiores aos valores encontrados nas doses 0, 10 e 25 g ha⁻¹.

Observando os teores foliares de Fe, fica evidenciado que a cultivar ANa 7007 apresentou maiores teores foliares desse nutriente em relação as demais, atingindo média de

80, 85 mg kg⁻¹, e as cultivares AN Cambará e ANa 5015 77,72 mg kg⁻¹ e 77,57mg kg⁻¹, respectivamente. A aplicação das doses de Se proporcionou efeitos distintos entre as cultivares, sendo que para a ANa 5015 nenhum efeito significativo foi observado, para a ANa 7007 não foi observado um ajuste linear ou quadrático nos teores foliares de Fe, apenas um pico na dose de 25 g ha⁻¹. Por fim, a cultivar AN Cambará apresentou efeito linear negativo para os teores foliares de Fe em relação a aplicação de doses de Se, ou seja, conforme as doses aplicadas foram crescendo, os teores de Fe foram diminuindo.

Houve variação genotípica na concentração foliar de cobre. As médias das cultivares ANa 7007 AN Cambará e ANa 5015 foram 8,81mg kg⁻¹ 5,48 mg kg⁻¹ 6,20mg kg⁻¹, respectivamente. Pela análise estatística do efeito da aplicação de doses de Se dentro de cada cultivar é possível afirmar que o teor foliar de Cu para a cultivar ANa 7007 apresentou correlação positiva com o aumento das doses de Se.

Os teores foliares de Zn também apresentaram efeito da variação genotípica, podendo se destacar a cultivar AN Cambará, que apresentou média de 11,74mg kg⁻¹ MS, seguida pela cultivar ANa 5015 com média 8,74 mg kg⁻¹ de MS, e por último a cultivar ANa 7007 com média de 7,67 mg kg⁻¹ de MS. Ainda com relação ao Zn, foi possível observar que a cultivar AN Cambará apresentou decréscimo nos teores foliares desse nutriente conforme as doses da adubação com Se foram crescendo. O teor foliar de Zn na cultivar ANa 5015 respondeu linearmente até a dose de 50 g ha⁻¹.

Os teores foliares de Mo aumentaram de forma significativa para as cultivares ANa 5015 e ANa 7007 em resposta a aplicação de Se no solo. A diminuição na absorção de S pelas plantas provavelmente facilitou a absorção e o transporte de Mo, pois ambos competem pelos mesmos transportadores de sulfato. O Mo é co-fator da redutase do nitrato, enzima a qual é responsável pela assimilação de N pelas gramíneas. Para a cultivar ANa 7007 observou-se uma correlação significativa entre os teores foliares de Mo e Se. Além disso, essa cultivar apresentou maiores teores foliares de N em relação as demais cultivares.

Tabela 1 - Teores nutricionais no tecido foliar das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.

		N	P	S	K	Ca	Mg	Se
Cultivar	ANa 7007	22.00a	1.89a	2.56	7.90c	9.05a	2.49b	0.89c
	AN Cambará	19.83b	1.51b	2.59	9.56b	8.37b	1.32c	1.32a
	ANa 5015	18.65c	1.40c	2.59	10.73a	8.28b	2.80a	1.01b
Doses Selênio	Linear	2.76 ^{ns}	1.51 ^{ns}	11.32**	0.21 ^{ns}	1.52 ^{ns}	0.08 ^{ns}	552**
	Quadrática	0.02 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.52 ^{ns}	2.74 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.40 ^{ns}	0.67 ^{ns}
ANa 7007	0	20.75b	1.80bc	3.32Aa	7.33	9.18	2.48	0.02d
	10	20.74b	2.02Aab	2.85Aab	8.35	9.16	2.53	0.26cd
	25	21.70Ab	1.59c	2.56bc	8.35	8.61	2.21	0.45Bc
	50	22.81Aab	2.21Aa	2.19Bcd	7.88	8.87	2.52	1.21Bb
	100	23.99Aa	1.83Abc	1.90Bd	7.58	9.43	2.73	2.49Ba
AN Cambará	0	18.97	1.53Ba	2.62B	9.22	8.17	1.35	0.15d
	10	19.55	1.36Ba	2.34B	9.47	8.30	1.42	0.30d
	25	19.42B	1.60a	2.66	10.20	8.47	1.20	0.92Ac
	50	20.58B	1.55Ba	2.60AB	9.75	8.57	1.26	2.39Ab
	100	20.65B	1.50Ba	2.72A	9.14	8.32	1.37	2.87Aa
ANa 5015	0	19.50	1.83Aa	2.70B	10.60	8.16	2.84	0.02e
	10	19.02	1.36Bbc	2.44AB	10.48	8.35	2.88	0.30d
	25	18.67B	1.42b	2.75	11.00	7.85	2.72	0.65Bc
	50	18.05C	1.23Cbc	2.70A	11.23	8.66	2.77	1.10Bb
	100	18.00C	1.16Cc	2.37A	10.35	8.39	2.77	2.97Aa
D.M.S.		1.812	0.263	0.503	NS	NS	NS	0.28
C.V.		5.23	8.16	9.67	5.11	4.51	6.07	12.99
Cultivar		p<0.05	p<0.05	NS	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05
Doses		p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	NS	p<0.05	p<0.05

Legenda: ^{ns}: Não significativo, ** significativo a 5%; * significativo a 1%; Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não são significativamente diferentes dentro de cada cultivar e letras maiúsculas iguais não diferentes para cada dose de selênio, de acordo com teste t ($p \leq 0,05$); D.M.S.: Diferença mínima significativa; C.V.: Coeficiente de variação.

Tabela 2 - Teores nutricionais no tecido foliar das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.

		Mn	Fe	Cu	Zn	Mo	B
Cultivar	ANa 7007	838.10b	80.85a	8.81a	7.67c	45.49b	10.19b
	AN Cambará	1040.11a	77.72ab	5.48c	11.74a	67.23a	10.32b
	ANa 5015	635.47c	77.57b	6.20b	8.74b	39.42b	24.88a
Doses Selênio	Linear	0.34 ^{ns}	3.98 ^{ns}	0.26 ^{ns}	0.14 ^{ns}	1.26 ^{ns}	0.11 ^{ns}
	Quadratico	0.23 ^{ns}	1.11 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.59 ^{ns}	2.08 ^{ns}	0.56 ^{ns}
ANa 7007	0	903.33A	82.41Bab	8.25Ab	7.26C	30.72	9.08Bb
	10	736.96B	73.49Bc	8.27Ab	7.42C	40.06	11.82Ba
	25	901.89A	89.80aA	9.06Aab	7.72C	45.28	10.29Bab
	50	861.08B	76.65ABbc	9.02Aab	8.00C	50.62	9.81Bb
	100	787.23B	81.88Aabc	9.44Aa	7.96B	60.76	9.94Bb
AN Cambará	0	995.15Aab	90.28Aa	5.28C	12.01Aab	60.54	10.22Ba
	10	987.16Aab	85.21Aa	5.08C	12.17Aa	62.78	10.32Ba
	25	888.54Ab	76.71Bb	6.04A	12.24Aa	63.29	10.74Ba
	50	1183.44Aa	71.52Bbc	5.53A	11.33Abc	65.08	9.80Ba
	100	1146.26Aa	64.90Bc	5.47A	10.95Ac	54.46	10.50Ba
ANa 5015	0	590.90B	76.17B	6.74B	8.44Bb	29.59	21.53Ac
	10	681.41B	75.18B	6.28B	8.64Bab	33.00	24.07Ab
	25	669.77B	74.54B	5.81B	8.93Bab	42.91	24.89Ab
	50	619.89B	79.93A	6.15B	9.38Ba	46.08	29.15Aa
	100	615.36C	82.02A	6.02B	8.29Bb	45.54	24.75Ab
D.M.S.		218.30	8.45	1.03	0.79	NS	1.87
C.V.		12.92	5.32	7.54	4.20	21.99	6.14
Cultivar		p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05
Doses		NS	p<0.05	NS	p<0.05	NS	p<0.05

Legenda: ^{ns}: Não significativo, ** significativo a 5%; * significativo a 1%; Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não são significativamente diferentes dentro de cada cultivar e letras maiúsculas iguais não diferentes para cada dose de selênio, de acordo com teste t ($p \leq 0,05$); D.M.S.: Diferença mínima significativa; C.V.: Coeficiente de variação.

2.3.5 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DOS GRÃOS

De acordo com os dados nutricionais de grãos presente na Tabela 3 é possível verificar que os teores de N, S, Ca e Zn não apresentaram resposta a aplicação de doses de Se visando a biofortificação agrônômica de arroz de terras altas. Esses nutrientes apresentaram diferença significativa apenas quando a comparação foi feita entre genótipos.

O teor de P nos grãos de arroz foram afetados pela aplicação de doses de Se. Também foi observado efeito da variação genotípica nos teores de P nos grãos. Para a cultivar AN Cambará foi possível notar que quando aplicada a dose de 100 g ha⁻¹ de Se o teor de P diminui em relação a testemunha (3,3 mg kg⁻¹ de MS para 2,93 mg kg⁻¹ de MS). A cultivar ANa 5015 apresentou variação quando adicionadas as doses de Se, variando de 3,7 mg kg⁻¹ até 1,2 mg kg⁻¹.

Sabe-se que a adubação com Se pode interferir na absorção de P pelas plantas, porém este fato ocorre com maior frequência quando a fonte de Se utilizada é o selenito, já que o mesmo compete com o P no processo de absorção (HOPPER e PARKER, 1999). Nos estudos realizados por Boldrin 2012 fica evidenciado o efeito do selenito na diminuição da absorção de P, já o selenato, diferentemente dos resultados obtidos neste estudo não influenciou no teor de P nos grãos.

Em estudos realizados com trigo Boldrin et al (2012) relataram que a adubação com selenato de sódio proporcionou maior acúmulo de S nos grãos. Milkelsen e Wan (1990) obtiveram resultados semelhantes estudando cevada e arroz, e estes mesmos autores atribuem esse resultado ao fato de que o selenato e o sulfato podem apresentar uma interação sinérgica em diversas espécies vegetais.

Os teores de K e Mg nos grãos foram influenciados pela aplicação de doses de Se apenas na cultivar ANa 5015. Foi observado um ponto de mínimo na dose de 25 g ha⁻¹, sendo que estatisticamente as doses 0, 10, 50 e 100 g ha⁻¹ apresentaram valores iguais para ambos nutrientes.

O teor de Mn nos grãos apresentou efeito da variação genotípica, sendo que as cultivares ANa 7007 e AN Cambará se destacaram em relação a cultivar ANa 5015, com médias de 26,09 mg kg⁻¹ e 25,11 mg kg⁻¹, enquanto a ultima apresentou média de 17,66 mg kg⁻¹. A aplicação de doses de Se interferiu no teor de Mn nos grãos, sendo que a dose de 10 g

ha⁻¹ proporcionou o maior valor de Mn, 29, 85 mg kg⁻¹, após essa dose os valores começaram a reduzir linearmente.

O teor de Fe nos grãos de arroz de terras altas responderam a aplicação de doses de Se. A cultivar ANa 7007 apresentou grande aumento no teor de Fe, visto que no tratamento com dose 0 de Se o teor nos grãos foi de 8,80 mg kg⁻¹, e quando adicionado o Se, o teor variou entre 11,17 e 11,54 mg kg⁻¹. Esse grande aumento no teor de Fe nos grãos de arroz da cultivar ANa 7007 com a adição de Se foi o que proporcionou que essa cultivar apresentasse média superior a das demais cultivares utilizadas nesse estudo. A cultivar ANa 5015 apresentou maior teor de Fe na dose de 50 g ha⁻¹. Por outro lado, a cultivar AN Cambará apresentou decréscimo nos teores de Fe conforme as doses de Se foram crescendo, variado de 9,00 mg kg⁻¹(tratamento controle) para 5,56 mg kg⁻¹ na dose máxima de Se (100 g ha⁻¹).

O comportamento apresentado pela cultivar AN Cambará foi semelhante ao apresentado pela cultivar BRSMG Relâmpago em estudo realizado por Boldrin et al (2012) avaliando o status nutricional dos grãos após a biofortificação agronômica testando diferentes fontes de selênio, e também ao estudo de Zembala et al (2010) avaliando colza e trigo.

Analisando o teor de Cu nos grãos de arroz de terras altas é possível afirmar que as doses de Se influenciaram o teor deste nutriente. Para a cultivar AN Cambará as doses de 10 e 25 g ha⁻¹ de Se proporcionaram maiores valores de Cu, sendo que o aumento nas doses diminuiu o teor de Cu. Por outro lado, a cultivar ANa 5015 apresentou maior valor de Cu nos grãos no tratamento controle.

Os teores de Zn nos grãos foram influenciados apenas pela variação genotípica, sendo que a Cultivar ANa 7007 se destacou com teor médio de 30,64 mg kg⁻¹ de MS, já as cultivares AN Cambará e ANa 5015 apresentaram médias de 21,68 mg kg⁻¹ de MS e 22,30 mg kg⁻¹ de MS, respectivamente. A aplicação de doses de Se não influenciaram nos teores de Zn no grão. Zembala et al (2010) notou que os teores de Zn aumentam com o acréscimo nas doses de Se, já Boldrin et al (2012) obteve resultados diferentes, sendo que quando as doses de Se aumentaram, o teor de Zn nos grãos diminuiu.

Observa-se na que o teor de Mo nos grãos de arroz sofreram grande efeito da variação genotípica, já que a cultivar ANa 7007 apresentou média de 54,33 mg kg⁻¹, enquanto que as cultivares AN Cambará e ANa 5015 apresentaram médias de 25,62 e 24, 85 mg kg⁻¹. A aplicação de Se também influenciou no teor de Mo no grão. Para a cultivar ANa 7007 o maior teor de Mo foi obtido na dose de 50 g ha⁻¹. Para a cultivar AN Cambará os valores de Mn

variaram consideravelmente. As doses de Se diminuíram o teor desse nutriente, visto que o tratamento com dose 0 de Se apresentou média de 33,26 mg kg⁻¹ e a maior dose de Se (100 g ha⁻¹) apresentou média de 16,78 mg kg⁻¹. Os tratamentos que se destacaram avaliando a cultivar ANa 5015 foram as doses de 10, 50 e 100 g ha⁻¹.

A aplicação de doses de Se na cultura do arroz de terras altas proporcionou aumento nos teores foliares de Se variando de 0,14 a 2,17 na cultivar ANa 5015, de 0,22 a 1,30 na cultivar AN Cambará e de 0,11 a 2,06 mg kg⁻¹ Se. Nesse estudo observou-se variação genotípica para a concentração foliar de Se. A cultivar AN Cambará apresentou maiores concentrações de Se nas doses de 25 a 100 g ha⁻¹. No tratamento controle a cultivar Cambará apresentou maior concentração de Se em condições naturais.

Os teores de Se nas folhas e nos grãos de todas as cultivares aumentaram linearmente em resposta a aplicação de Se no sulco de plantio. Portanto a biofortificação agrônômica é uma boa estratégia para aumentar os teores de Se nas folhas e nos grãos em arroz de terras altas.

De acordo com as normas do Codex Alimentarius os alimentos biofortificados com Se não devem apresentar teores superiores a 0,3 mg kg⁻¹ de Se. A aplicação de 10 g ha⁻¹ de Se apresentou concentração média de 0,373 mg kg⁻¹ de Se nos grãos, levando em consideração as três cultivares.

A população brasileira ingere em média 25 kg de arroz ano⁻¹ ou 68,5 g dia⁻¹ de arroz (MAPA, 2016). Dessa forma, com base nos cálculos de ingestão diária de Se, pode-se concluir para a dose de 10 g ha⁻¹, que mesmo a quantidade de Se ultrapassando a concentração máxima permitida pelo Codex, os valores de ingestão diária são considerados adequados, pois o Instituto de Medicina recomenda uma ingestão de 55 µg dia⁻¹.

Este trabalho é um dos primeiros estudos realizados em condições de campo visando a biofortificação agrônômica com Se em arroz de terras altas no cerrado brasileiro, portanto novos estudos devem ser realizados para se determinar a melhor dose a ser utilizada.

Quantidade média de arroz ingerida por ano por habitante:

$$25 \text{ kg ano}^{-1} = 0,0685 \text{ kg ou } 68,5 \text{ g dia}^{-1}$$

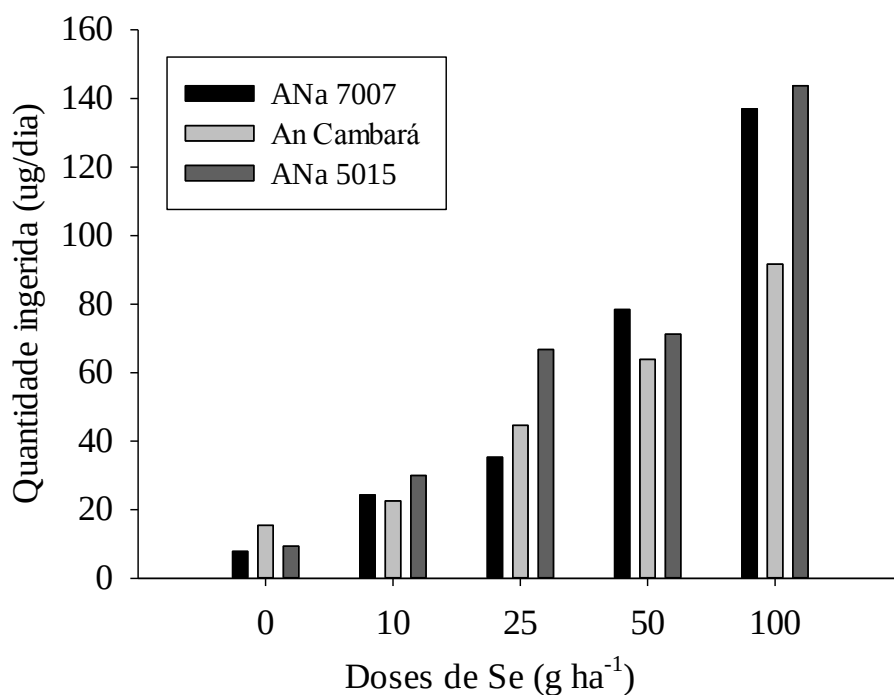
Cálculo da quantidade de Se ingerida em $\mu\text{g dia}^{-1}$ para as cultivares ANa 5015, AN Cambará e ANa 7007, respectivamente, com base na quantidade de Se nos grãos de arroz biofortificados com Se na dose de 10 g ha^{-1} .

$$68,5 \text{ g dia}^{-1} \times 0,437 \text{ mg kg}^{-1} = 29,93 \mu\text{g dia}^{-1}$$

$$68,5 \text{ g dia}^{-1} \times 0,329 \text{ mg kg}^{-1} = 22,53 \mu\text{g dia}^{-1}$$

$$68,5 \text{ g dia}^{-1} \times 0,355 \text{ mg kg}^{-1} = 24,32 \mu\text{g dia}^{-1}$$

Figura 6 - Ingestão diária de Se ($\mu\text{g}/\text{dia}$), de acordo com o consumo médio de arroz pela população brasileira, das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.



Fonte: elaboração do próprio autor

Tabela 3 - Teores nutricionais nos grãos das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.

		N	P	S	K	Ca	Mg	Se
Cultivar	ANa 7007	18.91c	3.90a	1.28b	2.89a	0.13a	1.68a	0.87b
	AN Cambará	17.96b	3.34b	1.34a	2.56b	0.10b	1.46b	0.69c
	ANa 5015	19.15a	2.64c	1.31ab	2.42b	0.07c	1.43b	0.97a
Doses Selênio	Linear	0.94 ^{ns}	1.55 ^{ns}	4.56*	0.01 ^{ns}	0.40 ^{ns}	1.10 ^{ns}	409.81**
	Quadrática	1.96 ^{ns}	2.99 ^{ns}	6.18*	1.02 ^{ns}	0.03 ^{ns}	2.23 ^{ns}	2.54 ^{ns}
ANa 7007	0	19.02	4.03A	1.32	2.95A	0.13	1.78A	0.12Ae
	10	19.01	3.77A	1.33	2.94A	0.14	1.71A	0.36Ad
	25	18.25	3.71A	1.22	2.85A	0.12	1.54A	0.65Bc
	50	18.26	4.00A	1.31	2.93A	0.13	1.71A	1.15Ab
	100	20.00	4.00A	1.25	2.76A	0.13	1.65A	2.06Aa
AN Cambará	0	18.87	3.38Bab	1.36	2.55B	0.10	1.47A	0.23Ad
	10	17.05	3.58Aa	1.35	2.70AB	0.11	1.57A	0.33Ad
	25	17.69	3.33Aab	1.37	2.64A	0.10	1.45A	0.65Bc
	50	18.24	3.50Ba	1.27	2.47B	0.10	1.47A	0.93Bb
	100	17.94	2.93Bab	1.34	2.46A	0.09	1.32B	1.30Ba
ANa 5015	0	18.57	3.78Aa	1.40	2.75ABa	0.07	1.72Aa	0.14Ad
	10	19.28	3.06Bb	1.32	2.43Ba	0.08	1.45Aa	0.44Ac
	25	19.83	1.26Bd	1.25	1.46Bb	0.06	0.96Bb	0.98Ab
	50	18.39	2.50Cc	1.27	2.79ABa	0.08	1.51Ba	1.13Ab
	100	19.69	2.63Bbc	1.30	2.68Aa	0.06	1.49ABa	2.17Aa
D.M.S.		NS	0.47	NS	0.38	NS	0.37	0.21
C.V.		5.23	7.08	4.75	7.20	10.06	12.18	12.86
Cultivar		p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05
Doses		NS	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05

Legenda: ^{NS}: Não significativo, ** significativo a 5%; * significativo a 1%; Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não são significativamente diferentes dentro de cada cultivar e letras maiúsculas iguais não diferentes para cada dose de selênio, de acordo com teste t ($p \leq 0,05$); D.M.S.: Diferença mínima significativa; C.V.: Coeficiente de variação.

Tabela 4 - Teores nutricionais nos grãos das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.

		Mn	Fe	Cu	Zn	Mo	B
Cultivar	ANa 7007	26.09a	10.81a	4.57b	30.64a	54.43a	2.72a
	AN Cambará	25.11a	7.35b	5.10a	21.68b	25.62b	1.23b
	ANa 5015	17.66b	7.97b	5.17a	22.30b	24.85b	1.32b
Doses Selênio	Linear	0.36 ^{ns}	0.53 ^{ns}	1.67 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.34 ^{ns}	2.15 ^{ns}
	Quadrático	0.07 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.34 ^{ns}	1.22 ^{ns}	0.28 ^{ns}	7.54*
ANa 7007	0	25.29A	8.80Ab	4.44B	32.33	54.11Abc	1.82Ac
	10	25.77B	11.17Aa	4.86A	30.88	50.48Ac	2.43Aab
	25	25.89A	11.54Aa	4.13B	28.90	56.32Aab	4.44Aa
	50	27.21A	11.39Aa	4.81A	31.25	59.53Aa	3.65Aab
	100	26.31A	11.17Aa	4.61AB	29.84	51.71Abc	1.26Ac
AN Cambará	0	23.59Ab	9.00Aa	4.92ABab	20.70	33.26a	0.76A
	10	29.85Aa	8.72Ba	5.67Aa	23.92	25.57Bb	1.64A
	25	24.81Aa	6.66Bb	5.50Aa	20.00	24.06Bb	1.36B
	50	24.43Aa	6.81Cb	4.95Aab	21.34	28.44Bab	1.32B
	100	22.86Ba	5.56Cb	4.47Bb	22.45	16.78Cc	1.06A
ANa 5015	0	18.55B	8.09Ab	5.69Aa	25.20	23.54Cab	1.71A
	10	18.78C	8.92aBb	5.24Aab	21.64	26.68Ba	1.49A
	25	15.08B	5.36Cc	4.71ABb	19.78	19.79Bb	1.26B
	50	18.65B	9.63Ba	4.90Aab	21.71	27.87Ba	1.30B
	100	17.26C	7.87Bb	5.34Aab	23.14	26.37Ba	0.86A
D.M.S.		4.04	1.38	0.95	NS	5.12	1.44
C.V.		8.73	7.88	9.58	9.42	7.26	40.82
Cultivar		p<0.05	p<0.05	NS	p<0.05	p<0.05	p<0.05
Doses		p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05

Legenda: ^{NS}: Não significativo, ** significativo a 5%; * significativo a 1%; Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não são significativamente diferentes dentro de cada cultivar e letras maiúsculas iguais não diferentes para cada dose de selênio, de acordo com teste t ($p \leq 0,05$); D.M.S.: Diferença mínima significativa; C.V.: Coeficiente de variação.

2.3.6 QUALIDADE NUTRICIONAL DO GRÃO

A aplicação de selenato de sódio por ocasião do florescimento promove um aumento nos teores totais de proteína nos grãos (Figura 7). Para a cultivar ANa 5015 os valores de proteína total foram crescentes até a dose de 25 g ha⁻¹ (375,18 mg g⁻¹ MS) seguida de uma queda. Já para as cultivares Cambará e ANa 7007 foi observado que a dose de 50 g ha⁻¹ apresentou o maior teor de proteínas em relação aos demais tratamentos, com valores de 375,16mg g⁻¹ MS e 404,11mg g⁻¹ MS, respectivamente.

Fazendo a comparação entre as frações protéicas foi possível observar que a fração glutelina teve aumento significativo quando acrescentado o Se com relação ao tratamento controle, sendo que para a cultivar ANa 5015 o aumento foi de 205,78 mg g⁻¹ MS (controle) até 269,57 mg g⁻¹ MS (25 g ha⁻¹ Se) e para a cultivar AN Cambará o incremento foi de 235,79 mg g⁻¹ MS (testemunha) para 265,34 mg g⁻¹ MS (50 g ha⁻¹Se). Para a cultivar ANa 7007 não houve diferença entre o tratamento controle e a maior dose de Se. Para a fração albumina as cultivares apresentaram comportamento distinto, sendo que para a ANa 5015 houve incremento nos teores de proteína até a dose de 25 g ha⁻¹Se e tais valores se estabilizaram. Para as cultivares AN Cambará e ANa 7007 foi possível observar um efeito quadrático das doses de Se, sendo que para a Cambará a adubação com 10 g ha⁻¹ Se se destacou com relação as demais e para ANa 7007 as doses de 25 e 50 g ha⁻¹ Se se destacaram.

A dose de 50 g ha⁻¹ Se proporcionou maiores valores de prolamina para as cultivares AN Cambará e ANa 7007, e a dose de 10 g ha⁻¹ Se para a cultivar ANa 5015. Analisando os valores de globulina é pode-se inferir que a aplicação de doses crescentes de Se não apresentou um padrão de resposta nas três cultivares utilizadas nesse estudo.

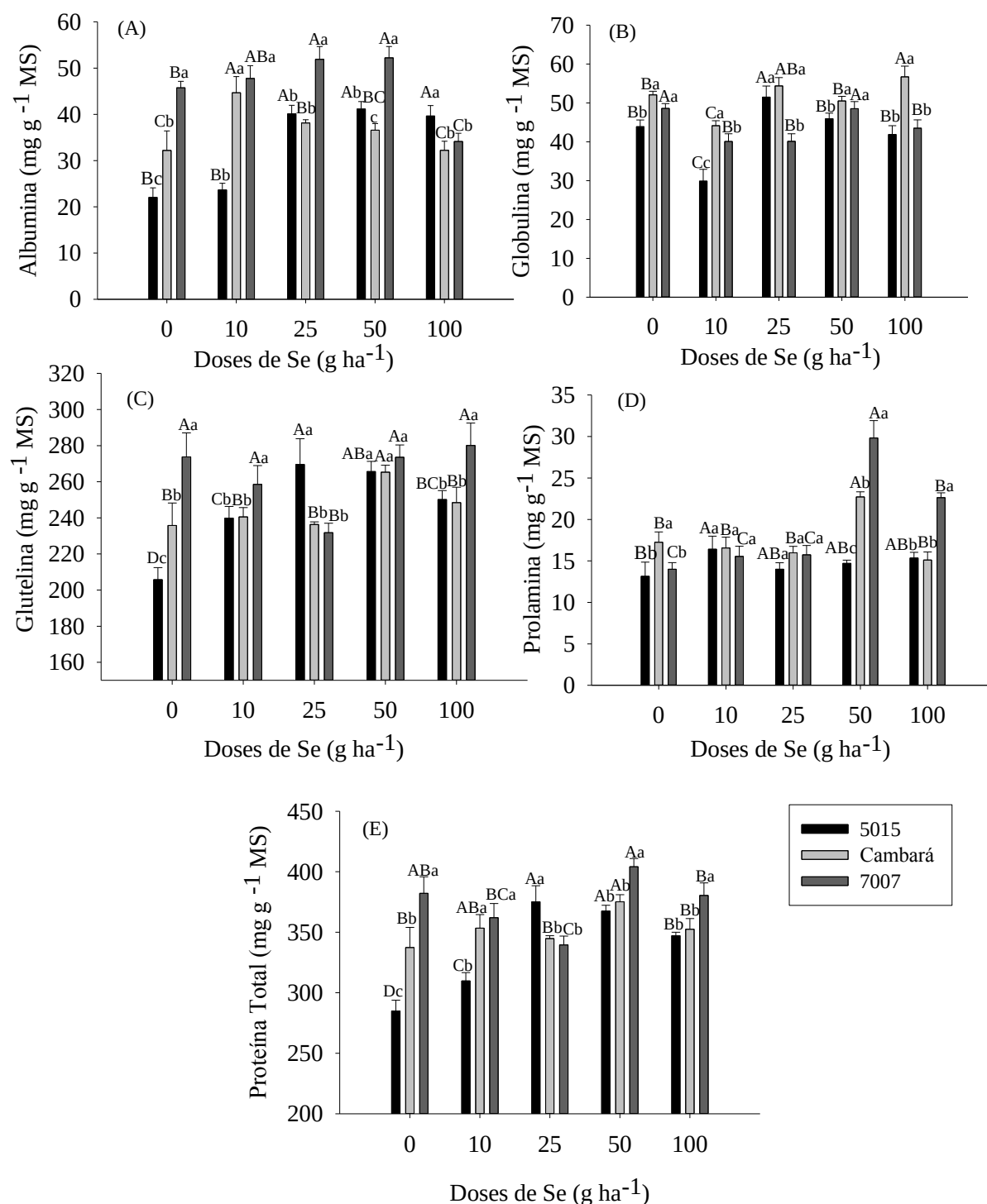
Tais resultados podem ser explicados pois o Se pode aumentar a eficiência do N pela planta, pois devido ao aumento nos teores de Mo houve um aumento na atividade da redutase do nitrato e conseqüentemente um aumento na assimilação de N pela planta. Além disso, o Se ele se liga mais especificamente a fração glutelina, como demonstram os resultados de Fang et al (2010) e Zhang et al (2008).

No endosperma, a glutelina forma a principal fração, correspondendo a aproximadamente 80% das proteínas, com menor concentração de albumina e globulina (15%) e prolamina (5-8%). Já o farelo apresenta aproximadamente 60% de albumina, seguido por prolamina e glutelina (27%) e globulina (7%). Portanto, a composição em proteínas do endosperma difere do farelo (Walter et al 2008). Para a obtenção do arroz branco polido é

realizada a brunição para remoção do farelo (pericarpo, tegumento, camada de aleurona e gérmen), que representa 8,5- 14,8% do arroz integral (JULIANO e BECHTEL, 1985).

Portanto sabendo-se que o farelo possui 60% de albumina e 27% de prolamina e glutelina, e sabendo que o Se liga-se em sua maior parte as frações glutelina e albumina, seria recomendado não polir o arroz biofortificado com Se, ou seja, consumir o grão integral para não ocorrerem perdas de proteínas e de Se.

Figura 7 - Qualidade nutricional dos grãos das cultivares de arroz de terras altas Ana 7007, AN Cambará e ANa 5015 em resposta a aplicação de Se.



Legenda: teores de albumina (a), globulina (b), glutelina (c), prolamina (d) e proteína total (e). Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não são significativamente diferentes de acordo com teste t ($p \leq 0,05$) na sequência de uma comparação horizontal de barras a partir de diferentes doses de Se. As barras de erro representam o erro padrão da média ($n = 4$).

Fonte: elaboração do próprio autor

2.4 CONCLUSÃO

A aplicação de doses de Se via solo aumenta linearmente os teores de Se nas folhas e grãos, indicando alta correlação entre fonte e dreno.

A dose de 10 g ha⁻¹ de Se proporcionou teor de Se nos grãos ligeiramente superior ao limite máximo permitido pelo Codex Alimentarius, que é de 0,3 mg kg⁻¹. Entratanto de acordo com o consumo médio de arroz no Brasil pode-se afirmar que essa dose seria ideal para suprir a necessidade diária de Se da população brasileira.

REFERÊNCIAS

- ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, Chichester, v. 24, p. 1337-1344, 2001.
- ARF, O. RODRIGUES, R. A. F., SÁ, M. E. D., CRUSCIOL, C. A. C., PEREIRA, J. C. D. R. Preparo do solo, irrigação por aspersão e rendimento de engenho do arroz de terras altas. **Scientia Agricola**, Piracicaba, p. 321-326, 2002.
- AZEVEDO, R.A.; ALAS, R.M.; SMITH, R.J.; LEA, P.J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in leaves and roots of wildtype and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 104, p. 280-292, 1998.
- BARACK, P. & GOLDMAN, I.L. Antagonistic relationship between selenate and sulfate uptake in onion (*Allium cepa*): implications for the production of organosulfur and organoselenium compounds in plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 45, p. 1290-1294, 1997.
- BARCELOS, J. P. Q.; REIS, H. P. G.; REIS, A. R.; MORAES, M. F. Effect of selenium fertilization on nitrogen assimilation enzymes in rice plants . In: BANUELOS, G. et al. **Global Advances in Selenium Research from Theory to Application**. Londres: Taylor & Francis Group, 2015. p. 177-178.
- BOLDRIN, P. F.; FAQUIN, V.; RAMOS, S. J.; GUILHERME, L. R. G.; BASTOS, C. E. A.; CARVALHO, G. S.; COSTA, E. T. S. Selenato e selenito na produção e biofortificação agrônômica com selênio em arroz. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, DF, v.47, n.6, p.56 831-837, 2012.
- BOLDRIN, P. F. **Variação genotípica no acúmulo e expressão de genes relacionados à assimilação de selênio em cultivares de trigo**. 2015. 93 f. Tese (Doutorado em Fertilidade do solo e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.
- BOUGUYON, E.; GOJON, A.; NACRY, P. **Nitrate sensing and signaling in plants**. San Diego: Academic Press, 2012.
- BRADFORD, M.M.; A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Philadelphia, v. 72, p. 248-259, 1976.
- CRUSCIOL, C.A.C.; MACHADO, J.R.; ARF, O.; RODRIGUES, R.A.F. Rendimento de benefício e de grãos inteiros em função do espaçamento e da densidade de semeadura do arroz de sequeiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.56, p.47-52, 1999.
- FANG, Y., CATRON, B., ZHANG, Y., ZHAO, L., CARUSO, J. A., HU, Q. Distribution and in Vitro Availability of Selenium in Selenium-Containing Storage Protein from Selenium-Enriched Rice Utilizing Optimized Extraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, p. 9731-9738, 2010.

FERRARI, G. & RENOSTO, F. Regulation of sulfate uptake by excised barley roots in the presence of SeO_4 . **Plant Physiology**, Rockville, v. 49, p. 114-116, 1972.

FITZPATRICK K. L.; TYERMAN S. D.; KAISER, B. N. Molybdate transport through the plant sulfate transporter SHST1. **FEBS Lett.**, Chichester, v. 582, p. 1508-1513, 2008.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxidedismutases: I. occurrence in higherplants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GOMES-JUNIOR, R. A.; GRATÃO, P. L.; GAZIOLA, S. A.; MAZZAFERA, P.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Selenium-induced oxidative stress in coffee cell suspension cultures. **Functional Plant Biology**, Clayton South, v. 34, n. 5, p. 449-456, 2007.

HARTIKAINEN, H. Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Muenchen, v. 18, p. 309-318, 2005.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives in Biochemistry Biophysics**, Netherland, v. 125, n. 1, p. 2141-2145, 1968.

HERNANDEZ, F. B. T.; LEMOS FILHO, M. A. F.; BUZETTI, S. **Software HIDRISA e o balanço hídrico de Ilha Solteira**. Ilha Solteira: UNESP, Área de Hidráulica e Irrigação, 1995. 45p. (Série Irrigação, 1).

HOGAN, M.E., SWIFT, I.E., DONE, J. Urease assay and ammonia release from leaf tissue. **Phytochemistry**. Kidlington, v. 22, p. 663-665, 1983.

HOPPER, J. & PARKER, D. Plant availability of selenite and selenate as influenced by the competing ions phosphate and sulfate. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 210, p. 199-207, 1999.

JOHNSON, C. M.; ULRICH, A. **Analytical methods for use in plants analyses**. Los Angeles: University of California, 1979. 54 p.

JULIANO, B. O.; BECHTEL, D. B. The rice grain and its gross composition. In: CHAMPAGNE, E. T. **Rice: Chemistry and Technology**. 3th. ed. Louisiana: U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Southern Regional Research Center, 1985. Cap. 4, p. 77-107.

KONOBOY, A U. K. **Parcelas de validación de las líneas elites de arroz (Oryza sativa) para trópico húmedo de Costa Rica**. 2015. 25 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia) - Escuela de Agricultura de la Región Tropical Húmeda, Universidad EARTH, Limón, 2015.

LYONS, G.H.; GENC, Y.; SOOLE, K.; STANGOULIS, J.C.R.; LIU, F. & GRAHAM, R.D. Selenium increases seed production in Brassica. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 318, p. 73-80, 2009.

MARTINEZ, R. A. S. **Doses e formas de aplicação de selênio na produtividade de grãos e nas características agronomicas da soja [Glycine max (L.) Merrill]**. 2007. 44 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafós, 1997. 319p.

McCULLOUGH, H. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. **Clínica química acta**, Netherland, v. 17, n. 2, p. 297-304, 1967.

MIKKELSEN, R.L.; WAN, H.F. The effect of selenium on sulfur uptake by barley and rice. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 121, p. 151-153, 1990.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. **Arroz: mercado interno**. Brasília, DF, 2016. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/arroz>>. Acesso em: 15 set. 2016.

NASSER, V. G. **Biofortificação da cultura da batata com selênio**. 2015. 25 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015.

NOWAK, J.; KAKLESWSKI, K.; KLODKA, D. Influence of various concentrations of selenic acid (IV) in the activity of soil enzymes. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 291, p. 105-110, 2002.

PAVÃO, V. M.; COSTA, H. S.; OLIVEIRA LEITE, L.; Pereira, C. E. Avaliação da calagem sobre os cultivares AN Cambará e Primavera em um latossolo de Humaitá-Amazonas. **EDUC Amazônia**, Manaus, v. 12, n. 1, p. 177-194, 2014.

PIGATO, F. J.; CHING, L. A.; GIACHINI, R. M.; PAIXÃO, C. M.; RODRIGUES, A. B. C. Efeito do ácido giberélico na produtividade de arroz de terras altas. **UNICIÊNCIAS**, Cuiabá, v. 14, n. 2, 2010.

POCOJESKI, E. **Estimativa do estado nutricional de arroz irrigado por alagamento**. 2007. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

POCOJESKI, E.; SILVA, L. S.; KAEFER, S.; MORO, V. J.; GRIEBELER, G. Uso do clorofilômetro no monitoramento nutricional de arroz irrigado com vistas ao manejo da adubação nitrogenada. **Revista Ceres**, Vicosa, MG, v. 62, n. 3, p. 310-318, 2015.

RAIJ, B. V.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. 285 p.

RAMOS, S.J.; RUTZKE, M.A.; HAYES, R.J.; FAQUIN, V.; GUILHERME L.R.; LI, L. (2011): Selenium accumulation in lettuce germplasm. **Planta**, Heidelberg, v. 233, n. 4, p. 649-660, 2011.

REIS, A.R.; Favarin, J.L.; Gallo, L.A.; Malavolta, E.; Moraes, M.F.; Lavres Junior, J. Nitrate reductase and glutamine synthetase activity in coffee leaves during fruit development. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Vicosa, MG, v. 33, p. 315-324, 2009.

SHIBAGAKI, N., ROSE, A., MCDERMOTT, J. P., FUJIWARA, T., HAYASHI, H., YONEYAMA, T., DAVIES, J. P. Selenate-resistant mutants of *Arabidopsis thaliana* identify

Sultr1;2, a sulfate transporter required for efficient transport of sulfate into roots. **The Plant Journal**, Chichester, v. 29, p. 475-486, 2002.

SHINMACHI, F., BUCHNER, P., STROUD, J. L., PARMAR, S., ZHAO, F., MCGRATH, S. P., HAWKESFORD, M. J. Influence of sulfur deficiency on the expression of specific sulfate transporters and the distribution of sulfur, selenium, and molybdenum in wheat. **Plant Physiology**, Rockville, v. 153, p. 327-336, 2010.

SILVA, M. M. **Papel das ureases na nodulação de Glycine max por Bradyrhizobium japonicum**. 2012. 118 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

SOIL SURVEY STAFF. **Soil taxonomy**: a basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. 2. ed. United States: Department of Agriculture. 1999. 436p.

SORS, T.G.; ELLIS, D.R. & SALT, D.E. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 86, n. 3, p. 373-389, 2005.

SOUSA, DE G. A.; CARVALHO, DE J. G.; RUTZKE, M.; ALBRECHT, J. C.; GUILHEREME, L. R. G.; LI, L. Evaluation of germplasm effect on Fe, Zn and Se content in wheat seedlings. **Plant Science**, Shannon, v. 210, p. 206-213, 2013.

THAKUR, M.; SOHAL, B. S. Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: a review. **ISRN biochemistry**, Cairo, v. 2013, n.1, p. 1-10, 2013.

TEJADA-JIMÉNEZ M., CHAMIZO-AMPUDIA A., GALVÁN A., FERNÁNDEZ E., LLAMAS Á. Molybdenum metabolism in plants. **Metallomics**, Cambridge, v. 5, p. 1191-1203, 2013.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Dietary reference intakes: elements**. [S. l.], 2003. Disponível em: <<http://www.iom.edu/Global/News%20Announcements/~media/48FAAA2FD9E74D95BBDA2236E7387B49.ashx>>. Acesso em: 18 jan. 2010.

XU, X.; HUANG, Z.; WANG, C.; ZHONG, L.; TIAN, Y.; LI, D.; SHI, J. Toxicological effects, mechanisms, and implied toxicity thresholds in the roots of Vicia faba L. seedlings grown in copper-contaminated soil. **Environmental Science and Pollution Research**, Heidelberg, v. 22, n. 18, p. 13858-13869, 2015.

ZEMBALA, M.; FILEK, M.; WALAS, S.; MROWIEC, H.; KORNAS, A.; MISZALSKI, Z.; HARTIKAINEN, H. Effect of selenium on macro and microelement distribution and physiological parameters of rape and wheat seedlings exposed to cadmium stress. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 329, p. 457-468, 2010.

ZHANG, T., GAO, Y., LI, B., LI, Y., CHEN, C., WU, G. Study of selenium speciation in selenized rice using high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometer. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, Pequim, v. 36, p. 206-210, 2008.

ZHU, Y. G.; PILON-SMITS, E. A. H.; ZHAO, F. J.; WILLIAMS, P. N.; MEHARG, A. A.
Selenium in higher plants: Understanding mechanisms for biofortification and
phytoremediation. **Trends Plant Science**, Oxford, v. 14, p. 436-442, 2009.

WHITE, P. J. Selenium accumulation by plants (Review). **Annals of Botany**, Oxford, v. 117, p.
213-235, 2016.

CAPÍTULO III

Influência do nitrogênio na eficiência de acumulação de Se em grãos de arroz de terras altas

3.1 INTRODUÇÃO

Os alimentos são a fonte primária de nutrientes, e sua demanda cresce com o aumento da população mundial. Atualmente, a população mundial é de 7,2 bilhões de habitantes e em 2100, estima-se que a população mundial atinja 12,3 bilhões de pessoas (GERLAND, 2014). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a população brasileira aumentou em 10 vezes no período de 1900 a 2000, passando de 17,4 milhões de pessoas para aproximadamente 170 milhões. Atualmente, a população brasileira é de 203 milhões e, em 2050, estima-se que haverá 260 milhões de brasileiros (IBGE, 2015).

A produção de cereais tem mantido a mesma taxa do crescimento populacional. De acordo com estimativas de Ray et al. (2013), até 2050 a produção de alimentos deverá crescer de 60 a 110% para atender a crescente demanda global por alimentos. Por outro lado, a desnutrição tem aumentado, atingindo quase metade da população mundial, especialmente mulheres grávidas, adolescentes e crianças (GRAHAM et al., 2007). Isso se deve, em parte, ao melhoramento genético vegetal voltado para ganho em produtividade e, dessa forma, apresentando relação inversa ao conteúdo de minerais nos grãos (GARVIN et al., 2006; MURPHY et al., 2008).

Combs Junior (2001) estima que haja aproximadamente 1,0 bilhão de pessoas com provável carência de Se. Em humanos, a deficiência de Se está associada a hipotioridismo, doenças cardiovasculares, sistema imunológico frágil, infertilidade masculina e incidência de vários tipos de câncer (FORDYCE, 2013). A recomendação da ingestão diária de Se é de 55 µg por dia para adultos (WHITE, 2016). Levando-se em consideração que a dieta em Se é basicamente derivada de alimentos, a deficiência de Se em humanos está relacionada com o consumo de alimentos contendo baixo teor nas partes comestíveis (STOFFANELLER e MORSE, 2015). Isso ocorre devido ao baixo teor de Se no solo disponível para absorção pelas plantas (WHITE, 2016). Há poucas informações sobre Se no Brasil, todavia são grandes as evidências de deficiência desse micronutriente em algumas regiões do país, conforme estudos avaliando-se teores de Se em solos, produtos agrícolas e dietas (FERREIRA et al., 2002; REIS et al., 2014).

O Se apresenta distribuição bastante irregular na crosta terrestre e, além do material de origem, seu teor no solo depende fortemente do regime hídrico de cada região (HAUG et al., 2007). Os teores de Se nos produtos agrícolas alimentares são fortemente dependentes da presença deste elemento no solo e também da regulação em função espécie/genótipo vegetal, embora devido ao pouco número de trabalhos realizados haja dúvidas quanto à significância agrônômica da variação/regulação genotípica em sua acumulação nas plantas cultivadas (LYONS et al., 2005; KOPSELL e KOPSELL, 2006).

O Se pode aumentar o crescimento e melhorar o estado nutricional de plantas vasculares (GRAHAM et al., 2007). Ainda é pouco conhecido o papel na formação de grãos, mas Seregina et al. (2001) comprovaram a interação de Se com N no aumento da produtividade de trigo. Seregina et al. (2001) e Seregina et al. (2002) verificaram maior eficiência do Se na formação do grão de trigo quando associado a maiores doses de N, apresentam significativo efeito na altura de plantas e estas apresentaram maior tolerância à seca.

Além da função nutricional, o Se apresenta importante proteção antioxidante em plantas (DJANAGUIRAMAN et al., 2005). Dependendo da dosagem utilizada, o Se pode ativar algumas enzimas como a dismutase de superóxido (SOD), catalase (CAT), redutase da glutatona (GR), peroxidase de guaiacol (GOPX) e peroxidase de ascorbato (GPX) (SAIDI et al., 2014). Essas enzimas são ativadas na presença de Se reduzindo a taxa de peroxidação lipídica e formação de peróxido de hidrogênio nas células de tecido vegetal, o que resulta na redução da senescência (DJANAGUIRAMAN et al., 2005).

Até o momento a adição de Se juntamente com fertilizantes NPK em áreas agrícolas parece ser a forma efetiva e segura de contornar a problemática da deficiência desse micronutriente na alimentação humana e animal, conforme resultados de décadas de acompanhamento em programas realizados em países do Norte da Europa, ex. Finlândia (HARTIKAINEN, 2005; HAUG et al., 2007). Após a adoção dos programas, houve grande redução dos índices de mortalidade, principalmente em relação a doenças do coração, câncer e incidência de deficiência de vitamina E. Uma nutrição adequada em Se também ajuda a reduzir o hipertireoidismo (bócio), uma vez que Se faz parte de uma enzima chave no metabolismo da tireóide (RAYMAN, 2012).

A busca pelo aumento do teor de Se na parte comestível das plantas pode provocar mudanças no metabolismo e estado nutricional das culturas, visto que o Se interfere no

metabolismo de enxofre e, provavelmente, indiretamente afete também todo o metabolismo de nitrogênio (RÍOS et al., 2010; WHITE, 2016) e produtividade de grãos (NAWAZ et al., 2015). A adição de Se, via fertilizantes, está envolvida na melhoria da qualidade dos produtos agrícolas. A biofortificação agronômica com Se aumenta o teor de selenocisteína e selenometionina, as quais são substâncias essenciais para a saúde humana e animal (RAYMAN, 2012).

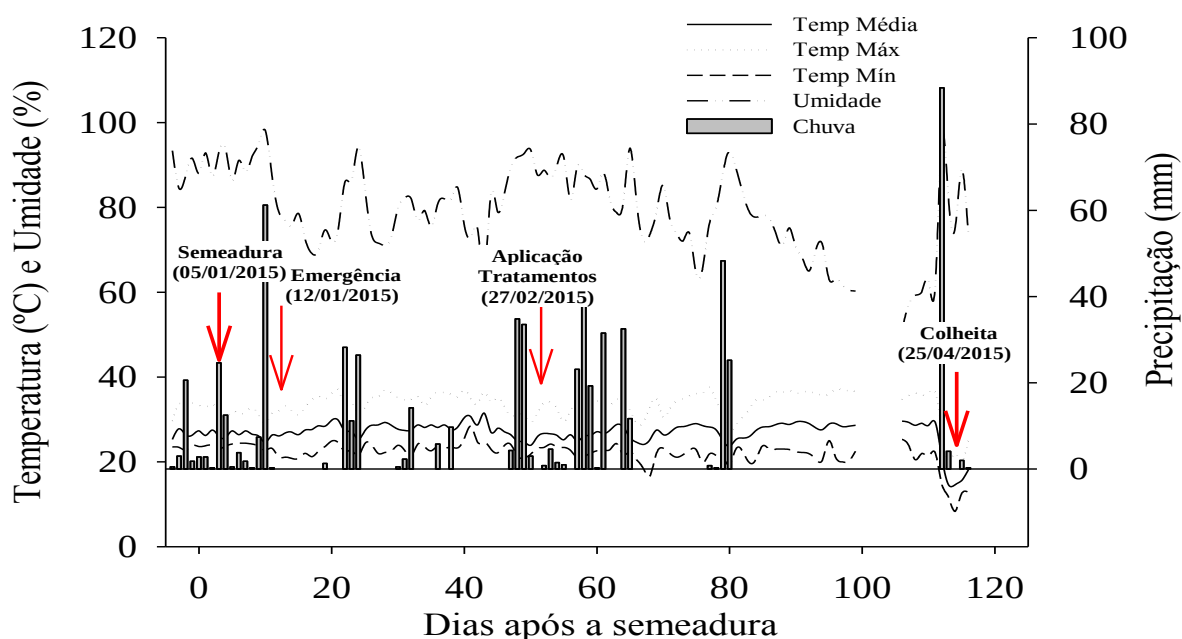
Portanto, são necessários estudos da interação de doses de N e Se visando o melhor entendimento do acúmulo de Se nos grãos de arroz, já que este é o principal alimento da dieta do brasileiro. O presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial de biofortificação agronômica com Se em associação com a adubação nitrogenada do arroz de terras altas, em condições de campo, visando o aumento da ingestão diária de Se pela população brasileira.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL

O estudo foi desenvolvido de janeiro a maio de 2015 na Fazenda de Ensino e Pesquisa da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS/UNESP), localizada em Selvíria, Mato Grosso do Sul, Brasil (20° 22' S e 51° 22' W, altitude de 335 m). A área experimental pertence ao bioma Cerrado, sendo cultivada há mais de 25 anos e nos últimos 10 anos em sistema de plantio direto. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Aw, tropical úmido, com estação chuvosa no verão e seca no inverno. A precipitação média anual é 1.232 mm, e a temperatura média anual é 24,5°C (HERNANDEZ; LEMOS FILHO; BUZETTI, 1995). Durante a condução do experimento a temperatura diária média variou entre 15,3°C e 27,2°C, a precipitação média foi de 3,0 mm e a umidade relativa média de 86%, e estão representados na Figura 1.

Figura 1 - Dados climáticos da área experimental durante a fase de semeadura e colheita do experimento na Fazenda de Ensino e Pesquisa da UNESP, Selvíria-MS.



O solo da área foi classificado como Latossolo Vermelho Distrófico típico (LVd) muito argiloso, e corresponde a ordem *Oxisol* (SOIL SURVEY STAFF, 1999). A análise de solo foi realizada segundo metodologia de Raij et al. (2001) e apresentava as seguintes características químicas: fósforo(resina) 29 mg dm⁻³; matéria orgânica 21 g dm⁻³; pH cloreto de cálcio (CaCl₂) 5,3; potássio 3,5 mmol_c dm⁻³; cálcio 38 mmol_c dm⁻³; magnésio 22 mmol_c dm⁻³; H⁺ + Al mmol_c dm⁻³; alumínio 0 mmol_c dm⁻³; Se 62 μg kg⁻¹; capacidade de troca catiônica 92,5 mmol_c dm⁻³ e saturação de bases (V%) - 69%.

3.2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

O estudo foi desenvolvido em delineamento de blocos ao acaso, disposto em esquema fatorial 5 x 2, ao qual corresponde a 5 doses de N (equivalente a 0, 20, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹) utilizando como fonte a uréia, na ausência e presença de Se (equivalente a 0 e 25g ha⁻¹) aplicadas na forma de selenato de sódio, com 4 repetições, totalizando 60 parcelas. Foi preparada uma solução estoque de Se que posteriormente foi diluída em garrafas de 500 mL de capacidade e foi distribuída no sulco de plantio. A dose de 25g ha⁻¹ foi estabelecida de acordo com resultados obtidos em experimentos anteriores.

3.2.3 INSTALAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado em sistema de plantio direto. A correção da acidez do solo não foi realizada visto que a saturação de bases encontrava-se adequada para as exigências do arroz de terras altas. Foi efetuada dessecação da área, 20 dias antes da semeadura, com Roundup Original (glifosato) ($4,0 \text{ L ha}^{-1}$), Aurora 400 EC (carfentrazona-etílica) (200 mL ha^{-1}) e 0,5% de óleo mineral.

O cultivar de arroz de terras altas utilizado foi o ANa 5015, semeado com densidade de aproximadamente 70 kg ha^{-1} . As parcelas experimentais consistiram de quatro linhas de 6 m espaçadas 0,35 m, sendo a área útil as duas linhas centrais, excluindo-se 0,5 m das extremidades.

Concomitantemente as sementes foram tratadas com o produto comercial Standak na dose de $2 \text{ mL p.c. kg}^{-1}$ de sementes. Para adubação de semeadura com NPK foram aplicados 250 kg ha^{-1} do formulado 08-28-16.

O experimento foi semeado no dia 05 de janeiro de 2015, e as plântulas emergiram 7 dias após o plantio, no dia 12 de janeiro de 2015.

Quando necessário, a irrigação foi realizada por um sistema de aspersão do tipo pivô central, com lâmina de água média de 14 mm e turno de rega de 72 h. Durante o ciclo de desenvolvimento das plantas o controle fitossanitário foi efetuado com Ally (metsulfurometílico) ($3,3 \text{ g ha}^{-1}$), Premio (clorantraniliprole) (50 mL ha^{-1}), Belt (flubendiamida) (60 mL ha^{-1}) e Connect (imidacloprido + beta-ciflutrina) ($0,8 \text{ L ha}^{-1}$).

3.2.4 VARIÁVEIS ANALISADAS

3.2.4.1 Avaliações do crescimento e produtividade

Ao final do experimento, foram coletadas as panículas de 2 metros lineares das 2 linhas centrais da parcela. Após a pesagem, foi determinado o rendimento industrial, coletando-se uma amostra de 100 g de grãos de arroz em casca de cada parcela, a qual foi processada em engenho de prova, por 1 minuto; em seguida, os grãos brunidos (polidos) foram pesados e o valor encontrado foi considerado como rendimento de benefício. Posteriormente, esses grãos brunidos (polidos) foram colocados no “Trieur” e a separação dos grãos foi processada por 30 segundos; os grãos que permaneceram no “Trieur” foram pesados, obtendo-se o rendimento de inteiros e os demais, grãos quebrados.

3.2.4.2 Análise nutricional

Quinze dias após a aplicação dos tratamentos, foram coletadas as folhas bandeira de 20 plantas de cada parcela. O material, após seco, foi utilizado para quantificar os teores foliares dos macro e micronutrientes. Os grãos coletados no final do ciclo também foram analisados.

Os teores de N foram determinados pelo método semi-micro Kjeldahl, após digestão sulfúrica (MALAVOLTA et al., 1997). Para quantificação dos demais nutrientes efetuou-se digestão com ácido nítrico e peróxido de hidrogênio como descrito em Chilimba et al. (2011). Os grãos moídos foram digeridos em forno micro-ondas por 45 minutos com pressão controlada de 20 bar em 3,0 mL de ácido nítrico 70% (Merk), 2 mL peróxido de hidrogênio (Merk) e 3 mL de água milli-Q. As amostras foram diluídas para 20 mL com água milli-Q (18,2 MΩ cm) e armazenadas em temperatura ambiente até o momento da análise.

A análise do Se e dos nutrientes foi realizada pela utilização do ICP-MS (X-Series^{II}, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) acoplado a uma célula reatora de hidrogênio. Para garantir a qualidade da análise química das amostras foi utilizado padrões internos Sc (50 ng mL⁻¹), Rh (10 ng mL⁻¹), e Ir (5 ng mL⁻¹). Amostras de referência “wheat flour standard” (NIST 1567a: National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA) foram utilizadas em todas as baterias de análise. Em cada bateria de análise ($n=48$) foram incluídos duas amostras de prova em branco. A concentração final de Se e micronutrientes foram convertidos em mg kg⁻¹ matéria seca.

3.2.4.3 Índice SPAD

Quatorze dias após a aplicação dos tratamentos, foram realizadas medições indiretas de clorofila com um medidor eletrônico portátil de intensidade da cor verde das plantas (SPAD), modelo Digital SPAD 502 (MINOLTA). A leitura foi efetuada em três plantas de cada parcela, em cinco pontos da terceira folha da haste principal do terço superior.

3.2.4.4 Análises enzimáticas

3.2.4.4.1 Coleta do material

Foi coletada a folha bandeira das plantas para quantificação da atividade das enzimas urease (EC 3.5.1.5.) e redutase do nitrato, quinze dias após a aplicação dos tratamentos, que foram condicionados em gelo até realização da análise.

Uma segunda coleta foi realizada aos 20 dias após a aplicação dos tratamentos, sendo coletada a folha bandeira de 15 plantas de cada parcela, que foram condicionadas em nitrogênio líquido, e utilizadas para quantificação do conteúdo de peróxido de hidrogênio,

peroxidação lipídica, teor de proteína solúvel, superóxido dismutase e catalase. Esse material foi macerado em N líquido e armazenado em freezer -80°C até serem processadas as análises.

3.2.4.4.2 Atividade da urease (EC 3.5.1.5)

A atividade da urease foi determinada em função da produção de N-NH₄, segundo metodologia de McCullough (1967) e o extrato foi obtido segundo metodologia descrita por Hogan, Swift e Done (1983). Após a coleta, 0,2 g da massa fresca foliar foi inserida em 8 mL de tampão fosfato de sódio com ureia pH 7,4 e foram mantidos em banho-maria a 30°C com agitação durante 3 horas para extração. A uma alíquota de 0,5 mL do extrato foi adicionado 2,5 mL do reagente I: fenol (0,1 mol L⁻¹) e nitroprussiato de sódio (SNP) (170 µmol L⁻¹), seguido de agitação, e em seguida 2,5 mL do reagente II: hidróxido de sódio (0,125 mol L⁻¹), fosfato dissódico (0,15 mol L⁻¹) e hipoclorito de sódio (3% Cl₂). Efetuou-se nova incubação em banho-maria a 37°C por 35 minutos. A determinação foi realizada em espectrofotômetro a 625 nm e os resultados expressos em µmol N-NH₄ g⁻¹ MF h⁻¹.

3.2.4.4.3 Atividade da redutase do nitrato

A atividade da nitrato redutase foi determinada por meio da quantificação da produção de NO₂⁻ pela redução de NO₃⁻, segundo a metodologia descrita por Reis et al. (2009). As folhas coletadas foram cortadas retirando-se as pontas e a nervura central, em seguida, foram pesados 0,5 g do material que depois foi cortado em pedaços menores de aproximadamente 0,5cmx0,5cm. O material foi transferido para tubos de ensaio onde foram adicionados 5mL de tampão fosfato de potássio com nitrato de potássio pH 7,5. As amostras foram infiltradas a vácuo 3 vezes durante 2 minutos, e em seguida foram mantidas em banho-maria a 30°C com agitação durante uma hora. Em outros tubos de ensaio foram adicionados 0,5mL de sulfanilamida 1% em HCl 1,5N, 0,5 ml de N-naftil etileno diamino 0,02%, 1,9mL de água deionizada e 0,1 mL de extrato. Cada tubo foi agitado em vórtex e em seguida foi determinada a absorbância em espectrofotômetro a 540 nm e os resultados expressos em µmol N-NO₂ g⁻¹ MF h⁻¹.

3.2.4.4.4 Conteúdo de peróxido de hidrogênio

O conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foi determinado por meio da reação com iodeto de potássio (KI), segundo Alexieva et al. (2001). Foram pesados 100 mg do material vegetal congelado, ao qual foi adicionado 1mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1%

em eppendorf, esse material foi homogeneizado por meio de agitação em vortex e em seguida foi centrifugado a 10.000 rpm por 15 minutos, a 4°C em centrifuga refrigerada. A 200 µL do sobrenadante foram adicionados 200 µL de tampão fosfato de potássio pH 7,5 (100 mM) e 800 µL de solução de KI(1M). As amostras foram mantidas em gelo durante uma hora. Após o resfriamento a temperatura ambiente, foram realizadas leituras de absorbância a 390nm. O conteúdo de peróxido de hidrogênio no tecido foliar foi calculado com base numa curva padrão e os resultados expressos em nmol g⁻¹ MF.

3.2.4.4.5 Peroxidação lipídica

A avaliação da peroxidação lipídica foi determinada por meio da produção de metabólitos reativos a ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), principalmente o malondialdeído, segundo metodologia de Heath e Packer (1968). A extração foi realizada pela homogeneização de 200 mg de material vegetal em 2mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (p/v) + polivinilpolipirrolidona (PVPP) 20%. O material homogeneizado foi centrifugado a 10.000 rpm, por 5 minutos, em centrifuga refrigerada a 4°C. A 250 µL do sobrenadante foi adicionado 1mL de solução de ácido tricloroacético 20% + 0,5% de ácido tiobarbitúrico. As amostras foram mantidas em banho-seco a 95°C durante 30 minutos, e em seguida transferida para gelo onde permaneceu por mais 10 minutos. Em seguida, o material foi novamente centrifugado a 10.000 rpm, durante 10 minutos. Foram realizadas leituras das amostras em dois comprimentos de onda, uma a 535 nm e outra a 600 nm. Os resultados foram expressos em nmol MDA g⁻¹ MF.

3.2.4.4.6 Extração de proteínas e enzimas antioxidantes

O material vegetal armazenado em freezer -80 °C, foi macerado em nitrogênio líquido em um almofariz. Posteriormente, o extrato foi obtido aproximadamente 0,3 g de material vegetal processado, o qual foi transferido para tubos falcon de 15 mL, onde foi adicionado 5 mL de tampão fosfato de potássio 100mM, pH 6,8, contendo ácido etileno diaminotetracético (EDTA) 1mM, ditioneitol (DTT) 3 mM, e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 4% (p/v), utilizando metodologia adaptada de (GOMES JUNIOR et al., 2007). O material foi homogeneizado em mixer e em seguida foi centrifugado em centrífuga refrigerada à 9.000 rpm por 20 minuto à 4°C. O sobrenadante foi transferido para eppendorfs, e posteriormente utilizado para quantificação de proteínas e da atividade das enzimas antioxidativas.

3.2.4.4.7 Determinação de proteínas

A concentração das proteínas solúveis totais foi determinada segundo o método de Bradford (1976), utilizando-se o BSA (“bovine serum albumin”) como padrão. Foram pipetados em tubos de ensaio 100 µL da alíquota e 5 mL do reagente Bradford, que havia sido preparado previamente. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 595nm e os resultados expressos em mg proteína g⁻¹ MF.

3.2.4.4.8 Superóxido Dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

A atividade da SOD foi determinada de acordo com (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). A reação foi conduzida em câmara de reação (caixa), sob iluminação de lâmpada fluorescente de 15 W, a 25°C. Foi adicionado 50 µL da amostra a 5 mL da solução: tampão fosfato de sódio pH 7,8 (50 mmol L⁻¹), metionina (13 mmol L⁻¹), nitroblue tetrazólio (NBT) (75 mmol L⁻¹), EDTA (0,1 mmol L⁻¹) e riboflavina (2 µmol L⁻¹). As amostras foram acondicionadas na caixa, tampada e livre de qualquer luz exterior, e mantidas sob a iluminação da caixa por 15 minutos. Concomitantemente, a mesma solução foi mantida no escuro em tubos de ensaio encapados com papel alumínio, consistindo no branco de cada amostra. Posteriormente as amostras foram homogeneizadas por meio de agitação em vortex. A determinação foi realizada em espectrofotômetro a 560 nm e os resultados expressos em U SOD mg proteína⁻¹.

3.2.4.4.9 Catalase (CAT, 1.11.1.6)

A atividade da catalase foi determinada monitorando-se a degradação de H₂O₂ segundo metodologia de Azevedo et al. (1998). Em 25 µL do extrato proteico foi adicionado 1 mL da solução tampão fosfato de potássio pH 7,5 (100 mM) e 2,5 µL H₂O₂ (30%). Imediatamente após as amostra foram agitadas em vortex. A determinação, da decomposição do H₂O₂, foi efetuada em intervalos de 2 min à 25 °C em espectrofotômetro a 240nm e os resultados expressos em nmol mg proteína⁻¹.

3.2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Em todos os conjuntos de dados considerados, foi analisada a normalidade dos dados, utilizando-se o teste de Anderson-Darling e verificando-se a homocedasticidade dos dados com o teste da equação da variância (ou teste de Levenn's). Os dados foram submetidos à análise de variância, com níveis de significância de 0,05 de probabilidade, pelo teste F. Quando significativas, as médias foram submetidas ao teste Tukey em nível de 0,05 de probabilidade utilizando-se o programa estatístico Minitab e Sigmaplot.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 PARÂMETROS FITOTÉCNICOS

A associação de Se junto a aplicação de N na adubação de cobertura não influenciou os valores de índice SPAD, altura de plantas, rendimento de benefício, porcentagem de grãos inteiros, porcentagem de grãos quebrados e produtividade final da cultura.

O N é um dos principais constituintes da molécula de clorofila e pigmentos que absorvem energia solar e desencadeiam o processo fotossintético (REIS et al., 2009). Portanto sugere-se que uma maior quantidade acumulada de N resulta em maior produção de fotoassimilados. Como o índice SPAD é uma medida indireta da concentração de clorofila nas folhas, é esperado que maiores de N proporcionem maiores valores desse índice. Estudos recentes têm demonstrado que o medidor portátil de clorofila SPAD-502 é excelente estratégia para avaliar a resposta das culturas à aplicação e ao manejo de nitrogênio (FERREIRA et al., 2006; REIS et al., 2015). Além disso, essa tecnologia tem sido bastante efetiva na determinação do estado nutricional do N em plantas de arroz (CHEN et al., 2015; YUAN et al., 2016).

Neste estudo fica evidente que o acréscimo nas doses de N proporcionam maiores valores de índice SPAD variando de 33 a 45 (Figura 2). Em estudo realizados por Ferreira et al. (2006), Chen et al. (2015) e Yuan et al. (2016), os autores observaram que os valores das leituras feitas no medidor portátil de clorofila SPAD também aumentaram em função das doses de N aplicada na cultura do arroz.

Observa-se que o aumento nas doses de N na adubação de cobertura proporciona aumento linear na altura de plantas, reiterando que adubações de cobertura com dose menor do que 40 kg ha⁻¹ não proporcionam crescimento adequado a cultura do arroz de terras altas. Por outro lado, doses elevadas de N estimulam o perfilhamento e a formação de novas folhas, causando um auto- sombreamento, condição esta favorável à competição e queda na produtividade (STONE et al., 1999).

A influência do N sobre o rendimento de grãos tem sido uma variável estudada por diversos autores (FREITAS et al., 2001; FREITAS et al., 2007) e sugerem que o efeito da aplicação de N sobre o rendimento de grãos inteiros não é constante e, provavelmente, depende da cultivar e de fatores ambientais.

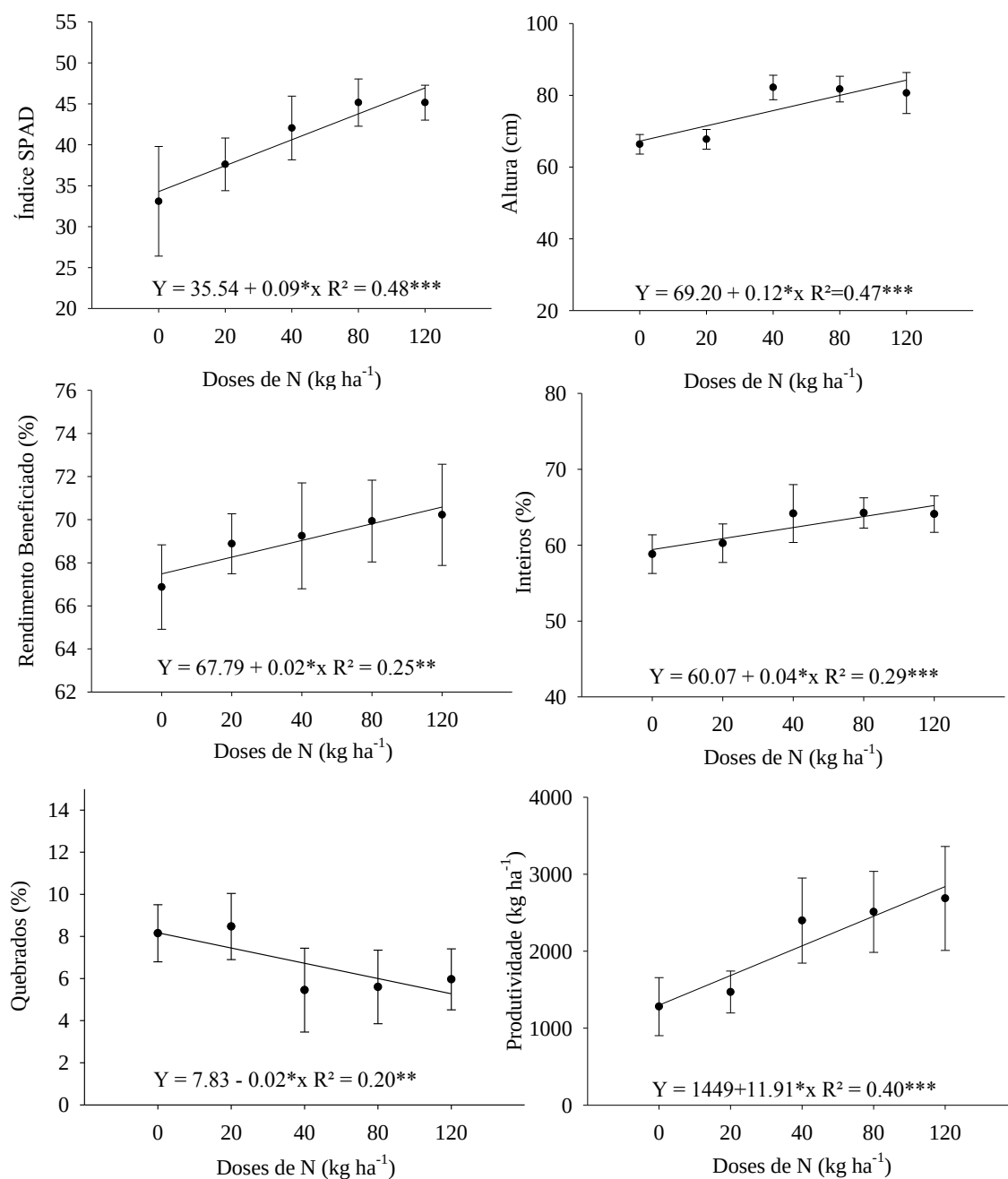
O rendimento de grãos beneficiados também foi influenciado pelas doses de N, sendo que nos tratamentos sem adubação de cobertura foi observado o menor rendimento de benefício (Figura 2). Os tratamentos que receberam adubação de cobertura com N tiveram melhor desempenho nessa avaliação, sendo que o maior valor de rendimento foi observado para a dose de 80 kg ha^{-1} . Esses resultados corroboram com os encontrados por Cardoso et al. (2015), onde o rendimento de grãos beneficiados aumento em função das doses de N, sendo que na média geral os dados se ajustaram ao modelo linear simples ($r = 0,92$). Freitas et al. (2001) estudando três cultivares de arroz verificaram que o rendimento de grãos beneficiados foi afetado pela aplicação de doses de N.

O efeito da aplicação de N sobre o rendimento de grãos inteiros não é constante e, provavelmente, depende da cultivar e dos fatores ambientais (FREITAS et al., 2001). A porcentagem de grãos inteiros e quebrados também foram diretamente influenciadas pelas doses de N. A porcentagem de grãos inteiros apresenta resposta linear positiva e a porcentagem de grãos quebrados em uma regressão linear negativa em resposta ao aumento das doses de N aplicadas na adubação de cobertura.

Cardoso et al. (2015) observou que o rendimento de grãos inteiros foi influenciado pela adubação nitrogenada sendo que, para a dose máxima econômica (DME) encontrou-se 65% de rendimento de grãos inteiros. Dados semelhantes foram descritos por Jandrey (2008) que verificou que rendimento de grãos inteiros aumentou linearmente com o incremento da dose de adubação nitrogenada aplicada e encontrou valores em torno de 65% de grãos inteiros, corroborando com os valores médios de grãos inteiros encontrados neste estudo.

O acréscimo nas doses de adubação de cobertura com N proporcionaram maiores valores de produtividade para a cultivar ANa 5015, sendo que a partir da dose de 80 kg ha^{-1} o aumento na produtividade foi discreto, possibilitando afirmar que a dose de kg ha^{-1} seria mais viável economicamente. Lopes et al. (1996) também verificaram resposta ao N para a produtividade com doses de até 120 kg ha^{-1} de N. Para Bordin et al. (2003) e Buzetti et al. (2006), a dose que proporcionou produtividade máxima foi a de 80 kg ha^{-1} de N e 100 kg ha^{-1} de N, respectivamente.

Figura 2 - Índice SPAD e parâmetros fitotécnicos em resposta a aplicação de doses de N na presença ou não de Se na cultivar de arroz de terras altas ANa 5015.



Legenda: índice SPAD (a), altura de plantas (b), rendimento de benefício (c), porcentagem de grãos inteiros (d), porcentagem de grãos quebrados (e) e produtividade (e). Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não são significativamente diferentes e acordo com teste t ($p \leq 0,05$) na sequência de uma comparação horizontal de barras a partir de diferentes doses de Se. As barras de erro representam o erro padrão da média ($n = 4$).

Fonte: elaboração do próprio autor

3.3.2 TEOR PROTÉICO E ENZIMAS ANTIOXIDATIVAS

Nas plantas, o estresse afeta negativamente o crescimento e desenvolvimento, além de gerar espécies reativas de oxigênio (EROS) que danificam várias macromoléculas e estruturas celulares. Conseqüentemente, em condições adversas, alguns dos indicadores mais confiáveis e amplamente utilizados de estresse são a biomassa vegetal, a peroxidação lipídica, e o estado de oxidação das proteínas (RIOS et al., 2008).

Observa-se que nas doses de 0, 20 e 40 kg ha⁻¹, houve diferença significativa comparando a ausência e presença de Se, sendo que na presença de Se houve menor peroxidação lipídica (Figura 3). Nos tratamentos com ausência de adubação de Se as doses de 80 e 120 kg ha⁻¹ proporcionaram maiores valores de malondialdeído (MDA), o que representa alta taxa de peroxidação da bicamada lipídica das membranas celulares das folhas de arroz. Rios et al. (2008) aplicando Se em alface observaram que os valores de MDA tendem a aumentar na presença de Se, resultado semelhante ao encontrado por Hartikainen et al. (2000) e Xue et al. (2001). Neste estudo, as doses de N e Se não apresentaram nenhum efeito significativo no conteúdo de H₂O₂ bem como enzimas do ciclo do N como redutase do nitrato e urease.

A aplicação de baixas concentrações de selenato de sódio pode prevenir a indução do sistema antioxidante em plantas, melhorando assim a resistência ao estresse oxidativo (RIOS et al., 2010). Ainda segundo Rios et al. (2010) as plantas tratadas com selenato de sódio induzem aumentos significativos nas enzimas que desintoxicam H₂O₂, especialmente a ascorbato peroxidase e a glutatiónaperoxidase (GSH), bem como um aumento na concentração foliar de compostos antioxidantes como ascorbato e GSH.

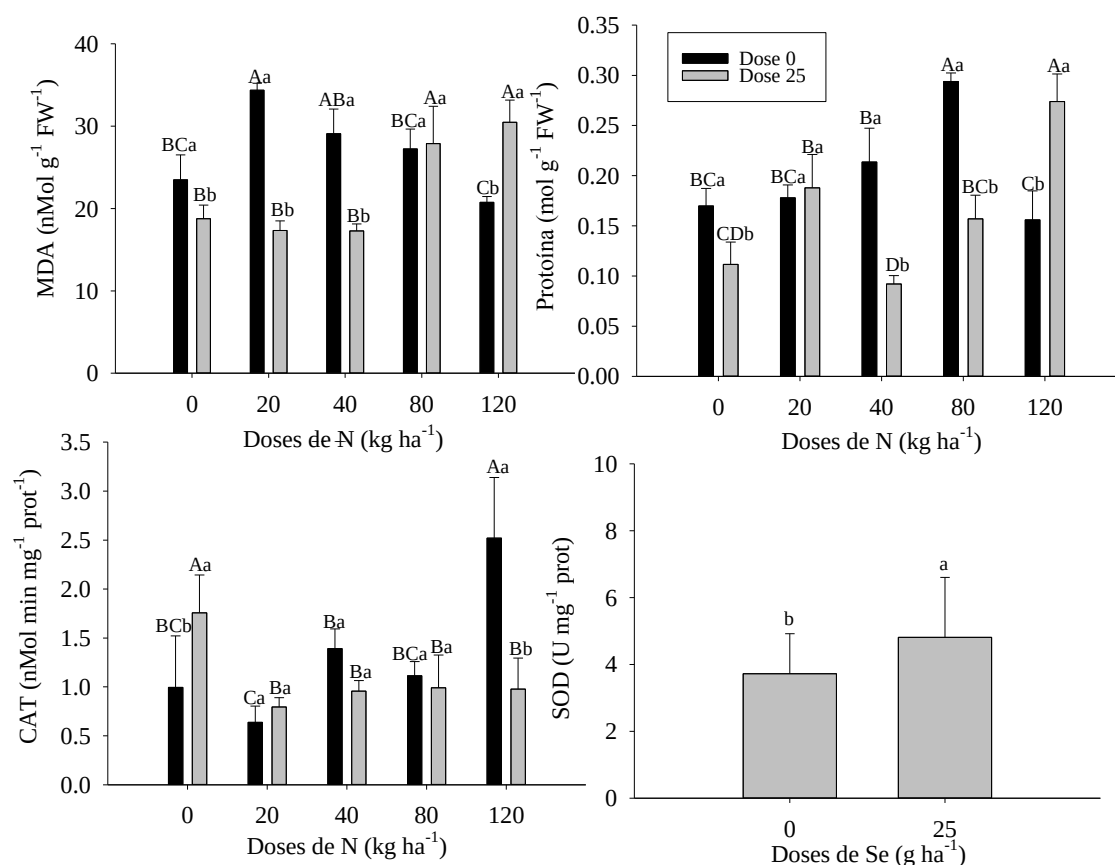
Nos tratamentos onde as doses de N foram associadas a aplicação de Se os valores de proteína foliar total apresentaram resposta linear até a dose de 80 kg ha⁻¹ de N, seguida de uma queda na dose de 120 kg ha⁻¹. Na ausência de Se, a dose de 120 kg ha⁻¹ apresentou maior teor de proteína foliar total (Figura 3).

Durante o estresse oxidativo, a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROS) causa danos à membrana, que eventualmente, leva à morte celular. Para proteção contra as EROS, as plantas contêm enzimas antioxidantes como a SOD e CAT, bem como uma ampla gama de antioxidantes não-enzimáticos (WHITE, 2016).

A CAT é encontrada principalmente nos peroxissomos, transformando H_2O_2 em água, embora a sua afinidade para o substrato seja mais fraca do que a de outras enzimas antioxidantes (FENG et al., 2013). Neste estudo aCAT apresentou maior atividade na dose de 120 kg ha^{-1} de N associado a 25 g ha^{-1} de Se (Figura 3). Apenas nas doses 0 e 120 kg ha^{-1} de N houve diferença estatística para a presença ou não de Se, sendo que na dose 0 a atividade enzimática foi maior na ausência de Se, porém na dose de 120 kg ha^{-1} a atividade dessa enzima foi maior na presença de Se. Rios et al. (2010) estudando o efeito da aplicação de Se no sistema antioxidante de alface não observaram efeito da aplicação de Se na atividade da CAT e concluíram que essa enzima não está entre as principais enzimas para a desintoxicação de H_2O_2 .

A SOD é a enzima encarregada de eliminar os radicais superóxido e transformá-los em H_2O_2 (SAIDI et al., 2014). O aumento nas doses de N na adubação de cobertura do arroz de terras altas não proporcionou diferença estatística significativa para a atividade da SOD. Houve diferença estatística apenas quando comparada a presença ou não de Se, sendo a presença de Se proporcionou aumento na atividade da SOD. Esse resultado é semelhante ao encontrado por Rios et al. (2010) que observaram que plantas tratadas com Se tiveram maior atividade da SOD.

Figura 3 - Teor protéico e enzimas antioxidativas em resposta a aplicação de doses de N na presença ou não de Se na cultivar de arroz de terras altas ANa 5015.



Legenda: conteúdo de MDA (a), conteúdo de proteína foliar total (b), atividade da CAT (c) e SOD (d). Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não são significativamente diferentes e acordo com teste t ($p \leq 0,05$) na sequência de uma comparação horizontal de barras a partir de diferentes doses de Se. As barras de erro representam o erro padrão da média ($n = 4$).

Fonte: elaboração do próprio autor

3.3.3 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DO TECIDO FOLIAR

Os teores de nutrientes nas folhas em resposta a aplicação de N e Se estão sumarizados na Tabela 1. Na presença de Se, observou-se maiores teores foliares de N, Cu e Se. A adição de Se na adubação nitrogenada de cobertura apresentou diferentes efeitos no teor de P nas folhas.

O teor foliar de S não foi influenciado pelas doses de N. Houve influência apenas da presença de Se na dose 0 kg ha⁻¹ de N, onde observou-se que a adição de Se proporciona uma queda no teor foliar de S. Isso ocorre porque tanto o Se quanto o S utilizam transportadores de sulfato (SULTR), ou seja, proteínas transportadoras de S na planta (WHITE, 2016). Portanto, quanto maior a concentração de Se no solo menor será a absorção e transporte de S na planta.

Por outro lado, as doses de 20, 80 e 120 kg ha⁻¹ de N a presença de Se proporcionou aumento nos teores foliares de K. As maiores doses de N (80 e 120 kg ha⁻¹ de N) associados ao Se proporcionaram os maiores valores de K no tecido foliar de arroz de terras altas. Os teores foliares de Ca foram reduzidos com a adição de Se junto a adubação de cobertura do arroz. Os maiores teores de Ca foram obtidos nas maiores doses de N (80 e 120kg ha⁻¹ de N), quando não associadas ao Se, com valores de 8,20 e 8,14 mg kg⁻¹, respectivamente.

Os teores foliares de Se foram diretamente influenciados pela presença desse mesmo nutriente na adubação de cobertura. Em todos os tratamentos, independente da dose de N o teor de Se no tecido foliar foi maior quando aplicada a dose de 25 g ha⁻¹ de Se (Tabela 1). O Se não é um nutriente essencial para as plantas, entretanto, é considerado um elemento benéfico por estimular o crescimento, conferir tolerância à indução de estresse oxidativo, e proporcionar resistência à patógenos e herbívoros. (EL MEHDAWI e PILON-SMITS, 2012; FENG et al., 2013). O Se tem ação nas plantas como ativador de diversas enzimas que contribuem para a diminuição da peroxidação lipídica e da formação de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) no tecido vegetal, retardando a senescência e diminuindo o estresse oxidativo (DJANAGUIRAMAN et al., 2005; SAIDI et al., 2014). Foi observado efeito da interação entre as doses de N e a presença ou ausência de Se, onde houve uma curva de resposta de modelo quadrático, sendo que o maior teor de Se foi observado na dose de 40 kg ha⁻¹ de N (0,54 mg kg⁻¹). A interação do N e Se ainda não é compreendida, mas Rios et al. (2013) também observou maiores concentrações foliares de Se em folhas de alface cultivado em altas concentrações de N.

Os teores de Se variaram de 0,01 a 0,54 mg kg⁻¹ nas folhas (Tabela 1). Nesse estudo, observou-se a translocação do Se das folhas para os grãos, o qual a concentração de Se variou de 0,03 a 0,36 mg kg⁻¹ (Tabela 2).

Tabela 1 - Teores de nutrientes no tecido foliar em resposta a aplicação de doses de N na presença ou não de Se na cultivar de arroz de terras altas ANa 5015.

		N	P	S	K	Ca	Mg	Se	Cu	Zn
Doses Se	0	17,47b	1,97	2,89a	10,61a	7,82a	2,73	0,02b	6,32b	9,18a
	25	18,44a	1,98	2,72b	11,43b	7,21b	2,74	0,38a	6,73a	8,46b
Doses N	Linear	p<0,05	p<0,05	p<0,05	ns	ns	p<0,05	ns	p<0,05	p<0,05
	Quadrático	Ns	p<0,05	p<0,05	ns	p<0,05	Ns	p<0,05	ns	p<0,05
Dose 0	0	16,14	2,90Aa	3,41Aa	11,57Ba	7,25BC	2,58Db	0,02b	5,67Bb	10,61Aa
	25	17,87	2,51Ab	2,76b	10,33ABb	7,54AB	2,75ABa	0,23Ea	6,75Aa	8,64Ab
Dose 20	0	16,08	2,19Bb	2,82B	10,61Bb	7,67ABa	2,71BC	0,02b	6,13ABb	9,13B
	25	18,87	2,41ABa	2,92	11,50Ca	6,98Ab	2,69B	0,37Ca	7,04Aa	8,79A
Dose 40	0	17,76	1,76Ca	2,75B	11,37C	7,83Aa	2,64CDb	0,01b	6,46A	9,17Ba
	25	17,71	1,39Cb	2,81	11,31BC	7,33ABb	2,76ABa	0,54Aa	6,04B	7,46Bb
Dose 80	0	18,74	1,69Ca	2,65B	9,75Bb	8,20C	3,01Aa	0,01b	6,72A	8,40C
	25	18,81	1,32Cb	2,47	12,69Aa	7,76B	2,72ABb	0,44Ba	7,04A	8,67A
Dose 120	0	18,62	1,33Db	2,82C	9,74Ab	8,14ABa	2,73A	0,01b	6,60A	8,61BC
	25	18,94	2,28Ba	2,63	11,33Aa	6,43Cb	2,78B	0,32Da	6,76A	8,72A
CV		7,94	5,42	4,06	3,53	4,33	1,34	8,19	4,64	8,81
Se		p<0,05	Ns	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
N		ns	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	Ns	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Se x N		ns	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Legenda: ^{NS}: Não significativo, ** significativo a 5%; * significativo a 1%; Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não são significativamente diferentes dentro de cada cultivar e letras maiúsculas iguais não diferentes para cada dose de selênio, de acordo com teste t ($p \leq 0,05$); D.M.S.: Diferença mínima significativa; C.V.: Coeficiente de variação

3.3.4 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DO GRÃO

De acordo com os teores de nutrientes no grão (Tabela 2), observa-se que a presença de Se junto a adubação nitrogenada proporciona maiores valores nos teores de N, P, K, Ca, Se, B, Cu, Zn e Mo nos grãos. Os teores de S, Mg, Mn e Fe não sofreram influência da aplicação de Se.

Os teores de N nos grãos, com excessão do tratamento sem adubação nitrogenada, onde não foi verificada diferença estatística, foram maiores quando o Se foi adicionado no sulco de plantio.

Os teores de P, apresentaram diferença significativa quando comparada a presença ou não de Se no sulco de plantio a partir das doses de 40 kg ha⁻¹ de N. Nas doses 0 e 20 kg ha⁻¹ de N não houve diferença estatística nos teores de P independente se houve ou não adição de Se (Tabela 2). Esse resultado corrobora com os resultados obtidos no estudo realizado por Wu e Huang (1992) que relataram um aumento no teor de P quando aplicadas baixas doses de Se na forma de selenato.

Para o S, foram observados maiores teores nos tratamentos com dose de pelo menos 40 kg ha⁻¹ de N. A aplicação de Se proporcionou maior teor de S no tratamento com 20 kg ha⁻¹ de N, enquanto que na dose de 40 kg ha⁻¹ de N a adição de Se provocou diminuição nos teores de S (Tabela 2). Nas demais doses de Se, a aplicação de Se não interferiu nos teores de S. Comparando a presença ou não de Se, não houve diferença significativa para o teor de S, demonstrando que não há relação de antagonismo, quando esses elementos estão presentes em baixas concentrações na solução do solo. White et al. (2004) sugere que a presença de S na concentração de 4 mM na zona radicular, na presença de selenato estimula a absorção de S. Por outro lado, Kopsell e Randle (1997) estudando os efeitos do Se na cebola como Rios et al. (2013) estudando a cultura do alface afirmam que doses elevadas de Se prejudicam a absorção de S, com consequente diminuição dos teores de S na planta.

Os teores de K apresentaram efeito da interação entre as doses de N associadas ou não a adubação com Se apenas a partir da dose de 40 kg ha⁻¹ de N, sendo que nas doses de 40 e 120 kg ha⁻¹ de N a presença de Se proporcionou maiores valores de K no grão (Tabela 2). Nos estudos realizados por Wu e Huang (1992) e Rios et al (2013) a presença de Se na adubação não interferiu nos teores de K, sugerindo que esses nutrientes não apresentam relação no balanço nutricional das plantas.

Os teores de Se no grão foram diretamente influenciados pela adubação com selenato de sódio, sendo que independente das doses de N aplicada, a adição de Se via adubação

proporciona aumento desse elemento no grão. Também é possível afirmar que a adubação N auxilia a absorção de Se pelas plantas, visto que na dose 0 kg ha⁻¹ de N o teor no grão de Se foi de 0,22 mg kg⁻¹, quando houve adição de N o teor foliar de Se alcançou o valor médio de 0,34 mg kg⁻¹ (Tabela 2).

O teor de Fe grãos foi influenciado pelas doses de Se quando interagiram quando as doses de 0, 20 e 40 kg ha⁻¹ de N. Nas doses 0 e 40 kg ha⁻¹ de N a presença de Se proporcionou maiores teores de Fe no grão, passando de 11,22 mg kg⁻¹ para 15,31mg kg⁻¹ e 12,03 mg kg⁻¹ para 14,98mg kg⁻¹, respectivamente. Já na dose de 20 kg ha⁻¹ de N houve um decréscimo nos teores de Fe na presença de Se, diminuindo de 16, 41 mg kg⁻¹ para 10,16 mg kg⁻¹. Rios et al., (2013) observaram um aumento nos teores de Fe quando adicionado Se via adubação na cultura da alface.

Observa-se que o teor de Zn foi influenciado pela aplicação de Se apenas na dose de 40 kg ha⁻¹ de N, sendo que nas demais doses de N não houve diferença estatística para a presença ou não de Se. O maior teor de Zn nos grãos foi observado na dose de 40 kg ha⁻¹ de N na presença de Se.

Os teores de Mo no grão não sofreram interferência da adubação nitrogenada, apenas da presença ou não de Se em alguns tratamentos. Na dose de 120kg ha⁻¹ de N não houve diferença estatística para a presença de Se. Nas doses 0, 20 e 80 kg ha⁻¹ de N a presença de Se aumentou consideravelmente a o teor de Mo. O maior teor de Mo no grão foi observado na dose de 80 kg ha⁻¹ de N associado a adubação com 25 g ha⁻¹ de Se.

Tabela 2 - Teores de nutrientes nos grãos em resposta a aplicação de doses de N na presença ou não de Se na cultivar de arroz de terras altas ANa 5015.

		N	P	S	K	Ca	Mg	Se	B	Mn	Fe	Cu	Zn	Mo
Doses Se	0	18,48b	3,87b	1,32	2,84b	0,07	1,69	0,03b	0,40b	22,35	13,28	5,59b	27,25b	0,04b
	25	19,18a	4,04a	1,32	2,91a	0,08	1,74	0,32a	0,71a	23,15	13,45	5,75a	29,09a	0,09a
Doses N	Linear	Ns	p<0,05	p<0,05	ns	Ns	Ns	p<0,05	Ns	p<0,05	ns	p<0,05	ns	ns
	Quadrático	Ns	p<0,05	p<0,05	p<0,05	Ns	Ns	p<0,05	p<0,05	p<0,05	ns	p<0,05	ns	p<0,05
Dose 0	0	18,39	4,31A	1,22B	2,99A	0,07	1,56Bb	0,03b	0,35Bb	23,39Bb	11,22Cb	5,19B	29,17A	0,037b
	25	18,69	4,16A	1,18C	3,01A	0,08	1,77a	0,22Ca	0,95Aa	26,47Aa	15,31Aa	5,26C	29,16AB	0,101Ba
Dose 20	0	17,96	4,24A	1,22Bb	2,84AB	0,07	1,80A	0,03b	0,37Bb	26,21Aa	16,41Aa	5,03Bb	27,66AB	0,055a
	25	18,80	4,18A	1,33ABa	2,97A	0,07	1,76	0,34ABa	0,61Ca	23,74Bb	10,16Cb	5,52BCa	28,49B	0,029Db
Dose 40	0	18,78	3,45Bb	1,39Aa	2,81ABb	0,07	1,68AB	0,04b	0,33Bb	21,60BC	12,03BCb	6,22Aa	24,43Cb	0,042b
	25	19,27	4,11Aa	1,30Bb	3,06Aa	0,08	1,79	0,31Ba	0,70Ba	21,54B	14,98Aa	5,66Bb	31,74Aa	0,105Ba
Dose 80	0	18,74	3,69B	1,41A	2,84ABa	0,07	1,75A	0,02b	0,47Ab	20,76BC	12,72BC	6,19Ab	29,01A	0,041b
	25	19,16	3,81AB	1,38A	2,58Bb	0,07	1,63	0,36Ab	0,66BCa	21,82B	14,23AB	6,48Aa	27,38B	0,173Aa
Dose 120	0	18,55	3,66Bb	1,35A	2,75Bb	0,07	1,63AB	0,02b	0,48Ab	19,81Cb	14,00B	5,32Bb	25,95BC	0,045
	25	19,99	3,94Ba	1,39A	2,91Aa	0,08	1,75	0,35Aa	0,64BCa	22,18Ba	12,55B	5,81Ba	28,68B	0,060C
CV		5,28	3,74	2,83	3,42	3,95	5,54	9,23	5,81	5,70	8,31	2,52	4,69	20,42
Se		p<0,05	p<0,05	Ns	p<0,05	p<0,05	ns	p<0,05	p<0,05	p<0,05	ns	p<0,05	ns	p<0,05
N		Ns	p<0,05	p<0,05	p<0,05	Ns	ns	p<0,05	p<0,05	Ns	ns	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Se x N		Ns	p<0,05	p<0,05	p<0,05	Ns	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Legenda: ^{NS}: Não significativo, ** significativo a 5%; * significativo a 1%; Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não são significativamente diferentes dentro de cada cultivar e letras maiúsculas iguais não diferentes para cada dose de selênio, de acordo com teste t ($p \leq 0,05$); D.M.S.: Diferença mínima significativa; C.V.: Coeficiente de variação.

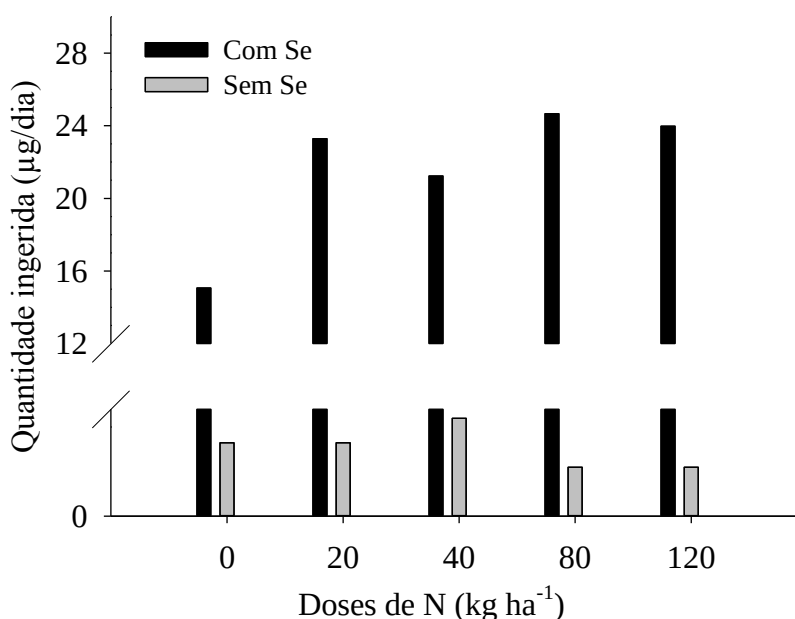
De acordo com as normas do *Codex Alimentarius* os alimentos biofortificados com Se não devem apresentar teores superiores a 0,3 mg kg⁻¹ de Se. A aplicação de 25 g ha⁻¹ de Se apresentou concentração média máxima de 0,36 mg kg⁻¹ de Se nos grãos (Quadro 1), no entanto, a ingestão diária de Se requerida do arroz biofortificado (24,7 µg dia⁻¹) ainda está abaixo da recomendação que é de 55 µg dia⁻¹.

A população brasileira ingere em média 25 kg de arroz ano⁻¹ ou 68,5 g dia⁻¹ de arroz (MAPA, 2016). Portanto, para calcular a ingestão diária do arroz biofortificado é necessário multiplicar a ingestão diária do alimento pela concentração do Se na amostra como descrito na equação a seguir:

$$68,5 \text{ g dia}^{-1} \times 0,36 \text{ mg kg}^{-1} = 24,7 \text{ µg dia}^{-1}$$

A ingestão diária de Se calculada proveniente do arroz não biofortificado e do arroz biofortificado com Se variou de 2,05 a 24,7 µg dia⁻¹ (Figura 4), o que representa um aumento de 3,72% para 44,9% da necessidade diária de Se por dia. Levando em consideração que a recomendação de ingestão diária de Se para adultos é de 55 µg dia⁻¹, o presente estudo apresenta informações relevantes sobre biofortificação agrônômica para aumento do teor de Se nas partes comestíveis, o que pode resultar em benefícios na saúde humana.

Figura 4 - Ingestão diária de Se proveniente do arroz biofortificado com Se em resposta a adubação nitrogenada.



Fonte: elaboração do próprio autor

3.4 CONCLUSÕES

A interação entre Se e N não aumentou a produtividade do arroz de terras altas, mas o teor de Se no grão do arroz biofortificado aumentou de 0,03 a 0,36 mg kg⁻¹ nos grãos. A ingestão diária de Se calculada proveniente do arroz biofortificado com Se variou de 2,05 a 24,7 µg dia⁻¹, o que representa um aumento de 3,72% para 44,9% da necessidade diária de Se por dia.

Levando em consideração que a recomendação de ingestão diária de Se para adultos é de 55 µg dia⁻¹, o presente estudo apresenta informações relevantes sobre biofortificação agronômica para aumento do teor de Se nas partes comestíveis, o que pode resultar em benefícios na saúde humana.

REFERÊNCIAS

- ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, Chichester, v. 24, p. 1337-1344, 2001.
- AZEVEDO, R.A.; ALAS, R.M.; SMITH, R.J.; LEA, P.J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in leaves and roots of wildtype and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 104, p. 280-292, 1998.
- BARBOSA FILHO, M.P. **Nutrição e adubação do arroz: sequeiro e irrigado**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1987.129p. (Boletim técnico, 9).
- BORDIN, L.; FARINELLI, R.; PENARIOL, F.G.; FORNASIERI FILHO, D. Sucessão de cultivo de feijãoarroz com doses de adubação nitrogenada após adubação verde, em plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v.62, p.235-241, 2003.
- BRADFORD, M.M.; A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Philadelphia, v. 72, p. 248-259, 1976.
- BUZETTI, S.; BAZANINI, G.C.; FREITAS, J.G.; ANDREOTTI, M.; ARF, O.; SÁ, M.E.; MEIRA, F.A. Resposta de cultivares de arroz a doses de nitrogênio e do regulador de crescimento cloreto de mepiquat. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.41, n.12, p.1731-1737, 2006.
- CARDOSO, E. A.; DE SOUZA, M. A.; FONTES, P. C. R. Fertilização nitrogenada na absorção de nutrientes e rendimento de grãos em arroz irrigado. **Agri - Environmental Sciences**, Palmas, v. 1, n. 1, 2016.
- CARRERES, R.; SENDRA, J.; BALLESTEROS, R.; CUADRA, J. G. Effects of pre flood nitrogen rate and midseason nitrogen timing on flooded rice. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 134, n.4, p. 379-390, 2000.
- CENTEC – Instituto de Ensino Tecnológico. **Produtor de arroz**.2. ed. Fortaleza: Demócrito Rocha, 2004.56 p.
- DJANAGUIRAMAN, M.; DURGA DEVI, D.; SHANKER, A.K.; BANGARUSAMY, U. Influence of selenium on antioxidants enzymes and yield of soybean. **Journal of Agricultural Research Management**, Warri, v.3, p.1-4, 2004.
- DJANAGUIRAMAN, M.; DURGA DEVI, D.; SHANKER, A.K.; SHEEBA, JA.; BANGARUSAMY, U. Selenium an antioxidative protectant in soybean during senescence, **Plant and Soil**, Dordrecht, v.272, p.77-86, 2005.
- FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Lowland rice response to nitrogen fertilization. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 32, n.1, p. 1405-1429, 2001.

FERREIRA, M. M. M.; FERREIRA, G. B.; FONTES, P. C. R.; DANTAS, J. P. Índice SPAD e teor de clorofila no limbo foliar do tomateiro em função de doses de nitrogênio e da adubação orgânica, em duas épocas de cultivo. **Revista Ceres**, Vicosa, MG, v. 53, n. 305, 2015.

FREITAS, J. G.; AZZINI, L.E.; CANTARELLA, H.; BASTOS, C. R.; CASTRO, L.H.S.M.; GALLO, P.B.; FELÍCIO, J. C. Resposta de cultivares de arroz irrigado ao nitrogênio. **Scientia Agrícola**, Sao Paulo, v. 58, n. 3, p. 573-579, 2001.

FREITAS, J. G.; CANTARELLA, H.; SALOMON, M. V.; MALAVOLTA, V.M.A.; CASTRO, L.H.S.M.; GALLO, P. B.; AZZINI, L. E. Produtividade de cultivares de arroz irrigado resultante da aplicação de doses de nitrogênio. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 2, p. 317-325, 2007.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxidedismutases: occurrence in higherplants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GOMES-JUNIOR, R. A.; GRATÃO, P. L.; GAZIOLA, S. A.; MAZZAFERA, P.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Selenium-induced oxidative stress in coffee cell suspension cultures. **Functional Plant Biology**, Clayton South, v. 34, n. 5, p. 449-456, 2007.

HARTIKAINEN, H.; XUE, T.; PIIRONEN, V. Selenium as an antioxidant and prooxidant in ryegrass. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 225, p. 193–200, 2000.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives in Biochemistry Biophysics**, Netherland, v. 125, n. 1, p. 2141-2145, 1968.

HERNANDEZ, F. B. T.; LEMOS FILHO, M. A. F.; BUZETTI, S. **Software HIDRISA e o balanço hídrico de Ilha Solteira**. Ilha Solteira:UNESP / FEIS / Área de Hidráulica e Irrigação, 1995. 45p. (Série Irrigação, 1).

HOGAN, M. E., SWIFT, I. E., DONE, J. Urease assay and ammonia release from leaf tissue. **Phytochemistry**, Kidlington, v. 22, p. 663-665, 1983.

JANDREY, D. B. **Dose de nitrogênio em cobertura no arroz irrigado em sucessão a espécies de inverno**. 2008. 64 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

JOHNSON, C. M.; ULRICH, A. **Analytical methods for use in plants analyses**. Los Angeles:University of California, 1959.

KOPSELL, D. A.; RANDLE, W. M. Selenate concentration affects selenium and sulfur uptake and accumulation by “Granex” onions. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 122, p. 721–726, 1997.

KUMAR, R. M.; PADMAJA, K.; SUBBAIAH, S. V. Tools for plantbased N management in different rice varieties grown in southern India. **International Rice Research Notes**, Metro Manila, v. 24, n. 3, p. 23-24, 1999.

LOPES, S.I.G.; LOPES, M.S.; MACEDO, V.R.M. Curva de resposta à aplicação de nitrogênio para quatro genótipos de arroz irrigado. **Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre, v.49, p.3-6, 1996.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional de plantas**: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: Potafós, 1997. 319p.

McCULLOUGH, H. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. **Clínica chimica acta**, Netherland, v. 17, n. 2, p. 297-304, 1967.

MIKKELSEN, R. L.; WAN, H. F. The effect of selenium on sulfur uptake by barley and rice. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 121, p. 151-153, 1990.

NTAMATUNGIRO S.; NORMAN, R. J.; MCNEW, R. W.; WELLS, B. R. Comparison of plant measurements for estimating nitrogen accumulation and grain yield by flooded rice. **Agronomy Journal**, Madison, v. 91, n. 1, p. 676-685, 1999.

RAIJ, B. V.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. 285 p.

REIS, A.R.; Favarin, J.L; Gallo, L.A; Malavolta, E.; Moraes, M.F; Lavres Junior, J. Nitrate reductase and glutamine synthetase activity in coffee leaves during fruit development. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Vicosa, MG, v. 33, p. 315–324, 2009.

RIOS, J. J.; ROSALES, M. A.; BLASCO, B.; CERVILLA, L. M.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Biofortification of Se and induction of the antioxidant capacity in lettuce plants. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 116, n. 3, p. 248-255, 2008.

SAIDI, I.; CHTOUROU, Y.; DJEBALI, W. Selenium alleviates cadmium toxicity by preventing oxidative stress in sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings. **Journal of Plant Physiology**, New York, v. 171, p. 85-91, 2014.

SEREGINA, I.I.; NILOVSKAYA, N.T.; OSTAPENKO, N.O. The role of selenium in the formation of the grain yield in spring wheat. **Agrokhimiya**, Moscow, v.1, p.44-50, 2001.

SEREGINA, I.I.; NILOVSKAYA, N.T. Biological role of selenium in plants. **Agrokhimiya**, Moscow, v.10, p.76-85, 2002.

SOIL SURVEY STAFF. **Soil taxonomy**: a basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. 2. ed. United States: Department of Agriculture. 1999. 436p.

STONE, L.F.; SILVEIRA, P.M.; MOREIRA, J.A.A.; YOKOYAMA, L.P. Adubação nitrogenada em arroz sob irrigação suplementar por aspersão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.34, p.927-932, 1999.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 719 p.

XUE, T.; HARTIKAINEN, H.; PIIRONEN, V. The antioxidative function of selenium in higher plants: I. The inhibitive effect of selenium on lipid peroxidation and its enzymatic mechanism. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 38, p. 274-277, 1993.

XUE, T.; HARTIKAINEN, H.; PIIRONEN, V. Antioxidative and grown-promoting effect of selenium on senescing lettuce. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 237, p. 55–61, 2001.

WHITE, P. J.; BOWEN, H. C.; PARMAGURU, P.; FRIZT, M.; SPRACKLEN, W. P.; SPILBY, R. E.; MEACHAM, M.; MEAD, A.; HARRIMAN, M.; TRUEMAN, L. J.; SMITH, B. M.; THOMAS, B.; BROADLEY, M. R. Interactions between selenium and sulfur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 1927–1937, 2004.

WU, L.; HUANG, Z. Z. Selenium assimilation and nutrient element uptake in White Clover and Tall Fescue under influence of sulfate concentration and selenium tolerance of the plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 43, p. 549–555, 1992.