



KARLIANA SILVA OLIVEIRA

Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar

Biofortificação de arroz (*Oryza sativa* L.) em selénio e implicações na composição nutricional

Dissertação para obtenção do Grau de Doutor em
Qualidade Alimentar

Orientador: Professor Doutor Fernando José Cebola Lidon
Professor Associado com Agregação na Faculdade de Ciências e
Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa

Coorientadora: Doutora Paula Scotti Campos Afonso
Investigadora Auxiliar do Instituto Nacional de Investigação
Agrária e Veterinária

Júri:

Presidente: Prof^a. Doutora Elvira Júlia Conceição Matias Coimbra

Arguentes: Prof^a Doutora Anabela Cristina da Silva Naret Morei Raymundo
Doutor José António Santos Pereira de Matos

Vogais: Prof. Doutor Nuno Carlos Lapa dos Santos Nunes
Prof. Doutor Fernando José Cebola Lidon



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Dezembro de 2016



KARLIANA SILVA OLIVEIRA

Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar

Biofortificação de arroz (*Oryza sativa* L.) em selénio e implicações na composição nutricional

Dissertação para obtenção do Grau de Doutor em
Qualidade Alimentar

Orientador: Professor Doutor Fernando José Cebola Lidon
Professor Associado com Agregação na Faculdade de Ciências e
Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa

Coorientadora: Doutora Paula Scotti Campos Afonso
Investigadora Auxiliar do Instituto Nacional de Investigação
Agrária e Veterinária



Dezembro de 2016

Copyright

Copyright © - Todos os direitos reservados. Karliana Silva Oliveira. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa tem o direito perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel, de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Dedico esta tese
à minha mãe e aos
meus irmãos.

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus por todas as bênçãos concedidas, e por ter-me apresentado com pessoas dotadas de muito conhecimento, que contribuíram para que a minha trajetória académica fosse sempre ascendente.

Ao meu orientador Professor Doutor Fernando José Cebola Lidon, pelo seu incansável empenho em prol deste projeto, por partilhar o seu conhecimento, pela sua enorme paciência, pelo apoio, pela confiança depositada neste trabalho e sobretudo pela sua humildade na transmissão do conhecimento. Muito obrigada por toda sua contribuição na minha vida académica.

À minha coorientadora Doutora Paula Scotti, por participar ativamente em todas as etapas deste projeto, por conceder a realização das análises dos grãos no Departamento de Fisiologia Vegetal do INIAV – Oeiras, por toda a sua dedicação e ensinamentos.

À Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa e ao corpo docente do Programa Doutoral em Qualidade Alimentar.

Ao Departamento de Ciências da Terra e ao corpo docente do mesmo, em especial ao Professor Doutor José Carlos Kullberg por conceder as instalações dos laboratórios para a concretização deste projeto.

À CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Ministério da Educação do Brasil pela bolsa concedida – Processo (BEX 1531/13-1).

Ao Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), pelo uso das instalações e pela oportunidade que me foi concedida, em especial aos funcionários do Laboratório de Fisiologia Vegetal de Oeiras e da Estação de Melhoramento de Plantas de Elvas (ENMP).

Ao Cotarroz, por ter proporcionado a instalação e pela monitorização dos ensaios de campo em Salvaterra de Magos, e a toda equipa de investigadores que contribuíram para a concretização deste trabalho.

Aos meus Professores Doutora Maria Fernanda Pessoa e Doutor Fernando Reboredo, pelo apoio, pelas palavras de incentivo e pela disponibilidade durante todo esse processo.

À Doutora Ana Sofia Almeida, por transmitir os seus conhecimentos sobre arroz e por todo apoio fornecido para a instalação dos ensaios de campo.

Ao Doutor José Cochicho Ramalho, pelos ensinamentos e apoio na realização das análises às plantas.

À técnica Isabel Pais, pelo apoio nas análises laboratoriais, pela sua dedicação, pelo seu incentivo, pelas suas palavras de encorajamento e pela sua amizade.

Aos Eng^{os} José Semedo, Filipe Lavrador, Paula Marques, Maria José, Eduardo Leitão, Ana Sofia Bagulho, Catarina Galinha, e aos professores José Paulo Santos, Mauro Guerra, que contribuíram em fases distintas deste projeto, mas em momentos essenciais.

À D. Graça Pereira, do Laboratório de Fisiologia Vegetal, pela colaboração, convívio, apoio e amizade.

Aos meus colegas de doutoramento, Inês Pataco, Mara Mourinho e João Pelica, pelo companheirismo, pela ajuda mútua, pela agradável convivência e amizade.

À minha mãe, Ana Lúcia Oliveira, que nunca mediu esforços para que eu chegasse até aqui, e que mesmo com poucos recursos, lutou pela minha formação académica. Está sempre ao meu lado nos bons e nos maus momentos, e encoraja-me a seguir em frente seja qual for a adversidade. Mãe, obrigada por tudo.

Aos meus irmãos Cléia e Saymon, e ao meu padrasto Rubens Reis pelo amor, apoio e incentivo em todos os meus projetos pessoais e profissionais.

Ao meu namorado Rolando Mendes, que teve um papel muito importante durante essa jornada, pela sua incansável paciência e compreensão nos meus momentos mais críticos, pelas suas palavras de incentivo, pelo seu apoio, amor e carinho.

A todas as pessoas que não mencionei, mas que de alguma forma contribuíram, direta ou indiretamente, deixo aqui os meus sinceros agradecimentos.

Resumo

O arroz representa, a nível mundial, um dos cereais com maior relevância do ponto de vista social e económico. O Selénio (Se) é um antioxidante considerado essencial na saúde humana. A deficiência em Se tem tido repercussões negativas na qualidade de vida das populações em vários países. Como forma de minimizar este défice, têm sido propostas estratégias de melhoramento de plantas e de biofortificação agrónómica para aumentar a ingestão de Se no ser humano. O principal objetivo deste estudo foi o desenvolvimento de tecnologia para produção de arroz biofortificado naturalmente em Se, com potencial utilização na produção de farinha destinada a produtos alimentares. Foram implementados ensaios de campo com delineamentos experimentais casualizados em dois anos consecutivos (2013 e 2014), no Ribatejo. Utilizaram-se duas variedades comerciais (Ariete e Albatros) e duas linhas avançadas portuguesas (OP1105 e OP1109) obtidas pelo INIAV. Em 2013 procedeu-se à aplicação foliar de Se sob a forma de selenato de sódio (Na_2SeO_4) e selenito de sódio (Na_2SeO_3), em 5 concentrações (0, 4, 20, 30 e 60 g Se ha^{-1}), em blocos com e sem adubação de fundo com selenato (92,69 g Se ha^{-1}). Em 2014 foi aplicado Se sob a forma de selenito e selenato (0, 120, 180 e 300 g Se ha^{-1}) sem adubação de fundo, para aferir os limites de acumulação deste e outros elementos nos grãos. Alguns parâmetros nutricionais e de qualidade (lípidos, açúcares solúveis, proteína, cinzas e cor) foram avaliados na farinha obtida a partir dos grãos biofortificados. A concentração de Se nos grãos aumentou com os teores foliares de selenito e selenato aplicados, verificando-se variabilidade genética entre os genótipos. Albatros biofortificada com selenito destacou-se nos dois ensaios pelos maiores teores de Se acumulados no grão, possibilitando assim uma manipulação tecnológica relevante. O genótipo OP1109 apresentou os maiores valores de peso de mil grãos (PMG) nas biofortificações mais elevadas de cada ano. O Se distribuiu-se uniformemente por todo o grão, tal como o Cu, ao contrário do Fe e do Zn (embrião e região apical do grão) e do K, do Ca e do P (embrião e camadas exteriores do grão). Nos ácidos gordos totais, a biofortificação mais elevada (2014) provocou aumento dos teores em todos os genótipos. Os teores de açúcares solúveis tenderam a aumentar com as concentrações mais elevadas de Se, tal como os teores de proteína. Em síntese, quaisquer dos tratamentos (baixas ou elevadas concentrações de Se, na forma de selenito ou selenato) parecem ser viáveis tendo em vista a acumulação de Se no grão. Contudo, as concentrações de Se a serem aplicadas dependerão da finalidade industrial do arroz. O tratamento com baixas concentrações de Se (30 a 60 g Se ha^{-1}) será mais adequado para a biofortificação de arroz em áreas de cultivo mais extensas, sem comprometer a produção de grãos e os parâmetros nutricionais. Por outro lado, o tratamento com elevadas concentrações (até o máximo de 180 g Se ha^{-1}) será mais adequado em áreas menores de cultivo, permitindo a obtenção de grãos com maior concentração de Se, que poderão ser submetidos ao processamento industrial (*i.e.*, para produção de farinha) e incorporar misturas com farinhas não biofortificadas. Acresce ainda que a aplicação foliar (sem

adubação de fundo) foi suficiente para obtenção de resultados satisfatórios, e que esta poderá ser aplicada uma única vez.

Palavras-Chave: Arroz, Biofortificação, Selênio, Selenito e Selenato.

Abstract

Rice represents one of the most important social and economic crops in the world. Selenium (Se) is an antioxidant considered essential in human health. Se deficiency has negative repercussions on the quality of life of the populations in several countries. As a way of minimizing this deficit, plant breeding and agronomic strategies for biofortification have been proposed to increase the intake of Se by humans. The main objective of this study is the development of technology to produce rice naturally biofortified in Se, with potential use for the development of food products. Field trials with randomized experimental designs were implemented in two consecutive years (2013 and 2014), in Ribatejo, using two commercial varieties (Ariete and Albatros) and two Portuguese advanced lines (OP1105 and OP1109) obtained through INIAV Rice Breeding Program. In 2013 foliar applications of Se in the form of sodium selenate (Na_2SeO_4) and sodium selenite (Na_2SeO_3) were carried out in 5 concentrations (0, 4, 20, 30 and 60 g Se ha⁻¹) in blocks with and without background fertilization with selenate (92.69 g Se ha⁻¹). In 2014 selenite and selenate (0, 120, 180 and 300 g Se ha⁻¹) were applied without background fertilization, to evaluate the accumulation limits of this and other elements in the grains. Some nutritional and quality parameters (lipids, soluble sugars, protein, ashes and color) were evaluated in the flour obtained from the biofortified grains. The concentration of Se in the grains increased with higher applied levels of selenite and selenate, and genetic variability among the genotypes was observed as regards Se accumulation. Albatros biofortified with selenite was highlighted in both tests by the highest levels of accumulated Se in the grain, thus enabling a relevant technological manipulation. The genotype OP1109 presented the highest values of 1000 grain weight in the strongest biofortification of each year. Se was uniformly distributed throughout the grain, such as Cu, unlike Fe and Zn (embryo and apical region of the grain) and K, Ca and P (embryo and outer layers of the grain). As regards total fatty acids, the highest biofortification (2014) caused an increase of the contents in all the genotypes. Soluble sugar and protein contents tended to increase with higher concentrations of Se. In summary, any of the treatments (low or high concentrations of Se, in the form of selenite or selenate) appear to be suitable in view of the accumulation of Se in the grain. However, the concentrations of Se to be applied will depend on the industrial purpose of the rice. Treatment with low concentrations of Se (30 to 60 g Se ha⁻¹) will be more appropriate for the biofortification of rice in more extensive cultivation areas, without compromising grain production and nutritional parameters. On the other hand, the treatment with high concentrations (up to a maximum of 180 g Se ha⁻¹) will be more adequate in smaller areas, allowing to obtain grains with higher concentration of Se, which can be submitted to industrial processing (i.e. for flour production) and incorporate mixtures with non-biofortified flours. In addition, leaf application (without background fertilization) was sufficient to obtain satisfactory results, even with a single application.

Key words: Rice, Biofortification, Selenium, Selenite and Selenate.

Lista de Símbolos e Abreviaturas

ANOVA – Análise de variância

ATO – Selenato

bar – Unidade de pressão

BL – Bloco

C16:0 – Ácido palmítico

C17:0 – Ácido heptadecanóico

C18:0 – Ácido esteárico

C18:1 – Ácido oleico

C18:2 – Ácido linoleico

C18:3 – Ácido linolénico

ca. – *Circa* (Cerca de)

CE – Condutividade elétrica

cf. – *Confer* (conferir em)

CIE – *Comission Internationale de Éclairage*

DBI – *Double Bond Index* (Índice de Insaturação)

e.g. – *Exempli gratia* (por exemplo)

FAO – *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

GPx – Glutaciona peroxidase

gs – Condutância estomática

GSH – Glutaciona reduzida

GSSG – Glutaciona oxidada

H₂O₂ – Peróxido de hidrogénio

HPLC – *High-performance liquid chromatography*

HV – *High Voltage* (Alta tensão)

IC – *Index Color*

i.e. – *id est* (isto é)

IFA – *International Fertilizer Industry Association*

INIAV-Elvas – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Elvas

ITO – Selenito

iWUE – *Intrinsic Water Use Efficiency* (Eficiência Instantânea do Uso da Água)

K α – Grupo de riscas mais intensas da série K do espectro descontínuo de raios-X

Nº CAS – número de identificação para produtos químicos com um registo único no *Chemical Abstracts Service*

Na₂SeO₃ – Selenito de sódio

Na₂SeO₄ – Selenato de sódio

NADP – Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato, forma oxidada

NADPH – Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato, forma reduzida

ND – Não Detetado

NP – Norma Portuguesa
OP – *Oryza Portugal*
PS – Peso Seco
Pn – Taxa de fotossíntese líquida
REP – Repetição
SeCys – Selenocisteína
SL – Referente ao ensaio do campo com selénio
SeMet – Selenometionina
SeMetSeCys - Selenometilselenocisteína
SOD – Superóxido dismutase
Tr – Taxa de transpiração
WHO – *World Health Organization*
 μ -XRF – Microfluorescência de Raios-X
 μ -EDXRF – Microespectrometria de fluorescência de raios-X dispersiva de energias
Z – Número atómico

Índice Geral

Agradecimentos	vii
Resumo	ix
Abstract	xi
Lista de Símbolos e Abreviaturas	xiii
Índice Geral	xv
Índice de Figuras	xix
Índice de Tabelas	xxiii
Índice de Quadros	xxvii
Capítulo I	29
1. Introdução	29
1.1. Introdução Geral e Objetivos	29
1.2. Revisão de Literatura	33
1.2.1. O Arroz	33
1.2.1.1. A Relevância no Mundo e em Portugal	33
1.2.1.2. Caracterização do Grão	34
1.2.1.3. Principais constituintes do arroz	35
1.2.1.4. Consumo: aplicações e benefícios	37
1.2.2. Selénio	38
1.2.2.1. No Solo	38
1.2.2.2. Nas Plantas	40
1.2.2.3. Biodisponibilidade e Integração Metabólica	40
1.2.2.4. Biofortificação de Alimentos em Selénio: Contextualização e Estratégias	43
Capítulo II	47
2. Materiais e Métodos	47
2.1. Material Biológico	47
2.2. Implementação da Cultura	48
2.3. Desidratação e Moagem das Amostras Biológicas	53
2.4. Elementos Minerais	54
2.4.1. Água dos Canteiros	54
2.4.1.1. Titulação do Ião Bicarbonato – HCO_3^-	54
2.4.1.2. Cromatografia Iónica – Ca, Mg, Na, K	54
2.4.2. Amostras Biológicas	54
2.4.2.1. Espectrofluorimetria Acoplada com Raio X	54
2.4.2.2. Análise Cíclica por Ativação Neutrónica	55
2.5. Condutividade e pH	56
2.6. Localização Tecidual do Selénio	56
2.6.1. Microscopia Eletrónica de Varrimento Acoplada a Raio X	56
2.6.2. Fluorescência de Raio X	56
2.7. Parâmetros Fotossintéticos – Trocas Gasosas Foliares	57

2.8.	Parâmetros da Produção	57
2.8.1.	Peso dos Grãos por Panícula	57
2.8.2.	Peso de Mil Grãos	57
2.8.3.	Produção Final	57
2.9.	Quantificação de Elementos Nutricionais.....	58
2.9.1.	Lípidos	58
2.9.1.1.	Extração dos Ácidos Gordos Totais.....	58
2.9.1.2.	Metilação de Ácidos Gordos	58
2.9.2.	Açúcares Solúveis	59
2.9.3.	Proteínas	59
2.10.	Cinzas.....	60
2.11.	Análise Colorimétrica.....	60
2.12.	Tratamento Estatístico.....	60
Capítulo III	61
3.	Resultados e Discussão	61
3.1.	Primeiro Ano de Ensaio.....	61
3.1.1.	Solo e Água de Cultivo	61
3.1.2.	Parâmetros Meteorológicos	64
3.1.3.	Desenvolvimento Fenológico das Variedades e Genótipos.....	65
3.1.4.	Parâmetros Fotossintéticos – Trocas Gasosas Foliare.....	66
3.1.5.	Parâmetros da Produção	80
3.1.5.1.	Panícula e Grãos Integrais.....	80
3.1.5.2.	Peso de Mil Grãos.....	87
3.1.5.3.	Produção Final dos Grãos.....	88
3.1.6.	Mobilização e Acumulação de Elementos Minerais.....	90
3.1.6.1.	Concentração Total nas Folhas	90
3.1.6.2.	Concentração Total de Elementos Minerais no Grão	94
3.1.6.3.	Localização Tecidual dos Minerais	101
3.1.7.	Lípidos	110
3.1.8.	Açúcares Solúveis	114
3.1.9.	Proteínas	118
3.1.10.	Parâmetros Colorimétricos.....	120
3.2.	Segundo Ano de Ensaio.....	125
3.2.1.	Solo e Água de Cultivo	125
3.2.2.	Parâmetros Meteorológicos	126
3.2.3.	Desenvolvimento Fenológico das Variedades e Genótipos.....	127
3.2.4.	Parâmetros Fotossintéticos – Trocas Gasosas Foliare.....	128
3.2.5.	Parâmetros da Produção	134
3.2.6.	Mobilização e Acumulação de Elementos Minerais.....	136
3.2.6.1.	Concentração Total nas Folhas	136

3.2.7.	Cinzas Totais no Grão.....	145
3.2.8.	Concentração Total de Elementos Minerais no Grão	146
3.2.9.	Análise Qualitativa de Elementos Minerais	152
3.2.10.	Localização Tecidual de Elementos Minerais	160
3.2.11.	Lípidos	168
3.2.12.	Açúcares Solúveis	172
3.2.13.	Proteína	174
3.2.14.	Parâmetros Colorimétricos	176
CAPÍTULO IV	179
4.	Síntese Analítica de Resultados	179
CAPÍTULO V	185
5.	Conclusão e Recomendações	185
6.	Referências Bibliográficas	187

Índice de Figuras

Figura 1.1. Análise comparativa da produção de arroz nos diferentes continentes da Terra. ...	33
Figura 1.2. Produção de arroz em Portugal de 2000 a 2013.	34
Figura 1.3. Estrutura do Grão de Arroz.	35
Figura 1.4. Vias de mobilização do Se ingerido.	42
Figura 1.5. Reação enzimática catalisada pela selenoenzima glutathione peroxidase.	42
Figura 2.1. Campos de ensaio do Cotarroz, onde se destacam os dois ensaios (2013 e 2014).	48
Figura 2.2. Desenho experimental do primeiro ensaio (2013)	50
Figura 2.3. Desenho experimental do segundo ensaio (2014).	51
Figura 2.4. Moagem de amostras (2013).	53
Figura 2.5. Moagem de amostras (2014).	53
Figura 2.6. Esquema que ilustra o funcionamento de um analisador portátil de raio-X	55
Figura 3.1. Condições climáticas no campo experimental, no decurso do 1º ano do ensaio (2013).	64
Figura 3.2. Diagrama do ciclo de vida do arroz (2013).	65
Figura 3.3. Perspectiva geral dos campos experimentais, no decurso do 1º ano de ensaio (Julho de 2013) em Salvaterra de Magos – (39.03º N; - 8.74º W). (1 – Bloco SL01; 2 – Bloco SL02). 66	66
Figura 3.4. Peso da panícula (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito) em 5 tratamentos, cultivados no bloco sem adubação de fundo (SL01).	80
Figura 3.5. Produção do número de grãos por panícula em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito) em 5 tratamentos, cultivados no bloco sem adubação de fundo (SL01).	80
Figura 3.6. Peso dos grãos por panícula (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de selénio (selenito) em 5 tratamentos, cultivados no bloco sem adubação de fundo (SL01). .	81
Figura 3.7. Peso da panícula (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenato) em 5 tratamentos, cultivados no bloco sem adubação de fundo (SL01).	82
Figura 3.8. Produção do número de grãos por panícula em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de selénio (selenato) em 5 tratamentos, cultivados no bloco sem adubação de fundo (SL01).	82
Figura 3.9. Peso dos grãos por panícula (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenato) em 5 tratamentos, cultivados no bloco sem adubação de fundo (SL01).	82
Figura 3.10. Peso da panícula (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito) em 5 tratamentos, cultivados no bloco com adubação de fundo (SL02).	83
Figura 3.11. Produção do número de grãos por panícula em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito) em 5 tratamentos, cultivados no bloco com adubação de fundo (SL02).	84
Figura 3.12. Peso dos grãos por panícula (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de selénio (selenito) em 5 tratamentos, cultivados no bloco com adubação de fundo (SL02).	84
Figura 3.13. Peso da panícula (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenato) em 5 tratamentos, cultivados no bloco com adubação de fundo (SL02).	85

Figura 3.14. Produção do número de grãos por panícula em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenato) em 5 tratamentos, cultivados no bloco com adubação de fundo (SL02).....	85
Figura 3.15. Peso dos grãos por panícula (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenato) em 5 tratamentos, cultivados no bloco com adubação de fundo (SL02).....	86
Figura 3.16. Produção final dos grãos (ton ha ⁻¹) em 4 variedades de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 5 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respetivamente).....	88
Figura 3.17. Teor de Se (mg Kg ⁻¹) em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos (SL01 e SL02) sem e com adubação de fundo, respetivamente.	96
Figura 3.18. Grão de Arroz. A) Embrião; B) Centro do Grão; C) Região apical do grão.	101
Figura 3.19. Espectro do grão de arroz da variedade Ariete (controlo/selenito) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	101
Figura 3.20. Espectro do grão de arroz da variedade Albatros (controlo/selenito) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	102
Figura 3.21. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1105 (controlo/selenito) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	102
Figura 3.22. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1109 (controlo/selenito) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	102
Figura 3.23. Espectro do grão de arroz da variedade Ariete (controlo/selenato) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	102
Figura 3.24. Espectro do grão de arroz da variedade Albatros (controlo/selenato) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	103
Figura 3.25. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1105 (controlo/selenato) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	103
Figura 3.26. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1109 (controlo/selenato) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	103
Figura 3.27. Espectro do grão de arroz do genótipo da variedade Ariete com aplicação de selenito (60 g Se ha ⁻¹) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	103
Figura 3.28. Espectro do grão de arroz da variedade Albatros com aplicação de selenito (60 g Se ha ⁻¹) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	104
Figura 3.29. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1105 com aplicação de selenito (60 g Se ha ⁻¹) primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	104
Figura 3.30. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1109 com aplicação de selenito (60 g Se ha ⁻¹) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	104
Figura 3.31. Espectro do grão de arroz da variedade Ariete com aplicação de selenato (60 g Se ha ⁻¹) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	104
Figura 3.32. Espectro do grão de arroz da variedade Albatros com aplicação de selenato (60 g Se ha ⁻¹) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	105

Figura 3.33. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1105 com aplicação de selenato (60 g Se ha ⁻¹) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	105
Figura 3.34. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1109 com aplicação de selenato (60 g Se ha ⁻¹) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	105
Figura 3.35. Condições climáticas no campo experimental, no decurso do 2º ano do ensaio (2014). Fonte: Salvaterra de Magos, Estação / Posto Meteorológico Paúl de Magos, Associação dos Regantes e Beneficiários do Vale do Sorraia.....	126
Figura 3.36. Diagrama do ciclo de vida do arroz (2014).	127
Figura 3.37. Teores de Se (ppm) nas folhas em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 3 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas.	145
Figura 3.38. Teor de Se (ppm) em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas.	148
Figura 3.39. Representação esquemática do transporte de minerais no grão de arroz. Pontos e linha azuis indicam o feixe vascular, bandas amarelas indicam a camada da aleurona e as setas vermelhas indicam a direção do transporte de minerais.	152
Figura 3.40. Espectro do grão de arroz da variedade Ariete (controlo/selenito). A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	160
Figura 3.41. Espectro do grão de arroz da variedade Albatros (controlo/selenito). A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	160
Figura 3.42. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1105 (controlo/selenito). A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	160
Figura 3.43. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1109 (controlo/selenito). A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	161
Figura 3.44. Espectro do grão de arroz da variedade Ariete (controlo/selenato). A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	161
Figura 3.45. Espectro do grão de arroz da variedade Albatros (controlo/selenato). A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	161
Figura 3.46. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1105 (controlo/selenato). A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	161
Figura 3.47. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1109 (controlo/selenato). A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	162
Figura 3.48. Espectro do grão de arroz da variedade Ariete com aplicação de selenito (300 g Se ha ⁻¹) no segundo ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	162
Figura 3.49. Espectro do grão de arroz da variedade Albatros com aplicação de selenito (300 g Se ha ⁻¹) no segundo ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	162
Figura 3.50. Espectro do grão de arroz da variedade OP1105 com aplicação de selenito (300 g Se ha ⁻¹) no segundo ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	162

Figura 3.51. Espectro do grão de arroz da variedade OP1109 com aplicação de selenito (300 g Se ha ⁻¹) no segundo ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	163
Figura 3.52. Espectro do grão de arroz da variedade Ariete com aplicação de selenato (300 g Se ha ⁻¹) no segundo ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	163
Figura 3.53. Espectro do grão de arroz da variedade Albatros com aplicação de selenato (300 g Se ha ⁻¹) no segundo ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	163
Figura 3.54. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1105 com aplicação de selenato (300 g Se ha ⁻¹) no segundo ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	163
Figura 3.55. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1109 com aplicação de selenato (300 g Se ha ⁻¹) no segundo ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.	164

Índice de Tabelas

Tabela 2.1. Operações culturais efetuadas no campo experimental do Cotarroz em Salvaterra de Magos (39.03°N; -8.74°W).	52
Tabela 3.1. Características químicas e físicas do solo.....	61
Tabela 3.2. Características físicas e químicas nas lâminas de água, à superfície dos solos de cultivo do arroz no decurso do primeiro ano de ensaio.	63
Tabela 3.3. Parâmetros fotossintéticos em 4 genótipos de arroz, em condições controlo em 2 fases do desenvolvimento das plantas. Taxa de assimilação líquida (P_n), taxa de condutância estomática para a água (g_s), taxa de transpiração (T_r) e eficiência instantânea do uso de água ($iWUE$, calculada pela relação P_n/g_s).....	67
Tabela 3.4. Taxa fotossintética líquida (P_n) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 5 tratamentos, cultivados em 2 blocos (SL01 e SL02) sem e com adubação de fundo, respetivamente.	69
Tabela 3.5. Condutância estomática (g_s) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 5 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo, (SL01 e SL02, respetivamente).	72
Tabela 3.6. Transpiração (T_r) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 5 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo, (SL01 e SL02, respetivamente).	75
Tabela 3.7. Eficiência instantânea do uso da água ($iWUE$) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 5 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo, (SL01 e SL02, respetivamente).	78
Tabela 3.8. Peso de Mil Grãos (PMG) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 5 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respetivamente).....	87
Tabela 3.9. Teores de Se (mg Kg^{-1}) em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos (SL01 e SL02) sem e com adubação de fundo, respetivamente.	94
Tabela 3.10. Teores de Zn (ppm) em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos (SL01 e SL02) sem e com adubação de fundo, respetivamente.	97
Tabela 3.11. Percentagem de Ca em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos (SL01 e SL02) sem e com adubação de fundo, respetivamente.	98
Tabela 3.12. Percentagem de K em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos (SL01 e SL02) sem e com adubação de fundo, respetivamente.	100
Tabela 3.13. Análise semi-quantitativa de elementos minerais (%)* e localização tecidual de K, Ca, P e Mg, por microscopia eletrónica de varrimento com sonda de raios X, em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 2 tratamentos.	106
Tabela 3.14. Análise semi-quantitativa de elementos minerais (%)* e localização tecidual de Fe, Mn, Zn e Cu, por microscopia eletrónica de varrimento com sonda de raios X, em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 2 tratamentos.	107

Tabela 3.15. Análise semi-quantitativa e localização tecidual de Se (%)*, por microscopia eletrônica de varrimento com sonda de raios X, em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 2 tratamentos.	109
Tabela 3.16. Teores de ácidos gordos totais (mg g^{-1} PS) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respetivamente).....	110
Tabela 3.17. Teores dos ácidos gordos (mg g^{-1} PS) e índice de insaturação (DBI) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respetivamente).	113
Tabela 3.18. Teor de açúcares solúveis totais (mg g^{-1} PS) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respetivamente).....	114
Tabela 3.19. Teores de açúcares solúveis (mg g^{-1} PS) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respetivamente).....	117
Tabela 3.20. Percentagem de proteína total em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 5 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respetivamente).....	118
Tabela 3.21. Determinação da cor dos grãos (farinha integral) pelo sistema CIELAB, através dos parâmetros de luminosidade (L^*) e coordenadas de cromaticidade (a^* e b) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito - ITO) em 5 tratamentos, cultivados no bloco sem adubação de fundo (SL01).....	120
Tabela 3.22. Determinação da cor dos grãos (farinha integral) pelo sistema CIELAB, através dos parâmetros de luminosidade (L^*) e coordenadas de cromaticidade (a^* e b) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenato - ATO) em 5 tratamentos, cultivados no bloco sem adubação de fundo (SL01).....	121
Tabela 3.23. Determinação da cor dos grãos (farinha integral) pelo sistema CIELAB, através dos parâmetros de luminosidade (L^*) e coordenadas de cromaticidade (a^* e b) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito - ITO) em 5 tratamentos, cultivados no bloco com adubação de fundo (SL02).....	121
Tabela 3.24. Determinação da cor dos grãos (farinha integral) pelo sistema CIELAB, através dos parâmetros de luminosidade (L^*) e coordenadas de cromaticidade (a^* e b) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenato - ATO) em 5 tratamentos, cultivados no bloco com adubação de fundo (SL02).....	122
Tabela 3.25. Características químicas e físicas do solo. Valores médios ($n = 3$).	125
Tabela 3.26. Características físicas e químicas nas lâminas de água à superfície dos solos de cultivo do arroz no decurso do segundo ano de ensaio.	125
Tabela 3.27. Parâmetros fotossintéticos em 4 genótipos de arroz, em condições controlo em 2 fases do desenvolvimento das plantas. Taxa de assimilação líquida (P_n), taxa de condutância estomática para a água (g_s), taxa de transpiração (T_r) e eficiência instantânea do uso de água ($iWUE$, calculada pela relação P_n/g_s).....	128
Tabela 3.28. Taxa fotossintética líquida (P_n) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01).....	129
Tabela 3.29. Condutância Estomática (g_s) estomática em 4 genótipos de arroz submetidos a biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01). V	131
Tabela 3.30. Transpiração (T_r) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO), cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01)....	132

Tabela 3.31. Eficiência instantânea do uso da água (<i>iWUE</i>) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01)..	133
Tabela 3.32. Peso de Mil Grãos (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01).	134
Tabela 3.33. Percentagem de Ca nas folhas em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas.....	138
Tabela 3.34. Percentagem de K nas folhas em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas.	140
Tabela 3.35. Teores de Fe (ppm) nas folhas em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas..	141
Tabela 3.36. Teores de Zn (ppm) nas folhas em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas..	143
Tabela 3.37. Teores de Se (ppm) nas folhas em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas.	144
Tabela 3.38. Percentagem de cinzas totais em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01).....	145
Tabela 3.39. Teores de Se (ppm) em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas.	147
Tabela 3.40. Teores de Zn (ppm) em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas.	149
Tabela 3.41. Percentagem de Ca em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas.	150
Tabela 3.42. Percentagem de K em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas.	151
Tabela 3.43. Análise semi-quantitativa de elementos minerais (%)* e localização tecidual de K, Ca, P e Mg, por microscopia eletrônica de varrimento com sonda de raios X, em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 2 tratamentos.	165
Tabela 3.44. Análise semi-quantitativa de elementos minerais (%)* e localização tecidual de Fe, Mn, Zn e Cu, por microscopia eletrônica de varrimento com sonda de raios X, em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 2 tratamentos.	166

Tabela 3.45. Análise semi-quantitativa e localização tecidual de Se (%)*, por microscopia eletrônica de varrimento com sonda de raios X, em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 2 tratamentos.	167
Tabela 3.46. Teores de ácidos gordos totais ($\text{mg g}^{-1}_{\text{PS}}$) em em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 3 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01).	168
Tabela 3.47. Teores dos ácidos gordos ($\text{mg g}^{-1}_{\text{PS}}$) e índice de insaturação (DBI) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 3 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01).	171
Tabela 3.48. Teor de açúcares solúveis totais ($\text{mg g}^{-1}_{\text{PS}}$) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 3 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01).	172
Tabela 3.49. Teores de açúcares solúveis ($\text{mg g}^{-1}_{\text{PS}}$) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 3 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01).	173
Tabela 3.50. Percentagem de proteína total em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 5 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01).	175
Tabela 3.51. Determinação da cor dos grãos (farinha integral) pelo sistema CIELAB, através dos parâmetros de luminosidade (L^*) e coordenadas de cromaticidade (a^* e b) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito - ITO) em 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01).	177
Tabela 3.52. Determinação da cor dos grãos (farinha integral) pelo sistema CIELAB, através dos parâmetros de luminosidade (L^*) e coordenadas de cromaticidade (a^* e b) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenato - ATO) em 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01).	177

Índice de Quadros

Quadro 3.1. Macronutrientes e micronutrientes nas folhas de 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos (SL01 e SL02) sem e com adubação de fundo, respetivamente. Valores médios ($m \pm SE$; $n = 4$).	92
Quadro 3.2. Macronutrientes e micronutrientes nas folhas em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas. Valores médios ($m \pm SE$; $n = 4$).	136
Quadro 3.3. Localização dos elementos minerais (Fe, Mn, Zn, Cu, Ca, K e P) na variedade Ariete, em amostras controlo e com aplicações foliares de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) na concentração de 300 g Se ha ⁻¹ . Análise realizado com recurso à fluorescência de raios X (sistema μ -EDXRF).	153
Quadro 3.4. Localização dos elementos minerais (Fe, Mn, Zn, Cu, Ca, K e P) na variedade Albatros, em amostras controlo e com aplicações foliares de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) na concentração de 300 g Se ha ⁻¹ . Análise realizado com recurso à fluorescência de raios X (sistema μ -EDXRF).	154
Quadro 3.5. Localização dos elementos minerais (Fe, Mn, Zn, Cu, Ca, K e P) no genótipo OP1105, em amostras controlo e com aplicações foliares de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) na concentração de 300 g Se ha ⁻¹ . Análise realizado com recurso à fluorescência de raios X (sistema μ -EDXRF).	155
Quadro 3.6. Localização dos elementos minerais (Fe, Mn, Zn, Cu, Ca, K e P) no genótipo OP1109, em amostras controlo e com aplicações foliares de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) na concentração de 300 g Se ha ⁻¹ . Análise realizado com recurso à fluorescência de raios X (sistema μ -EDXRF).	156
Quadro 3.7. Localização do Se em Ariete, Albatros, OP1105 e OP1109, em amostras controlo e com aplicações foliares de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) na concentração de 300 g Se ha ⁻¹ . Análise realizado com recurso à fluorescência de raios X (sistema μ -EDXRF).	158

Capítulo I

1. Introdução

1.1. Introdução Geral e Objetivos

A Organização para a Alimentação e Agricultura (FAO) estima que até 2050 a população mundial atingirá 9,1 mil milhões (FAO, 2009). A maior parte deste crescimento populacional ocorrerá nos países em desenvolvimento e será marcado pelo crescente êxodo rural. Para alimentar esse acréscimo populacional, estima-se que a produção de alimentos deverá aumentar em 70% (FAO, 2009). No entanto, a quantidade de terra arável está diminuindo e grande parte dos recursos naturais, atualmente em uso, já revelam sinais de degradação. Além disso, os teores em micronutrientes (com destaque para o ferro - Fe, zinco - Zn, selênio - Se e iodo - I) nos alimentos base, nomeadamente arroz, trigo, mandioca e milho, são baixos e, atualmente, já determinam a evolução de deficiências em mais de metade da população mundial (Zhao e McGrath, 2009). As carências em micronutrientes tendem a predominar em muitas das populações mais vulneráveis do Globo, reduzindo a produtividade laboral dos adultos e incrementando as taxas de mortalidade prematura, particularmente entre mulheres e crianças. As deficiências em elementos minerais, e em várias vitaminas, são muitas vezes consideradas em conjunto, possuindo a designação de *hidden hunger* – “fome oculta” (Hirschi, 2009; White e Broadley, 2009). Para reduzir a “fome oculta”, na década de 1960 e, de forma mais acentuada nos anos 1970, a perspectiva indexada à produção agrícola sofreu profundas alterações. Então considerou-se que, a agricultura deveria não só produzir mais calorias para reduzir a fome, mas também produzir alimentos nutricionalmente mais ricos. De fato, à escala Global, um em cada três indivíduos sofre de fome oculta, causada pela falta de minerais e vitaminas nas respetivas dietas, o que se traduz na evolução de consequências negativas para a saúde (Kennedy *et al.*, 2003; Stein, 2014). Neste enquadramento, foram identificadas áreas com baixa concentração de Se na China e na Sibéria Oriental, onde a respetiva deficiência causa a “Keshan endémica” (doença na região do Keshan, na China). Esta patologia é uma cardiomiopatia juvenil endémica, com insuficiência miocárdica, que afeta principalmente crianças entre 2 e 10 anos de idade, e ainda mulheres em idade fértil (Hartikainen, 2005). Acresce ainda que, neste contexto, a biofortificação em Se fornece um meio viável para atingir populações subnutridas, que podem ter acesso limitado a várias dietas, suplementos e alimentos fortificados comercialmente. De fato, considera-se que a biofortificação em Se, nos órgãos comestíveis de plantas, poderá ser uma via segura para amenizar a deficiência desse elemento no ser humano, essencialmente devido à consequente biodisponibilidade (Hartikainen, 2005). Acresce ainda que, o Se é um elemento essencial para seres humanos e animais, com elevada importância para a saúde humana (Chaudhary *et al.*, 2010), em grande medida devido às respetivas propriedades antioxidantes (Fairweather-Tait *et al.*, 2011). De fato, a deficiência em Se tem sido associada à ocorrência de doenças cardíacas e vários tipos de cancros (Rayman, 2002). A seleção de culturas alimentares

com elevadas taxas de consumo pelas populações humanas, porque constituem alimentos base, permite um maior sucesso / impacte dos Programas de Biofortificação.

Note-se ainda que, variedades adaptadas para um determinado país, podem dentro de um enquadramento geográfico próprio, ser adaptadas a outras condições geográficas, multiplicando-se assim os benefícios do investimento inicial (Saltzman *et al.*, 2013). A escassez de alimentos, que muitas vezes é preponderante sobre as necessidades diárias, está acoplada a uma oferta insuficiente em macro e micronutrientes (Nubé e Voortman, 2006). Nos países em desenvolvimento, uma grande percentagem da população não tem acesso à carne na dieta, sendo a ingestão diária de alimentos largamente centrada nos cereais, que em muitos casos também não suprimem as necessidades da população em microelementos e vitaminas (Mayer, Pfeifer e Beyer, 2008). Neste contexto, verifica-se que a deficiência em Se, devido ao baixo consumo de alimentos de origem vegetal com quantidades substanciais deste elemento, afeta várias partes do mundo, nomeadamente da Austrália, África, Europa Oriental, Reino Unido e China (Chen *et al.*, 2002; Lyons *et al.*, 2004). Aponte-se ainda que, devido aos baixos níveis de Se nos solos, nalguns países, como a Finlândia, este elemento é aplicado anualmente como fertilizante (Euroola *et al.*, 2003). Neste contexto, de acordo Chen *et al.* (2002), Hawkesford e Zhao (2007), Lyons *et al.* (2004) e Ramos *et al.* (2010), o conteúdo em Se no arroz, trigo e alface aumentou significativamente com o uso de adubação, situação que tem largamente suprimido a respetiva carência nutricional (Nestel *et al.*, 2006; Qaim *et al.*, 2007; Meenakshi *et al.*, 2010). Note-se que ainda o arroz (*Oryza sativa* L.), embora com um teor de Se extremamente baixo (Hu *et al.*, 2002), é um alimento base (Lucca *et al.*, 2006), sendo ainda a segunda maior colheita de cereais no mundo, superado apenas pelo milho. A produção anual mundial de arroz corresponde aproximadamente a 740 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2013). O arroz é uma excelente fonte de energia, devido à alta concentração de amido, fornecendo também minerais, vitaminas e proteínas, e possui baixo teor de lípidos. Em Portugal, o consumo *per capita* estima-se em 16 Kg (INE, 2015), sendo os portugueses os maiores consumidores de arroz da Europa. Considera-se que a respetiva biofortificação em Se tem um enorme potencial para reduzir a deficiência em Se a nível global (Hu *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2013 a). De fato, atente-se que a deficiência de Se afeta cerca de 15% da população mundial (White e Broadley, 2009), sendo os bebés, os que estão em maior risco, devido aos baixos níveis deste nutriente no leite materno (Litov e Combs, 1991). O respetivo consumo prevalece em, pelo menos, 33 países e fornece cerca de 80% da ingestão calórica diária a 3 mil milhões de indivíduos (Lucca *et al.*, 2006; Meng *et al.*, 2005). Finalmente aponte-se que esta espécie também tem um papel estratégico na promoção do desenvolvimento económico de muitos países.

Os fatores relacionados ao ambiente e à adaptação das espécies vegetais podem influenciar a capacidade das plantas em absorver e translocar minerais (Gregório *et al.*, 2000). É possível através da seleção de cultivares, obter culturas com maiores teores de minerais nos grãos e também altos rendimentos.

Considerando que se pretende obter arroz biofortificado em Se com potencial para o desenvolvimento de produtos alimentares a partir de uma farinha biofortificada, até ao momento

inexistente em Portugal, a partir de genótipos de arroz adaptados às condições edafoclimáticas nacionais, selecionaram-se para biofortificação, duas variedades comerciais (Ariete e Albatros), e duas linhas avançadas (OP1105 e OP1109) do Programa de Melhoramento de Arroz do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV). Este trabalho contribuirá, assim, para a valorização do germoplasma português e do setor orizícola nacional, aspetos que no seu conjunto poderão constituir, para além de um desenvolvimento científico/tecnológico, um fator adicional para uma valorização económica acrescida dos setores ligados à produção e transformação agroalimentar. Considerando que a qualidade do arroz é o resultado da interação entre o genótipo e as condições de cultivo (interferência do solo, clima, pragas, práticas culturais), assim como das operações de colheita, conservação e processamento, salienta-se que a seleção dos genótipos indicados tende a facilitar a implementação dos sistemas de biofortificação por já serem conhecidas as respetivas práticas culturais. A biofortificação do arroz em Se poderá constituir uma vantagem competitiva para os produtores das lezírias ribatejanas, com possibilidade de ser implementada noutras regiões produtoras de arroz em Portugal.

Face ao enquadramento referido, o principal objetivo deste estudo consiste no desenvolvimento de tecnologia para produção de arroz biofortificado naturalmente em Se, com potencial utilização na produção de farinha destinada ao desenvolvimento de produtos alimentares. Pretende-se assim: 1) implementar a cultura de 4 genótipos em sistema de biofortificação, com aplicações de selenito e selenato; 2) monitorizar as trocas gasosas das plantas ao longo do ciclo e quantificar a produção dos grãos nos diversos tratamentos; 3) caracterizar a cinética de mobilização e deposição do Se no grão, a par da respetiva localização tecidual e relação com a mobilização de fotoassimilados; 4) avaliar parâmetros nutricionais e de qualidade (lípidos, açúcares solúveis, proteína, cinzas e cor) nos grãos biofortificados; 5) Identificar, no contexto experimental do estudo, os processos mais promissores para a obtenção de grãos biofortificados em Se; 6) Apontar algumas implicações tecnológicas associadas à distribuição do Se e outros elementos no grão e sua concentração na farinha.

1.2. Revisão de Literatura

1.2.1. O Arroz

1.2.1.1. A Relevância no Mundo e em Portugal

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais de maior importância social e económica para o mundo. Estima-se que assegura a alimentação de dois terços da população mundial e fornece, aproximadamente, 20% da energia e 15% da proteína indispensável ao ser humano (Cordeiro *et al.*, 2010). Em termos gerais, o arroz é cultivado em mais de cem países, com uma área colhida total de cerca de 153 milhões de hectares (Zeigler e Barclay, 2008) produzindo mais de 740 milhões de toneladas por ano (FAOSTAT, 2015).

A maior produção de arroz mundial, ou seja, 90% do total, é produzido na China, ocorrendo nas Américas a segunda maior produção – cerca de 5,5% (Figura 1.1) e o restante sendo produzido na África, Europa e Oceania (FAOSTAT, 2015).

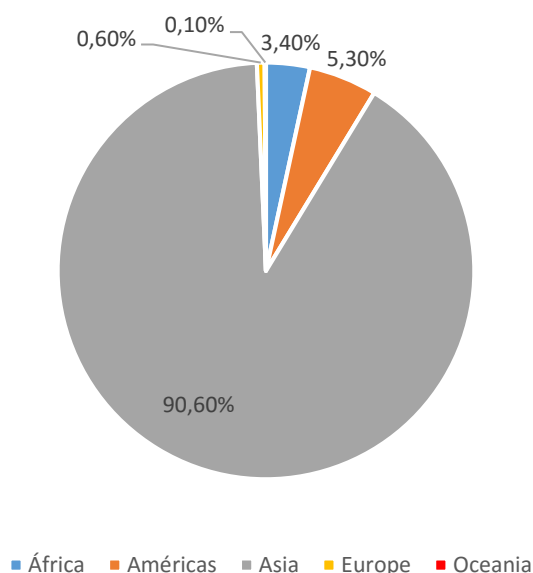


Figura 1.1. Análise comparativa da produção de arroz nos diferentes continentes. Fonte: (FAOSTAT, 2015).

Portugal é o país europeu com maior consumo *per capita* de arroz (16 – 17 kg ano⁻¹), valor que ultrapassa largamente o consumo noutros países europeus, como a Itália (Pinto, 2015).

A produção de arroz em Portugal ronda as 162 000 toneladas ano⁻¹, situando-se como o quarto maior produtor de arroz europeu em 2014 (FAOSTAT, 2015). Cerca de 72% do arroz produzido em Portugal provém de variedades do tipo carolino, 27% de variedades do tipo agulha e 1% de outras variedades (Silva, 2014). Apesar de ser autosuficiente na produção de arroz carolino, Portugal importa ca. 80 000 toneladas de arroz, sendo que 90% desta importação é de arroz agulha, preferido por cerca de 45% dos consumidores (Almeida e Marques, 2013).

Atualmente, tem-se procurado a promoção e valorização do arroz carolino, proveniente da variedade japónica, com grande relevância na culinária portuguesa tradicional pelas suas características sensoriais.

De acordo com a FAOSTAT, nos últimos 10 anos ocorreram algumas oscilações na produção de arroz em Portugal, tendo-se verificado uma forte queda da produção em 2005, seguindo-se de uma boa recuperação em 2007, e um forte aumento em 2012, decorrendo então um ligeiro decréscimo em 2013 (mas ainda assim com volume de produção ultrapassando as 160 000 toneladas) (Figura 1.2).

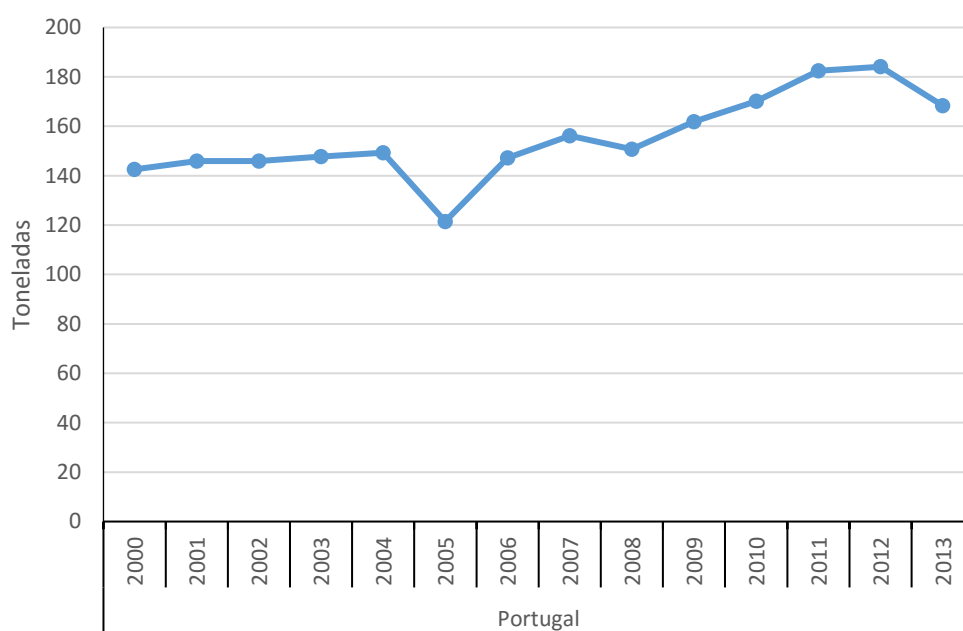


Figura 1.2. Produção de arroz em Portugal de 2000 a 2013. Fonte: FAOSTAT, 2016.

Os principais locais de cultivo de arroz em Portugal situam-se em quatro regiões agrárias, abrangendo as zonas de aluvião junto aos rios Mondego, Tejo e Sado, designadamente regiões do Ribatejo e Oeste e do Alentejo, responsáveis por 80% da produção nacional (Figueiredo, 2011).

1.2.1.2. Caracterização do Grão

O grão do arroz, ou cariopse, consiste no pericarpo, no endosperma e no embrião. O pericarpo e outros tecidos subjacentes, como o tegumento e o tecido nucelar, são distintos relativamente à sua natureza morfológica e composição química, e originam o farelo (Figura 1.3). O grão sem casca é designado por arroz integral e contém cerca de 5% de farelo (Mohan *et al.*, 2010). Além do amido, principal constituinte da matéria seca do arroz branqueado (cerca de 90%) que provém do tecido de reserva, o endosperma, este cereal também possui proteínas (6,3 – 7,1%), lípidos (0,3 – 0,5%) e fibras (0,2 – 0,5%), que estão concentrados nas camadas externas

do endosperma e no embrião (Juliano, 1993; Juliano e Bechtel, 1985; Roy *et al.*, 2011). Os grãos de arroz antes de serem comercializados passam pelo processamento industrial, que tem por objetivo a obtenção do grão branqueado. O processamento produz quatro frações: casca, arroz integral, arroz branco e farelo. A composição de cada uma destas frações pode variar de acordo com a variedade de arroz e do tipo de processamento (moagem) realizado. O arroz não branqueado (integral) contém uma quantidade significativa de fibra alimentar e mais nutrientes do que arroz branco polido, que perdeu a camada exterior (pericarpo, tegumento e camada de aleurona) bem como o embrião. O maior consumo de arroz é na forma de arroz branqueado, apesar do conteúdo valioso do arroz integral (Oko *et al.*, 2012).

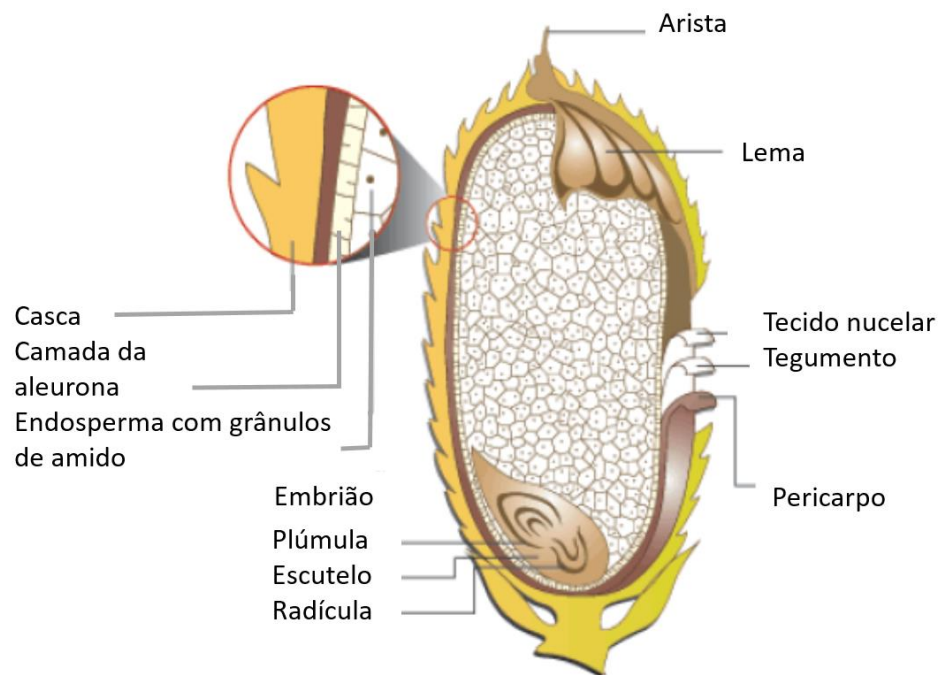


Figura 1.3. Estrutura do Grão de Arroz. Fonte: imagem adaptada de Ferreira, 2014.

1.2.1.3. Principais constituintes do arroz

a) Açúcares

O amido é o componente principal dos grãos e um ingrediente comum utilizado na indústria alimentar. Amidos são utilizados principalmente em alimentos como um agente espessante e de gelificação (Singh *et al.*, 2006). O amido é um dos principais constituintes de arroz moído, cerca de 90% da matéria seca (Zhou *et al.*, 2002). As células do endosperma são de paredes finas e cheias com grânulos de amiloplastos contendo o composto de amido os quais são uniformemente distribuídos (Azhakanandam *et al.*, 2000). Os grânulos de amido são acumulações de várias moléculas de amido que podem ser fracionadas em amilose de cadeia essencialmente linear e a amilopectina altamente ramificada. A principal variação na composição

de amido de arroz é causada pelas proporções relativas das duas frações de grânulos de amido, e isto, em conjunto com a distribuição do comprimento da cadeia, a frequência e o espaçamento dos pontos de ramificação dentro da molécula de amilopectina (Lu *et al.*, 1997), tem uma profunda influência sobre as propriedades físico-químicas de amido. O arroz apresenta pequena quantidade de açúcares livres, localizados principalmente nas camadas externas do grão, sendo sua concentração afetada pela variedade, grau de polimento e processamento. Os principais açúcares no arroz são sacarose (aproximadamente 90%), glucose e frutose (Matsuo *et al.*, 1995)

b) Proteínas

O conteúdo de proteína na farinha comercial de arroz é relativamente baixo (7 a 9%). Entretanto, entre os componentes do arroz, as proteínas têm sido consideradas de grande valor, pois são hipoalergênicas, particularmente saudáveis para o consumo humano e altamente nutritivas em relação aos outros cereais. As proteínas são classificadas de acordo com a respectiva solubilidade em: albuminas (solúveis em água), globulinas (solúveis em soluções salinas), prolaminas (solúveis em álcool) e glutelinas (solúveis em álcalis). A fração das glutelinas corresponde à maior parte das proteínas do arroz, o que representa cerca de 80% (Ju *et al.*, 2001). A qualidade da proteína depende de seu conteúdo em aminoácidos. Similar a outros cereais, o arroz apresenta a lisina como aminoácido limitante. Entretanto, entre os cereais, o arroz apresenta uma das maiores concentrações de lisina, resultando em balanço de aminoácidos mais completo (Juliano, 1993). O conteúdo de lisina oscila entre 3 - 4%, portanto aproximadamente 50% maior que o do trigo (Ju *et al.*, 2001; Shih e Daigle, 2000). Sendo comparável ao perfil da caseína e da proteína da soja com requisitos para satisfazer as necessidades nutricionais de crianças de 2 a 5 anos de idade (Wang *et al.*, 1999). Por estas razões, as proteínas do arroz constituem um ingrediente que pode ajudar a aumentar o valor nutricional de produtos alimentares com baixo custo, tanto na produção como para o consumidor final (Pinciroli *et al.*, 2009). Assim, pode atuar como um ingrediente adequado para formulações de alimentos infantis (Burks e Helm, 1994).

c) Minerais

O conteúdo mineral é grandemente influenciado pelas condições de cultivo, incluindo fertilização e condições do solo, e pelo processamento do grão. De forma geral, os minerais apresentam-se em maior concentração nas camadas externas do grão, com aproximadamente 72% no farelo e 28% no grão polido. Entretanto, alguns minerais apresentam distribuição mais uniforme, como sódio e o cálcio, permanecendo no arroz branco polido 63% do sódio e 74% do cálcio do arroz integral (Itani *et al.*, 2002). Por outro lado, há outros minerais que estão localizados maioritariamente nas camadas exteriores e no embrião, como é o caso do Fe, e o processo de polimento provoca a remoção de boa parte do conteúdo de micronutrientes no grão (Krishnan, *et al.*, 2001).

d) Lípidos

A concentração de lípidos é maior no arroz integral, sendo reduzida com o branqueamento, geralmente observando-se concentrações inferiores a 1% no arroz polido (Walter *et al.*, 2008). Comercialmente o arroz branco (branqueado) é o preferido pela indústria,

e pelos agricultores, pois a camada da aleurona, rica em ácidos gordos, torna o arroz integral mais propenso a rancidez ao longo do armazenamento (Carol, 1990). Os lípidos do arroz possuem uma elevada proporção (80%) de ácidos gordos insaturados, sendo que os teores mais elevados são de ácido oleico (C18:1, ácido gordo monoinsaturado) e ácido linoleico (C18:2, ácido gordo poliinsaturado) (Oko *et al.*, 2012). Os ácidos gordos são nutrientes importantes em grãos de cereais, e podem servir como transportadores de vitamina E e indicadores do índice de qualidade. Portanto, há necessidade de uma investigação mais aprofundada das suas quantidades em cereais como o arroz (Yu *et al.*, 2016).

1.2.1.4. Consumo: aplicações e benefícios

Relativamente à nutrição, degustação e diversidade de alimentos à base de arroz, a indústria alimentar vem tentando desenvolver alimentos apetecíveis com alta qualidade nutricional. O arroz integral pode ser utilizado numa ampla gama de alimentos, como arroz crocante, arroz tufado, bolachas de arroz, barras de cereais, farinha de arroz, macarrão de arroz, condimentos fermentados, malte de arroz, vinho de arroz (Shao e Bao, 2015) e uma saudável alternativa aos alimentos para bebés.

A farinha de arroz tem vantagens sensoriais e nutricionais únicas por ter um sabor neutro, níveis baixos de sódio, fácil digestibilidade (Torres *et al.*, 1999), proteínas antialérgicas e não conter glúten (Polanco *et al.*, 1995). Estas características fazem desta farinha um ingrediente adequado para produtos de panificação sem glúten (Marco e Rosell, 2008).

O principal componente do grão de arroz é o amido, o que influencia grandemente as propriedades físico-químicas e funcionais dos produtos do arroz. O amido é um dos biopolímeros mais importantes para a humanidade e compreende a maior componente de nossa energia do alimento (Chávez-Murillo *et al.*, 2012). O alto teor de amilose do amido de arroz com elevado grau de polimerização pode ser o substituto do glúten em produtos de padaria, este componente tem a capacidade para formar a matriz de gel, promovendo a gelatinização, oferecendo cadeias lineares de amilose. Além disso, uma vez que é uma fonte de amido resistente, a farinha de arroz, fornece propriedades fisiológicas semelhantes de fibra dietética, podendo ser utilizada como uma farinha saudável funcional na fabricação de produtos de padaria (Kim *et al.*, 2010). E por serem uma parte importante da dieta de muitas crianças e bebés, é muito importante que os alimentos produzidos industrialmente contenham quantidades suficientes de minerais (Melo *et al.*, 2008). O número limitado de alimentos na dieta das crianças pode corresponder à baixa oferta de Se, que está disponível somente no leite humano e / ou fórmulas infantis comerciais (Lockitch *et al.*, 1989; Litov e Combs, 1991). Os alimentos complementares, preparados comercialmente têm uma parte importante da dieta de muitos lactentes e crianças (Davies e O'Hare, 2004; Melo *et al.*, 2008), e que inclui quantidades suficientes de vitaminas e minerais para satisfazer os requisitos de grupos alvos específicos. A alimentação complementar para crianças refere-se a oportuna introdução de alimentos seguros e nutricionalmente ricos, e

normalmente fornecido de 6 a 23 meses de idade (WHO, 2002). A alimentação infantil desde o nascimento até os primeiros anos de vida pode influenciar toda a vida futura de um indivíduo (Monte e Giugliani, 2004). Uma ingestão baixa, ou a reduzida biodisponibilidade, de elementos minerais pode provocar deficiências, que tendem a inibir funções diversas do organismo humano (Schlenker e Williams, 2003). Entre as pessoas subnutridas, as crianças com menos de 5 anos de idade estão particularmente em risco. Globalmente, 30% de crianças estão abaixo do peso, ou nascem abaixo do peso, o que se torna um fator importante para a desnutrição infantil e morte prematura (Pinstруп-Andersen *et al.*, 1999).

Os elementos minerais estão envolvidos em muitas funções fisiológicas do corpo humano, nomeadamente, reações enzimáticas, mineralização óssea e proteção das células e lípidos. Neste contexto, a farinha de arroz que pode constituir, ainda que em grau variável, um ingrediente auxiliar, pois é constituído essencialmente por amido e pequenas quantidades de proteínas, lípidos, fibra e minerais, cujos níveis variam dependendo principalmente do tipo de processamento (Champagne, 2004; Walter *et al.*, 2008). Muitos estudos intervencionistas e epidemiológicos têm demonstrado que o consumo de grãos integrais pode reduzir os riscos de doenças crônicas, como doenças cardiovasculares, diabetes tipo II, obesidade e alguns tipos de cancro (Shao e Bhao, 2015). O grão de arroz está tornando-se popular nos países ocidentais devido aos seus benefícios para a saúde, e é mais gradualmente aceite nos países em desenvolvimento com a melhoria dos padrões de vida (Shao *et al.*, 2011). De acordo com Deobald (1972), apesar do custo mais baixo, a produção de farinha de arroz não é significativa, por não apresentar competitividade relativamente ao trigo. No entanto, as suas características podem ser mais exploradas. Além disso, relativamente a outros cereais, o arroz tem um maior conteúdo de lisina, e as respetivas glutelinas têm um perfil aminoacídico mais equilibrado face à prolamina do trigo, que é deficiente em lisina e triptofano (Gujral e Rosell, 2004). Além das propriedades reológicas e sensoriais que a farinha de arroz pode proporcionar, também é necessário que a mesma ofereça garantias de segurança, uma vez que as normas do *Codex Alimentarius* estabelecem critérios de segurança no comércio de comida internacional. Neste contexto, sendo a farinha de arroz um ingrediente promissor, existe uma necessidade crescente para desenvolvimento de produtos diferenciadores com valor acrescentado.

1.2.2. Selénio

1.2.2.1. No Solo

O Se encontra-se distribuído de forma desigual na superfície da terra e, conseqüentemente, a concentração de Se em diferentes partes do mundo varia muito, formando geo-ecossistemas seleníferos e Se-deficientes. Essa distribuição desigual é suscetível de afetar a saúde dos seres humanos e animais através da cadeia alimentar (Tan *et al.*, 2002). A maioria dos solos de clima húmido a zonas temperadas e derivados de rochas sedimentares contêm baixos níveis de Se que não são suficientes para produzir plantas alimentares e forrageiras com

teores de Se adequados. Em geral, as concentrações médias de Se nos solos são muito baixos, e variam entre 0,1 – 0,7 mg Kg⁻¹. Para solos argilosos, oscilam entre 0,8 – 2 mg kg⁻¹, enquanto que em solos tropicais podem ocorrer valores entre, 2 – 4,5 mg kg⁻¹. Solos vulcânicos e granito são pobres em Se (Bisson *et al.*, 2011), e a sua disponibilidade é influenciada pelas características edáficas, tais como: potencial oxirredução, pH, textura e mineralogia (Kabata-Pendias, 2011). O Se possui basicamente 4 formas (selenato, selenito, seleneto, e Se elementar), sendo o selenito de sódio o mais tóxico para às plantas (Hartikainen, 2005). Isto pode ser devido à conversão mais rápida de selenito para selenoaminoácidos (Zayed *et al.*, 1998) que podem então ser incorporadas em proteínas vegetais em substituição de S e causar toxicidade para a planta. Outros estudos têm mostrado que o selenato é mais tóxico do que o selenito (Wu *et al.*, 1988) observaram que selenato causou uma maior inibição do crescimento do que o selenito.

O estado de oxidação do Se depende do pH e do potencial redox dos solos, e os parâmetros são fortemente dependentes de fatores como: época, composição do solo, teor de água, matéria orgânica e atividade bacteriana. Mesmo assim, tem sido observado que, em condições ácidas o selenito é a forma principal do Se, enquanto em condições básicas, o selenato é muito mais solúvel do que o selenito, e ainda é a forma mais abundante (Masscheleyn, *et al.*, 1990). Nos programas de biofortificação com Se, se deve levar em conta a forma de Se aplicada, uma vez que os solos intemperizados, com elevadas concentrações de óxidos de Fe e Al na fração argilosa, podem adsorver selenito, o que reduz, conseqüentemente, sua disponibilidade para as plantas (Zhang e Sparks, 1990). Acresce ainda, as diferenças de disponibilidade das formas de Se no solo, a absorção e a mobilidade do Se no interior das plantas pode diferir, por exemplo: o Se do selenato é mais facilmente transportado para a parte aérea, enquanto o Se do selenito tem tendência para acumular-se nas raízes das plantas (Zhang *et al.*, 2003). Segundo Gupta (1995) é importante que os experimentos de campo sejam conduzidos sob diferentes sistemas de cultivo e condições climáticas para obter informações fiáveis sobre a taxa ótima de fertilização do Se. Os estudos de campo no Canadá mostraram que a adição de 10 g Se ha⁻¹ era necessária para assegurar a concentração de Se adequado (> 100 µg Kg⁻¹) no grão de cevada (Gupta, 1995).

Os teores de Se nas plantas, animais e seres humanos, numa determinada região, estão diretamente relacionados com o conteúdo desse elemento no solo, que por sua vez está relacionado com a pedologia, génese e localização, nas áreas de cultivo (Williams *et al.*, 2009). Assim as plantas possuem um papel essencial na transferência de Se do solo para dentro da cadeia alimentar de acordo com Girling (1984) *cf.* Keskinen (2012).

Muitas estratégias para a biofortificação de culturas com elementos minerais essenciais contam com o aumento da obtenção desses elementos a partir do solo. No entanto, é óbvio que, se o solo contém quantidades insuficientes destes elementos, em seguida, eles devem ser adicionados ao sistema de agricultura como fertilizante. Se quantidades suficientes desses elementos estão presentes no solo, em seguida, o foco se volta para o aumento da oferta e fitodisponibilidade desses elementos na rizosfera, e sua absorção pelas raízes das plantas e

redistribuição para porções comestíveis, de tal forma que a biofortificação é eficaz (White e Broadley, 2009). Lyons *et al.* (2004) indicam que a aplicação de Se seja, provavelmente, o exemplo mais bem-sucedido de intervenção agronômica pela adubação mineral, devido ao fato de preencher os três principais requisitos para trabalhar com a estratégia de biofortificação. O primeiro é que o selenato é altamente móvel em muitos tipos de solo. Além disso, o selenato é absorvido facilmente pelas plantas, acumulando-se nos grãos. Por último, o Se acumulado encontra-se biodisponível na forma de selenometionina (SeMet) e selenocisteína (SeCys).

1.2.2.2. Nas Plantas

As raízes das plantas podem mobilizar Se como selenato, selenito ou na forma de compostos orgânicos, como a SeCys e SeMet (White *et al.*, 2004, 2007). O selenato é transportado através da membrana plasmática das células das raízes devido à elevada afinidade com os transportadores de sulfato (White *et al.*, 2004, 2007; Sors *et al.*, 2005; Broadley *et al.*, 2006; Hawkesford e Zhao, 2007). Paralelamente, julga-se que o selenito seja movimentado por transportadores de fosfato (Li *et al.*, 2008). O selenito é rapidamente convertido em compostos de organo-selênio na raiz, enquanto o selenato é depositado no xilema e transportado na planta, onde são assimilados os compostos de organo-selênio e redistribuído no interior da mesma de um modo análogo ao sulfato (Hawkesford e Zhao, 2007; Li *et al.*, 2008).

Por outro lado, embora o conhecimento molecular não comprove o papel essencial do Se para as plantas vasculares (Terry *et al.*, 2000), numerosos estudos mostraram que a baixa concentração de Se pode exercer uma série de funções benéficas em plantas, tais como a melhoria do crescimento (Hartikainen *et al.*, 1997), o atraso da senescência (Xue *et al.*, 2001) e o reforço do sistema antioxidante sob irradiação UV (Hartikainen e Xue, 2000). Segundo Hartikainen (2005), pequenas quantidades de Se, também estimularam o crescimento de uma variedade de espécies não-hiperacumuladoras incluindo azevém, alface, batata, e lentilha. Além disso, tem sido mostrado que o Se pode regular o estado da água de plantas sob condições de deficiência de água e, assim, exerce um papel de proteção (Kuznetsov *et al.*, 2003). A revisão feita por Hartikainen (2005) forneceu evidências de que o Se é um elemento vantajoso para defender as plantas contra os efeitos oxidativos causados por stresse internos e externos. Estudos com brócolos (*Brassica oleracea*) (Pedrero *et al.*, 2008) e trigo (*Triticum aestivum*) (Filek *et al.*, 2009) confirmam que o Se protege as plantas contra o stresse oxidativo induzido por Cd, por meio da sua atividade antioxidante.

1.2.2.3. Biodisponibilidade e Integração Metabólica

A biodisponibilidade pode definir-se como sendo a proporção de um nutriente ingerido que é utilizado para as funções normais fisiológicas e de armazenamento (Tapiero *et al.*, 2003). A absorção na mucosa intestinal e retenção do nutriente no corpo humano são também tomadas como medidas indiretas de biodisponibilidade (Sneddon, 2012). A Organização Mundial da

Saúde recomenda uma dose diária de Se 30 – 40 $\mu\text{g dia}^{-1}$ para adultos (Bitterli *et al.*, 2010; Pérez-Corona *et al.*, 2011) e também enfatiza que a dose diária de Se de 400 μg é inofensiva. Além disso, a *Food and Nutrition Board of the National Academy* afirma que a exigência de Se por dia de acordo com a idade varia em homens (40 – 70 $\mu\text{g dia}^{-1}$), em mulheres (45 – 55 $\mu\text{g dia}^{-1}$) e crianças (15 – 20 $\mu\text{g dia}^{-1}$) (El-Bayoumy, 2001). No entanto, parece haver uma falta de consenso geral sobre o que é o nível suficiente de ingestão de Se por seres humanos (Thomson, 2004). O requisito mínimo de Se dietético para a prevenção da doença Keshan foi estimada em cerca de 17 $\mu\text{g dia}^{-1}$ (Yang e Xia, 1995). No entanto, para a atividade máxima da peroxidase da glutatona GPx, a exigência média é cerca de 45 $\mu\text{g dia}^{-1}$ (Thomson, 2004). Neste enquadramento os Estados Unidos e o Canadá têm recomendado uma ingestão diária de 55 $\mu\text{g dia}^{-1}$ (Thomson, 2004). O consumo europeu de referência da população (*Populacion Reference Intake - PRI*) também é fixada em 55 $\mu\text{g dia}^{-1}$. Na Austrália e na Nova Zelândia, as doses recomendadas nutricionais para adultos do sexo masculino e sexo feminino correspondem a 70 e 60 $\mu\text{g dia}^{-1}$, respetivamente (National Health and Medical Research Council, 2005). No Reino Unido, o consumo de referência de Se (a um nível que é considerado como sendo suficiente ou mais do que suficiente para cerca de 97% das pessoas de uma população) é fixada em 75 e 60 $\mu\text{g dia}^{-1}$ para adultos masculinos e femininos, respetivamente (Department of Health, 1991). Roman Viñas *et al.* (2011) analisaram a prevalência da inadequação da ingestão de Se na Europa no quadro da Rede EURRECA de Excelência. Este estudo, baseado na análise de dados, com grande representatividade ao nível Europeu, indica um maior risco de baixa ingestão para o Se, o ácido fólico, a vitamina C e o iodo.

Existem várias classes e compostos de Se, mas a sua biodisponibilidade depende da composição dos alimentos e da sua ocorrência (Kieliszek e Blazejak, 2013). O Se tem três níveis de atividade biológica: i) a concentração de rastreamento, que é necessária para o crescimento e desenvolvimento normal; ii) as concentrações moderadas, que podem ser armazenadas e manter as funções homeostáticas; iii) as concentrações elevadas, que podem induzir efeitos tóxicos (Guo *et al.*, 2014).

Entre as várias formas de Se, podemos encontrar duas categorias: inorgânico (Selenito - SeO_3 , selenato - SeO_4) e orgânico (aminoácidos, formas metiladas, Se-proteínas) (Pedrero *et al.*, 2006; Pedrero e Madrid, 2009). As formas orgânicas de Se possuem as melhores taxas de assimilação para os seres humanos, pois podem ser absorvidas mais facilmente e com uma menor taxa de excreção (Daniels, 1996). A proporção do nutriente absorvido a partir do trato gastrointestinal é uma das principais determinantes da biodisponibilidade, mas não é o único fator que influencia a biodisponibilidade (King, 2001). A biodisponibilidade em micronutrientes provenientes de alimentos vegetais destinados ao consumo humano está associada a inúmeras complexidades, sendo influenciado por fatores endógenos e exógenos. A fração biodisponível de um elemento consiste na parte que é absorvida e que atinge a circulação sistémica, de modo a ser distribuída nos órgãos e tecidos, podendo eventualmente tornar-se bioativo (Figura 1.4).

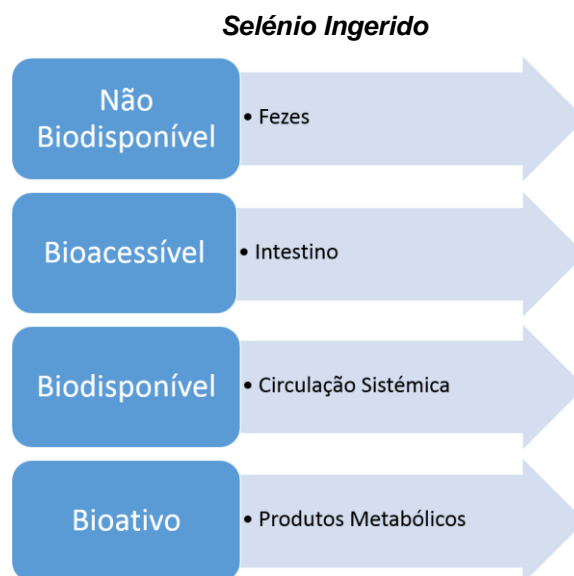


Figura 1.4. Vias de mobilização do Se ingerido. Fonte: Thiry *et al.* (2012).

A absorção de compostos de Se na mucosa intestinal varia de acordo com a respetiva composição química (cerca de 90% em selenometionina e 80% para selenito). O Se, após absorção no duodeno por enterócitos (através dos sistemas de transporte de aminoácidos), é incorporado na GPx (Rayman, 2008; Fairweather-Tait *et al.*, 2011). As correspondentes selenoproteínas são transportadas para o fígado, sendo fosforiladas e distribuídas pelos diferentes órgãos (Fairweather-Tait *et al.*, 2011), ou seja, no cérebro, rim, coração, baço, músculos e gónadas (Kumar e Priyadarsini, 2014). A nível citológico, o Se é um elemento essencial, podendo ser tóxico em função da respetiva formulação química e concentração, possuindo ainda a banda de tolerância mais estreita dentre todos os elementos (Chassaigne *et al.*, 2002). O interesse sobre o Se tem evoluído devido à sua integração na estrutura da GPx. A GPx é uma enzima antioxidante que remove o peróxido de hidrogénio, ou outros hidroperóxidos orgânicos, oxidando a glutatona, que pode então ser reduzida pela glutatona redutase (Ji *et al.*, 1998), como ilustra a Figura 1.5.

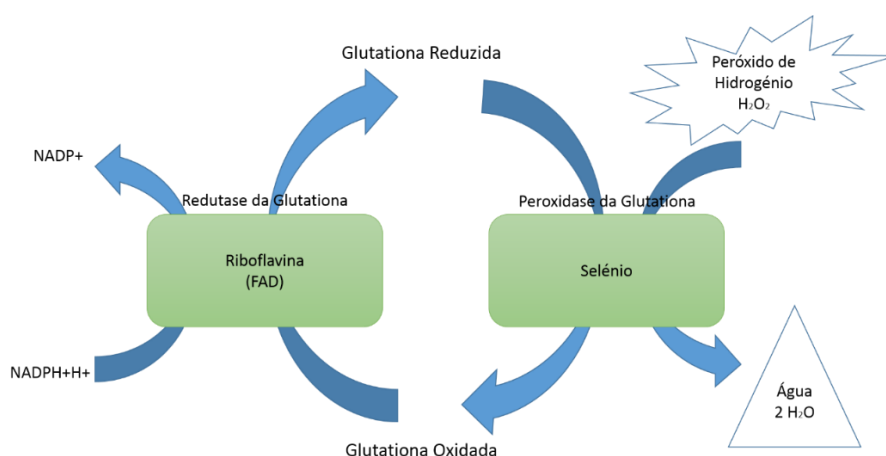


Figura 1.5. Reação enzimática catalisada pela selenoenzima glutatona peroxidase. Fonte: imagem adaptada de Linus Pauling Institute, 2015.

Além de antioxidante e ação anti carcinogénica, os efeitos benéficos do Se incluem a prevenção de doenças cardiovasculares (Rayman, 2000), a desintoxicação de metais pesados (Navarro-Alarcon e López-Martínez, 2000; Rayman, 2000), o envolvimento em funções cerebrais, reprodução (Renko *et al.*, 2008) e a resposta do sistema imunológico (Kiremidjian-Schumacher *et al.*, 1992). Como já referido anteriormente, duas doenças humanas importantes têm sido associadas com deficiência grave de Se: as doenças de Keshan (cardiomiopatia) e de Kashin-Beck (osteopatia) (Reilly, 1996). Além disso, a deficiência de Se também está associada à imunodeficiência, problemas de tiroide, doenças do coração (Arthur e Beckett, 1994) e problemas de infertilidade no sexo masculino (Behne *et al.*, 1997).

1.2.2.4. Biofortificação de Alimentos em Selénio: Contextualização e Estratégias

Em décadas passadas, o principal objetivo dos programas de melhoramento consistia no aumento da produtividade e dos rendimentos. Isto foi conseguido em grande medida, selecionando variedades resistentes a doenças, altura da planta, e aumento da biomassa e índice de colheita, entre outras características essenciais (Ortiz *et al.*, 2007; Trethowan *et al.*, 2005). Novos aumentos de produtividade são essenciais para alimentar a crescente população mundial. No entanto, características como a composição nutricional dos alimentos básicos, especialmente micronutrientes e qualidade da proteína, são igualmente importantes, mas muitas vezes esquecidas (Velu *et al.*, 2013)

Uma pesquisa global com grãos de arroz (*Oryza sativa* L.) mostrou que 75% dos grãos tinham uma concentração de Se insuficiente para as necessidades humanas (Williams *et al.*, 2009). Estratégias de melhoramento de plantas (ou seja, biofortificação genética) e aplicação de fertilizantes de Se (biofortificação agronómica) têm sido propostas como uma forma eficaz de aumentar a ingestão de Se em seres humanos (Hawkesford e Zhao, 2007; Cakmak, 2008; Velu *et al.*, 2013). Em termos de biofortificação agronómica, as concentrações de Se de todas as frações de grãos de cereal podem ser aumentadas facilmente, quando o Se é aplicado na forma de selenato (Broadley *et al.*, 2010; Hart *et al.*, 2011) ou selenito (Boldrin, 2011; Longchamp *et al.*, 2015). Num contexto de saúde pública, a fertilização com Se foi aprovada em escala nacional na Finlândia, em 1984. Isso levou a aumentos imediatos nas concentrações de Se nos alimentos finlandeses e na ingestão de Se (Euroala *et al.*, 1991; Broadley *et al.*, 2006).

A ingestão inadequada de Se pode ser solucionada através da diversificação da dieta, utilização de suplementos, fortificação de alimentos e biofortificação das culturas (Rayman, 2008; Broadley *et al.*, 2006; Broadley *et al.*, 2010; Fairweather-Tait *et al.*, 2011). A diversificação da dieta é uma opção atraente em termos de proteína geral, mineral e vitaminas. No entanto, o acesso a diversas dietas não é possível em muitos contextos socioeconómicos. Para a maioria das populações, a fonte de alimento dominante consiste nos cereais, nomeadamente arroz e trigo (Duan *et al.*, 2013). No entanto, têm sido relatados baixos níveis de Se nos principais países consumidores de arroz (Williams *et al.*, 2009), e estima-se que cerca de 15% da população mundial sofre com a deficiência de Se (Zhu *et al.*, 2009). Guo *et al.* (2014) destacam que na

China, cerca de 700 milhões de pessoas vivem em 22 províncias que pertencem a áreas com escassez em Se. Assim, é importante desenvolver produtos agrícolas enriquecidos em Se para aumentar a segurança da saúde humana. Há um interesse considerável na obtenção de culturas eficientes no aproveitamento de minerais, que produzam altos rendimentos e acumulem minerais em solos inférteis. Esta estratégia tem o potencial para se tornar sustentável, rentável e atingir populações rurais remotas (Bouis *et al.*, 2003).

As três principais estratégias de biofortificação (biofortificação agronômica, melhoramento de plantas convencional e engenharia genética) podem ser adotadas com êxito. A abordagem agronômica foca-se principalmente na otimização da aplicação de fertilizantes minerais e / ou a melhoria da solubilização e mobilização de elementos minerais no solo (White e Broadley, 2009). As outras duas abordagens têm como objetivo melhorar as variedades visando incrementar a capacidade para acumulação de micronutrientes nos tecidos de plantas comestíveis e aumentar a sua biodisponibilidade para os seres humanos (Carvalho e Vasconcelos, 2013).

Problemas como a deficiência de vitaminas e minerais são facilmente corrigidos em países ricos, onde a suplementação ou fortificação de alimentos é relativamente dispendiosa, mas em países pobres, onde as pessoas vivem em áreas remotas e rurais, os programas de suplementação podem ser caros e difíceis de sustentar. Neste contexto justifica-se a biofortificação de alimentos básicos. Nas plantas, o aumento do conteúdo de Se pode ser alcançado por ambos, biofortificação agronômica ou genética, quer com a adição de fertilizantes, ou reprodução / seleção para as plantas com as absorções mais elevadas (Broadley *et al.*, 2006; Welch e Graham, 2005) ou reduzindo os níveis de anti-nutrientes e aumento dos níveis de substâncias que promovem a absorção de nutrientes (Campos-Bowers e Wittenmyer, 2007).

A estratégia de biofortificação agronômica procura colocar os micronutrientes em variedades que já tenham bons atributos agronômicos, tais como o alto rendimento. Segundo Nestel *et al.* (2006) uma vez que as cultivares mais eficientes sejam cultivadas e aceites pelos agricultores e consumidores, serão uma mais-valia visto que os produtos obtidos por biofortificação serão potencialmente aceites pela população, podendo ser uma solução promissora a curto prazo para fazer face à escassez de micronutrientes.

Alimentos básicos biofortificados não podem fornecer um nível tão elevado de minerais e vitaminas por dia, face aos suplementos ou alimentos fortificados industrialmente, mas podem contribuir para o aumento da adequação diária de ingestão de micronutrientes na população em geral ao longo do ciclo de vida (Bouis *et al.*, 2011). A biofortificação complementa as intervenções existentes para prover de forma sustentável micronutrientes para as pessoas mais vulneráveis de uma forma relativamente barata e eficaz em termos de custos (Nestel *et al.*, 2006; Pfeiffer e McClafferty, 2007; Meenakshi *et al.*, 2010; Chugh e Dhaliwal, 2013). A maioria das análises económicas sugere que as estratégias para a biofortificação são mais rentáveis do que os programas de fortificação, de diversificação da dieta, de suplementação ou de alimentos dietéticos (Bouis *et al.*, 2000; Stein, *et al.*, 2007; Ma *et al.*, 2008). Além disso, a biofortificação é

benéfica para as pessoas que têm dificuldade para mudar os seus hábitos alimentares devido a restrições financeiras, culturais ou religiosas (Masuda *et al.*, 2013).

Capítulo II

2. Materiais e Métodos

2.1. Material Biológico

Utilizaram-se sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) do tipo carolino, pertencentes a duas variedades comerciais (Ariete e Albatros), e duas linhas avançadas do Programa de Melhoramento do Arroz (OP115 e OP1109) do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária – Elvas, Portugal (38º,88 N; -7,13 W).

A variedade Ariete constitui uma referência em Portugal, destacando-se há vários anos pelas suas características agronómicas, nomeadamente emergência muito rápida, produção elevada e regular nas diferentes zonas orizícolas, ciclo bem adaptado às condições de cultura e resistência a doenças. Esta variedade possui ainda um elevado rendimento industrial, e as boas características específicas para a forma do grão (relação comprimento / largura = 2,5 mm). Acresce também o elevado conteúdo de amilose, que oscila em torno de 19%, e o peso de mil grãos, que corresponde a cerca de 29 g (Lusosem, 2014).

A variedade Albatros possui como características mais marcantes, a emergência rápida, o elevado afilhamento, uma produtividade muito elevada nas diferentes condições de cultura e a resistência a doenças e à acama (Lusosem, 2014). A variedade Albatros também apresenta características biométricas normalmente bem adaptadas aos carolinos (relação comprimento / largura = 2,5 mm). O teor de amilose corresponde a 17,9%, e o peso de mil grãos varia em média em torno de 26,3 g (Lusosem, 2014).

O genótipo OP1105 é uma nova linha avançada do tipo carolino, que se caracteriza pelas suas qualidades agronómicas. Destaca-se a emergência rápida e uma produção elevada e regular. As características biométricas também são relevantes, possuindo uma relação comprimento / largura = 2,7 mm, teor de amilose oscilando em torno de 23,2% e um peso de mil grãos que corresponde a cerca de 31,5 g.

O genótipo OP1109 é também uma nova linha avançada, com características agronómicas semelhantes às da variedade Ariete. A forma do grão possui uma relação comprimento / largura de 2,5 mm e o teor de amilose é relativamente baixo (15,2%), mas, em contrapartida, o peso de mil grãos é elevado (33 g).

2.2. Implementação da Cultura

O ensaio foi instalado num campo experimental em Salvaterra de Magos - Ribatejo - Portugal (39.03°N; -8.74°W), (Figura 2.1).

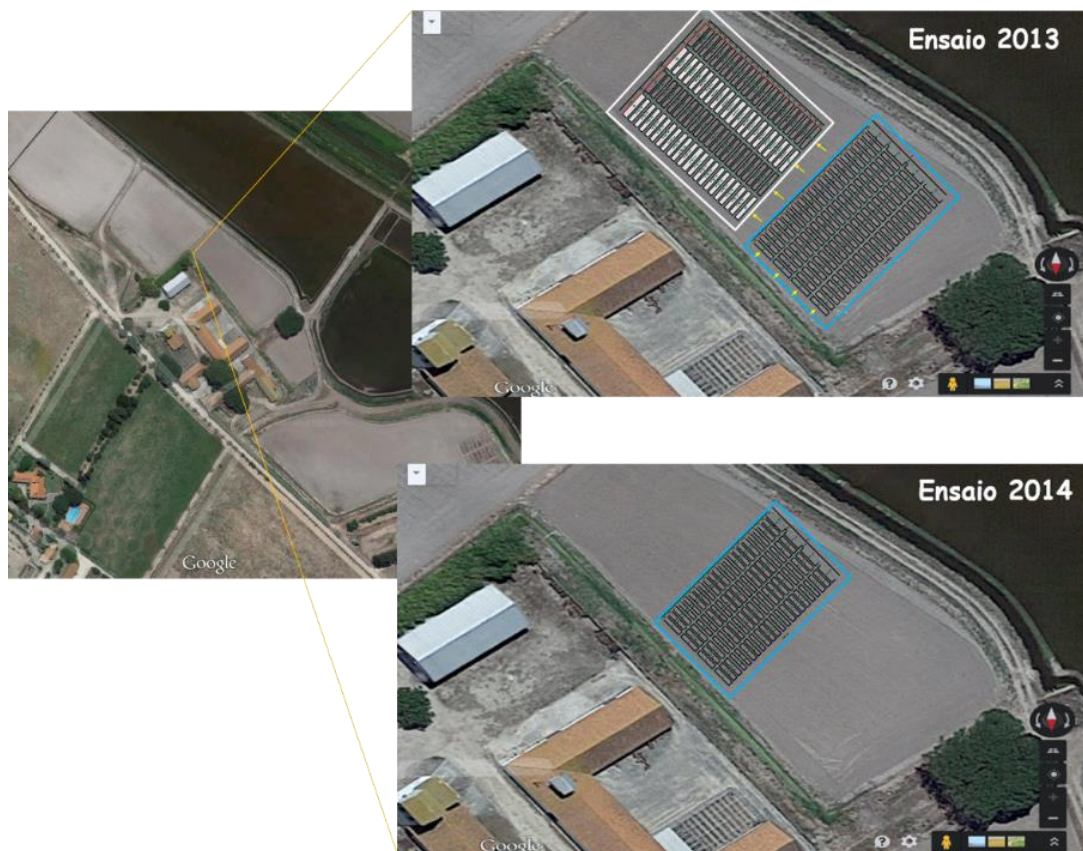


Figura 2.1. Campos de ensaio do Cotarroz, onde se destacam os dois ensaios (2013 e 2014). Imagem adaptada de Google Earth.

O ensaio experimental do primeiro ano (2013) era composto por dois blocos, um sem adubação de fundo (SL01) e outro com adubação de fundo (SL02) utilizando selenato de sódio (Figura 2.2). A biofortificação foi efetuada com soluções de selenito de sódio (ITO) $\text{Na}_2\text{O}_3\text{Se}$ (45% Se) (CAS nº 10102-18-8) e selenato de sódio (ATO) $\text{Na}_2\text{O}_4\text{Se}$ (41% Se) (CAS nº 13410-01-0). A sementeira ocorreu a 14 de junho de 2013, tendo as plantas completado o respetivo ciclo em Outubro de 2013. A adubação de fundo foi calculada de acordo com a análise de solos, previamente efetuada no terreno onde o ensaio foi instalado, utilizando-se para o efeito 300 kg ha^{-1} de adubo "20-8-10" em fundo e 150 kg ha^{-1} Sulfamide (37% de N), acrescido ainda de $92,69 \text{ g Se ha}^{-1}$ (selenato de sódio). A inundação dos campos de ensaio ocorreu 15 dias após a emergência das plantas. Para aplicação dos tratamentos de herbicida retirou-se a água, voltando a inundar o canteiro 24 h depois. Finalmente deixou-se a água ir esgotando até à maturação fisiológica. A lâmina de água manteve-se com cerca de 20 cm. Quanto ao tratamento de biofortificação, procedeu-se à aplicação foliar de selenito de sódio (CAS nº 10102-18-8) e selenato de sódio (CAS nº 13410-01-0) considerando-se um delineamento experimental com blocos casualizados e com arranjo fatorial (5 concentrações x 2 formas Se x 4 variedades x 4

replicados X 2 blocos = 320 parcelas) (Figura 2.2). Delinearam-se 320 talhões, correspondentes a dois blocos, cada um com 160 talhões e área de 3 m² (2,5 m x 1,2 m), correspondendo a quadruplicados de 5 tratamentos diferentes. Nos talhões SL01 não se procedeu à adubação de fundo, mas somente à aplicação foliar. Nos talhões submetidos a biofortificação (foliar e solo) procedeu-se à aplicação ao nível das folhas com várias concentrações de Se: (0; 4; 20; 30 e 60 g Se ha⁻¹). O selenito (CAS n° 10102-18-8) e o selenato de sódio (CAS: 13410-01-0) foram aplicados na fase do espigamento.

No decurso do primeiro ano do ensaio, em todos os tratamentos de biofortificação analisaram-se os parâmetros fotossintéticos, assim como a produção, o teor de proteínas e a cor (farinha). A determinação da acumulação de elementos minerais nos grãos e nas folhas, teor de lípidos e açúcares solúveis foram aferidos nas concentrações 0 g Se ha⁻¹ (controlo), 30 e 60 g Se ha⁻¹. A localização tecidual dos elementos minerais nos grãos foi feita no controlo e no tratamento com 60 g Se ha⁻¹.

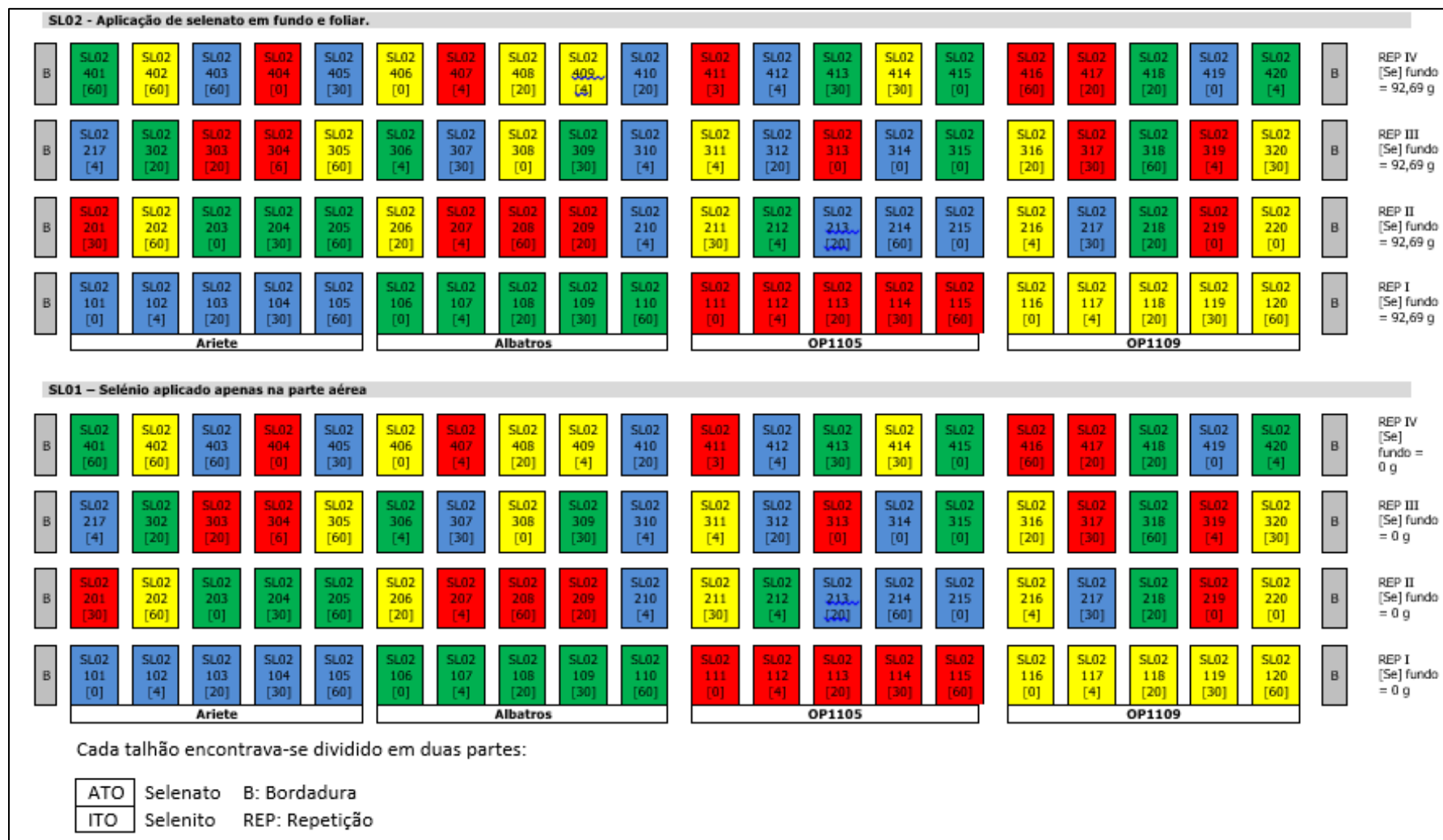


Figura 2.2. Desenho experimental do primeiro ensaio (2013)

O itinerário técnico de condução da cultura do segundo ano foi idêntico ao adotado no primeiro ano de ensaio. O ensaio experimental do segundo ano (2014) foi composto por um único bloco, sem adubação de fundo (SL01). A biofortificação foi efetuada com soluções de selenito de sódio (ITO) (CAS nº 10102-18-8) e selenato de sódio (ATO) (CAS nº 13410-01-0). A sementeira ocorreu a 8 de maio de 2014, o respetivo ciclo terminou em Setembro de 2014. Considerou-se um delineamento experimental casualizado com arranjo fatorial (4 concentrações X 2 formas de Se X 4 variedades X 4 replicados = 128 parcelas) (Figura 2.3). Cada talhão possuía 4 m² (2,68 x 1,5). A biofortificação foliar decorreu da aplicação de diversas concentrações de Se (0; 120, 180; 300 g Se ha⁻¹) na forma de selenito de sódio (CAS nº 10102-18-8) e selenato de sódio (CAS nº 13410-01-0). Com a utilização de concentrações mais elevadas de selenito e selenato, face ao ano anterior, pretendeu-se aferir o comportamento das plantas (toxicidade ou não) e o teor de Se que seria acumulado nos grãos (verificar a dose mais eficiente). Assim, realizaram-se aplicações em três estádios do desenvolvimento da cultura (emborrachamento, espigamento e grão leitoso) com intervalos de 15 – 20 dias entre as aplicações. As operações culturais efetuadas durante o ensaio, assim como as respetivas datas de realização, encontram-se sistematizadas na Tabela 2.1. Em todos os tratamentos analisaram-se os parâmetros fotossintéticos, assim como a produção, o teor de cinzas, de proteína e a cor (farinha) e a acumulação de elementos minerais (folhas e grãos). Para a caracterização qualitativa e semi-quantitativa de elementos minerais e localização tecidular foram analisadas amostras do controlo (0 g Se ha⁻¹) e da máxima concentração aplicada (300 g Se ha⁻¹). O teor de lípidos e açúcares foi aferido para as concentrações 0, 180 e 300 g Se ha⁻¹.

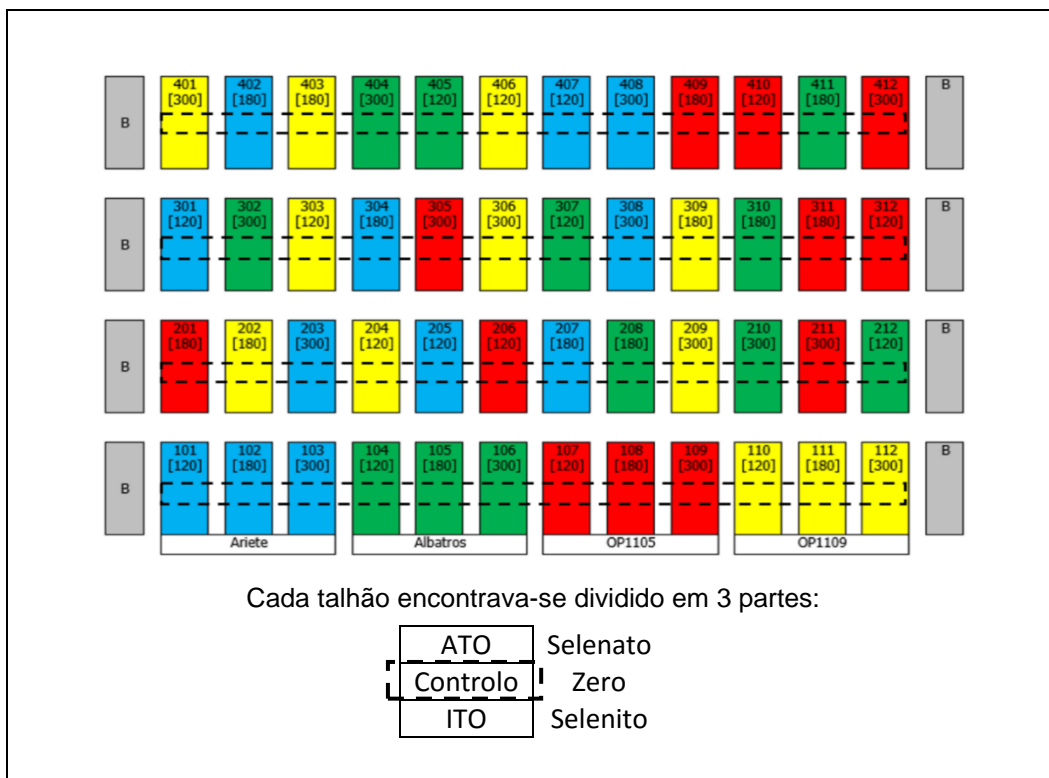


Figura 2.3. Desenho experimental do segundo ensaio (2014).

Tabela 2.1. Operações culturais efetuadas no campo experimental do Cotarroz em Salvaterra de Magos (39.03°N; -8.74°W).

	Operações culturais efetuadas	Data de realização
1º Ano de ensaio	Adução de fundo	14 de Junho de 2013
	Sementeira	14 de Junho de 2013
	Aplicação foliar de selenito e selenato (Ariete)	02 de Setembro de 2013
	Aplicação foliar de selenito e selenato (Albatros)	03 de Setembro de 2013
	Aplicação foliar de selenito e selenato (OP1109)	04 de Setembro de 2013
	Aplicação foliar de selenito e selenato (OP1105)	09 de Setembro de 2013
2º Ano de ensaio	Sementeira	08 de Maio de 2014
	1ª Aplicação foliar de selenito e selenato (Ariete)	18 de Agosto de 2014
	1ª Aplicação de selenito e selenato (Albatros)	20 de Agosto de 2014
	1ª Aplicação de selenito e selenato (OP1105 e OP1109)	21 de Agosto de 2014
	2ª Aplicação foliar de selenito e selenato (Ariete e Albatros)	02 de Setembro de 2014
	2ª Aplicação foliar de selenito e selenato (OP1105 e OP1109)	04 de Setembro de 2014
	3ª Aplicação foliar de selenito e selenato (Ariete e Albatros)	23 de Setembro de 2014
	3ª Aplicação foliar de selenito e selenato (OP1105 e OP1109)	23 de Setembro de 2014

2.3. Desidratação e Moagem das Amostras Biológicas

As plantas colhidas no primeiro ano de ensaio foram desidratadas em estufa, a 45 °C, durante 7 dias (até obtenção de um peso constante). Os grãos foram desidratados em estufa, a 45 °C durante 72 horas, e em seguida descascados manualmente num almofariz. As amostras de folhas (ca. 10 g) e os grãos (ca. 20 g) para obtenção da farinha integral foram moídos num moinho de pás (Polymix, Wk 1623704) (Figura 2.4) com um crivo de 1 mm, e armazenadas em recipientes de plástico com tampa, num exsiccador.

No segundo ano de ensaio as amostras foram preparadas como descrita acima, utilizando-se um moinho de hélices (MRC – Modelo SM-450) (Figura 2.5).



Figura 2.4. Moagem de amostras (2013).



Figura 2.5. Moagem de amostras (2014).

2.4. Elementos Minerais

2.4.1. Água dos Canteiros

2.4.1.1. Titulação do Ião Bicarbonato – HCO_3^-

Este método teve como objetivo a análise da alcalinidade da água de cultivo. Para o efeito, fez-se a titulação de 100 mL de água, numa cápsula ou copo (*Erlenmayer*) sobre fundo branco, à qual se juntaram-se 3 gotas de alaranjado de metilo (CAS nº 547-58-0), com ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (CAS nº 7647-01-0), até observar viragem do indicador de amarelo para vermelho alaranjado. O volume adicionado de ácido até à viragem correspondeu ao pH de neutralização do bicarbonato. Valores de pH próximos de 4,5 correspondem aproximadamente ao ponto equivalente para a conversão do ião bicarbonato em ácido carbónico: $\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$. O alaranjado de metilo (CAS nº 547-58-0) só muda de cor quando todo o carbonato estiver completamente neutralizado (Nollet, 2000).

2.4.1.2. Cromatografia Iónica – Ca, Mg, Na, K

Os catiões da água de cultivo foram quantificados através de cromatografia iónica. Esta análise foi realizada com recurso a um cromatógrafo iónico da marca Metrohm, modelo 761 Compact IC equipado com coluna Metrosep Cation 1-2 (6.1010.000). O sistema é formado por um eluente, uma bomba de alta pressão, um injetor de amostras, uma coluna analítica e um detetor de condutividade com supressão química. Os eluentes utilizados podem ser soluções de carbonato e hidrocarbonato para separar aniões ou de ácido tartárico e dipicolínico para catiões. No processo foi gerado automaticamente um cromatograma de dados formado por picos que representam os iões presentes na amostra. O tempo de retenção foi usado para qualitativamente identificar e analisar cada pico ou ião. A altura do pico, ou a sua área são proporcionais à concentração do ião e são usados para os quantificar. Antes de correr a amostra o sistema foi calibrado recorrendo a soluções padrão. A comparação entre os picos gerados por elas com os da amostra permitiu a sua identificação e quantificação obedecendo a critérios de precisão / exatidão.

2.4.2. Amostras Biológicas

2.4.2.1. Espectrofluorimetria Acoplada com Raio X

Para a determinação dos elementos minerais (macro e micronutrientes) presentes nas amostras (folhas e grãos), utilizou-se um analisador portátil de raio-X (Niton Thermal Scientific, modelo Xlt). No primeiro ano de ensaio, as amostras foram analisadas no grão maduro, seco e submetido a moagem até a obtenção de farinha integral. No segundo ano de ensaio, as análises foram realizadas em duas fases. Na primeira fase (128 dias após a sementeira), após duas

aplicações foliares de Se, foi moída e analisada a panícula inteira devido ao seu estágio precoce de desenvolvimento (início da maturação). Na segunda fase (145 dias após a sementeira – maturação completa), após a 3ª aplicação foliar de Se, a análise foi realizada nos grãos integrais após a moagem.

A avaliação foi realizada através da detecção energética de elétrons, segundo o espectro eletromagnético na gama dos raios-X emitidos pelos elementos que constituem a amostra (Figura 2.6).

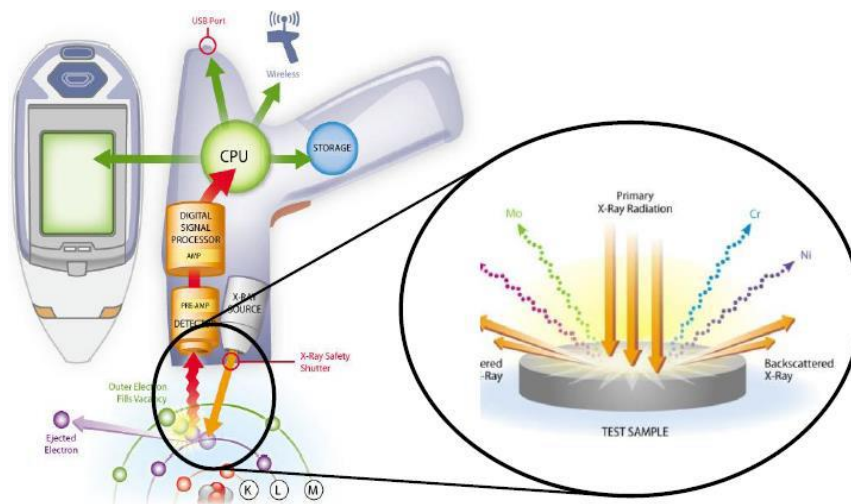


Figura 2.6. Esquema que ilustra o funcionamento de um analisador portátil de raio-X

As amostras são colocadas em cuvetes próprias, cobertas por uma película transparente. A leitura ocorre durante 360 s para cada amostra.

2.4.2.2. Análise Cíclica por Ativação Neutrónica

Os teores de Se presentes nas amostras de arroz (farinha integral) no primeiro ano (2013) foram quantificados recorrendo à análise cíclica por ativação neutrónica. A preparação das amostras foi de acordo com Galinha *et al.* (2013). Estas foram irradiadas com um fluxo de neutrões de $1.7 \times 10^{12} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Antes de se proceder à aquisição dos espectros de radiação gama, as amostras tiveram um determinado tempo de decaimento. Os espectros de radiação gama foram obtidos utilizando um espectrómetro digital de radiação gama e um detetor coaxial com eficiência relativa de 25%.

Este trabalho experimental foi efetuado no Instituto Tecnológico e Nuclear onde foi utilizado, para a irradiação das amostras, o sistema pneumático rápido existente no reator português de investigação.

2.5. Condutividade e pH

As propriedades físicas, tais como a condutividade e o pH da água de cultivo do primeiro e segundo ano de ensaio, foram medidas com recurso ao aparelho multifunções da Consort, Multi-parameter analyser modelo C833.

2.6. Localização Tecidual do Selénio

2.6.1. Microscopia Eletrónica de Varrimento Acoplada a Raio X

Através da microscopia eletrónica de varrimento foi possível aferir semi-quantitativamente os teores dos elementos minerais em 3 pontos do grão (região apical, zona equatorial e embrião). Amostras de grãos dos 4 genótipos foram desidratadas utilizando um sistema Balzers Union CPD 020 e, posteriormente, metalizadas com ouro-paládio, e analisadas utilizando um microscópio eletrónico de varrimento JEOL JSMT330A, acoplado a um micro-analisador de raio-X Tracor Northern Series II. Os grãos foram cortados transversalmente e longitudinalmente e analisados a 20 Kv, usando um “static beam spot”, durante 60 segundos. Neste processo, as amostras são bombardeadas com elétrões numa câmara de vácuo, como descrito em Galhano *et al.* (1999).

2.6.2. Fluorescência de Raio X

As análises qualitativas referentes à localização dos elementos minerais nos grãos foram realizadas utilizando o sistema de μ -EDXRF M4 Tornado TM. Este espectrómetro é constituído por um tubo de raios-X, que é alimentado por um gerador HV de baixa potência, e por um policapilar que permite o tamanho do ponto de foco de 25 μ m, o que se traduz numa elevada intensidade de radiação de excitação. O gerador de raios-X foi operado com uma tensão de 50 kV e uma corrente de 100 μ A, sem a utilização de filtros, a fim de melhorar a ionização de elementos de baixo Z. Para uma melhor quantificação dos elementos pesados, foi utilizado um conjunto de filtros entre o tubo de raios-X e a amostra, composta por três folhas de Al / Ti / Cu com uma espessura de 100 / 50 / 25 μ m, respetivamente. Todas as medições foram realizadas com filtros com 600 μ A de corrente.

A deteção de radiação de fluorescência é realizada por um detetor de silício de energia dispersiva, XFlash TM, com 30 mm² área sensível e uma resolução de energia de 142 eV para as riscas K α do Mn. A fim de avaliar melhor o mapeamento e distribuição dos elementos, o grão de arroz foi cortado longitudinalmente com uma lâmina de aço inoxidável cirúrgico. As medidas foram realizadas em condições de vácuo (20 mbar), diretamente sobre os dois lados dos grãos, em modo de mapeamento seguido de análise de regiões de interesse. Estes espectros foram adquiridos durante 200 s.

2.7. Parâmetros Fotossintéticos – Trocas Gasosas Foliaves

Das análises efetuadas, selecionaram-se os principais parâmetros fisiológicos, a saber: taxa de assimilação líquida (P_n), taxa de condutância estomática para a água (g_s), taxa de transpiração (T_r) e eficiência instantânea do uso de água ($iWUE$). As determinações foram efetuadas em condições de campo em dias de céu limpo, na altura do dia de maior atividade metabólica/fotossintética (10:00 – 15:00h), controlando unicamente o nível de CO_2 ($380 \mu L L^{-1}$) fornecido à planta, sendo as restantes condições ambientais (humidade atmosférica, temperatura do ar, irradiância) as prevalentes no local nas datas das avaliações.

Os parâmetros foram obtidos em condições de equilíbrio dinâmico após pelo menos 2 h de iluminação das plantas. A eficiência instantânea do uso de água ($iWUE$), calculada pela razão P_n/g_s , representa as unidades de CO_2 assimilado por unidade de água transpirada. Para tal usou-se um IRGA portátil, funcionando em sistema aberto (CIRAS 1, PP Systems) fornecendo às folhas $380 \mu L CO_2 L^{-1}$, como descrito em Ramalho *et al.*, (2013). As condições de irradiância (ca. $1500 - 2000 \mu mol m^{-2} s^{-1}$), temperatura do ar (ca. $22,5^\circ C$) e humidade relativa do ar (ca. 46 – 47%) foram as condições ambientais existentes no local em cada dia de avaliação

2.8. Parâmetros da Produção

2.8.1. Peso dos Grãos por Panícula

Foi aferido o peso dos grãos por panícula, para cada planta e cada tratamento em quadruplicado. Inicialmente os grãos foram submetidos a secagem até atingirem 13% de humidade. Posteriormente fez-se a pesagem da panícula inteira, procedendo-se depois ao descasque e à pesagem dos grãos.

2.8.2. Peso de Mil Grãos

Para cada genótipo e tratamento realizou-se a pesagem de mil grãos em triplicado. Nas variedades com menor produção de grãos, o peso de uma amostra menor foi extrapolado para mil grãos.

2.8.3. Produção Final

Os talhões foram colhidos manualmente, em função do ciclo de cada genótipo. Os grãos de cada talhão foram secos até atingirem 13% de humidade e, em seguida, descascados e pesados. O peso final foi definido a partir da área útil de cada talhão.

Neste enquadramento, efetuou-se ainda uma extrapolação relativa a índices de produção por unidade de área, considerando a seguinte equação:

$$\text{Produção de Grão (Ton ha}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Peso do grão do talhão (Ton)} \times 10\,000 \text{ m}^2}{3 \text{ m}^2}$$

2.9. Quantificação de Elementos Nutricionais

2.9.1. Lípidos

2.9.1.1. Extração dos Ácidos Gordos Totais

Procedeu-se à extração dos lípidos totais da farinha, segundo o método de Bligh e Dyer (1959), adaptado por Bahrami *et al.* (2013), à temperatura ambiente. As amostras (ca. 500 mg) foram pesadas para tubos de centrífuga, adicionando-se água (1 mL) e um pequeno agitador magnético. Após agitação (10 minutos, placa de agitação Selecta, Agimatc 5) a 700 rpm, adicionou-se 3,75 mL de mistura de clorofórmio:metanol (1:2, v/v) (CAS nº 67-66-3 e CAS nº 67-56-1, respetivamente). Após agitação (15 minutos), adicionaram-se 1,25 mL de clorofórmio (CAS nº 67-66-3), e 1,25 mL de água, agitando a mistura no vortex (1 minuto). As amostras foram centrifugadas (Centrifuga Heraeus, Biofuge 28RS) a 4500 g (10 minutos, 5°C) e a fase inferior do sobrenadante (clorofórmio, fração lipídica) recolhido com uma pipeta de Pasteur. Adicionaram-se aos tubos 2,5 mL de clorofórmio (CAS nº 67-66-3) e procedeu-se a nova extração nas condições acima descritas. Repetiu-se uma 3ª vez o processo. As frações lipídicas (clorofórmio) das três extrações foram combinadas e secas sob fluxo de azoto em banho-maria (40°C). O resíduo seco foi ressuspendido em 500 µL de etanol:tolueno (1:4) (CAS nº 64-17-5 e CAS nº 108-88-3). Para cada variedade e tratamento foram processadas 3 amostras.

2.9.1.2. Metilação de Ácidos Gordos

Procedeu-se à saponificação dos lípidos com NaOH, a quente, seguida de metilação com base no método de Metcalfe *et al.* (1966), utilizando metanol – BF₃ (CAS nº 7637-07-2) e ácido heptadecanóico (C17:0) como padrão interno).

Os ácidos gordos metilados foram analisados num cromatógrafo gás-líquido (Varian CP-3380) acoplado a um detetor de ionização de chama. Para a separação dos ácidos gordos utilizou-se uma coluna capilar DB-Wax (J&W Scientific; 30 m, 0.25 mm de diâmetro interno e 0.25 µm de espessura do filme).

O injetor e o detetor foram mantidos a 200°C e 250°C, respetivamente. Utilizou-se hidrogénio como gás de arraste (1 mL min⁻¹), e uma partição de fluxo de 1/50, como descrito em Scotti-Campos *et al.* (2014). A identificação dos ácidos gordos foi feita utilizando misturas de padrões (Sigma, Supelco e Restek). O grau de insaturação foi obtido através de um índice de dupla ligação (DBI), calculado de acordo com a fórmula: $DBI = [(\% \text{ de monoenes} + 2 \times \% \text{ de dienes} + 3 \times \% \text{ de trienes}) / \% \text{ de ácidos gordos saturados}]$ (Mazliak, 1983).

2.9.2. Açúcares Solúveis

Os açúcares solúveis foram extraídos segundo o método de Medlicott e Thompson (1985). As amostras (ca. 400 mg) foram pesadas para um tubo de centrífuga, ao qual se adicionou 10 mL de água fria ultrapura e um agitador magnético. Os tubos foram colocados num copo com gelo sobre uma placa de agitação (30 minutos). Em seguida, os tubos foram colocados num aparelho de ultrassons (5 minutos). Procedeu-se a uma centrifugação (Centrifuga Heraeus, Biofuge 28RS) a 15 000 g (20 minutos, 4°C). O sobrenadante foi recolhido para um frasco de vidro. Repetiu-se o processo nas mesmas condições, para uma lavagem do precipitado. Juntaram-se os sobrenadantes das duas extrações e procedeu-se à filtragem dos mesmos (filtros Whatman nº 4) a frio. Após esta etapa, submeteu-se parte do extrato aquoso a nova filtragem (Filtros Millex 0.45 µm) para um tubo eppendorf de 2 mL.

Os açúcares foram analisados num HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (Waters), acoplado a um detector refratométrico (Waters, 2414), equipado com uma coluna SugarPak 1 (Waters 6,5 X 300 mm) e pré-colunas (Waters 088141). A fase móvel foi água ultrapura contendo 50 ppm de EDTA de cálcio, com um fluxo de 0,5 mL min⁻¹, e um volume de injeção de 40 µL.

Foram feitos 3 extratos para cada genótipo e para cada tratamento, e procedeu-se a duas injeções de cada extrato. A quantificação foi efetuada com base nas curvas padrão dos açúcares em análise (Sigma).

2.9.3. Proteínas

A proteína bruta foi determinada mediante quantificação do azoto total, pelo método de Kjeldhal (NP 1996, 2000) e convertendo este valor em proteína bruta considerando que a totalidade do azoto está na forma proteica. A estimativa do teor em proteína bruta é obtida através da multiplicação da percentagem de azoto total por um fator de conversão baseado na percentagem de azoto na proteína. Neste caso, o valor de conversão foi de 5,95.

Numa balança analítica (Mettler, PC 180), pesou-se cerca de 1 g de amostra, num tubo de digestão. Adicionou-se 12,5 mL de ácido sulfúrico (95 – 97%) (CAS nº 7664-93-9) e o catalisador (sulfato de potássio – CAS nº 7778-80-5 + selénio). A digestão foi realizada numa placa de aquecimento (Bicasa Milano, Mod – BE 97) a 420°C±10°C durante 2 horas (no mínimo) para permitir a mineralização completa da amostra (até que a solução se apresente límpida, incolor ou verde pálida). Deixou-se arrefecer durante várias horas. Em seguida procedeu-se, à destilação por arrastamento de vapor numa unidade destiladora (Kjeltec 2200 – Auto Destillation) até que todo o amoníaco tivesse sido destilado, obtendo-se cerca de 150 mL do destilado. No recipiente de recolha, foram previamente introduzidos 50 mL de ácido bórico (4% p / v) (CAS nº 10043-35-3) e algumas gotas do indicador (vermelho de metilo – CAS nº 63451-28-5). Após a destilação, efetuou-se uma titulação (Titulador Automático Tim 850 – Titration Manager) com

uma solução 0,1N de ácido clorídrico (CAS nº 7647-01-0) até atingir o ponto de viragem, seguida de leitura. As análises foram realizadas em triplicado para cada genótipo.

2.10. Cinzas

A percentagem de cinzas foi aferida segundo método descrito por Anjum *et al.* (2007). As amostras de farinha foram pesadas (5 g) numa balança analítica (Mettler, PC 180), em cadinhos previamente calcinados e tarados, e depois incinerados em mufla a 550°C durante 5 horas.

Decorrido este tempo, os cadinhos foram colocados em exsiccador até atingir peso constante de acordo com método utilizado. Os resultados foram expressos em percentagem de cinzas sobre a base seca, através de cálculos gravimétricos (medidos pela diferença entre os pesos inicial e final).

2.11. Análise Colorimétrica

A cor dos grãos moídos (farinha integral) foi medida usando um colorímetro (Minolta Chromameter CR-400), com base na refletância da luz, utilizando o iluminante D65. (Shewfelt *et al.*, 1998). Os valores foram expressos segundo o sistema CIELAB (*Commission Internationale de Éclairage*, espaço de cor L*, a*, b*) em que L* representa a luminosidade, enquanto que a* (vermelho quando positivo e verde quando negativo) e b* (amarelo quando positivo e azul quando negativo) representam as coordenadas de cromaticidade. O equipamento foi previamente calibrado [branco nº15233011, L* 93.5, a* 0.3164 e b* 0.3325] (Voss, 1992; Camelo e Gomez, 2004; Spósito *et al.*, 2004).

2.12. Tratamento Estatístico

Para avaliação dos resultados experimentais, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) e determinada a significância pelo teste F tendo-se usado o teste de Tukey ($p \leq 0.05$) para estudo comparativo das médias.

Capítulo III

3. Resultados e Discussão

3.1. Primeiro Ano de Ensaio

3.1.1. Solo e Água de Cultivo

As duas variedades de arroz comercial e as duas linhas avançadas do Programa de Melhoramento Genético do INIAV foram cultivadas sob condições de terrenos alagados. O solo e a água de cultivo do 1º ano do ensaio possuíam as composições indicadas nas Tabelas 3.1 e 3.2.

Tabela 3.1. Características químicas e físicas do solo. Valores médios (n = 3).

Amostras	pH	P	K	Mg	Matéria Orgânica	Textura	
		P ₂ O ₅ mg Kg ⁻¹	K ₂ O mg Kg ⁻¹	mg Kg ⁻¹	%		
2013	BL – SL01	5,3	61 (Médio)	<24	56 (Baixo a médio)	0,85	Grosseira
	BL - SL02	5,6	144 (Muito alto)	31	-	1,36	Grosseira

O solo, classificado como “grosseiro”, foi analisado à profundidade de 0 - 0,2 m sendo as amostras de solo colhidas antes da adubação de fundo.

Verificou-se (Tabela 3.1) que os valores de pH se encontravam na faixa do pH ácido. O pH do solo exerce grande influência sobre a disponibilidade do Se (Nakamaru e Altansuud, 2014). Neste enquadramento, constatou-se que o selenato é a espécie de Se mais disponível para o cultivo de plantas. Por oposição, o selenito traduz uma menor disponibilidade devido ao seu alto grau de adsorção nas partículas do solo (Lauchli, 1993; Zayed *et al.*, 1998; Terry *et al.*, 2000). Aponte-se, contudo, que em solos ácidos, o selenato é instável e facilmente lixiviado (Neal *et al.*, 1987). Portanto, neste contexto, assumiu-se que o selenito foi a forma mais abundante de Se em solos ácidos (Asagawa *et al.*, 1977 *cf.* Nakamaru e Altansuud, 2014).

O potencial redox (pE + pH) dos solos controla a especiação de Se em solução. Alguns autores (Elrashidi *et al.*, 1987 *cf.* Zhu *et al.*, 2009) descreveram as faixas de pH do solo e a predominância de cada forma de Se. O selenato é a forma predominante de Se em solos alcalinos bem oxidados (pE + pH > 15); em solos com pH de ácido para neutro (7,5 < pH + pE < 15), o Se existe predominantemente como selenito; em condições fortemente reduzidas (pE + pH < 7,5), o selenito torna-se a forma dominante.

Equacionando os atributos do solo, aponte-se que o pH, indicador do grau de acidez ativa do solo, talvez seja, isoladamente, o mais relevante, no que se refere à utilização de fertilizantes. Acresce ainda que a disponibilidade de nutrientes contidos no solo, ou a ele

adicionados por meio das adubações, é bastante variável em função do pH do solo (Malavolta *et al.*, 1997).

O conhecimento da concentração de nutrientes existentes no solo e da exigência nutricional de determinada cultura dá uma indicação das quantidades de fertilizantes minerais que devem ser adicionados ao solo e que, portanto, sejam suficientes para suprir as necessidades da planta (Veloso *et al.*, 2009). Assim, além do pH, foram analisados os teores de P, K, e matéria orgânica. A análise destes parâmetros (Tabela 3.1) permitiu detectar a ocorrência de valores mais elevados no bloco SL02. Segundo Fageria *et al.* (1995), o valor de P no solo 3,1 – 6,0 g Kg⁻¹ e valores de K entre 31 – 60 g Kg⁻¹ são considerados de “nível médio”. Este incremento nutricional poderá promover eventuais benefícios para o desenvolvimento da planta. No entanto, para além de manter a fertilidade de um determinado solo no nível adequado, é ainda fundamental conhecer, a exigência nutricional de cada cultura.

Equacionando as exigências do arroz irrigado, em geral, a dose requerida de P varia entre 60 – 90 P₂O₅ kg ha⁻¹ (Fageria e Souza, 1995). O P parece favorecer a proteção das plantas contra doenças, seja pela correção de deficiência desse nutriente no solo, conseqüentemente induzindo um melhor crescimento das plantas, ou por acelerar o processo de maturação, não favorecendo alguns agentes patogénicos (IFA, 2000). Segundo Prochnow *et al.* (2004), de forma geral, a disponibilidade de P é maior em solos com pH na faixa 5,5 – 7,0.

A dose de K₂O recomendada varia entre 40 – 80 kg ha⁻¹ para o arroz irrigado (Fageria e Souza, 1995). O K pode aumentar a eficiência de uso de outros nutrientes pelas plantas, particularmente de N. O K tem um efeito benéfico na qualidade de uma gama extensiva de culturas, especialmente em termos de melhoria na quantidade e qualidade proteica. O K pode diminuir a incidência de doenças nas plantas e reduzir os stresses abióticos, particularmente quando causados pelo frio (IFA, 2000). Contudo, as doses recomendadas levam em conta a análise de solo, os aspetos económicos e outras variáveis, nomeadamente o teor de matéria orgânica, o porte da cultivar e a textura do solo.

A matéria orgânica é o atributo que revela a qualidade física, química e biológica do solo (Bayer e Mielniczuk, 1999) e por esse motivo tem sido utilizada como indicador da qualidade de sistemas de manejo de solo (Vezzani, 2001). Este parâmetro dará indicação do teor de N a ser aplicado na adubação. Segundo Fageria e Souza (1995), em teores de matéria orgânica ≤ 2,5% deverá aplicar-se 40 Kg N ha⁻¹. No entanto, na decisão do total de N a aplicar, devem também ser considerados os seguintes aspetos: a) histórico da área no que diz respeito à resposta da cultura ao azoto em anos anteriores; b) incidência de doenças e c) desenvolvimento vegetativo e caracterização de sintomas de deficiência em azoto. Assim, tal como observado (Tabela 3.1), os teores de matéria orgânica estão compreendidos em 0,85 % e 1,36 % no bloco SL01 e SL02, respetivamente. Com base nesses resultados, foram adicionados na adubação do solo 60 Kg N ha⁻¹, de modo que, contribuísse para o melhor rendimento económico dos grãos de arroz.

Tabela 3.2. Características físicas e químicas nas lâminas de água, à superfície dos solos de cultivo do arroz no decurso do primeiro ano de ensaio. Valores médios ($n = 3$).

Ano	Amostras	Condutividade	pH	HCO ₃	Na	K	Ca	Mg
		dS m ⁻¹	Concentração (mg L ⁻¹)					
2013	BL – SL01	0,327	6,53	73,2	65,78	3,82	16,72	6,40
	BL – SL 02	0,623	6,55	136,64	125,43	4,42	43,13	18,12

A importância da qualidade da água para irrigação do arroz está diretamente relacionada com a salinidade e toxicidade. A salinidade é avaliada pela condutividade elétrica (CE), sendo a água classificada em: sem restrição ao uso ($CE < 0,7$ dS m⁻¹), com restrição ligeira ou moderada (CE variando de $0,7 - 3,0$ dS m⁻¹) e com restrição severa ($CE > 3,0$ dS m⁻¹) (EMBRAPA, 2005). Neste enquadramento verificou-se que os valores de condutividade da água dos canteiros (Tabela 3.2) apresentaram níveis aceitáveis para o cultivo do arroz.

Tal como foi observado no solo, também a água do bloco SL02 apresentou teores minerais mais elevados comparativamente ao bloco SL01, aspeto que foi confirmado pela condutividade elétrica, que fornece boa indicação da composição total da água em sais minerais. Segundo Simões (2008), nas áreas de cultivo intensivo, com adição de fertilizantes e pesticidas, ricas em compostos azotados são cada vez mais mineralizadas as águas de irrigação, destacando-se nestes casos o aumento da concentração de nitratos, sulfatos e metais pesados. Conforme estudo realizado por Simões (1998), que descreve as características hidrogeológicas da Bacia do Baixo Tejo, é possível enquadrar as amostras das águas analisadas no sistema aquífero do Tejo-Sado, margem esquerda. As águas deste sistema são caracterizadas por possuírem intermédia mineralização e dureza, médias a baixas concentrações de bicarbonato, sódio, cálcio e magnésio.

3.1.2. Parâmetros Meteorológicos

Ao longo de todo o ciclo cultural do arroz, entre Maio e Outubro de 2013 a temperatura máxima da estação meteorológica em Paúl de Magos variou entre 15,6 – 41 °C, e a temperatura mínima oscilou entre 3,3 – 21,2 °C (Figura 3.1). Relativamente à precipitação, os maiores volumes foram observados no mês de outubro, ou seja, no final do ciclo.

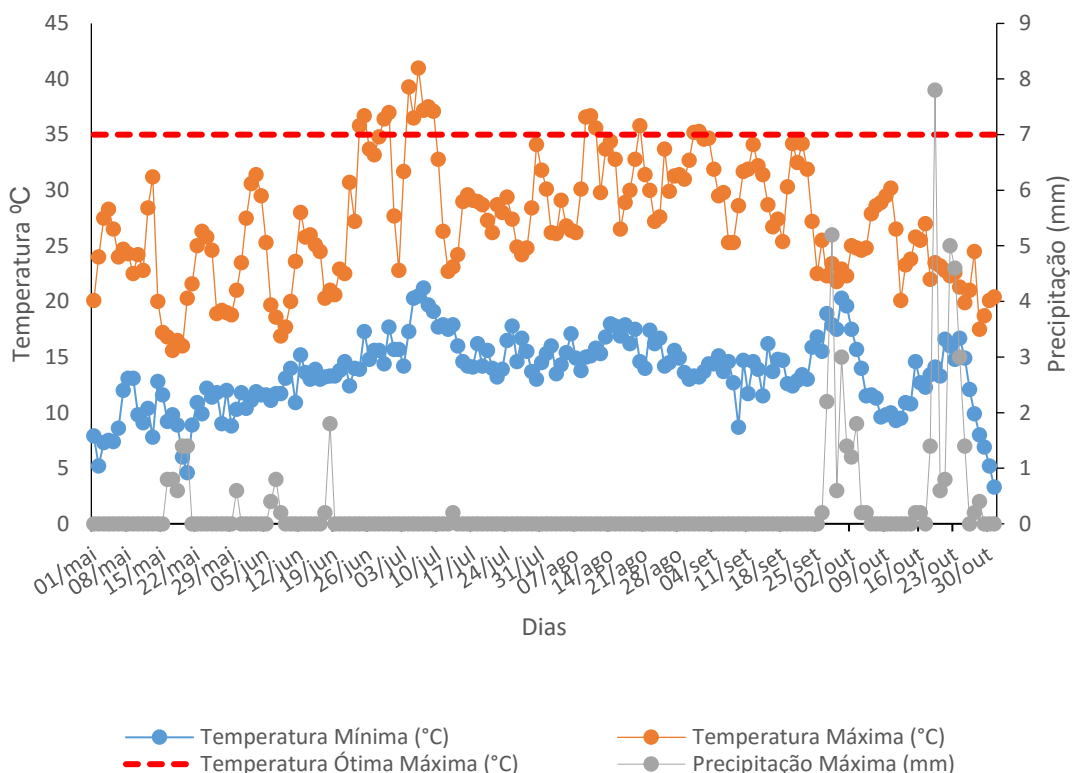


Figura 3.1. Condições climáticas no campo experimental, no decurso do 1º ano do ensaio (2013). Fonte: Salvaterra de Magos, Estação / Posto Meteorológico Paúl de Magos, Associação dos Regantes e Beneficiários do Vale do Sorraia.

A temperatura é um dos fatores de grande influência no bom desempenho do ciclo produtivo do arroz. A temperatura ideal para o cultivo do arroz situa-se entre 25 – 35 °C, e em regiões temperadas, o crescimento do arroz está condicionado a um período limitado, que favoreça o seu crescimento (Ali *et al.*, 2006). Para a floração é necessária uma temperatura de 22 °C; a polinização ocorre a temperaturas variáveis, de acordo com a humidade atmosférica, mas usualmente, nunca abaixo dos 22 °C. Relativamente à maturação, a temperatura mínima exigida é cerca de 19 °C (Silva, 2014). No decurso do 1º ano do ensaio verificou-se que as temperaturas aferidas no respetivo ciclo se mantiveram dentro dos parâmetros ótimos para o crescimento considerado normal das plantas, embora se tenha verificado um ligeiro aumento da temperatura no início do mês de Julho (que não provocaram alterações apreciáveis no desenvolvimento da cultura).

Segundo Matsui *et al.*, (1997), a antese corresponde à fase mais sensível às temperaturas elevadas, situando-se a temperatura crítica entre 33 e 34 °C. Quando essa

temperatura crítica é ultrapassada, mesmo por poucas horas, ocorre um aumento da esterilidade de espiguetas, devido à menor deposição de grãos de pólen, ocorrendo, em temperaturas extremas (> 40 °C), a esterilidade dos órgãos femininos da flor.

3.1.3. Desenvolvimento Fenológico das Variedades e Genótipos.

As fases fenológicas do arroz e o respectivo ponto de desenvolvimento (maturação completa e colheita) de cada genótipo são apresentados na Figura 3.2.

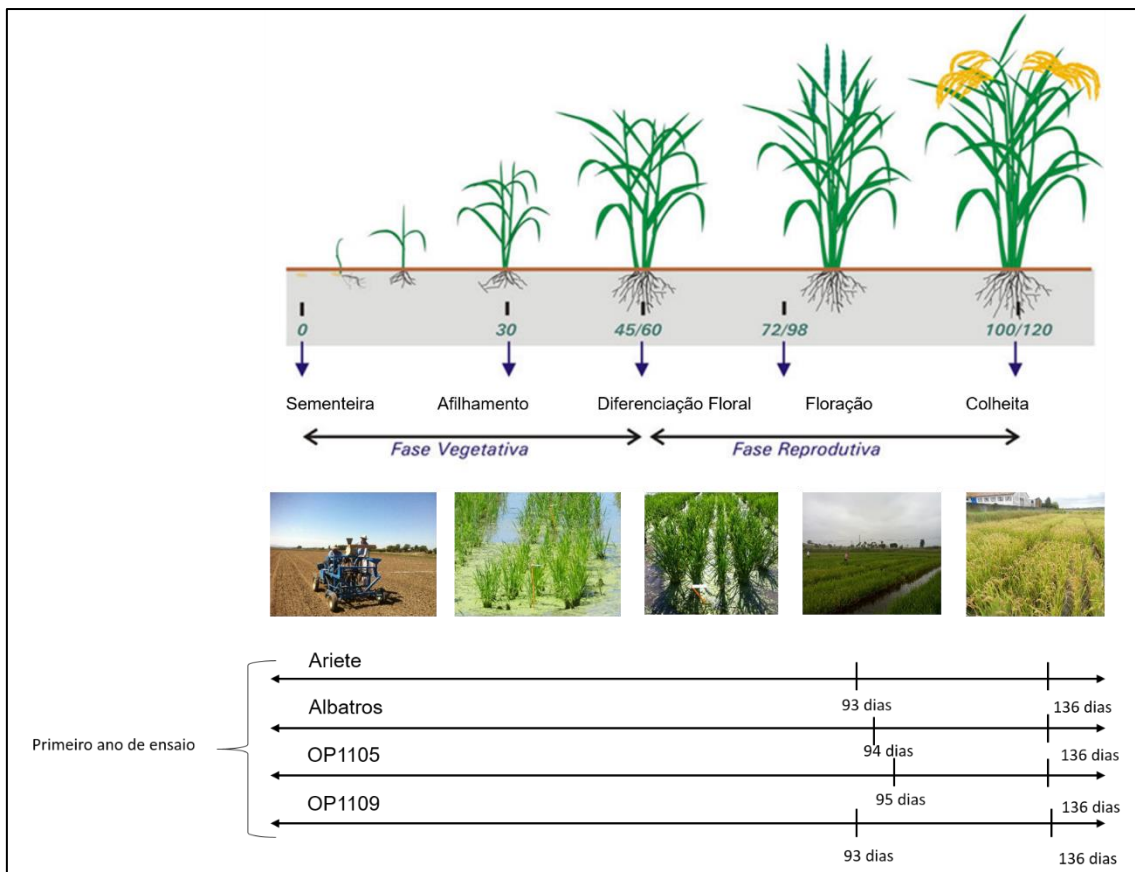


Figura 3.2. Diagrama do ciclo de vida do arroz (2013).

A duração das principais fases fenológicas foi semelhante para todas as variedades / genótipos nos 2 anos de ensaio. Em média, as plântulas emergiram entre 7 – 13 dias após a sementeira. O tempo da emergência das plântulas foi associado principalmente com o genótipo do arroz. Dentro de cada variedade / genótipo, as diferenças de tempo para surgimento oscilaram entre 1 – 2 dias. Ntanos e Koutroubas (2002), que também estudaram diferentes variedades de arroz, indicam que a sequência da emergência de plântulas seguiu a do respectivo peso de grãos, provavelmente correlacionando-se com o teor dos materiais armazenados no respectivo endosperma, determinando assim o contexto base para a nutrição de plantas em crescimento inicial. Yoshida e Ahn (1968) cf. Ntanos e Koutroubas (2002) relataram ainda que as cultivares tardias obtêm uma maior percentagem de grãos e assimilam mais glúcidos a partir de

fotoassimilados armazenados anteriormente, comparativamente às variedades com maturação precoce.

3.1.4. Parâmetros Fotossintéticos – Trocas Gasosas Foliaves

A determinação das taxas de mobilização de fotoassimilados foi efetuada na fase vegetativa (final de Julho, início do alongamento dos caules, antes da aplicação de Se), assim como na fase reprodutiva (início de Setembro, enchimento do grão/emborrachamento, após a pulverização foliar com diferentes concentrações de Se).



Figura 3.3. Perspectiva geral dos campos experimentais, no decurso do 1º ano de ensaio (Julho de 2013) em Salvaterra de Magos – (39.03° N; - 8.74° W). (1 – Bloco SL01; 2 – Bloco SL02).

Os resultados são apresentados nas tabelas que se seguem e discutidos seguidamente, por variedade e/ou genótipo, tendo por objetivo avaliar o impacto do Se na cinética de fotoassimilação das plantas. Neste enquadramento procedeu-se à análise da taxa de assimilação líquida (P_n), condutância estomática para a água (g_s), taxa de transpiração (T_r) e eficiência instantânea do uso de água ($iWUE$).

Na tabela 3.3 são apresentados os dados dos parâmetros fotossintéticos analisados nas plantas de arroz (controle sem aplicação foliar de Se), em dois períodos distintos do desenvolvimento fenológico, acima indicados, sem e com adubação de fundo.

Tabela 3.3. Parâmetros fotossintéticos em 4 genótipos de arroz, em condições controle em 2 fases do desenvolvimento das plantas. Taxa de assimilação líquida (P_n), taxa de condutância estomática para a água (g_s), taxa de transpiração (T_r) e eficiência instantânea do uso de água ($iWUE$, calculada pela relação P_n/g_s). Valores médios ($n = 3$) com letras (a – e) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, indicam ausência de diferenças significativas entre si, de acordo o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

		Parâmetros fotossintéticos							
2013	Genótipo	P_n ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		g_s ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		T_r ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		$iWUE$ ($\mu\text{mol CO}_2$)/($\text{mmol H}_2\text{O}$)	
		SL01	SL02	SL01	SL02	SL01	SL02	SL01	SL02
30 de Julho (46 dias após a sementeira)	Ariete	18,77 (ab; s)	25,97 (a; r)	154,33 (a; r)	89,67 (ab; s)	3,56 (a; r)	2,64 (abcd; s)	0,12 (b; s)	0,29 (b; r)
	Albatros	16,97 (ab; r)	17,27 (b; r)	148,33 (a; r)	87,33 (ab; s)	3,45 (a; r)	2,41 (bcd; s)	0,11 (b; r)	0,20 (c; r)
	OP1105	16,47 (ab; s)	21,73 (ab; r)	145,33 (a; r)	123,67 (a; r)	3,31 (a; r)	3,30 (a; r)	0,12 (b; r)	0,18 (c; r)
	OP1109	15,47 (ab; r)	15,60 (b; r)	126,67 (ab; r)	116,33 (a; r)	3,26 (a; r)	3,01 (abc; r)	0,12 (b; r)	0,14 (c; r)
11 de Setembro (89 dias após a sementeira)	Ariete	13,60 (b; r)	15,83 (b; r)	87,67 (bc; r)	107,67 (a; r)	2,28 (b; s)	3,19 (ab; r)	0,16 (b; r)	0,15 (c; r)
	Albatros	14,93 (ab; r)	19,13 (ab; r)	78,33 (cd; r)	37,67 (c; s)	2,06 (bc; r)	1,51 (e; s)	0,20 (b; s)	0,52 (a; r)
	OP1105	18,60 (ab; r)	22,50 (ab; r)	44,33 (d; r)	51,33 (bc; r)	1,43 (c; r)	1,97 (de; r)	0,43 (a; r)	0,44 (ab; r)
	OP1109	21,73 (a; r)	16,97 (b; r)	114,00 (abc; r)	58,00 (bc; s)	3,34 (a; r)	2,33 (cd; s)	0,19 (b; r)	0,30 (bc; r)

Entre 30 de Julho e 11 de Setembro, a variedade Ariete apresentou um decréscimo da Pn , tanto no bloco SL01, como no bloco SL02, sendo este significativo apenas no segundo caso. Verificou-se que a adubação de fundo (SL02) induziu um aumento da Pn no dia 30 de Julho e no dia 11 de Setembro, sendo significativa apenas no primeiro caso. Tal como a Pn , a gs também apresentou um decréscimo significativo, mas apenas no bloco SL01, ou seja, sem adubação de fundo, entre 30 de Julho e 11 de Setembro. A Tr também apresentou uma tendência similar a gs , entre 30 de Julho e 11 de Setembro, revelou um decréscimo significativo, mas apenas no bloco SL01. A $iWUE$, entre 30 de Julho e 11 de Setembro, mostrou um aumento significativo apenas no bloco SL01, e verificou-se também que a adubação de fundo induziu um incremento significativo de $iWUE$ no dia 30 de Julho. Por oposição ao detetado em Ariete, a variedade Albatros não apresentou diferenças significativas relativamente a Pn . A condutância estomática apresentou um decréscimo bastante significativo entre 30 de Julho e 11 de Setembro. Relativamente à transpiração, o padrão de variação é semelhante a gs , ou seja, significativo. A $iWUE$ entre 30 de Julho e 11 de Setembro sobe em Albatros. O genótipo OP1105, relativamente a Pn , entre Julho e Setembro, não apresentou diferenças significativas quando comparados no mesmo bloco. Porém, quando realizada a comparação no mesmo dia, mas para blocos diferentes, constatou-se um aumento significativo no bloco SL02 (face ao bloco SL01) no dia 30 de Julho. Acresce ainda que em Setembro houve também um acréscimo, mas este não foi significativo. Já para gs , de Julho para Setembro, se verificou um decréscimo significativo nos dois blocos. Relativamente aos efeitos da adubação de fundo, não se constataram alterações apreciáveis no parâmetro gs . A Tr apresentou um decréscimo significativo, entre Julho e Setembro, nos dois blocos, e em Setembro este genótipo apresentou uma diminuição significativa da Tr no bloco SL02. Por acréscimo evoluiu uma maior $iWUE$, constatando-se que o OP1105, entre Julho e Setembro, apresentou um aumento significativo no bloco SL02. O genótipo OP1109, também considerado uma linha avançada, apresentou um ligeiro aumento de Pn entre 30 de Julho e 11 de Setembro, porém não se verificaram diferenças significativas. Comparando os blocos sem e com adubação, também não se observaram diferenças. Quanto à gs , apenas o bloco SL02 apresentou um decréscimo significativo entre Julho e Setembro. A comparação dos blocos, revelou uma diminuição significativa de gs no dia 11 de Setembro. Tal como em gs , também a Tr apresentou uma variação similar. A eficiência instantânea do uso da água ($iWUE$) manteve-se sem alterações, tanto nas datas de realização da análise, como entre os tratamentos no solo.

Na tabela 3.4 são apresentados os resultados de P_n em 4 genótipos, submetidos a 5 tratamentos com Se (selenito e selenato, em blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respectivamente). As plantas encontravam-se na fase de enchimento do grão.

Tabela 3.4. Taxa fotossintética líquida (P_n) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 5 tratamentos, cultivados em 2 blocos (SL01 e SL02) sem e com adubação de fundo, respectivamente. Valores médios ($n = 3$) com letras (a, b) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, indicam ausência de diferenças significativas entre si, de acordo com a aplicação do teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Bloco	Genótipo	P_n ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)				
		0 g Se ha ⁻¹	4 g Se ha ⁻¹	20 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO	Ariete	13,60 (a; s)	24,27 (a; r)	19,13 (ab; rs)	17,30 (ab; rs)	21,93 (a; r)
	Albatros	14,93 (a; r)	19,00 (ab; r)	21,63 (ab; r)	18,40 (ab; r)	19,67 (a; r)
	OP1105	18,60 (a; r)	19,87 (ab; r)	22,90 (ab; r)	17,73 (ab; r)	17,73 (a; r)
	OP1109	21,73 (a; r)	19,07 (ab; r)	23,97 (a; r)	20,47 (ab; r)	16,60 (a; r)
SL01 ATO	Ariete	13,60 (a; s)	20,70 (ab; rs)	20,13 (ab; rs)	18,07 (ab; rs)	22,63 (a; r)
	Albatros	14,93 (a; r)	20,97 (ab; r)	18,87 (ab; r)	23,80 (a; r)	20,57 (a; r)
	OP1105	18,60 (a; r)	21,00 (ab; r)	19,27 (ab; r)	14,07 (b; r)	19,90 (a; r)
	OP1109	21,73 (a; r)	20,83 (ab; r)	17,83 (ab; r)	22,03 (ab; r)	24,37 (a; r)
SL02 ITO	Ariete	15,83 (a; r)	12,40 (b; r)	13,70 (b; r)	16,97 (ab; r)	18,67 (a; r)
	Albatros	19,13 (a; r)	16,63 (ab; r)	19,63 (ab; r)	17,50 (ab; r)	16,43 (a; r)
	OP1105	22,50 (a; r)	19,23 (ab; r)	24,40 (a; r)	19,63 (ab; r)	24,77 (a; r)
	OP1109	16,97 (a; r)	20,17 (ab; r)	19,83 (ab; r)	20,07 (ab; r)	16,90 (a; r)
SL02 ATO	Ariete	15,83 (a; r)	12,00 (b; r)	13,73 (b; r)	18,20 (ab; r)	16,57 (a; r)
	Albatros	19,13 (a; r)	19,40 (ab; r)	22,30 (ab; r)	21,60 (ab; r)	21,40 (a; r)
	OP1105	22,50 (a; r)	19,03 (ab; r)	17,80 (ab; r)	23,23 (ab; r)	22,80 (a; r)
	OP1109	16,97 (a; r)	17,53 (ab; r)	18,90 (ab; r)	20,47 (ab; r)	19,63 (a; r)

A *Pn*, na variedade Ariete sem a adubação de fundo, não revelou diferenças significativas entre as diferentes concentrações (4, 20, 30 e 60 g Se ha⁻¹). Nas plantas com Se de fundo (bloco SL02), as aplicações de Se foliar não apresentaram uma resposta positiva, apesar das duas concentrações mais altas mostrarem uma *Pn* superior às concentrações mais baixas (ainda que sem diferença significativa). As fontes de Se (selenito ou selenato) induziram respostas semelhantes em todos os casos; apenas na dose 4 g Se ha⁻¹ se verificaram diferenças significativas entre o bloco SL01 ITO e os blocos SL02 ATO e ITO (Tabela 3.4). Em Albatros, independentemente da ocorrência de adubação de fundo com Se, constatou-se que não existem diferenças significativas entre as plantas em todas as concentrações de Se aplicadas ao nível foliar. Nas plantas sem Se de fundo (SL01), a aplicação foliar de Se induziu o aumento da *Pn*, tanto com aplicação de selenito, como com selenato (ainda que as diferenças não sejam significativas). Já nas plantas com adubação de fundo (SL02), não ocorreu uma resposta positiva à aplicação foliar, porém, a aplicação foliar de selenato pareceu estimular a *Pn*. Nas plantas OP1105 sem adubação de Se de fundo, em geral a aplicação foliar aumentou a *Pn* até 20 g Se ha⁻¹. No bloco com adubação de fundo, observou-se uma oscilação da *Pn* entre os tratamentos, sendo decrescente nalguns casos, contudo estes não foram significativos. As aplicações foliares de selenito parecem não provocar efeitos positivos no genótipo OP1109, tanto no bloco SL01, como no bloco SL02. Note-se, contudo, que as aplicações de selenato promoveram o aumento crescente de *Pn* (*i.e.*, com 30 e 60 g Se ha⁻¹).

As taxas de respiração correlacionam-se diretamente com as fases de desenvolvimento da planta, temperatura do ar, a concentração foliar de azoto, e a disponibilidade de água no solo (Lee *et al.*, 2005; Souza *et al.*, 2008; Habermann *et al.*, 2011). O equilíbrio entre as taxas de respiração e da fotossíntese têm uma influência direta sobre a produção vegetal (Souza *et al.*, 2008; Fagan, *et al.*, 2010). Prevaleceu uma variação diminuta entre os 4 genótipos relativamente ao comportamento fotossintético, com e sem adubação de fundo. Verificou-se ainda que, os tratamentos com Se não afetaram, de um modo geral, as taxas da fotossíntese. O limite entre os níveis benéfico e fitotóxico de Se é muito estreito, e ambos induzem alteração no crescimento da planta e sua fisiologia (Hawrylak-Nowak *et al.*, 2015), porém subsistem evidências de que o Se em concentrações relativamente baixas pode ser um elemento benéfico para plantas, atuando eventualmente como antioxidante e / ou um agente de promoção do crescimento (Garcia-Bañuelos *et al.*, 2011). O Se é incorporado na cadeia alimentar, principalmente, através de plantas de cultivo e assim a quantidade de Se na cadeia alimentar é estritamente dependente dos respetivos teores no solo, bem como, nas partes comestíveis de plantas (Hartikainen, 2005). Contudo, a fotossíntese, um processo metabólico fundamental e crítico no desenvolvimento da planta, é muito sensível em condições edafoclimáticas desfavoráveis (Laspina *et al.*, 2005; Gill *et al.*, 2013). Tem sido bem documentado que a fitotoxicidade de Se varia entre culturas agrícolas (Lyons *et al.*, 2005 b). De fato, concentrações não tóxicas de Se têm efeitos positivos também sobre a acumulação de glúcidos e, eventualmente, sobre a formação de rendimento (Turakainen *et al.* 2004). Outros estudos também revelaram que o Se promove o crescimento de arroz (Liu *et al.*, 2004), e do sorgo (Djanaguiraman *et al.*, 2010). No entanto, o excesso de Se é geralmente

tóxico para as plantas, exceto para plantas Se-hiperacumuladoras (Van Hoewyk, 2013). Plantas submetidas a stresse com Se exibem alterações fisiológicas, nomeadamente, o crescimento atrofiado raiz, biomassa reduzida, clorose, redução da eficiência fotossintética e, ainda necrose (Van Hoewyk, 2013). Outros estudos relataram que o Se melhora a capacidade antioxidante das plantas (Hartikainen *et al.*, 2000). Ainda, Feng *et al.* (2013) descobriram recentemente que o Se provoca efeitos protetores sobre plantas contra stresses abióticos. Quando as plantas são sujeitas a stresse ambiental, os cloroplastos são danificados, levando a alterações nas taxas da fotossíntese. Contudo, a adição de níveis adequados de Se pode atenuar eventuais danos nos cloroplastos e incrementar o teor de clorofila (Hartikainen *et al.*, 2000; Malik *et al.*, 2012). Aponte-se que neste estudo as variedades / genótipos cultivados em bloco sem adubação de fundo, que apresentaram taxa fotossintética líquida mais elevada, também apresentaram maior peso de mil grãos (PMG). Zhang *et al.* (2014) sugeriram que as mudanças, tanto no sistema fotossintético, como no conteúdo de Se grão, estariam intimamente associados com a aplicação de Se e que um aumento da respetiva concentração no arroz poderá estimular a fotossíntese e concomitantemente aumentar assim a produtividade em grãos de arroz. Percival e Fraser (2001) confirmaram que a fotossíntese desempenha um papel central na biossíntese da planta, proporcionando uma ligação interativa entre o metabolismo interno da planta e do seu ambiente externo, e os sintomas iniciais de stresse ambiental são claramente detetáveis devido a alterações na fotossíntese. Neste ensaio os valores de P_n variaram entre 12 – 25 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), sendo semelhantes aos descritos por Centritto (2009), que avaliou as características agronómicas e fisiológicas de 8 genótipos de arroz. Por outro lado, Lorençoni (2013), que avaliou 9 genótipos de arroz sob condições normais de cultivo, encontrou valores abaixo dos descritos neste ensaio (entre 9,83 – 16,88 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), sugerindo que correlações genéticas e fatores ambientais terão sido determinantes na evolução de taxas de assimilação inferiores.

Na tabela 3.5 são apresentados os valores de *gs* em 4 genótipos, submetidos a 5 tratamentos com Se (selenito e selenato) em blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respetivamente). As plantas encontravam-se na fase de enchimento do grão.

Tabela 3.5. Condutância estomática (*gs*) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 5 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo, (SL01 e SL02, respetivamente). Valores médios (n = 3) com letras (a – h) iguais na coluna e letras (r, s, t) iguais na linha, indicam ausência de diferenças significativas entre si, de acordo o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Bloco	Genótipo	<i>gs</i> (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)				
		0 g Se ha ⁻¹	4 g Se ha ⁻¹	20 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO	Ariete	87,67 (ab; r)	33,33 (cd; st)	46,33 (bcd; s)	101,67 (b; r)	16,00 (f; t)
	Albatros	78,33 (bc; r)	10,00 (d; t)	42,00 (cd; s)	46,33 (defg; s)	48,00 (abcdef; s)
	OP1105	44,33 (cd; s)	35,00 (cd; s)	41,33 (cd; s)	192,33 (a; r)	17,67 (ef; s)
	OP1109	114,00 (a; r)	59,00 (abc; st)	32,00 (de; t)	36,00 (efgh; st)	63,00 (ab; s)
SL01 ATO	Ariete	87,67 (a; r)	14,00 (d; s)	35,67 (de; s)	95,67 (b; r)	22,33 (cdef; s)
	Albatros	78,33 (bc; r)	20,67 (d; s)	31,00 (de; s)	47,67 (defg; s)	36,00 (bcdef; s)
	OP1105	44,33 (cd; s)	38,33 (bcd; s)	48,33 (abcd; s)	121,33 (b; r)	25,67 (cdef; s)
	OP1109	114,00 (a; r)	36,33 (cd; t)	81,00 (ab; s)	26,00 (fgh; t)	53,33 (abcd; st)
SL02 ITO	Ariete	107,67 (a; r)	38,00 (bcd; s)	4,00 (e; t)	11,00 (h; st)	19,33 (def; st)
	Albatros	37,67 (d; s)	40,67 (bcd; s)	82,33 (a; r)	68,33 (bcde; r)	52,33 (abcde; s)
	OP1105	51,33 (cd; s)	79,33 (a; rs)	54,33 (abcd; s)	83,33 (bc; r)	56,67 (abc; rs)
	OP1109	58,00 (bcd; r)	56,33 (abc; r)	73,00 (abc; r)	57,00 (cdef; r)	66,33 (ab; r)
SL02 ATO	Ariete	107,67 (a; r)	9,33 (d; s)	4,00 (e; s)	15,33 (gh; s)	18,00 (ef; s)
	Albatros	37,67 (d; r)	59,33 (abc; r)	65,00 (abcd; r)	51,33 (cdef; r)	61,33 (ab; r)
	OP1105	51,33 (cd; r)	72,33 (ab; r)	59,33 (abcd; r)	79,33 (bcd; r)	73,00 (a; r)
	OP1109	58,00 (bcd; r)	61,00 (abc; r)	72,00 (abc; r)	51,33 (cdef; r)	72,33 (a; r)

Na variedade Ariete, em quase todos os tratamentos de biofortificação, verificou-se uma redução de *gs* em relação ao controle. A *gs* face à aplicação foliar diminuiu (exceto na dose 30 g Se ha⁻¹), independentemente de ser selenito ou selenato. No entanto, sem Se de fundo, a *gs* foi consistentemente mais elevada. Ao contrário de Ariete, em Albatros a adubação de fundo promoveu a redução da *gs* em condições controle. Paralelamente, observou-se um aumento progressivo de *gs* com crescentes teores de Se (20 e 30 g Se ha⁻¹) na forma de selenito no bloco SL02. Nas plantas sem adubação de fundo, com a aplicação foliar, a *gs* decresceu de forma similar para o selenito e selenato, de modo significativo nos tratamentos com 4, 20, 30 e 60 g Se ha⁻¹. Constatou-se que no genótipo OP1105, sem e com adubação de fundo, a *gs* não foi significativamente afetada pela aplicação foliar no genótipo OP1105, exceto a 30 g Se ha⁻¹, em que os valores ficaram muito acima da média. No bloco SL02, a *gs* apresentou valores mais elevados, para qualquer das concentrações foliares aplicadas. No genótipo OP1109, sem adubação de fundo, a aplicação foliar (selenito e selenato) inibiu significativamente a *gs* em todos os tratamentos face ao controle. Com adubação de fundo, a *gs* não foi alterada após à aplicação das concentrações foliares utilizadas. Os genótipos com valores mais elevados de condutância estomática parecem evidenciar uma maior tolerância ao stresse hídrico (Lorençoni, 2013). A *gs* é proporcional ao número e tamanho dos estomas e ainda à área do ostíolo, características que dependem de outros fatores endógenos e ambientais (Brodrribb e Holbrook, 2003), e são fundamentais para a transpiração e a fotossíntese. A *gs* e a transpiração estão estreitamente relacionadas com a fotossíntese na folha do arroz (Kanemura, 2005). De acordo com Taylaran *et al.* (2011), o elevado rendimento da variedade de arroz Takanari foi causada pela maior condutância estomática, que terá sido responsável por uma elevada taxa de fotossíntese na folha. Aponte-se ainda que Habataki, outra variedade de arroz de alto rendimento, tende a exibir uma maior capacidade fotossintética da folha, a par da sua maior condutância estomática (Adachi *et al.*, 2011). Neste estudo observaram-se valores bastante elevados de *gs* no genótipo OP1109, na maioria das concentrações, incluindo o controle, tanto nas formas de selenito ou selenato. Paralelamente, verificou-se que a *Pn* também possuía valores que se destacaram entre os mais elevados, face aos restantes genótipos, ainda que mais fortemente no bloco sem adubação de fundo (SL01). Estes fatores parecem ter influenciado o PMG deste genótipo, que apresentou valores acrescidos face aos outros genótipos. Note-se ainda que o controle estomático regula os fluxos de CO₂ e de água em resposta a estímulos ambientais e bioquímicos. Em princípio, os aumentos na *gs* podem permitir às plantas em condições de regadio, aumentar a captação de CO₂ e, assim as taxas da fotossíntese (Willmer e Fricker, 1996).

Em plantas que crescem com elevadas intensidades de luz, o Se parece neutralizar a senescência relacionada com o stresse oxidativo e mantém a cor verde da folha (Xue *et al.*, 2001). Assume-se que a estimulação do sistema antioxidante, decorrente do acréscimo de Se, poderá aumentar a tolerância das plantas ao ambiente de tensões e, assim, melhorar o crescimento e produtividade. De fato, tem sido referenciado que uma alternativa para melhorar a tolerância de culturas a stresses ambientais consiste no aumento a sua capacidade antioxidante (Bowler *et al.*, 1992). O Se também foi apontando com um elemento benéfico em

situações de stresse oxidativo causado por metais pesados, pois este stresse pode ser provocado por um desequilíbrio grave de células entre a produção de espécies reativas de oxigénio e a cinética das enzimas antioxidantes, evoluindo assim para desordens fisiológicas que podem induzir a senescência e morte celular. Saidi *et al.* (2014) demonstraram ainda que o Se alivia o stresse oxidativo induzido por Cd, atuando na diminuição da peroxidação lipídica e na melhoria da capacidade de eliminação de espécies reativas de oxigénio.

Na tabela 3.6 são apresentados os valores de Tr em 4 genótipos, submetidos a 5 tratamentos com Se (selenito e selenato) em blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respetivamente). As plantas encontravam-se na fase de enchimento do grão.

Tabela 3.6. Transpiração (Tr) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 5 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo, (SL01 e SL02, respetivamente). Valores médios ($n = 3$) com letras (a – i) iguais na coluna e letras (r – u) iguais na linha, indicam ausência de diferenças significativas entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Bloco	Genótipo	Tr (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)				
		0 g Se ha ⁻¹	4 g Se ha ⁻¹	20 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO	Ariete	2,28 (bc; rs)	1,21 (bcd; tu)	1,63 (bcd; st)	2,66 (abcd; r)	0,62 (g; u)
	Albatros	2,06 (bc; r)	0,39 (de; t)	1,29 (d; s)	1,65 (fgh; rs)	1,68 (def; rs)
	OP1105	1,43 (c; s)	1,13 (bcd; st)	1,35 (cd; s)	3,41 (a; r)	0,63 (g; t)
	OP1109	3,34 (a; r)	2,03 (a; s)	1,27 (d; t)	1,32 (ghi; t)	2,20 (abcd; s)
SL01 ATO	Ariete	2,28 (bc; r)	0,55 (cde; t)	1,31 (d; s)	2,51 (bcde; r)	0,82 (g; st)
	Albatros	2,06 (bc; r)	0,79 (bcde; t)	1,05 (d; st)	1,67 (efg; s)	1,33 (efg; st)
	OP1105	1,43 (c; st)	1,25 (bc; st)	1,67 (bcd; s)	2,67 (abcd; r)	0,89 (fg; t)
	OP1109	3,34 (a; r)	1,29 (bc; tu)	2,56 (a; s)	0,99 (hi; u)	1,92 (cde; st)
SL02 ITO	Ariete	3,19 (a; r)	1,30 (bc; s)	0,03 (e; t)	0,48 (i; t)	0,82 (g; s)
	Albatros	1,51 (bc; s)	1,54 (b; s)	2,87 (a; r)	2,51 (bcde; r)	2,05 (bcde; s)
	OP1105	1,97 (bc; s)	2,83 (a; r)	2,15 (abc; s)	3,09 (ab; r)	2,26 (abcd; s)
	OP1109	2,33 (b; r)	2,29 (a; r)	2,92 (a; r)	2,39 (bcdef; r)	2,71 (bcd; r)
SL02 ATO	Ariete	3,19 (a; r)	0,23 (e; st)	0,00 (e; t)	0,68 (i; s)	0,78 (g; s)
	Albatros	1,51 (bc; s)	2,23 (a; r)	2,47 (ab; r)	2,03 (defg; rs)	2,27 (abcd; r)
	OP1105	1,97 (bc; t)	2,73 (a; rs)	2,22 (ab; st)	2,93 (abc; r)	2,80 (ab; rs)
	OP1109	2,33 (b; rs)	2,40 (a; rs)	2,90 (a; rs)	2,19 (cdef; s)	2,98 (a; r)

Para a variedade Ariete, verificou-se que em condições controle, a Tr apresentou valores mais elevados no bloco com adubação de fundo (SL02). No entanto, quando esta foi conjugada com adubação foliar, constatou-se um decréscimo significativo na Tr . Sem adubação de fundo a Tr respondeu à aplicação foliar de forma decrescente (exceto na dose 30 g Se ha⁻¹), independentemente da aplicação de selenito ou selenato. Acresce que, sem aplicação de fundo, a Tr foi mais elevada para a maioria dos tratamentos. Na variedade Albatros, sem adubação de fundo, verificou-se que a aplicação foliar provocou um decréscimo da Tr , relativamente às plantas controle, mas com diferenças significativas apenas nas concentrações (4 e 20 g Se ha⁻¹). Por oposição à Ariete, a aplicação de fundo não decresceu a Tr , pois na maioria das concentrações apresentou aumentos significativos, similares para selenito ou selenato. Nas plantas do genótipo OP1105, nos blocos com ou sem adubação de fundo, foi possível observar algumas variações nas respetivas aplicações das concentrações de Se. No bloco SL01, sem adubação de fundo, para o selenito ou selenato, observou-se um aumento bastante significativo da Tr com a aplicação de 30 g Se ha⁻¹. Comportamento semelhante ocorreu com as plantas do bloco SL02, com adubação de fundo, nas duas formas de Se (selenito e selenato). No bloco sem adubação de fundo (SL01), a aplicação foliar inibiu significativamente a Tr , em todas as concentrações do genótipo OP1109. No bloco SL02, com adubação de fundo, as aplicações das concentrações de Se não implicaram em quaisquer alterações neste genótipo (exceto entre as dose 30 e 60 g Se ha⁻¹ selenato), que apresentaram diferenças significativas entre si. A maior intensidade transpiratória pode não indicar, necessariamente, menor eficiência no uso da água pela planta. A maior perda de água por transpiração pode decorrer da maior necessidade da planta para incorporar CO₂, em função da alta atividade fotossintética que ela pode apresentar (Concenço *et al.*, 2009).

A água é perdida por transpiração através dos estomas. O controle da abertura estomática depende de uma série de fatores, destacando-se a radiação solar, o nível de CO₂ no mesófilo, a humidade relativa, o potencial hídrico, a par de outros de menor magnitude, nomeadamente, o vento, as substâncias de crescimento e ritmos endógenos próprios de cada espécie (Concenço *et al.*, 2009). A variedade Ariete (na concentração mais elevada 60 g Se ha⁻¹) apresentou os valores mais baixo de Tr (Tabela 3.10) nos dois blocos de cultivo (SL01 e SL02), o que se traduziu numa maior eficiência do uso da água (Tabela 3.21). Segundo Kuznetsov *et al.* (2003), apesar de ainda não subsistirem provas definitivas sobre a importância do Se para as plantas, não há dúvida de que a proteção conferida por este nutriente não é limitada apenas ao seu efeito antioxidante. De fato, este efeito poderá ser polifuncional, podendo ser alargado a vários processos fisiológicos, destacando-se, o estado hídrico das plantas. Foi demonstrado por esses autores, que no trigo, em condições de seca, o Se assegurou a retenção de água. Portanto, parece poder concluir-se a partir desse estudo que o efeito protetor de Se nas condições de deficiência de água é dirigido para uma maior de absorção de água a partir do solo (como resultado da estimulação de captação água pela raiz). O declínio da transpiração está associado ao fecho dos estomas, e variações na abertura estomática causam alterações no potencial hídrico, por atuarem sobre a transpiração (Brodrrib e Hill, 2000). A planta tende a fechar

os estomas quando os níveis de luz estão abaixo da radiação fotossinteticamente ativa, ou para evitar o stresse hídrico (Cochard *et al.*, 2002). Segundo Concenço *et al.* (2009), todos esses parâmetros estão ligados à relação de custo / benefício, pois a transpiração também é um mecanismo que possibilita a diminuição da temperatura. A seleção de cultivares estáveis e adaptadas às condições edafoclimáticas proporcionam incrementos no rendimento da cultura. As cultivares de arroz apresentam diferenças na eficiência e requisitos hídricos, sendo distintos na resposta fisiológica a stresses abióticos (Machado, 1996). Observou-se neste estudo uma grande variação genotípica principalmente nas concentrações de Se mais elevadas.

Na tabela 3.7 são apresentados os valores de *iWUE* em 4 genótipos, submetidos a 5 tratamentos com Se (selenito e selenato) em blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respectivamente). As plantas encontravam-se na fase de enchimento do grão.

Tabela 3.7. Eficiência instantânea do uso da água (*iWUE*) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 5 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo, (SL01 e SL02, respectivamente). Valores médios (n = 3) com letras (a – d) iguais na coluna e letras (r, s, t) iguais na linha, indicam ausência de diferenças significativas entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Bloco	Genótipo	<i>iWUE</i> ($\mu\text{mol CO}_2$)/(mmol H ₂ O)				
		0 g Se ha ⁻¹	4 g Se ha ⁻¹	20 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO	Ariete	0,156 (a; s)	0,749 (bc; s)	0,412 (c; s)	0,173 (bc; s)	1,435 (a; r)
	Albatros	0,197 (a; s)	1,647 (a; r)	0,605 (c; s)	0,397 (bc; s)	0,412 (bcd; s)
	OP1105	0,431 (a; s)	0,616 (bc; rs)	0,558 (c; rs)	0,092 (c; rs)	1,024 (abc; r)
	OP1109	0,192 (a; r)	0,329 (bc; r)	0,753 (c; r)	0,575 (b; r)	0,262 (d; r)
SL01 ATO	Ariete	0,156 (a; s)	1,582 (a; r)	0,568 (c; s)	0,189 (bc; s)	1,018 (abc; r)
	Albatros	0,197 (a; s)	1,047 (ab; r)	0,666 (c; rs)	0,503 (bc; rs)	0,576 (bcd; rs)
	OP1105	0,431 (a; rs)	0,554 (bc; rs)	0,409 (c; rs)	0,128 (bc; s)	0,805 (abcd; r)
	OP1109	0,192 (a; s)	0,664 (bc; rs)	0,284 (c; rs)	0,846 (ab; r)	0,456 (bcd; rs)
SL02 ITO	Ariete	0,149 (a; t)	0,400 (bc; st)	2,52 (b; r)	1,426 (a; s)	1,079 (ab; s)
	Albatros	0,519 (a; r)	0,479 (bc; r)	0,238 (c; r)	0,258 (bc; r)	0,318 (cd; r)
	OP1105	0,443 (a; r)	0,246 (c; r)	0,451 (c; r)	0,236 (bc; r)	0,444 (bcd; r)
	OP1109	0,296 (a; r)	0,371 (bc; r)	0,282 (c; r)	0,352 (bc; r)	0,255 (d; r)
SL02 ATO	Ariete	0,149 (a; u)	1,793 (a; s)	3,473 (a; r)	1,355 (a; st)	0,925 (abcd; t)
	Albatros	0,519 (a; r)	0,328 (bc; r)	0,346 (c; r)	0,435 (bc; r)	0,359 (bcd; r)
	OP1105	0,443 (a; r)	0,261 (c; r)	0,301 (c; r)	0,296 (bc; r)	0,317 (cd; r)
	OP1109	0,296 (a; r)	0,287 (c; r)	0,264 (c; r)	0,401 (bc; r)	0,271 (d; r)

Os valores de *iWUE* subiram em Ariete, com a aplicação de Se mais elevada, sendo os mais elevados observados nas plantas cultivadas com adubação de fundo, principalmente com 20 e 30 g Se ha⁻¹ (aplicações de selenito). Na variedade Albatros, os valores de *iWUE* subiram na generalidade, em todas as concentrações do bloco SL01, embora sem diferenças significativas (exceto com 4 g Se ha⁻¹ selenito). O bloco com adubação de fundo, apesar das oscilações, não revelou alterações significativas. No genótipo OP1105, apenas no bloco SL01, com aplicações de selenito, foram observadas diferenças significativas, mais acentuada entre o controlo e 60 g Se ha⁻¹. Sem a adubação de fundo (SL01), o genótipo OP1109, revelou um ligeiro aumento da *iWUE* com as aplicações foliares de Se, tendo sido significativo na aplicação de selenato com 30 g Se ha⁻¹. Com adubação de fundo (SL02), verificaram-se pequenas flutuações que, no entanto, não foram significativas.

Culturas mais eficientes no uso da água podem proporcionalmente produzir uma maior quantidade de matéria seca por grama de água transpirada. O uso mais eficiente da água está diretamente relacionado com o controlo estomático, pois, com o influxo de CO₂ para a fotossíntese, a água é perdida por transpiração com intensidade variável, dependendo do gradiente de potencial hídrico entre a superfície foliar e a atmosfera (Concenço *et al.*, 2007). Para Jaimez *et al.* (2005), a relação entre a fotossíntese e a transpiração indica a eficiência instantânea no uso de água (*iWUE*), em que os valores observados relacionam a quantidade de carbono que a planta fixa, por cada unidade de água que perde. As reduções significativas em *gs* nas aplicações com 60 g Se ha⁻¹ provocaram um incremento na eficiência intrínseca no uso da água. As variedades e genótipos que apresentaram reduções significativas na *Tr* com a máxima aplicação de Se (60 g Se ha⁻¹) também foram as que apresentaram maior *iWUE*. Aponte-se que este resultado prevaleceu em plantas do bloco SL01. O efeito contrário também se confirmou, tendo as plantas que apresentaram maior transpiração, revelado um menor *iWUE*, sobretudo no bloco SL01 com aplicações de 30 g Se ha⁻¹ (em ambas as formas de Se). Portanto, a manutenção de elevadas taxas fotossintéticas associadas a menores valores de *gs* e *Tr* são características de plantas tolerantes a menor disponibilidade de água no solo, aspeto que se reflete numa maior *iWUE* (Ma *et al.*, 2004).

O potencial de água decresce induzido pela exposição a condições ambientais extremas, induzindo distúrbios nas reações químicas do metabolismo celular, e também insuficiência de processos fisiológicos integrais que determinam a capacidade das plantas para sobreviverem quando expostas a fatores de stresse prejudiciais, tais como stresse hídrico ou toxicidade por metais (Kuznetsov *et al.*, 2003). Neste estudo, por se tratar de um ensaio realizado sob condições de alagamento, não se verificou stresse hídrico nas plantas. Acresce ainda que, as concentrações de Se aplicadas ao nível foliar também não provocaram alterações no desenvolvimento da planta.

3.1.5. Parâmetros da Produção

Na cultura do arroz os principais componentes da produção são o n^o de plantas por área (que não foi objeto de estudo), o número de grãos por panícula e o peso de 1000 grãos (Castelo, 2009). Aponte-se que o peso de grãos é dependente da quantidade de fotoassimilados que é translocada para o enchimento de grãos, estando, portanto, relacionado com a taxa fotossintética (CO₂) e com a duração desta fase (em correlação estreita com a temperatura) (Walter *et al.*, 2010).

3.1.5.1. Panícula e Grãos Integrais

Nas figuras 3.4 – 3.9 apresentam-se os dados referentes aos parâmetros da produção no ensaio de campo (SL01) do primeiro ano (2013).

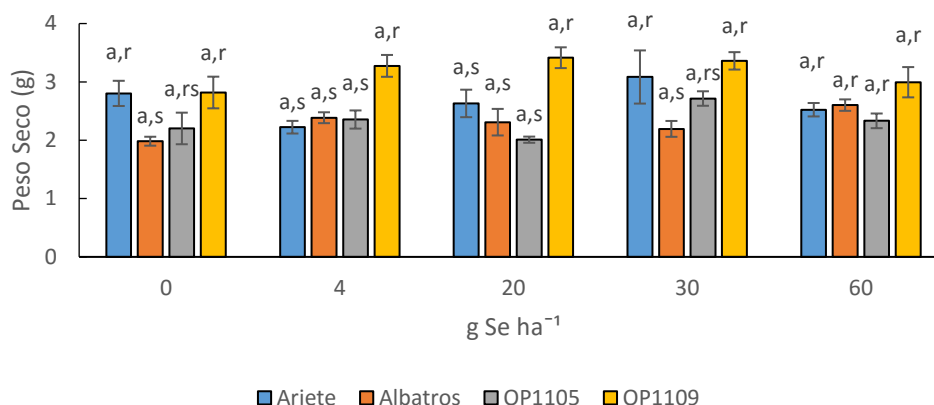


Figura 3.4. Peso da panícula (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito) em 5 tratamentos, cultivados no bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios \pm SE (n = 12) com letras (a) iguais para o mesmo genótipo indicam ausência de diferenças significativas entre concentrações, e as letras (r, s) iguais entre os genótipos apontam ausência de diferenças significativas para a mesma concentração de selenito, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

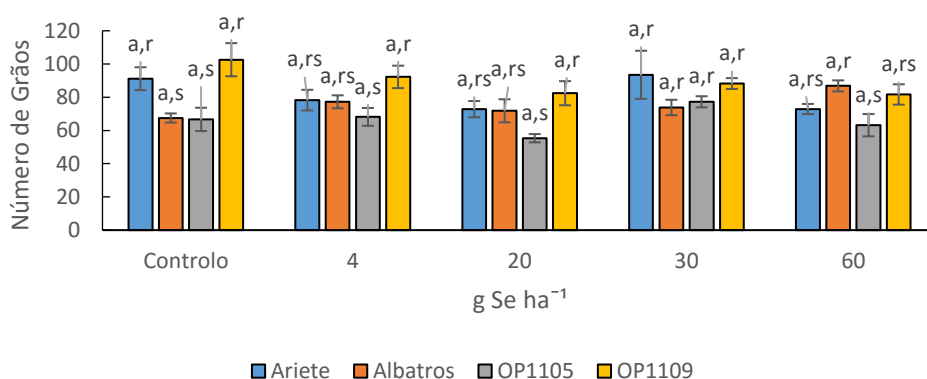


Figura 3.5. Produção do número de grãos por panícula em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito) em 5 tratamentos, cultivados no bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios \pm SE (n = 12) com letras (a) iguais para o mesmo genótipo indicam ausência de diferenças significativas entre concentrações, e as letras (r, s) iguais entre os genótipos apontam ausência de diferenças significativas para a mesma concentração de selenito, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

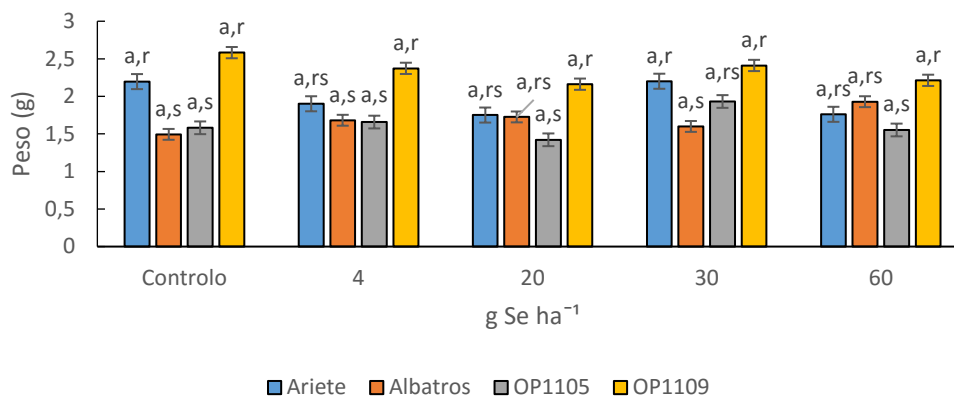


Figura 3.6. Peso dos grãos por panícula (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de selênio (selenito) em 5 tratamentos, cultivados no bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios \pm SE ($n = 12$) com letras (a) iguais para o mesmo genótipo indicam ausência de diferenças significativas entre concentrações, e as letras (r, s) iguais entre os genótipos apontam ausência de diferenças significativas para a mesma concentração de selênio, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Verificou-se que, para a mesma variedade ou genótipo, nas diferentes concentrações de Se (SL01 – Selenito) não há diferenças significativas no peso médio das panículas (Figura 3.4). No entanto, observaram-se diferenças entre as variedades / genótipos submetidos a diferentes concentrações de selenito aplicado na parte área das plantas. O genótipo OP1109 destacou-se com os valores mais elevados, constatando-se ainda que nas concentrações de 4 g Se ha⁻¹ este genótipo apresentou diferenças significativas face aos outros genótipos submetidos a esta mesma concentração (Figura 3.4).

Considerando a produção do número de grãos por panícula (Figura 3.5) constatou-se não ocorreram diferenças significativas nas diferentes concentrações para a mesma variedade ou genótipo, entretanto, observaram-se diferenças significativas entre os mesmos nalgumas das concentrações. Assim como no peso médio das panículas, o genótipo OP1109 revelou valores mais elevados, com diferenças significativas no controlo face à Albatros e OP1105 e, adicionalmente, nas concentrações 4 e 20 g Se ha⁻¹, o OP1109 diferiu significativamente do genótipo OP1105.

Constatou-se ainda que (Figura 3.6) a biofortificação com selenito sem adubação de fundo, não influenciou no peso médio dos grãos, porém detetaram-se diferenças significativas entre as variedades / genótipos, sendo que, OP1109, tal como observado nos parâmetros anteriores, se manteve com os melhores índices (e para a maioria dos tratamentos apresentou diferenças significativas em relação ao genótipo OP1105).

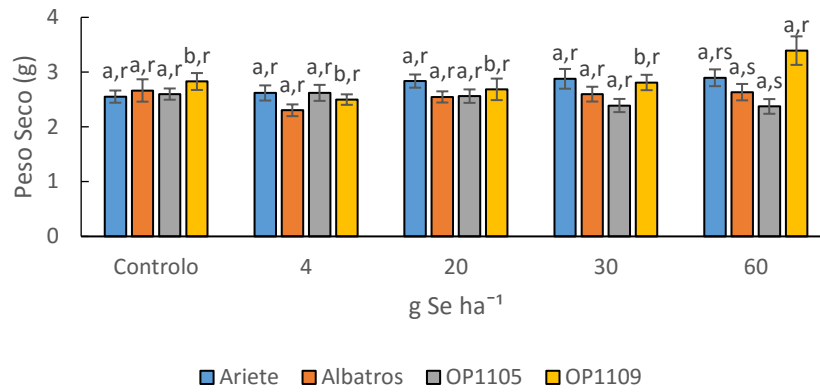


Figura 3.7. Peso da panícula (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenato) em 5 tratamentos, cultivados no bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios \pm SE (n = 12) com letras (a, b) iguais para o mesmo genótipo indicam ausência de diferenças significativas entre concentrações, e as letras (r, s) iguais entre os genótipos apontam ausência de diferenças significativas para a mesma concentração de selenato, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

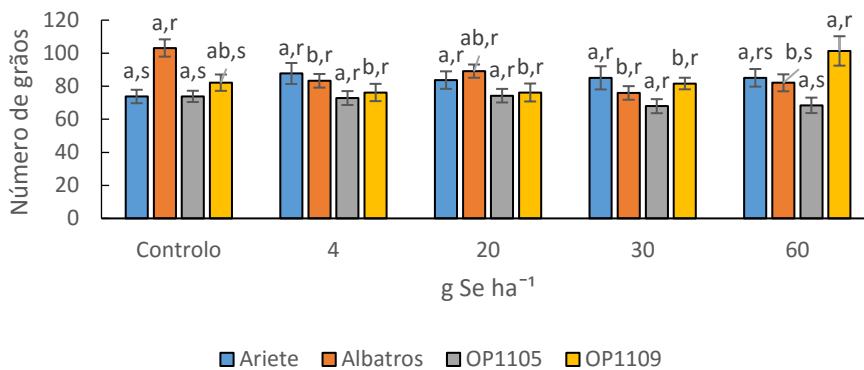


Figura 3.8. Produção do número de grãos por panícula em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de selênio (selenato) em 5 tratamentos, cultivados no bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios \pm SE (n = 12) com letras (a, b) iguais para o mesmo genótipo indicam ausência de diferenças significativas entre concentrações, e as letras (r, s) iguais entre os genótipos apontam ausência de diferenças significativas para a mesma concentração de selenato, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

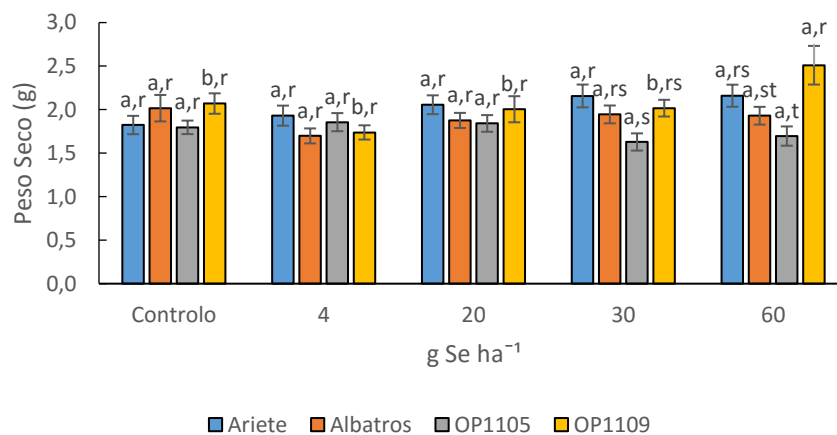


Figura 3.9. Peso dos grãos por panícula (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenato) em 5 tratamentos, cultivados no bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios \pm SE (n = 12) com letras (a, b) iguais para o mesmo genótipo indicam ausência de diferenças significativas entre concentrações, e as letras (r, s, t) iguais entre os genótipos apontam ausência de diferenças significativas para a mesma concentração de selenato, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Considerando o peso da panícula nas aplicações com selenato (Figura 3.7), observaram-se diferenças significativas entre as concentrações, apenas para o genótipo OP1109, onde a máxima concentração 60 g Se ha⁻¹ difere de forma significativa das restantes aplicações de selenato, apresentando o maior valor do peso da panícula.

Equacionando o número de grãos por panícula (Figura 3.8), observou-se que em condições controlo a variedade Albatros apresentou o maior de número de grãos. Quando comparadas as concentrações na mesma variedade / genótipo, Albatros apresentou uma redução significativa nas concentrações 4, 30 e 60 g Se ha⁻¹. Por oposição ao Albatros, o genótipo OP1109 apresentou os valores mais elevados quando foi aplicada a máxima concentração de Se.

Relativamente ao peso dos grãos (Figura 3.9), não se verificaram diferenças significativas entre as concentrações do mesmo genótipo, exceto para o genótipo OP1109 (neste caso a concentração 60 g Se ha⁻¹ apresentou os melhores resultados para o peso dos grãos). Ao compararmos os genótipos entre si nas diferentes concentrações, observou-se que apenas para as aplicações 30 e 60 g Se ha⁻¹ se encontraram diferenças significativas.

A seguir são apresentados os resultados da produção de grãos nas variedades / genótipos de arroz submetidos à biofortificação natural em Se com aplicação foliar de selenito ou selenato nas concentrações Controlo, 4, 20, 30 e 60 g Se ha⁻¹ e com adubação de fundo (Bloco SL02). Os resultados expressam a média de 12 panículas por genótipo e por concentração.

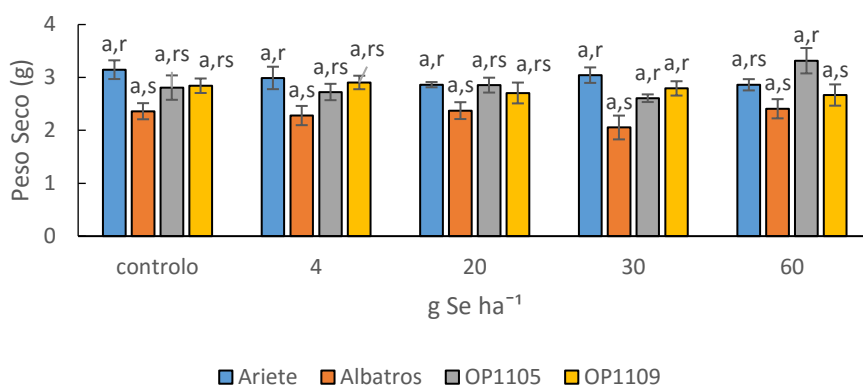


Figura 3.10. Peso da panícula (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito) em 5 tratamentos, cultivados no bloco com adubação de fundo (SL02). Valores médios \pm SE (n = 12) com letras (a) iguais para o mesmo genótipo indicam ausência de diferenças significativas entre concentrações, e as letras (r, s) iguais entre os genótipos apontam ausência de diferenças significativas para a mesma concentração de selenito, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

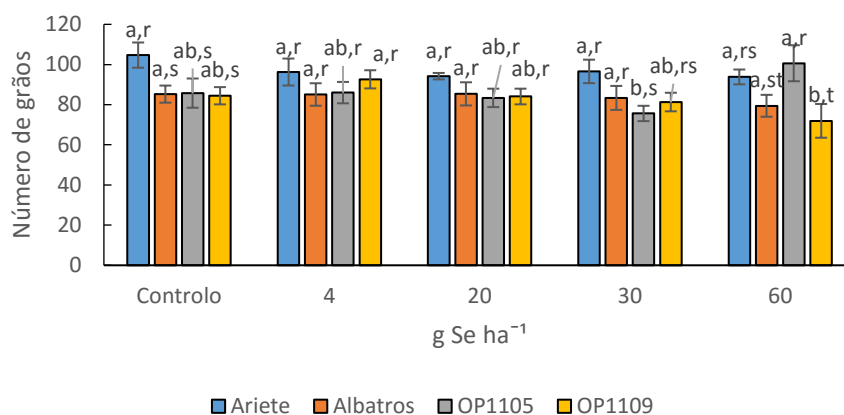


Figura 3.11. Produção do número de grãos por panícula em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito) em 5 tratamentos, cultivados no bloco com adubação de fundo (SL02). Valores médios \pm SE (n = 12) com letras (a, b) iguais para o mesmo genótipo indicam ausência de diferenças significativas entre concentrações, e as letras (r, s, t) iguais entre os genótipos apontam ausência de diferenças significativas para a mesma concentração de selenito, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

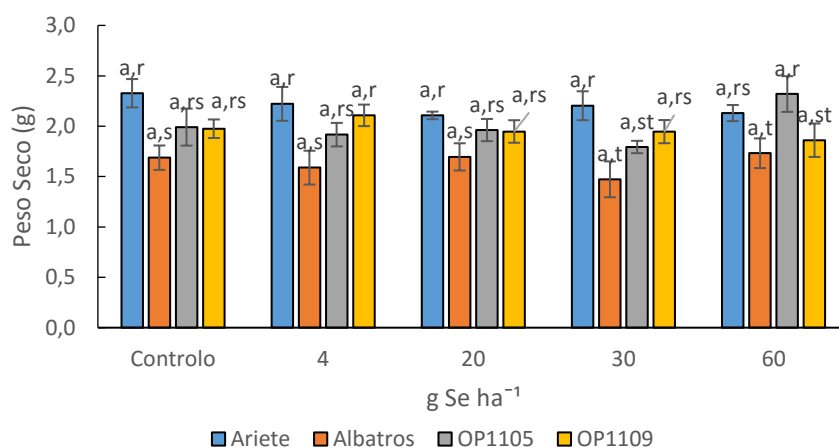


Figura 3.12. Peso dos grãos por panícula (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de selênio (selenito) em 5 tratamentos, cultivados no bloco com adubação de fundo (SL02). Valores médios \pm SE (n = 12) com letras (a) iguais para o mesmo genótipo indicam ausência de diferenças significativas entre concentrações, e as letras (r, s, t) iguais entre os genótipos apontam ausência de diferenças significativas para a mesma concentração de selenito, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Relativamente ao peso da panícula, as plantas submetidas à aplicação de selenito com adubação de fundo (Figura 3.10), não se observaram diferenças significativas entre as 4 concentrações aplicadas e o controlo, para a mesma variedade / genótipo. Por outro lado, ao compararmos os 4 entre si, observou-se que a variedade Ariete diferiu significativamente do Albatros em todas as aplicações, exceto com 60 g Se ha⁻¹.

A Ariete apresentou o número mais elevado de grãos por panícula em condições controlo (Figura 3.11), contudo não se detetaram diferenças significativas entre as diversas concentrações de selenito aplicada. A Albatros manteve-se inalterado nas diversas concentrações, já o OP1105 e o OP1109 apresentaram reduções, face ao controlo, nos tratamentos 30 g Se ha⁻¹ e 60 g Se ha⁻¹, respetivamente (Figura 3.11).

A Ariete, que apresentou o maior número de grãos, também foi a variedade que apresentou o valor mais elevado no peso dos grãos (Figura 3.12), mas as diferenças não foram significativas face aos genótipos OP1105 e OP1109, exceto nos tratamentos com 30 g Se ha⁻¹ e 60 g Se ha⁻¹, respectivamente. Não se observaram diferenças significativas entre as concentrações de selenito para o mesmo genótipo.

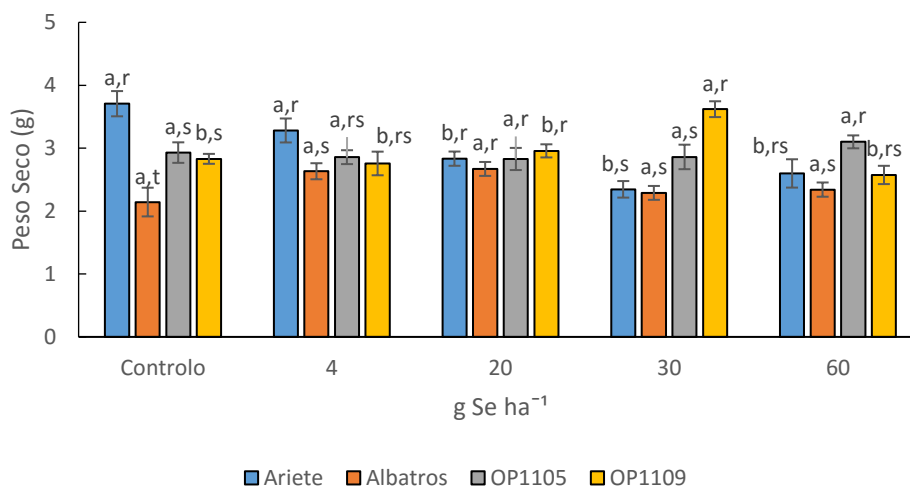


Figura 3.13. Peso da panícula (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenato) em 5 tratamentos, cultivados no bloco com adubação de fundo (SL02). Valores médios ± SE (n = 12) com letras (a, b) iguais para o mesmo genótipo indicam ausência de diferenças significativas entre concentrações, e as letras (r, s) iguais entre os genótipos apontam ausência de diferenças significativas para a mesma concentração de selenato, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

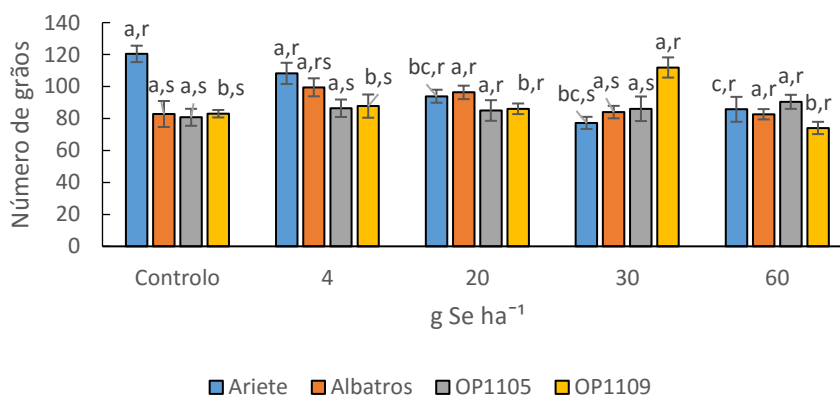


Figura 3.14. Produção do número de grãos por panícula em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenato) em 5 tratamentos, cultivados no bloco com adubação de fundo (SL02). Valores médios ± SE (n = 12) com letras (a, b) iguais para o mesmo genótipo indicam ausência de diferenças significativas entre concentrações, e as letras (r, s) iguais entre os genótipos apontam ausência de diferenças significativas para a mesma concentração de selenato, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

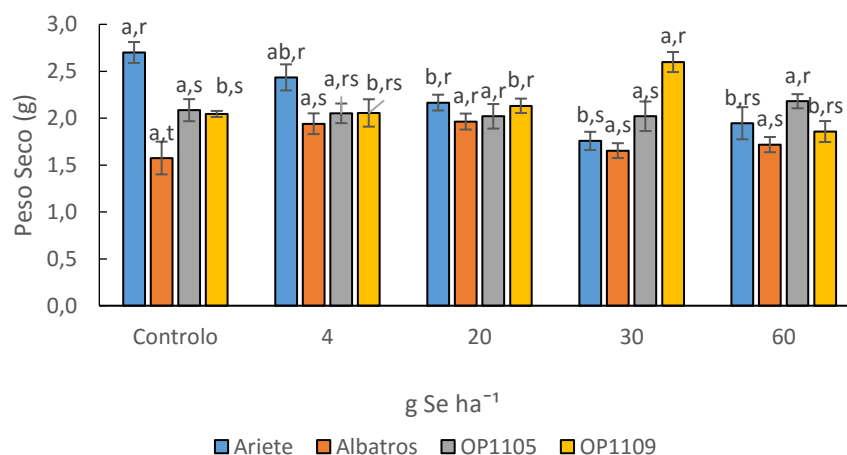


Figura 3.15. Peso dos grãos por panícula (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenato) em 5 tratamentos, cultivados no bloco com adubação de fundo (SL02). Valores médios \pm SE (n = 12) com letras (a, b) iguais para o mesmo genótipo indicam ausência de diferenças significativas entre concentrações, e as letras (r, s) iguais entre os genótipos apontam ausência de diferenças significativas para a mesma concentração de selenito, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Relativamente ao efeito da biofortificação no peso médio da panícula em plantas submetidas a aplicação foliar de selenato com adubação de fundo (Figura 3.13), não se observaram diferenças significativas entre as diferentes concentrações de Albatros e OP1105, contudo, observam-se diferenças significativas em Ariete, onde se constatou que as concentrações mais elevadas induziram uma redução significativa no peso da panícula. Em contrapartida, o aumento das concentrações de selenato favoreceu o genótipo OP1105, que apresentou pesos médios da panícula mais elevados no tratamento com 30 g Se ha⁻¹. Tendência similar foi ainda observada relativamente ao número de grãos e ao peso médio dos grãos.

3.1.5.2. Peso de Mil Grãos

Na tabela 3.8 apresentam-se os dados relativos ao peso de mil grãos (PMG) no ensaio de campo do 1º ano.

Tabela 3.8. Peso de Mil Grãos (PMG) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 5 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respetivamente). Valores médios (n = 4) com letras (a - e) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, indicam ausência de diferenças significativas entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Peso de Mil Grãos (g)											
Bloco	Genótipo	0 g se ha ⁻¹		4 g Se ha ⁻¹		20 g Se ha ⁻¹		30 g Se ha ⁻¹		60 g Se ha ⁻¹	
SL01 ITO	Ariete	24,39	(ab; r)	24,25	(abc; r)	23,97	(abcd; r)	23,06	(bcd; r)	24,1	(abc; r)
	Albatros	22,31	(abcd; r)	21,76	(bcde; r)	23,18	(abcd; r)	21,74	(cde; r)	22,29	(bc; r)
	OP1105	22,80	(abcd; r)	24,84	(abc; r)	25,78	(ab; r)	26,14	(ab; r)	24,41	(abc; r)
	OP1109	25,69	(a, r)	26,13	(a, r)	26,55	(a, r)	27,54	(a, r)	27,09	(a; r)
SL01 ATO	Ariete	25,76	(a, r)	24,22	(abc; r)	24,89	(ab; r)	24,34	(abc; r)	24,59	(ab; r)
	Albatros	21,17	(bcd, s)	21,01	(cde; s)	21,85	(bcd; rs)	25,12	(abc; r)	22,50	(bc; rs)
	OP1105	24,45	(ab; r)	25,47	(ab, r)	25,16	(ab; r)	24,31	(abc; r)	25,26	(ab; r)
	OP1109	25,52	(a; r)	23,79	(abcd; r)	26,41	(a; r)	25,27	(abc; r)	24,86	(ab; r)
SL02 ITO	Ariete	22,33	(abcd, r)	23,13	(abcd; r)	22,47	(abcd; r)	22,86	(bcd; r)	22,87	(abc; r)
	Albatros	19,89	(cd; rs)	18,76	(e; s)	19,92	(d; rs)	17,82	(e; s)	22,91	(abc; r)
	OP1105	23,19	(abc; r)	22,32	(abcde; r)	23,62	(abcd; r)	23,82	(abcd; r)	23,40	(abc; r)
	OP1109	23,54	(abc; r)	23,16	(abcd; r)	23,18	(abcd; r)	24,04	(abcd; r)	25,84	(ab; r)
SL02 ATO	Ariete	22,03	(abc; r)	22,51	(abcde; r)	22,54	(abcd; r)	22,47	(bcd; r)	22,29	(bc; r)
	Albatros	18,77	(d; r)	19,84	(de; r)	20,34	(cd; r)	19,78	(de; r)	20,23	(c; r)
	OP1105	25,70	(a; r)	22,78	(abcde; r)	23,12	(abcd; r)	23,34	(abcd; r)	24,21	(abc; r)
	OP1109	24,48	(ab; r)	23,56	(abcd; r)	24,35	(abcd; r)	23,60	(abcd; r)	25,07	(ab; r)

Relativamente ao efeito das aplicações das diferentes concentrações de selenito (ITO) ou selenato (ATO) no resultado do PMG, observou-se que a biofortificação não influenciou o PMG na maioria dos genótipos, tendo-se verificado que apenas em Albatros (SL01 ATO) que as concentrações mais elevadas induziram um aumento de PMG.

Nas pulverizações com selenito (ITO) e com adubação de fundo (SL02), este mesmo genótipo apresentou valores crescentes quando foram aplicadas 60 g Se ha⁻¹. Por outro lado, a Albatros, face as outras variedades / genótipos estudados, apresentou os índices do PMG mais baixos, aspeto que terá decorrido das características biométricas do grão (*i.e.*, grão mais fino). Assim como nos parâmetros anteriormente apresentados, o OP1109 destacou-se com valores mais elevados de produção, e nalgumas concentrações diferiu apenas de Albatros que revelou valores relativamente mais baixos.

3.1.5.3. Produção Final dos Grãos

Equacionando as aplicações foliares, para o mesmo genótipo, não se verificaram diferenças significativas relativamente à produção final de grãos entre as concentrações de selenito (ITO) ou selenato (ATO). De acordo com a figura 3.16 foi possível observar que a adubação de fundo (SL02) não afetou positivamente o rendimento da produção final. De fato, este tratamento induziu uma redução da produção da Albatros face ao bloco sem adubação de fundo (SL01). Entre as variedades / genótipos, a Albatros destacou-se com os rendimentos mais elevados, e aponte-se ainda que este genótipo também produziu um maior número de grãos, destacando-se, portanto, dos restantes. Acresce ainda que o tratamento estatístico revelou diferenças significativas, para a Albatros, entre os resultados do bloco SL01 e SL02.

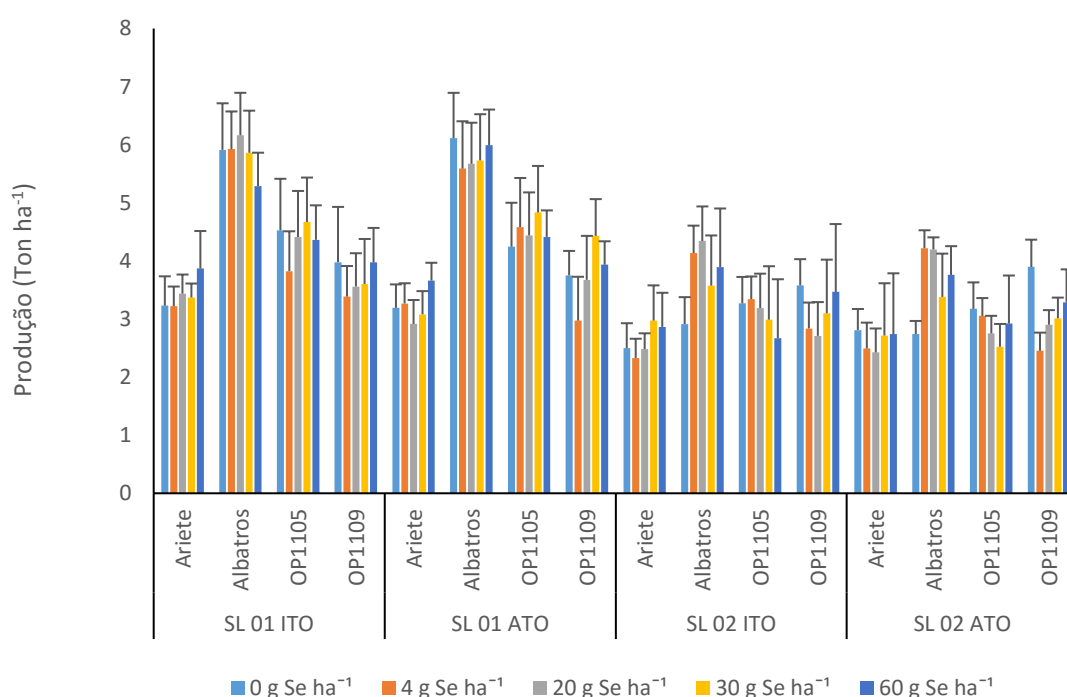


Figura 3.16. Produção final dos grãos (ton ha⁻¹) em 4 variedades de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 5 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respetivamente). Valores médios ($m \pm SE$; $n = 4$).

O efeito da aplicação do selenito (ITO) sem adubação de fundo (SL01) apresentou os valores mais expressivos, contudo, na maioria dos genótipos essas diferenças não foram significativas relativamente à produção final dos grãos. Neste contexto, os resultados de Ariete, OP1105 e OP1109 sugerem que, as formas de Se aplicadas e a adubação de fundo não induzem alterações na produção. Aponte-se, contudo, que Zhang *et al.* (2014) reportaram que o rendimento em grãos aumentou significativamente com a aplicação de Se. O maior rendimento de grãos 8,164 ton ha⁻¹ ocorreu na área tratada com 50 g Se ha⁻¹ e foi 0,953 ton ha⁻¹ maiores do que a área tratada com 0 g Se ha⁻¹. No entanto, à medida que foram aplicadas concentrações mais altas de Se, os rendimentos de grãos diminuíram. Ainda segundo estes autores, os rendimentos de grãos aumentaram significativamente devido ao prolongamento da fase de

enchimento, e os rendimentos individuais de grãos também aumentaram devido à aplicação de Se durante a fase de enchimento. Diferenças significativas nos rendimentos de grãos também foram observadas por Ekanayake *et al.* (2015), que realizaram um estudo com genótipos de lentilha (*Lens culinaris*). Com aplicação de baixas concentrações de Se, estes autores verificaram que o rendimento dos grãos de lentilha e a atividade antioxidante aumentaram em comparação com o controle não tratado. Uma possível explicação para o aumento da produção de grãos de lentilha, segundo estes autores, pode ser atribuída ao aumento da atividade antioxidante que poderá proteger o metabolismo da fotossíntese. Neste enquadramento concluíram que a fertilização com selenito será mais benéfica no aumento da produção de grão do que com selenato, no entanto o selenato seria mais benéfico no aumento da concentração de Se nas sementes e na atividade antioxidante. Da mesma forma, outros autores também apontaram um efeito positivo para a aplicação de Se em diversas culturas, incluindo batata, azevém (*Lolium perenne* L.), alface e mostarda (*Brassica rapa* L.) (Hartikainen *et al.*, 2000; Lyons *et al.*, 2009 e Turakainen *et al.*, 2004). Adicionalmente, Poblaciones *et al.* (2014), ao estudarem o comportamento do trigo duro biofortificado com Se, em condições mediterrânicas, com quatro concentrações (0,10, 20 e 40 g ha⁻¹), observaram que nenhuma das aplicações de Se teve um efeito significativo depreciativo no rendimento de grãos ou qualidade. Note-se que, para os autores, este aspeto foi considerado relevante, porque seria muito difícil de implementar com sucesso um programa de biofortificação junto dos agricultores, se a produtividade da cultura fosse menor em consequência da aplicação de Se.

As respostas das plantas de arroz à aplicação de Se têm sido relatadas, destacando-se diferenças substanciais na produtividade de grãos e no teor de Se de diferentes cultivares de arroz expostas aos mesmos níveis de Se (Geng *et al.*, 2010; Zhang, 2011). Tal fato também foi observado no nosso estudo, onde se verificou variação entre as diferentes cultivares expostas as mesmas condições de biofortificação.

3.1.6. Mobilização e Acumulação de Elementos Minerais

3.1.6.1. Concentração Total nas Folhas

As plantas retiram o C, o H, e o O do ar e da água, enquanto os demais nutrientes são absorvidos, na forma de íons inorgânicos, da solução do solo, pelas raízes. Em virtude da quantidade absorvida pelas plantas, os nutrientes essenciais são divididos em macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) e em micronutrientes (Zn, Fe, Cu, Mn, B, Mo e Cl) e, para serem absorvidos, é necessário que se encontrem na forma disponível e nas concentrações e proporções adequadas para atender à necessidade da planta (Veloso *et al.*, 2009).

No quadro 3.1 apresentam-se os teores dos elementos minerais na parte aérea no 136º dia após a sementeira. Foram abordados no nosso estudo o Fe, Zn, K e Ca, devido a respetiva interação (positiva e negativa) com as formas de Se, de acordo com alguns autores (aponte-se a título de exemplo: Guerrero *et al.*, 2014; Molnárová e Fargasová, 2009 e Zembala *et al.*, 2010).

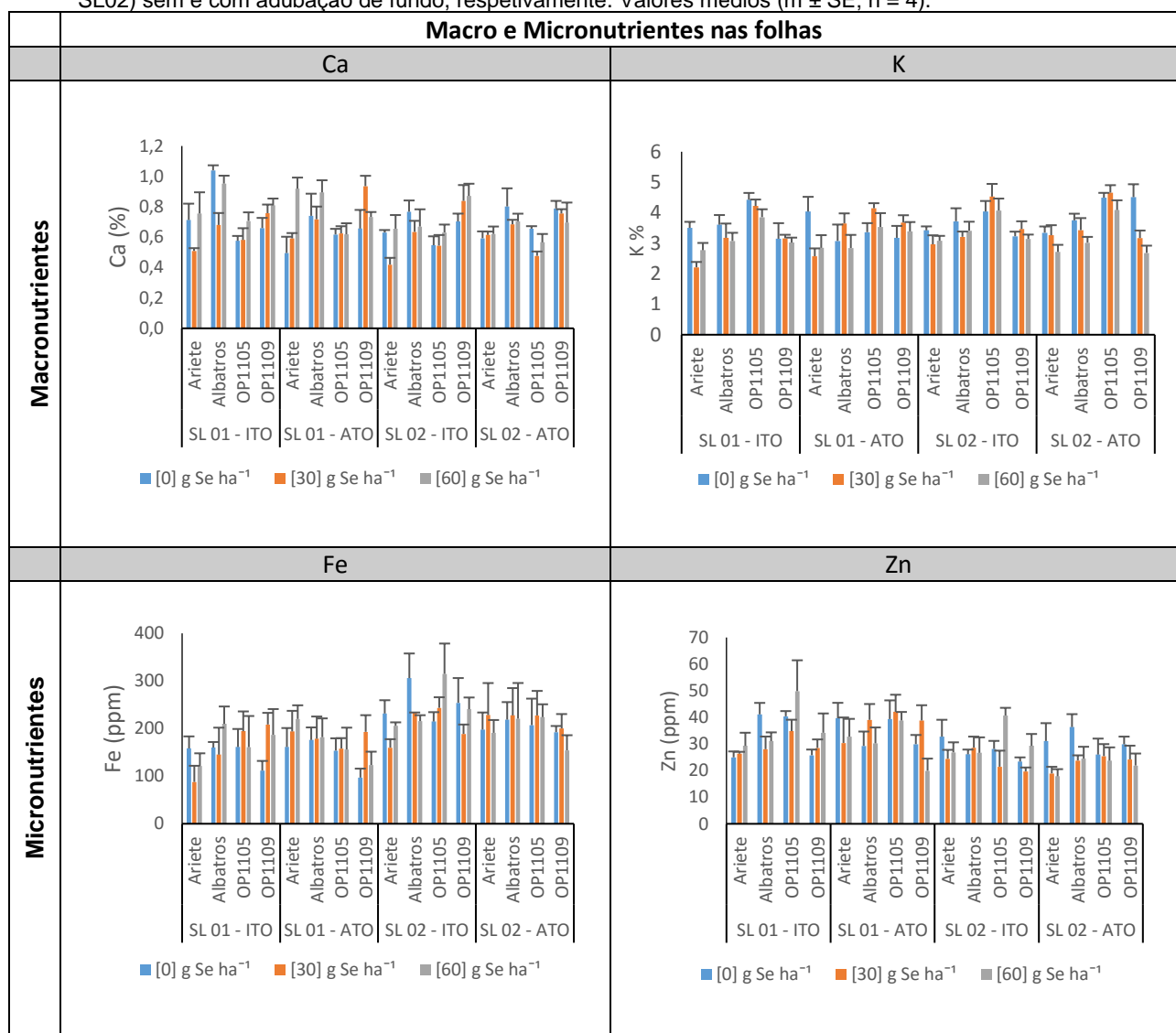
Relativamente à deposição de Ca nas folhas observou-se que o tratamento 30 g Se ha⁻¹ provocou ligeiras reduções na Ariete e Albatros, no bloco SL01 ITO, sendo que a concentração mais elevada da biofortificação não diferiu do controlo para estas mesmas variedades. Guerrero *et al.* (2014), num estudo com plantas de trigo biofortificadas com selenito e selenato, observaram que a absorção de Ca foi mais afetada por baixas exposições de Se do que pelas concentrações mais elevadas (*i.e.*, níveis considerados tóxicos), especialmente quando aplicado na forma de selenato. No bloco SL02 não se verificaram diferenças significativas. Guerrero *et al.* (2014), também não observaram nenhuma alteração na parte aérea.

As exigências em Ca na planta de arroz são baixas quando comparadas às de N, P e K (Veloso *et al.*, 2009). Segundo Fageria e Souza (1995), os teores de Ca adequados em toda a parte superior da planta, com 100 dias de idade, situam-se entre 0,25 – 0,4% e os valores tóxicos atingem-se acima de 0,65%. Com base nesses dados, pode afirmar-se que, no nosso estudo, a maioria das plantas (dos respetivos tratamentos) possuía níveis adequados de Ca. O Ca é integrante da parede celular e exerce um importante papel na manutenção da integridade da membrana plasmática (Marschner, 1995). As plantas raramente possuem uma fonte de Ca no solo suficiente para o crescimento, e as concentrações de Ca²⁺ na solução rizosfera geralmente encontram-se na gama milimolar (White e Broadley, 2003). O fornecimento de Ca²⁺ para as colheitas de campo é determinado pela geodisponibilidade dos solos, apontando-se a capacidade de permuta de catiões, a representação de Ca no conjunto base de catiões, a taxa na qual a mineralização da matéria orgânica do solo liberta Ca²⁺, e o pH da solução do solo (McLaughlin e Wimmer, 1999).

A resposta do arroz irrigado ao K não é tão expressiva como no caso do azoto e de fósforo, devido ao seu alto teor no solo e à possibilidade de libertação da fração de K não-permutável para a solução do solo. Contudo, o K acumula-se no arroz, especialmente nas cultivares modernas, em maior quantidade que qualquer outro nutriente essencial (Fageria e Santos, 2003). Adicionalmente, este nutriente aumenta a produção, melhora a qualidade do produto e confere à planta maior resistência às pragas e doenças (Fageria *et al.*, 1997; Fageria

e Santos, 2003). Quanto à análise foliar do nosso estudo, observaram-se decréscimos significativos nos teores de K apenas em Ariete (SL01 ATO e ITO) (Quadro 3.1), embora não se tenham observado deficiências, considerando-se que todos os genótipos possuíam níveis adequados de K. Segundo Fageria e Souza (1995), os teores adequados em toda a parte aérea situam-se entre 1,5 a 4%. Estes resultados corroboram com a indicação de Sanes *et al.* (2013) que encontraram valores semelhantes para o K na parte aérea de plantas de arroz de 11 genótipos (2,9 – 4,3%). Guerrero *et al.* (2014) mostraram que o processo de biofortificação com selenito ou selenato não provocaram alterações significativas na acumulação de K na parte aérea de plantas de trigo. Guerrero *et al.* (2014) apontaram que nas concentrações mais baixas de Se o selenito teve maior efeito sobre a absorção de K do que selenato. Por oposição, nos níveis mais elevados não foram observadas diferenças significativas entre as duas formas de Se. Diferenças na distribuição de K entre os genótipos podem ainda condicionar um rendimento elevado. Por exemplo, Yang *et al.* (2004) relataram que genótipos de arroz cultivados com níveis adequados de K, na fase do emborrachamento, tinham uma maior concentração, ou seja, duas vezes mais de K nas folhas inferiores e uma concentração de 30% mais elevada nas folhas superiores. Estas concentrações mais elevadas K nas folhas (especialmente as folhas mais baixas) dos genótipos K-eficientes foram associados com maiores taxas fotossintéticas, permitindo às folhas manter uma capacidade fotossintética maior durante o enchimento de grãos. Tal observação também foi constatada no nosso estudo, onde o genótipo OP1105 (SL02 ITO) apresentou valores mais elevados de K, em termos gerais, também apresentou valores mais elevados na taxa fotossintética líquida (conforme apresentado anteriormente na tabela 3.4).

Quadro 3.1. Macronutrientes e micronutrientes nas folhas de 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos (SL01 e SL02) sem e com adubação de fundo, respectivamente. Valores médios ($m \pm SE$; $n = 4$).



Segundo Marschner (1995), a planta de arroz detem uma elevada tendência para absorver Fe, pois o ião ferroso é abundante em solos alagados e o ferro reduzido é absorvido facilmente. Após a absorção no córtex da raiz, o ferro reduzido (Fe^{2+}) pode alcançar o xilema após sua passagem simplástica através da faixa de Caspary. Paralelamente, uma grande parte de Fe^{2+} pode entrar no xilema diretamente através da passagem apoplástica (Asch, 1997). No nosso estudo constatou-se (Quadro 3.1) que nas folhas das plantas o Fe dos diferentes tratamentos se situou na faixa de 70 – 300 ppm, o que de acordo com Fageria e Souza (1995) corresponde ao nível ótimo para acumulação nesse órgão. Acresce ainda que não se detetaram diferenças significativas nos valores de Fe entre as concentrações de Se (0, 30 e 60 g Se ha⁻¹) em cada variedade / genótipo e em todos os blocos de cultivo. Identica tendência se constatou entre o mesmo genótipo nos diferentes blocos e nas duas formas de Se.

A raiz pode atuar como uma barreira para a translocação de metais na planta (Silva *et al.*, 2007). Guerrero *et al.* (2014) relataram que nas raízes e parte aérea, o selenato causou uma redução da absorção de Fe em plantas de trigo. Molnárová e Fargasová (2009) também encontraram um forte decréscimo na concentração dos pigmentos fotossintéticos no trigo submetido a teores elevados de Se, que poderão estar relacionados com baixos níveis de Fe na parte aérea. De fato, aponta-se que a estrutura e função dos cloroplastos são altamente dependentes de Fe localizado principalmente nas membranas fotossintéticas (Ladygin, 2004). Está ainda bem estabelecido que o aumento da absorção de Fe no arroz induz um acréscimo na taxa de crescimento e no rendimento em sementes, mas não necessariamente a um aumento da deposição de Fe nas sementes (Guerinot, 2007). Por oposição, teores excessivos de Fe, em condições de alagamento, conduzem à toxicidade de Fe, com reduções de rendimento que poderão atingir um valor mínimo de 12%, dependendo do genótipo, intensidade de tensão e as características do solo (Sahrawat, 2004).

O teor de Zn nas plantas está diretamente correlacionado com a taxa de crescimento das plantas, o rendimento das culturas e a qualidade nutricional do produto (Cakmak, 2008). Segundo Prado *et al.* (2008), a maior acumulação de Zn nas raízes, comparativamente à parte aérea, decorre desse órgão por atuar como “barreira” do elemento, para diminuir a possibilidade de toxicidade nas plantas, constituindo um mecanismo de tolerância. Considera-se que o nível adequado de Zn na parte aérea de arroz pode oscilar entre 20 – 150 ppm (Fageria e Souza, 1995), situando-se os níveis tóxicos acima de 500 ppm de matéria seca (Fageria, 1992). No âmbito do nosso estudo verificou-se que os níveis de Zn na parte aérea se encontravam dentro da faixa considerada adequada, portanto não se verificando deficiências ou toxicidade. Contudo, verificou-se que em algumas plantas biofortificadas ocorreram diferenças significativas nos teores foliares de Zn. O genótipo OP1109 (SL01 ATO) apresentou variações nos teores de Zn, com redução significativa na concentração de 60 g Se ha⁻¹; verificou-se ainda um comportamento oposto no genótipo OP1105, mas com aplicações de selenito no bloco SL02 (com adubação de fundo), no qual a máxima concentração de Se induziu a um valor mais elevado de Zn. A comparação entre os blocos, mostrou que, sob condições controle e nas aplicações de 30 g Se ha⁻¹, não ocorreram diferenças entre os genótipos cultivados nos diferentes blocos, porém com a concentração máxima de Se subsistiu alguma variação, e evidenciaram-se teores mais elevados de Zn no bloco sem adubação de fundo, no genótipo OP1105 (SL01 ITO), que diferiu de OP1105 cultivado sob condições biofortificadas com selenato no bloco SL02 (Quadro 3.1). Guerrero *et al.* (2014) observou que em plantas de trigo biofortificadas com diferentes concentrações de selenito e selenato, o Zn apresentou reduções significativas nas raízes quando foram aplicadas as concentrações mais elevadas nas plantas. Estes autores relataram que os micronutrientes foram mais afetados pela presença de Se do que os macronutrientes, e aqueles elementos que se acumulam mais nas raízes, principalmente (Ca, Fe, Mn e Zn) foram mais sensíveis à presença de Se. Estudos realizados por Zembala *et al.* (2010) com a planta de colza (*Brassica napus*) e trigo (*Triticum spp.*) também mostraram que a aplicação de Se incrementou

as concentrações de Zn, embora tenham diminuído as concentrações de Fe na planta (raízes e parte aérea), e reportaram ainda que o impacto do Se é menor aos macronutrientes.

3.1.6.2. Concentração Total de Elementos Minerais no Grão

No arroz os teores em micronutrientes não são suficientes para atender as necessidades alimentares diárias recomendadas para manter a boa saúde. Acresce que o arroz moído é deficiente em muitos micronutrientes essenciais, nomeadamente Fe, Zn, vitamina E e vitamina A (Tan *et al.*, 2005; Vasconcelos *et al.*, 2003). Embora o arroz não seja considerado rico em elementos minerais, pode ser uma fonte nutricional relevante para aqueles que o consomem como alimento de base, pois fornece calorias e minerais (Zhang *et al.*, 2014). Assim, um incremento nas concentrações de elementos minerais nos grãos de arroz, em especial nos países em vias de desenvolvimento, poderá ser extremamente benéfico.

Na tabela 3.9 apresentam-se os teores de Se em amostras de arroz moído (farinha integral).

Tabela 3.9. Teores de Se (mg Kg^{-1}) em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos (SL01 e SL02) sem e com adubação de fundo, respetivamente. Valores médios ($n = 3$) com letras (a – h) iguais na coluna e letras (r, s, t) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Bloco	Genótipo	Se (mg Kg^{-1})		
		0 g Se ha^{-1}	30 g Se ha^{-1}	60 g Se ha^{-1}
SL01 ITO	Ariete	0,067 (ab; t)	1,169 (a; s)	1,426 (c; r)
	Albatros	0,034 (b; t)	1,148 (a; s)	2,285 (a; r)
	OP1105	0,050 (ab; t)	1,104 (ab; s)	2,042 (b; r)
	OP1109	0,049 (ab; t)	0,818 (c; s)	1,207 (d; r)
SL01 ATO	Ariete	0,064 (ab; t)	0,349 (fg; s)	0,839 (ef; r)
	Albatros	0,029 (b; t)	0,528 (de; s)	0,757 (f; r)
	OP1105	0,039 (b; t)	0,272 (g; s)	0,428 (gh; r)
	OP1109	0,084 (ab; t)	0,254 (g; s)	0,817 (ef; r)
SL02 ITO	Ariete	0,111 (ab; t)	0,555 (d; s)	0,909 (e; r)
	Albatros	0,128 (ab; t)	0,849 (c; s)	1,431 (c; r)
	OP1105	0,135 (ab; t)	0,998 (b; s)	1,323 (cd; r)
	OP1109	0,184 (a; t)	0,539 (de; s)	0,887 (ef; r)
SL02 ATO	Ariete	0,107 (ab; t)	0,285 (fg; s)	0,512 (g; r)
	Albatros	0,118 (ab; s)	0,413 (ef; r)	0,453 (gh; r)
	OP1105	0,054 (ab; s)	0,336 (fg; r)	0,35 (h; r)
	OP1109	0,133 (ab; t)	0,272 (g; s)	0,373 (h; r)

Verificou-se um incremento progressivo de Se nos grãos, à medida que as concentrações foliares de Se foram aumentadas (Tabela 3.9). Os maiores teores de Se foram observados nas plantas cultivadas no bloco SL01 ITO, ou seja, sem adubação de fundo, com

aplicação foliar de selenito, destacando-se os genótipos Albatros e OP1105. Os teores de Se nos grãos de arroz foram ainda afetados significativamente pela interação entre concentrações e formas de Se. Os maiores teores desse elemento foram observados quando se utilizou o Se na forma de selenito (ITO). Segundo Boldrin *et al.* (2012), o efeito observado no nosso estudo poderá ter decorrido dos seguintes fatores: maior taxa de absorção foliar e translocação do Se; maior eficiência na redistribuição desse elemento para os grãos. Estes resultados parecem apoiar ainda as observações de Hu *et al.* (2002), que relataram um aumento superior a 10 vezes no teor de Se no grão de arroz, após uma única aplicação por pulverização foliar de 14 – 18 g ha⁻¹ na fase de espigamento. Aponta-se, neste contexto, ainda o estudo de Wang *et al.* (2013 b) que indicou que o arroz pulverizado com selenito de sódio (10,5 g de Se ha⁻¹) promoveu um aumento do teor de Se até 51 vezes, a partir de 0,03 µg g⁻¹ no controle de 1,54 µg g⁻¹. Fang *et al.* (2009) mostraram ainda que as aplicações foliares de 100 g ha⁻¹ de selenito conduziram a um aumento de 55 vezes no teor de Se de grãos de arroz (de 0,032 para 1,79 mg kg⁻¹).

A nível nutricional, os teores recomendados de Se no grão devem oscilar entre 0,1 – 0,2 mg kg⁻¹ de matéria seca. Em diversas partes do mundo, a disponibilidade de Se no solo é tão baixa que o conteúdo de Se nas culturas produzidas está muito abaixo dos valores recomendados (Eich-Greatorex, 2007). A ingestão de Se diária recomendada em seres humanos é de 55 µg dia⁻¹, e estudos mostraram que numa dieta adequada para adultos deve ter pelo menos 40 µg Se dia⁻¹, para suportar a expressão máxima das selenoenzimas, e eventualmente cerca de 300 µg Se dia⁻¹ para reduzir o risco de cancro (Navarro-Alarcon e Cabrera-Vique, 2008). Assim, se cerca de 100 – 200 g de arroz enriquecido em Se forem consumidos como alimento de base por um adulto, irá suprir os requisitos de Se por dia (150 – 300 µg), e poderá reduzir o risco de cancro naqueles que consumirem o arroz biofortificado regularmente (Yu-Dong *et al.*, 2013). Num estudo realizado por Chen *et al.* (2002), o conteúdo de Se no arroz sofreu aumento significativo de 0,071 para 0,471 µg g⁻¹ com aplicação foliar de fertilizante enriquecida com Se a uma taxa de 20 g de Se ha⁻¹, sob a forma de selenito de sódio. No entanto, contrariamente ao observado no nosso estudo, estes mesmos autores reportaram que o conteúdo de Se no arroz por aplicação de selenato foi 35,9% mais elevado do que pelo selenito (apontando-se assim que o fertilizante selenato exibiu maior eficácia no aumento do teor de Se no arroz). Lyons *et al.* (2005 b) estudaram a biofortificação de plantas de trigo com Se aplicado como selenato de sódio a taxas de 4 – 120 g Se ha⁻¹, e verificaram um aumento na concentração de Se até 133 vezes quando aplicado no solo ou superior a 20 vezes, quando aplicado como uma pulverização foliar depois da floração. Estes mesmos autores indicaram que a técnica de biofortificação agronómica pode ser usada por empresas de alimentos como um método de baixo custo para produzir altas concentrações de Se em produtos que contenham mais Se na sua forma mais desejada, ou seja, selenometionina.

A eficácia do selenato, face ao selenito, também foi constatada por Hart *et al.* (2011) num estudo com trigo biofortificado em Se (como selenato), pois a concentração de Se na farinha oscilou entre 30 ng g⁻¹ (na farinha branca) e 35 ng g⁻¹ (na farinha integral) nas parcelas não

tratadas, atingindo-se até $> 1.800 \text{ ng g}^{-1}$ (na farinha branca) e $> 2.200 \text{ ng g}^{-1}$ (na farinha integral) processada a partir de grãos tratados com Se com a maior taxa de aplicação de 100 g ha^{-1} .

Contrariamente aos resultados obtidos no nosso estudo (Figura 3.17), Boldrin *et al.* (2013) verificaram que a aplicação de selenato no solo proporcionou um maior teor Se nos grãos, sendo 450% mais elevada do que a aplicação foliar desta fonte de Se. Por outro lado, Curtin *et al.* (2006) observaram que o Se aplicado ao solo no decurso da sementeira foi menos eficaz do que o fertilizante aplicado ao nível foliar no decurso do ciclo de vida das plantas. Além disso, os tecidos em crescimento ativo contêm grandes quantidades de Se (Kahakachchi *et al.*, 2004) e a acumulação é mais elevada na parte aérea do que em tecidos da raiz (Zayed *et al.*, 1998). Assim, para melhorar o conteúdo do Se em plantas, a pulverização foliar com Se parece ser mais viável e eficaz do que a aplicação no solo (Kapolna *et al.*, 2009). De fato, a aplicação foliar facilita o transporte de Se através do xilema e floema (Boldrin *et al.*, 2013). Acresce ainda que Poggi *et al.* (2000) observaram uma grande mobilidade de Se no floema de plantas de batata por pulverização foliar de Se. A pulverização foliar de Se foi relatado também como um promotor de crescimento em vegetais, como bolbos de cebola e folhas (Kapolna *et al.*, 2012), raízes de cenoura e folhas (Kapolna *et al.*, 2009), flores de rabanete e folhas (Hladun *et al.*, 2013), bem como bolbos de alho (Pöldma *et al.*, 2011) e cereais, nomeadamente o arroz (Boldrin *et al.*, 2013) e o trigo (Yao *et al.*, 2013).

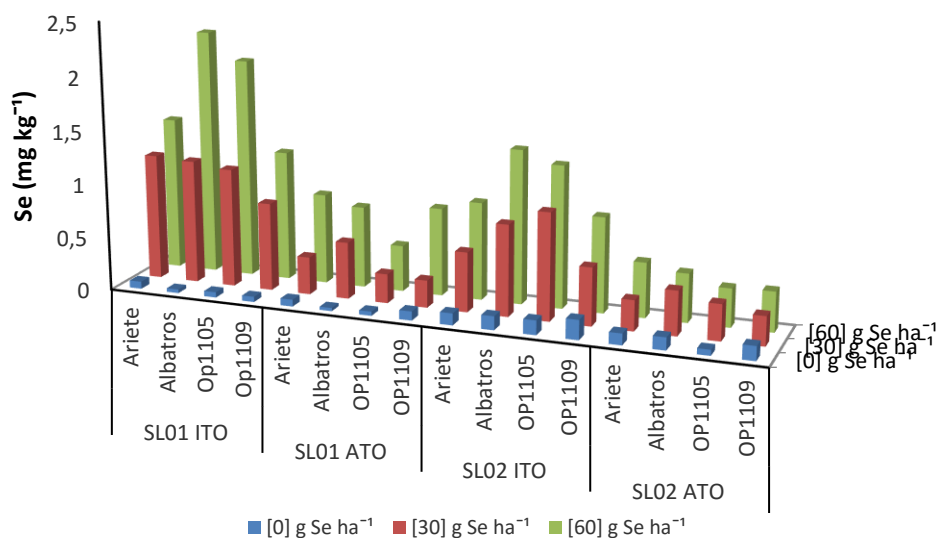


Figura 3.17. Teor de Se (mg Kg^{-1}) em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos (SL01 e SL02) sem e com adubação de fundo, respetivamente. Valores médios ($n = 3$).

As análises quantitativas dos elementos minerais foram analisadas recorrendo-se à técnica de Espectrofluorimetria Acoplada com Raio X. Os resultados (Tabela 3.10) mostram uma pequena variação entre os tratamentos aplicados nas variedades / genótipos em estudo,

nomeadamente na variedade Albatros, que apresentou um aumento significativo nas concentrações de Zn, quando se aplicou a concentração máxima de selenito no bloco sem adubação de fundo (SL01 ITO). Por oposição, observou-se que para esta mesma variedade a aplicação de selenato (60 g Se ha⁻¹) com adubação de fundo (SL 02 ATO), induziu uma redução significativa nos teores de Zn, face ao controlo. Relativamente às restantes variedades / genótipos, o tratamento de biofortificação com selenito ou selenato, não provocou alterações nos teores totais de Zn no grão. Fang *et al.* (2008) também verificaram que não houve efeitos proeminentes de Zn sobre o conteúdo de 15 g Se ha⁻¹ aplicado ao nível foliar. Estes resultados sugerem que esses elementos serão metabolizados e assimilados por vias diferentes, e assim não competem entre si (Sors *et al.*, 2005).

Tabela 3.10. Teores de Zn (ppm) em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos (SL01 e SL02) sem e com adubação de fundo, respetivamente. Valores médios (n = 3) com letras (a, b, c) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Bloco	Genótipo	Zn (ppm)		
		0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO	Ariete	28,82 (a; r)	23,21 (abc; r)	25,26 (b; r)
	Albatros	29,15 (a; s)	22,85 (abc; s)	44,81 (a; r)
	OP1105	20,84 (a; r)	19,94 (abc; r)	25,85 (ab; r)
	OP1109	26,73 (a; r)	28,97 (abc; r)	22,42 (b; r)
SL01 ATO	Ariete	25,08 (a; r)	34,06 (ab; r)	28,05 (ab; r)
	Albatros	39,25 (a; r)	34,98 (ab; r)	30,00 (ab; r)
	OP1105	34,69 (a; r)	28,63 (abc; r)	24,68 (b; r)
	OP1109	30,34 (a; r)	38,07 (a; r)	34,92 (ab; r)
SL02 ITO	Ariete	25,45 (a; r)	16,28 (bc; r)	21,34 (b; r)
	Albatros	29,34 (a; r)	17,37 (bc; r)	29,57 (ab; r)
	OP1105	21,60 (a; r)	13,63 (c; r)	25,72 (ab; r)
	OP1109	23,13 (a; r)	26,05 (abc; r)	22,73 (b; r)
SL02 ATO	Ariete	21,81 (a; r)	24,16 (abc; r)	16,09 (b; r)
	Albatros	32,73 (a; r)	28,19 (abc; rs)	18,18 (b; s)
	OP1105	20,54 (a; r)	26,58 (abc; r)	20,02 (b; r)
	OP1109	31,87 (a; r)	38,45 (a; r)	29,65 (ab; r)

O Zn é um micronutriente essencial necessário para o crescimento normal e saudável das plantas, animais e seres humanos (Alloway, 2008). A deficiência de Zn ocorre em cerca de metade da população do mundo, e causa problemas gerais associados com o crescimento e desenvolvimento, incluindo má formações em fetos, atraso no crescimento das crianças e aumento da suscetibilidade a doenças infecciosas (Cakmak, 2008; Graham *et al.*, 2012 e Prasad, 2012). Equacionando a concentração de Zn nas sementes de arroz em situações controlo, usualmente esta oscila entre 8,9 – 95 ppm de peso seco (Yang *et al.*, 1998) ou 0,47 – 0,79 ppm por semente (Wissuwa *et al.*, 2006), dependendo estes teores da geodisponibilidade do solo (Wissuwa *et al.*, 2008; Wissuwa *et al.*, 2006).

A interface raiz-solo é a primeira e mais importante barreira que afeta a absorção de Zn (Welch e Graham, 2002). O transporte de Zn nas plantas ocorre simultaneamente através do xilema e do floema. Após a absorção pela raiz, o Zn é rapidamente transportado pelo xilema para a parte aérea (Wu *et al.*, 2011). Na planta de arroz, o adequado suprimento de Zn conduz a uma elevada proporção de Zn localizado na parte aérea (especialmente nos caules). Nawaz *et al.* (2015 a), num estudo para avaliar o efeito de diferentes métodos de aplicação de Se no conteúdo de Se em grãos de trigo e na acumulação, bem como, o teor de outros elementos incluindo o Zn em grãos sob condições normais e de stresse hídrico, verificaram que a aplicação foliar de Se incrementou os teores de Zn em plantas sob stresse, enquanto que em plantas sob condições normais as alterações não foram significativas.

O Zn possui uma elevada taxa de translocação, estando a sua remobilização estreitamente relacionada com a senescência foliar. Wissuwa *et al.* (2008) sugeriram que a retranslocação de Zn na planta, especialmente na fase de desenvolvimento final, pode ser também importante para a acumulação de Zn no arroz. Aponte-se, contudo, que o processo de mobilização do Zn na planta de arroz, e respetivo mecanismo de acumulação no grão, ainda não estão claros (Bashir *et al.*, 2012).

Tabela 3.11. Percentagem de Ca em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos (SL01 e SL02) sem e com adubação de fundo, respetivamente. Valores médios (n = 3) com letras (a, b) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Bloco	Genótipo	Ca (%)		
		0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO	Ariete	0,181 (a; r)	0,150 (a; r)	0,150 (b; r)
	Albatros	0,218 (a; r)	0,171 (a; r)	0,221 (ab; r)
	OP1105	0,179 (a; r)	0,153 (a; r)	0,191 (ab; r)
	OP1109	0,201 (a; r)	0,138 (a; s)	0,152 (b; rs)
SL01 ATO	Ariete	0,154 (a; r)	0,147 (a; r)	0,183 (b; r)
	Albatros	0,138 (a; s)	0,176 (a; s)	0,275 (a; r)
	OP1105	0,158 (a; r)	0,162 (a; r)	0,159 (b; r)
	OP1109	0,144 (a; r)	0,171 (a; r)	0,159 (b; r)
SL02 ITO	Ariete	0,189 (a; r)	0,111 (a; s)	0,166 (b; rs)
	Albatros	0,173 (a; r)	0,126 (a; r)	0,173 (b; r)
	OP1105	0,180 (a; r)	0,118 (a; r)	0,170 (b; r)
	OP1109	0,189 (a; r)	0,186 (a; r)	0,162 (b; r)
SL02 ATO	Ariete	0,154 (a; r)	0,138 (a; r)	0,121 (b; r)
	Albatros	0,208 (a; r)	0,153 (a; r)	0,147 (b; r)
	OP1105	0,169 (a; r)	0,132 (a; r)	0,124 (b; r)
	OP1109	0,179 (a; r)	0,151 (a; r)	0,157 (b; r)

Reconhece-se atualmente que uma alimentação rica em Ca pode ajudar a prevenir a osteoporose (Wax, 2015). Nesta perspectiva, Kennedy e Burlingame (2003), num estudo sobre a composição nutricional do arroz, reportaram que o conteúdo médio de Ca oscila em torno de 0,026 g 100 g⁻¹ ps. Neste enquadramento aponte-se que os valores encontrados no nosso estudo estão acima da média descrita por Kennedy e Burlingame (2003).

Na tabela 3.11, é possível observar que o processo de biofortificação foliar promoveu ligeiras alterações significativas, constatando-se que a concentração de 30 g Se ha⁻¹ afetou

negativamente os teores de Ca no genótipo OP1109 (SL01 ITO). A máxima concentração também não apresentou diferença significativa face aos grãos das plantas não biofortificadas deste mesmo genótipo. A variedade Albatros (SL01 ATO) apresentou um incremento significativo nas percentagens de Ca quando se aplicou a concentração máxima de Se. No bloco SL02 (aplicação foliar e solo), observaram-se apenas alterações na aplicação com selenito (ITO), onde a concentração 30 g Se ha⁻¹ induziu o decréscimo de Ca em Ariete, e esta não diferiu da máxima concentração 60 g Se ha⁻¹. Adicionalmente, a análise estatística revelou não haver diferenças significativas entre as variedades / genótipos cultivados nos diferentes blocos, exceto na concentração de 60 g Se ha⁻¹, onde foi possível constatar variações do bloco SL01 face ao bloco SL02, nomeadamente na variedade Albatros (SL01 ATO).

O K é um elemento essencial para animais e seres humanos, sendo responsável pela manutenção do aporte eletrolítico, em particular das células musculares (Römheld e Kirkby, 2010). Segundo Welch e Graham (2004), o requisito mínimo de ingestão de K em homens e mulheres é 2 g. Segundo a Plataforma Portuguesa de Informação Alimentar (PortFIR, 2016), os teores médios de K encontrados em arroz integral cru oscilam em torno de 0,25%. A ingestão dietética humana de K, no entanto, é muitas vezes demasiado baixa, cerca de um terço da ingestão necessária (He e MacGregor, 2008). E é ainda muito mais baixa, em populações rurais dos países em desenvolvimento, em que a dieta básica é dominada por produtos de cereais com baixos teores de K. Nas sociedades modernas, o forte declínio de K na dieta está relacionado com o grande aumento no consumo de alimentos processados e a diminuição em frutas, situação que tende a incrementar a prevalência de problemas de saúde.

Quanto ao efeito da biofortificação com Se sobre os níveis de K, tal como observado nas folhas, a acumulação de K nos grãos também apresentou reduções significativas na variedade Ariete (SL01 ITO) biofortificada com 30 g Se ha⁻¹, no entanto, nos restantes genótipos ou variedades estudadas no bloco SL01 ITO não se verificaram alterações (Tabela 3.12). Por outro lado, a máxima aplicação de selenato (ATO) efetuada no bloco SL01 ATO promoveu um aumento significativo na variedade Albatros e no genótipo OP1109.

Tabela 3.12. Percentagem de K em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos (SL01 e SL02) sem e com adubação de fundo, respetivamente. Valores médios (n = 3) com letras (a - e) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Bloco	Genótipo	K (%)		
		0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO	Ariete	1,39 (abcd; r)	0,83 (c; s)	1,19 (ab; r)
	Albatros	1,21 (bcde; r)	1,03 (bc; r)	1,29 (ab; r)
	OP1105	1,40 (abcd; r)	1,29 (abc; r)	1,22 (ab; r)
	OP1109	1,26 (abcde; r)	1,14 (abc; r)	1,26 (ab; r)
SL01 ATO	Ariete	1,20 (bcde; r)	1,01 (bc; r)	1,19 (ab; r)
	Albatros	0,88 (e; s)	1,11 (abc; s)	1,48 (a; r)
	OP1105	1,07 (cde; r)	1,25 (abc; r)	1,11 (ab; r)
	OP1109	0,94 (de; s)	1,31 (ab; r)	1,16 (ab; rs)
SL02 ITO	Ariete	1,32 (abcde; r)	0,97 (bc; s)	1,33 (ab; r)
	Albatros	1,23 (abcde; r)	0,88 (bc; s)	1,14 (ab; r)
	OP1105	1,69 (a; s)	1,26 (abc; s)	1,55 (a; r)
	OP1109	1,47 (abc; r)	1,51 (a; r)	1,33 (ab; r)
SL02 ATO	Ariete	1,34 (abcde; r)	1,09 (abc; rs)	0,96 (b; s)
	Albatros	1,49 (abc; r)	1,15 (abc; s)	1,08 (ab; s)
	OP1105	1,62 (ab; r)	1,26 (abc; s)	1,25 (ab; s)
	OP1109	1,29 (abcde; r)	1,17 (abc; r)	1,26 (ab; r)

Nos grãos resultantes do cultivo no bloco SL02, verificou-se que a aplicação de 30 g Se ha⁻¹ interferiu negativamente nas percentagens de K nos grãos de Ariete e Albatros (SL02 ITO) e em Ariete; Albatros e OP1105 (SL02 ATO). Apesar de algumas oscilações no conteúdo de K nos grãos de arroz (moído), os nossos dados parecem indicar que a biofortificação com Se poderá incrementar a percentagem de K nos grãos. Neste enquadramento aponte-se que os benefícios do aumento da ingestão de K na dieta humana (Demingé *et al.*, 2004; He e MacGregor, 2008) pode ser conseguido por elevação da concentração de K nas culturas alimentares. Isto pode ser considerado como um importante desafio para a indústria de alimentos, no entanto, devem ter-se também em conta os efeitos da deficiência de Mg induzida por K em animais e seres humanos. Aumentando do teor de K na dieta, restringe-se a reabsorção Mg no trato gastrointestinal e, assim, eventualmente também a função metabólica de Mg nas células. O verdadeiro desafio para a indústria de alimentos e para a pesquisa consiste na redução da ingestão de sódio e simultaneamente no incremento da ingestão de um fornecimento equilibrado de Mg e K (Römheld e Kirkby 2010).

3.1.6.3. Localização Tecidual dos Minerais

O conhecimento da localização mineral dentro dos grãos de arroz é importante para a compreensão do papel dos diferentes elementos no desenvolvimento da semente (Lu *et al.*, 2013). Neste enquadramento, nas figuras 3.19 – 3.34 apresentam-se os espectros das duas variedades e dos dois genótipos de arroz (Ariete e Albatros; OP1105 e OP1109), relativas ao controlo / selenito (Figuras 3.19 – 3.22), controlo / selenato (Figuras 3.23 – 3.26), aplicação de selenito (60 g Se ha⁻¹) (Figuras 3.27 – 3.30) e aplicação de selenato (60 g Se ha⁻¹) (Figuras 3.31 – 3.34). Para cada genótipo foram analisados 3 pontos do grão, nomeadamente, o embrião, a região equatorial e o ápice do grão (Figura 3.18). Esta informação tornou-se necessária para determinar o tipo de deposição no grão (que pode variar de forma significativa - Zhang *et al.*, 2014 a; Hansen *et al.*, 2012; Liang *et al.*, 2008), e se a moagem poderia interferir nas concentrações dos elementos na farinha.

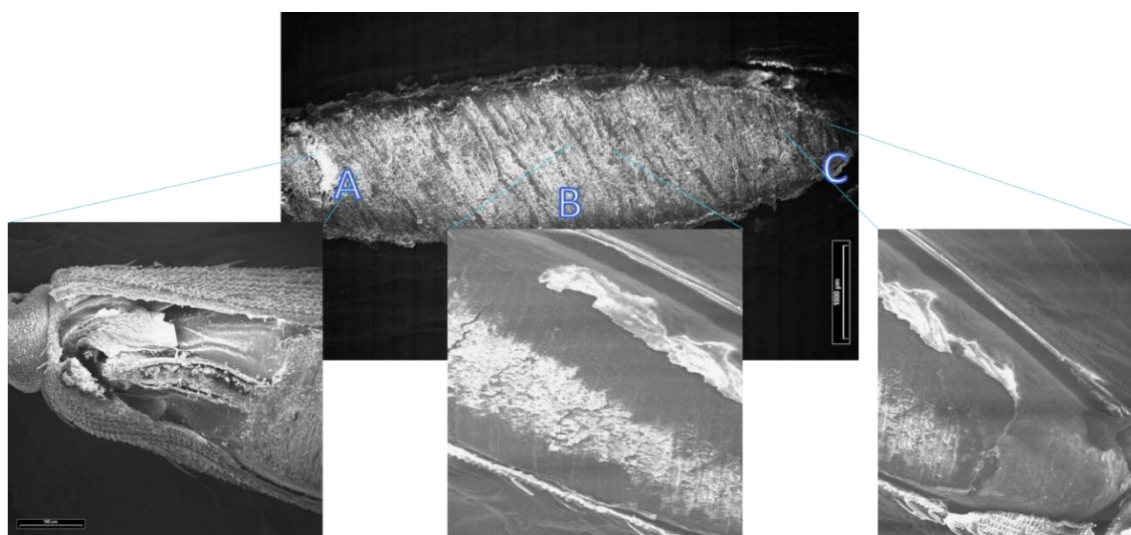


Figura 3.18. Grão de Arroz. A) Embrião; B) Centro do Grão; C) Região apical do grão.

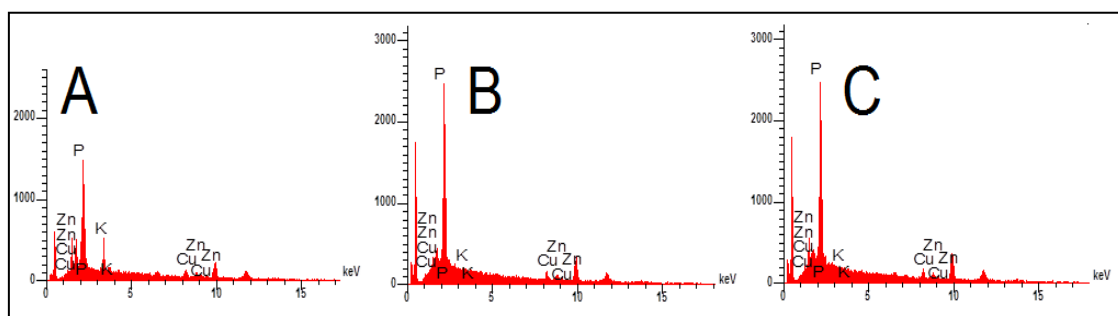


Figura 3.19. Espectro do grão de arroz da variedade Ariete (controlo/selenito) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

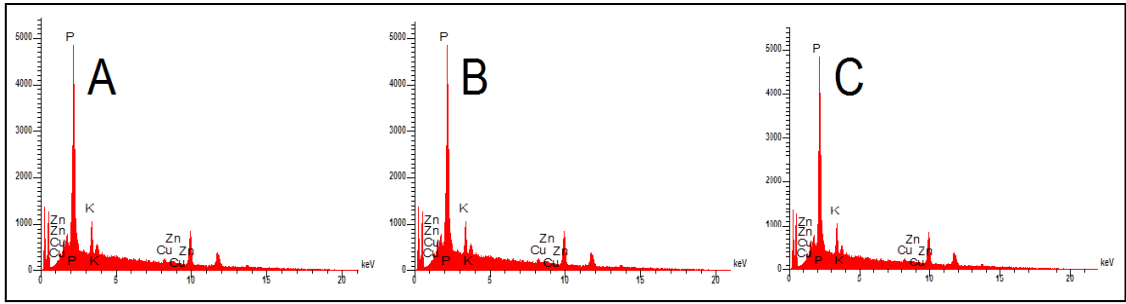


Figura 3.20. Espectro do grão de arroz da variedade Albatros (controle/selenito) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

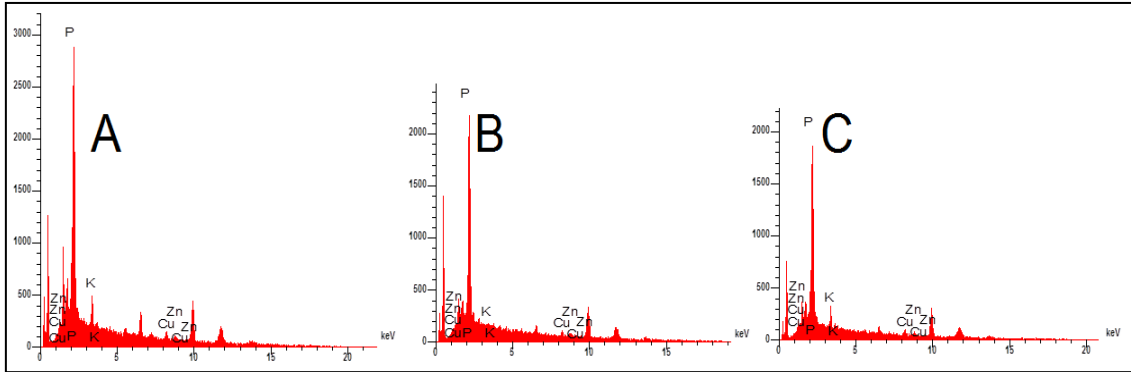


Figura 3.21. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1105 (controle/selenito) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

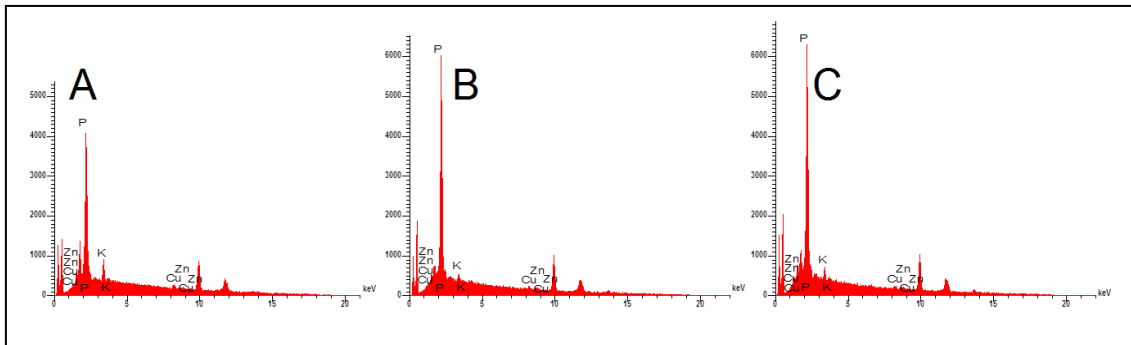


Figura 3.22. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1109 (controle/selenito) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

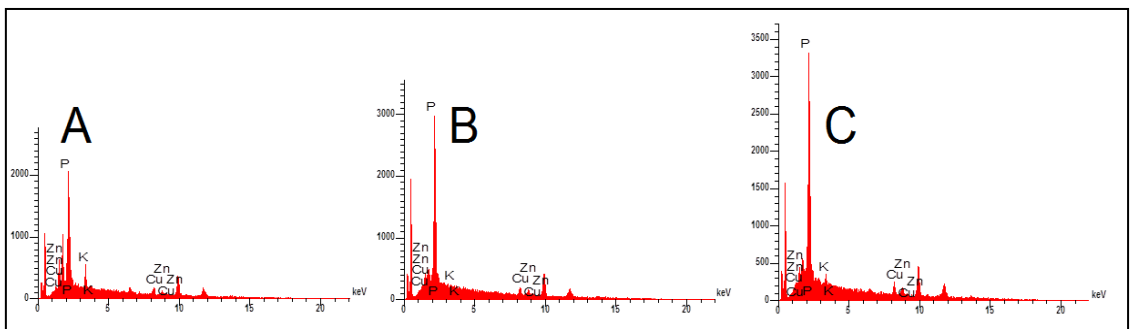


Figura 3.23. Espectro do grão de arroz da variedade Ariete (controle/selenato) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

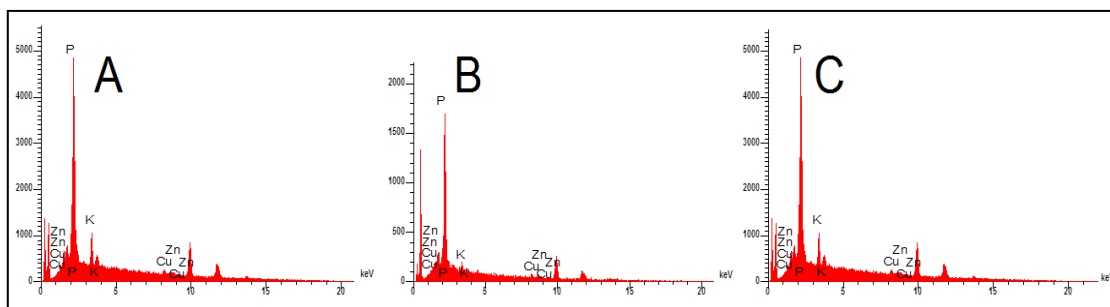


Figura 3.24. Espectro do grão de arroz da variedade Albatros (controle/selenato) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

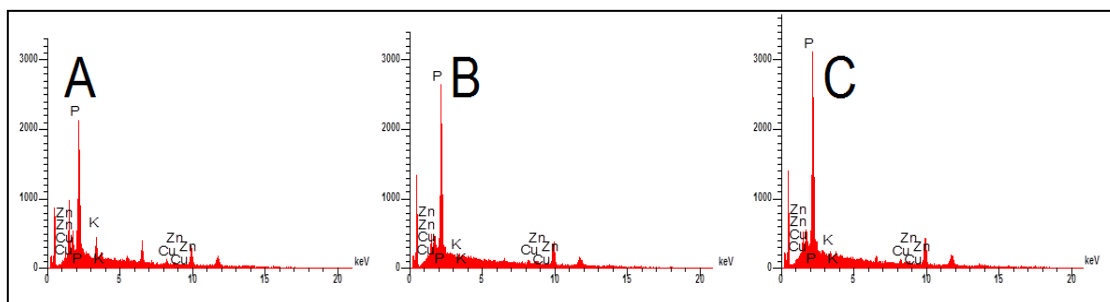


Figura 3.25. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1105 (controle/selenato) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

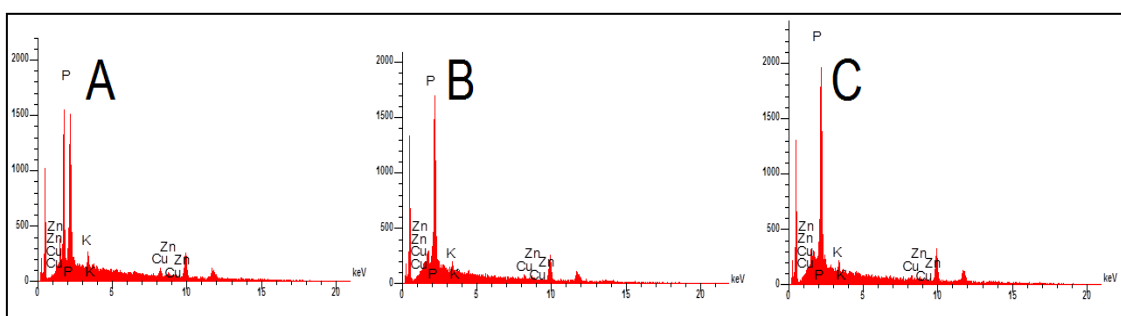


Figura 3.26. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1109 (controle/selenato) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

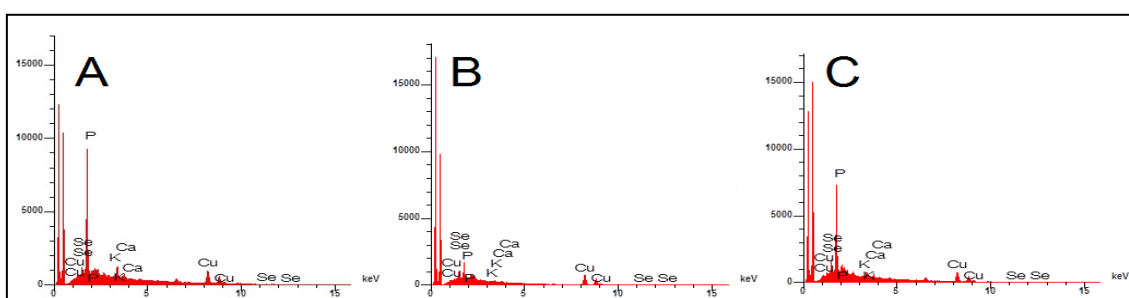


Figura 3.27. Espectro do grão de arroz do genótipo da variedade Ariete com aplicação de selenito (60 g Se ha⁻¹) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

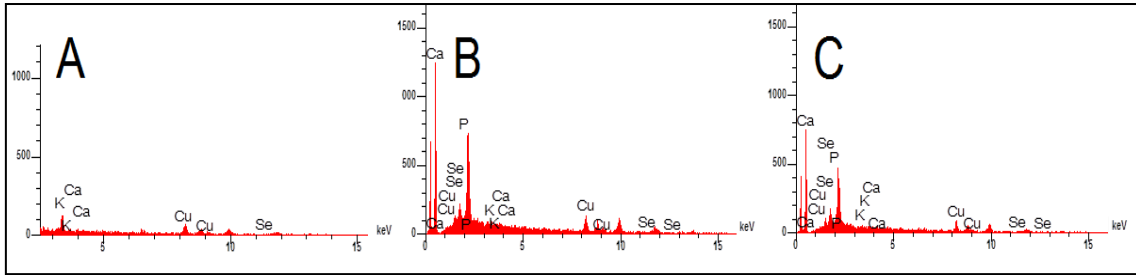


Figura 3.28. Espectro do grão de arroz da variedade Albatros com aplicação de selenito (60 g Se ha^{-1}) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

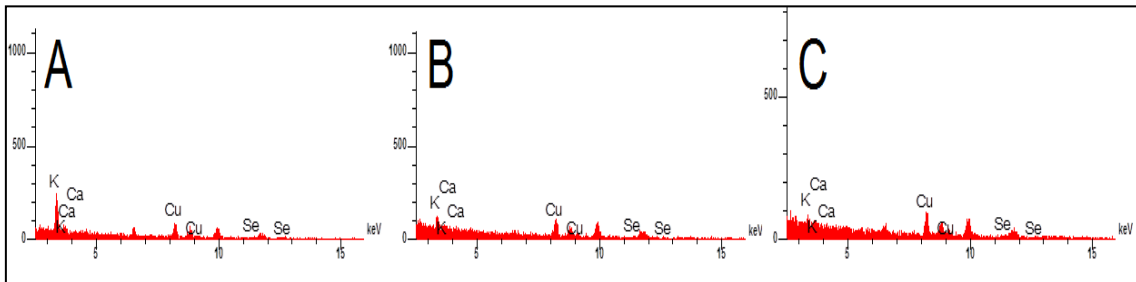


Figura 3.29. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1105 com aplicação de selenito (60 g Se ha^{-1}) primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

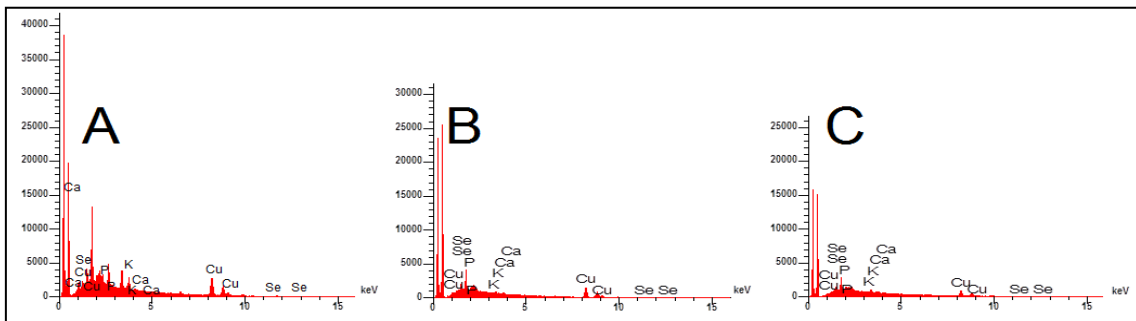


Figura 3.30. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1109 com aplicação de selenito (60 g Se ha^{-1}) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

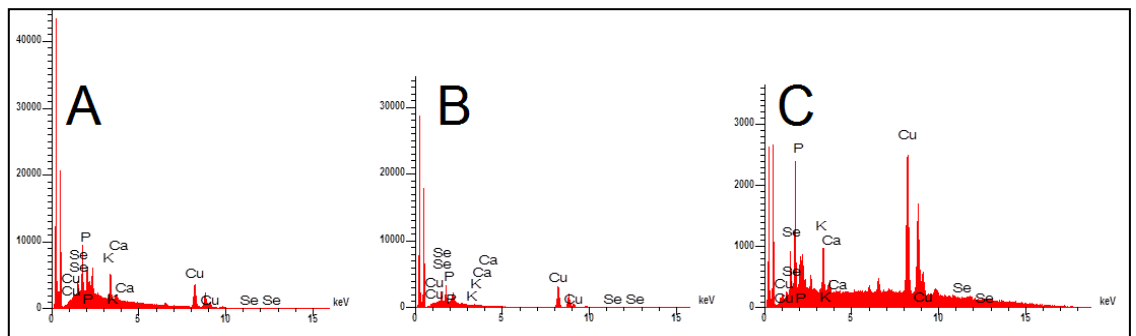


Figura 3.31. Espectro do grão de arroz da variedade Ariete com aplicação de selenato (60 g Se ha^{-1}) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

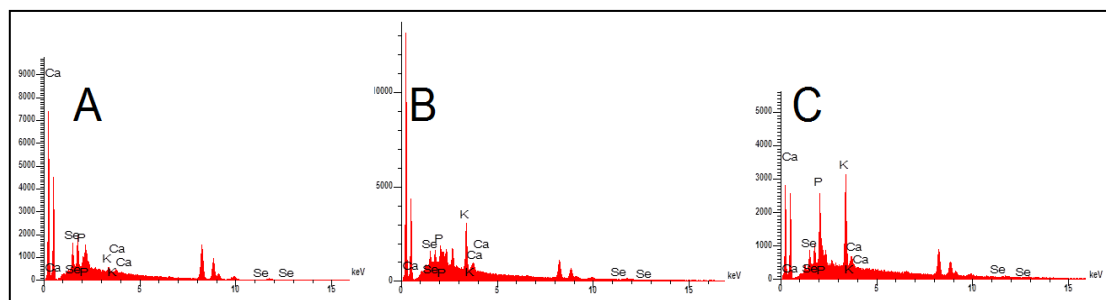


Figura 3.32. Espectro do grão de arroz da variedade Albatros com aplicação de selenato (60 g Se ha^{-1}) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

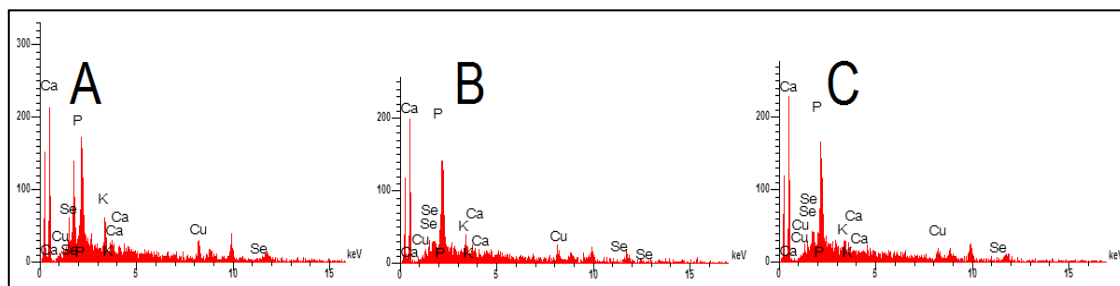


Figura 3.33. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1105 com aplicação de selenato (60 g Se ha^{-1}) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

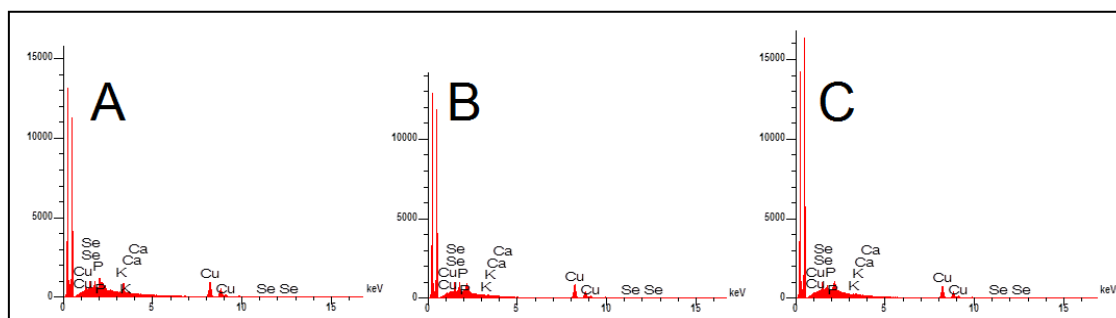


Figura 3.34. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1109 com aplicação de selenato (60 g Se ha^{-1}) no primeiro ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

3.1.6.3.1. K, Ca, P, Mg

As concentrações teciduais de Ca e Mg estão frequentemente correlacionadas, embora os teores de Mg nos tecidos, normalmente se apresentem em menor quantidade, mas ainda assim com significativa variação entre genótipos (White e Broadley, 2003). Tal fato, também foi observado no nosso estudo, onde a proporção de Mg foi menor de entre os macroelementos identificados. Contudo, não subsistiram variações pronunciadas entre as variedades / genótipos. Face à biofortificação com Se, verificou-se que em Ariete (ITO), Albatros (ATO) e OP1109 (ITO e ATO) ocorreram maiores proporções de Ca em todas as partes do grão. Albatros, quando submetida a um itinerário de biofortificação com selenato, e OP1105 com selenito, apresentaram um ligeiro aumento na região equatorial (Albatros), embrião e ápice (OP1105). Para a maioria das amostras, o P sofreu um ligeiro declínio sob condições biofortificadas, sendo a variedade Albatros menos afetada com selenito e selenato.

Tabela 3.13. Análise semi-quantitativa de elementos minerais (%)* e localização tecidular de K, Ca, P e Mg, por microscopia eletrônica de varrimento com sonda de raios X, em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 2 tratamentos.

Elementos Minerais (%)*										
Genótipo	Se	Partes do Grão	K		Ca		P		Mg	
			0 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹
Ariete	ITO	Embrião	26,96	22,89	4,09	9,42	59,24	20,13	4,99	20,13
		Z.equatorial	7,14	14,28	6,37	12,46	61,51	32,99	8,02	6,30
		R. Apical	4,63	17,15	6,92	12,79	40,73	28,98	8,19	2,38
	ATO	Embrião	26,96	25,54	6,92	9,38	40,73	30,44	4,99	3,03
		Z.equatorial	5,49	9,15	5,62	5,59	45,39	45,74	9,04	10,64
		R. Apical	13,76	12,83	5,63	3,966	57,09	12,47	8,88	6,89
Albatros	ITO	Embrião	21,07	21,83	10,72	2,24	37,76	39,66	5,07	3,98
		Z.equatorial	21,97	8,01	10,72	5,50	36,76	36,47	5,07	3,29
		R. Apical	22,90	7,62	10,79	5,85	35,76	32,51	5,07	6,31
	ATO	Embrião	22,94	21,97	10,79	10,72	35,06	37,76	5,77	5,08
		Z.equatorial	17,67	21,97	6,16	10,72	48,48	36,76	7,70	5,07
		R. Apical	22,87	22,87	10,70	10,70	36,86	36,86	5,08	5,07
OP1105	ITO	Embrião	18,87	7,47	5,52	5,79	50,12	57,40	7,86	2,27
		Z.equatorial	7,68	16,42	6,88	6,45	45,69	41,48	10,92	3,36
		R. Apical	16,66	11,23	5,70	7,04	52,74	44,32	6,14	4,50
	ATO	Embrião	9,16	6,98	7,72	6,26	55,63	29,25	5,80	9,72
		Z.equatorial	7,83	8,81	7,34	4,58	48,98	28,05	9,67	9,93
		R. Apical	10,68	10,59	5,54	4,37	55,80	23,82	7,33	10,49
OP1109	ITO	Embrião	21,04	25,85	7,63	18,02	33,81	18,12	5,13	1,61
		Z.equatorial	14,28	11,51	7,80	9,57	44,28	31,57	7,48	3,94
		R. Apical	14,50	18,82	6,34	10,95	52,14	27,10	7,44	3,31
	ATO	Embrião	20,21	27,36	4,41	10,51	44,20	38,72	9,81	1,87
		Z.equatorial	16,67	11,49	6,16	7,57	49,48	50,77	7,64	9,00
		R. Apical	14,58	12,50	7,74	10,40	55,39	43,76	6,46	9,49

*Num total de 10 elementos analisados, sendo o somatório de 100%

A maior parte da variação nas concentrações tecidulares de alguns elementos minerais, tais como K, Ca, Mg, Si, Ni e Zn, parece ocorrer ao nível taxa (ainda que limitado às ordens de angiospérmicas) ou acima (Broadley *et al.*, 2001; Broadley *et al.*, 2004). Isto implica que as concentrações destes elementos em tecidos vegetais estão restringidas por uma herança evolutiva antiga (White e Broadley, 2005). Neste contexto verificou-se que o K, Ca, P e Mg estão maioritariamente localizados na região do embrião e na região apical. No entanto, nalguns casos

nota-se uma distribuição uniforme ao longo das partes analisadas, como é caso do Ca e do Mg. Itani *et al.* (2002) também verificaram que alguns minerais apresentam uma distribuição mais uniforme, nomeadamente o Na e o Ca, permanecendo no arroz branco polido 63% do Na e 74% do Ca no arroz integral. Segundo White e Broadley (2005), parece subsistir uma considerável variação genética nas concentrações de minerais presentes nas porções comestíveis da maioria das espécies com interesse alimentar.

3.1.6.3.2. Fe, Mn, Zn, Cu

Os teores de Fe, Zn, Mn e Cu, num total de 10 elementos analisados (Na, Mg, P, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Se), sendo o somatório de 100% apresentam-se na tabela 3.14.

Relativamente ao Zn, verificou-se que na maioria das amostras a distribuição não é equitativa. Corroborando os nossos resultados (Tabela 3.14), Takahashi *et al.* (2009) reportaram que em sementes de arroz maduro, o Zn é desigualmente distribuído pelos diferentes tecidos da semente, com um valor significativamente mais elevado para o embrião e a camada de aleurona. Verificou-se ainda que, nos grãos biofortificado com selenito a 60 g ha⁻¹ a percentagem de Zn foi maior em relação ao controlo, exceto em Ariete, ainda que com alguma variação entre os genótipos, destacando-se a variedade Albatros. A variação da concentração de Zn entre diferentes tecidos do grão afeta a concentração em todo o núcleo do arroz (Hansen *et al.*, 2009 e Saenchai *et al.*, 2012) de um modo semelhante ao trigo (Cakmak *et al.*, 2010).

Tabela 3.14. Análise semi-quantitativa de elementos minerais (%)* e localização tecidual de Fe, Mn, Zn e Cu, por microscopia eletrónica de varrimento com sonda de raios X, em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 2 tratamentos.

Elementos Minerais (%)*										
Genótipo	Se	Partes do Grão	Fe		Mn		Zn		Cu	
			0 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹
Ariete	ITO	Embrião	4,07	8,59	2,75	6,89	7,21	13,11	5,16	10,66
		Z.equatorial	2,20	5,07	2,44	5,91	6,80	5,50	3,70	6,24
		R. Apical	1,53	9,38	2,74	5,66	9,48	6,64	8,66	9,86
	ATO	Embrião	2,63	4,32	4,06	4,28	9,39	6,82	8,97	10,90
		Z.equatorial	3,28	0,26	2,69	0,73	13,78	5,75	13,15	6,82
		R. Apical	2,46	5,44	1,70	3,81	5,24	16,38	4,17	25,67
Albatros	ITO	Embrião	3,70	2,45	3,64	2,35	9,09	13,29	7,64	16,50
		Z.equatorial	3,74	2,95	3,64	3,16	9,08	16,44	7,60	18,21
		R. Apical	3,74	3,16	3,64	2,94	9,09	10,19	7,60	9,73
	ATO	Embrião	3,84	2,10	3,50	2,49	9,09	5,02	7,63	10,17
		Z.equatorial	2,43	3,81	3,48	3,51	8,00	2,54	3,43	4,41
		R. Apical	3,72	1,32	3,64	1,33	9,09	2,94	7,68	2,77
OP1105	ITO	Embrião	3,74	5,08	3,12	5,08	4,82	5,83	3,94	9,33
		Z.equatorial	3,92	3,48	5,29	3,48	12,56	13,12	5,25	5,71
		R. Apical	6,16	2,82	1,83	3,50	5,77	5,83	4,74	4,29
	ATO	Embrião	5,31	5,62	3,48	5,16	4,58	10,68	6,95	9,08
		Z.equatorial	6,16	5,70	3,26	5,24	10,05	10,31	4,85	8,77
		R. Apical	1,99	5,90	2,44	5,43	9,30	10,15	5,49	8,64
OP1109	ITO	Embrião	5,09	5,80	5,17	6,35	10,84	12,34	10,69	9,75
		Z.equatorial	4,77	5,74	4,82	6,20	6,06	9,76	12,76	15,05
		R. Apical	2,69	4,67	2,83	3,64	4,76	7,46	8,81	14,50
	ATO	Embrião	2,13	3,08	2,13	3,08	7,49	3,57	5,88	4,34
		Z.equatorial	2,43	0,68	2,48	0,92	3,40	3,08	9,00	4,81
		R. Apical	1,36	2,33	1,70	3,76	4,80	4,11	6,64	4,76

*Num total de 10 elementos analisados, sendo o somatório de 100%.

A localização adequada das intensidades de Zn em diferentes partes de uma semente é um fator chave para a concentração de Zn em todo o grão de arroz (Duarte *et al.*, 2016). Estes mesmos autores verificaram que o Zn se localiza majoritariamente no embrião e partes da camada da aleurona. Alguma variação em diferentes genótipos de arroz relativamente ao Zn no grão tem sido relatada (Yang *et al.*, 1998; Graham *et al.*, 1999; Wissuwa *et al.*, 2006). Para controlar as concentrações de Zn nos grãos, o estado de Zn no solo nativo é o fator dominante, seguido pelo genótipo e fertilizantes, enquanto para o Fe, o pH do solo e a concentração de carbonato, assim como as condições de campo com alagamento ou sequeiro são mais relevantes. As concentrações de Zn no grão de arroz podem variar entre 15,9 – 58,4 mg kg⁻¹ dependendo do genótipo (Graham *et al.*, 1999), e dentro de uma única variedade, a concentração de Zn nos grãos pode oscilar entre 8 – 47 mg kg⁻¹ (Wissuwa *et al.*, 2006; 2008).

Durante a germinação, o fluxo de Zn é mais dinâmico face ao do Fe e Mn (Takahashi *et al.*, 2009). As maiores concentrações de Fe e Zn estão ligadas a proteínas e aminoácidos livres no embrião e no farelo, com concentrações mais baixas no endosperma (Cakmak *et al.*, 2010; Ozturk *et al.*, 2006). Isto é problemático do ponto de vista da nutrição humana, uma vez que o processamento de arroz, do trigo e de outros cereais, eliminam estas partes, o que resulta num baixo valor nutricional (Waters e Sankaran, 2011).

No grão de arroz, o Fe localiza-se na camada de aleurona, endosperma e no escutelo dos embriões (Bashir *et al.*, 2013). De acordo com Bashir (2013), neste trabalho, observou-se que a distribuição de Fe ocorre de modo similar em todos os tecidos do grão (Tabela 3.14). Takahashi *et al.* (2009), ao estudarem a distribuição de alguns elementos minerais no grão de arroz maduro, determinaram que a maior parte do Fe está associado com o embrião e a camada de aleurona. No nosso estudo também a distribuição de Mn no grão foi semelhante à do Fe, e a acumulação de Cu foi similar à do Zn. Estes resultados estão de acordo com Takahashi *et al.* (2009).

3.1.6.3.3. Se

Na variedade Ariete, com aplicação de selenito 60 g Se ha⁻¹, observou-se uma maior concentração do teor de Se na região equatorial do grão (Tabela 3.15). Relativamente à aplicação de selenato, em Ariete também se detetou a maior acumulação de Se na parte central do grão, sendo este resultado superior aos resultados encontrados neste mesmo genótipo com aplicação de selenito. Na variedade Albatros, constatou-se que a aplicação com selenato proporcionou uma maior acumulação de Se na região equatorial do grão, sendo que quando esta mesma variedade foi submetida à aplicação de selenito, a parte equatorial acumulou a menor proporção de Se. Com aplicações de selenito, o genótipo OP1105 apresentou maior acumulação de Se na região central do grão. Para as aplicações de selenato, neste mesmo genótipo, observou-se que as maiores concentrações de Se se encontravam na região apical do grão. O genótipo OP1109, com aplicações de selenito, apresentou os maiores teores de Se no centro do grão. Nas aplicações com selenato, apresentou a maior proporção de Se em relação aos outros genótipos, sendo os índices mais elevados observados na região central do grão.

Tabela 3.15. Análise semi-quantitativa e localização tecidual de Se (%)*, por microscopia eletrônica de varrimento com sonda de raios X, em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 2 tratamentos.

Genótipo	Se	Parte do Grão	Se (%)*			
			0 g Se ha ⁻¹		60 g Se ha ⁻¹	
			%Se	SD	%Se	SD
Ariete	ITO	Embrião	0,03	0,000	5,16	0,28
		R. equatorial	0,05	0,000	8,54	0,24
		Ápice	0,03	0,000	6,32	0,31
	ATO	Embrião	0,02	0,000	5,08	0,28
		R. equatorial	0,03	0,000	9,39	0,24
		Ápice	0,03	0,000	3,35	0,31
Albatros	ITO	Embrião	0,02	0,000	2,2	0,36
		R. equatorial	0,01	0,000	1,86	0,05
		Ápice	0,03	0,000	3,48	0,03
	ATO	Embrião	0,03	0,000	1,44	0,15
		R. equatorial	0,08	0,000	6,86	0,26
		Ápice	0,05	0,000	4,63	0,27
OP1105	ITO	Embrião	0,02	0,000	1,93	0,06
		R. equatorial	0,04	0,000	3,37	0,06
		Ápice	0,03	0,000	2,74	0,05
	ATO	Embrião	0,03	0,000	5,56	0,05
		R. equatorial	0,04	0,000	5,69	0,06
		Ápice	0,03	0,000	6,01	0,06
OP1109	ITO	Embrião	0,01	0,000	5,93	0,29
		R. equatorial	0,02	0,000	6,35	0,34
		Ápice	0,01	0,000	5,22	0,50
	ATO	Embrião	0,05	0,000	6,37	0,08
		R. equatorial	0,07	0,000	9,69	0,16
		Ápice	0,06	0,000	8,8	0,13

*Num total de 10 elementos analisados, sendo o somatório de 100%.

No grão das diferentes variedades de arroz os teores de Se são geralmente demasiado baixas para atender às necessidades nutricionais das populações (Williams *et al.*, 2009). Assim, visando objetivos dietéticos, subsiste um grande interesse em aumentar o teor deste elemento químico no grão deste cereal (Carey *et al.*, 2012). Adicionalmente, considerando o processamento tecnológico do arroz, deve determinar-se ainda a localização tecidual preferencial para acumulação do Se no grão.

Neste contexto, aponte-se que Lyons *et al.* (2005 a) mostraram que o Se foi concentrado nos embriões dos grãos de trigo, mas também distribuído uniformemente por todo o grão inteiro, em comparação com outros nutrientes minerais, por exemplo, Zn, Fe e K, que foram concentrados na aleurona. Williams *et al.* (2009), com recurso à S-XRF (*Synchrotron X-ray fluorescence*), também mostraram um padrão semelhante na acumulação de Se em grãos de arroz com enriquecimento no embrião e um gradiente de concentração decrescente a partir dos tecidos periféricos do grão para o centro. Adicionalmente, Moore *et al.* (2010) demonstraram que a distribuição de Se era coincidente com o do enxofre (S), sendo uniformemente dispersas por toda a camada de aleurona que rodeia o endosperma, e particularmente concentrado na área proteica em torno dos grânulos de amido das células do endosperma amiláceo. Paralelamente, Sun *et al.* (2010) analisaram a especiação e a distribuição de Se em plantas de arroz cultivadas num ambiente rico em Se e relataram que concentrações de Se no arroz diminuíram de acordo com a sequência “palha arroz> farelo> grãos inteiros> arroz polido> casca” e que, o Se foi concentrado na camada de farelo, com concentrações que quase atingiram o dobro das do grão

polido. Hawkesford e Zhao, (2007) verificaram que em trigo, o Se que se forma predominantemente como selenometionina é uniformemente distribuídos nos diferentes tecidos dos grãos. Assim, o processamento dos grãos (polimento) tem pouco efeito sobre as concentrações de Se, enquanto há uma grande redução no conteúdo de Zn e de Fe. Aponte-se ainda que, de acordo com Hawkesford e Zhao (2007), no grão maduro o Se predomina em formas orgânicas, principalmente como SeMet, com menores concentrações de SeMeSeCys e SeCys.

3.1.7. Lípidos

Para caracterizar as alterações induzidas pelo itinerário de biofortificação do arroz em Se sobre a acumulação de ácidos gordos, visando portanto definir a qualidade nutricional relativa a este parâmetro, na tabela 3.16 apresentam-se os teores de ácidos gordos totais das farinhas resultantes dos grãos dos diversos tratamentos.

Os teores totais dos lípidos foram analisados em 3 tratamentos de biofortificação (0, 30 e 60 g Se ha⁻¹), constatando-se que o teor total aumentava para a variedade Albatros (SL01 ITO e ATO), sendo o aumento mais expressivo com a aplicação de selenito (com aumento de mais de 40% em relação ao controlo). Observou-se ainda que Albatros atingiu o teor mais elevado em comparação com as restantes variedades / genótipos analisados. Por outro lado, a variedade Ariete e a OP1109 (SL02 ITO) apresentaram reduções significativas quando foram submetidos ao tratamento de 60 g Se ha⁻¹, atingindo assim, o índice mais baixo, que contudo não diferiu de Ariete (SL02 ATO). Nas amostras do bloco SL02 ATO, não se verificaram diferenças significativas entre os tratamentos.

Tabela 3.16. Teores de ácidos gordos totais (mg g⁻¹ PS) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respetivamente). Valores médios (n = 3) com letras (a - g) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey (α = 0,05).

Ácidos Gordos Totais (mg g ⁻¹ PS)					
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	
SL01 ITO	Ariete	13,85 (bcd; r)	13,54 (bcde; r)	12,84 (cdef; r)	
	Albatros	13,74 (bcd; s)	19,93 (a; r)	20,02 (a; r)	
	OP1105	10,57 (e; s)	12,32 (e; r)	13,34 (bcde; r)	
	OP1109	14,25 (abc; r)	13,83 (bcde; rs)	12,25 (def; s)	
SL01 ATO	Ariete	11,54 (de; r)	12,45 (de; r)	12,06 (defg; r)	
	Albatros	13,54 (cd; s)	14,31 (bcde; rs)	15,72 (b; r)	
	OP1105	12,98 (cde; r)	13,08 (cde; r)	12,38 (def; r)	
	OP1109	13,38 (cd; r)	12,51 (de; r)	12,58 (def; r)	
SL02 ITO	Ariete	14,16 (abc; r)	13,92 (bcde; r)	9,57 (g; s)	
	Albatros	16,47 (a; r)	15,85 (b; r)	15,40 (bc; r)	
	OP1105	11,72 (cde; r)	12,57 (cde; r)	12,69 (def; r)	
	OP1109	13,28 (cd; r)	13,60 (bcde; r)	10,57 (fg; s)	
SL02 ATO	Ariete	12,89 (cde; r)	12,66 (cde; r)	11,74 (efg; r)	
	Albatros	16,14 (ab; r)	15,17 (bc; r)	15,62 (b; r)	
	OP1105	14,24 (abc; r)	14,97 (bcd; r)	14,48 (bcd; r)	
	OP1109	12,77 (cde; r)	12,38 (e; r)	12,05 (defg; r)	

O arroz branqueado contém uma pequena quantidade de lípidos (inferior a 5% do peso seco). Quase todos os lípidos são ácidos gordos de cadeia longa, tais como os ácidos linoleico (C18:2) e linolénico (C18:3). Em contraste com o arroz branqueado, o farelo de arroz é mais rico nesses ácidos gordos (cerca de 15% do peso seco). Portanto, os lípidos com qualidade nutritiva acentuada predominam no arroz integral. Acresce ainda que alguns estudos (Wilson *et al.*, 2000) sugerem que o consumo destes óleos tende a reduzir o colesterol total e as lipoproteínas de baixa densidade (LDL). No entanto, estes lípidos insaturados são suscetíveis à degradação durante o armazenamento, podendo conduzir à alteração de sabor e deterioração da qualidade alimentar (Zhou *et al.*, 2003).

A qualidade química e nutricional do grão de arroz pode variar consideravelmente, em função de fatores genéticos e ambientais, tratamentos de fertilizantes, grau de condições de branqueamento e armazenamento (Abdul-Hamid *et al.*, 2007; Monks *et al.*, 2013). Destaque-se ainda que o branqueamento de grãos de arroz (processo de retirado do farelo) é realizado por todos os fabricantes de arroz e agricultores comerciais, o farelo é rico em gorduras que, de certa forma, podem provocar rancidificação no grão de arroz durante longos períodos de armazenamento (Sellapan *et al.*, 2009).

A maior concentração de lípidos ocorre no gérmen (1/3 do conteúdo total) e na camada de aleurona. Dessa forma, a concentração de lípidos é maior no arroz integral, sendo reduzida com o polimento, geralmente observando-se concentrações inferiores a 1% no arroz polido (Walter *et al.*, 2008). Portanto, moendo o arroz pode resultar numa redução destes nutrientes. De fato, alguns estudos mostraram uma diminuição no conteúdo de Se (Liu *et al.*, 2009), de ácido fítico e da distribuição de Zn (Liang *et al.*, 2008) no arroz, como uma função do grau de moagem. Para resolver este problema, vários métodos têm sido propostos, destacando-se a adição de antioxidantes, que é normalmente realizada para inibir a oxidação de lípidos e preservar a qualidade do arroz, a cor, o aroma e componentes nutritivos durante o armazenamento (Asnaashari *et al.*, 2014; Hu *et al.*, 2014). Liu e Gu (2008), reportaram ainda que o arroz integral pode acumular Se durante a germinação e distribuir-se principalmente em seleno-proteínas. Também revelaram que seleno-proteínas purificadas a partir de arroz integral germinado e selenizado exibiram excelentes atividades antioxidantes e podem ser utilizados como potenciais antioxidantes.

Dada a importância do arroz nas necessidades alimentares de muitas populações em todo o mundo, bem como as necessidades financeiras do seu armazenamento a longo prazo, recentemente Li *et al.* (2016) verificaram até que ponto a estabilidade de armazenamento, a qualidade nutricional e a atividade antioxidante de grãos de arroz são afetados pelo aumento dos níveis de Se no arroz integral. Estes autores verificaram que o Se exerce um efeito ativo na manutenção da qualidade e retarda a rancidez oxidativa do arroz durante o armazenamento a longo prazo, conforme evidenciado por alguns resultados que revelaram que o arroz enriquecido com Se apresentou um menor índice de peróxidação.

Na tabela 3.17 encontram-se os ácidos gordos mais abundantes identificados nas amostras de arroz integral (farinha). Dentre os ácidos gordos analisados, os mais abundantes

foram o ácido oleico (C18:1) e o linoleico (C18:2), que em condições controlo variaram entre 4,04 – 6,20 mg g⁻¹ PS (OP105 e Albatros – SL02 ITO, respetivamente) e 3,58 – 5,99 mg g⁻¹ PS (OP1105 – SL01 ITO e Albatros – SL02 ITO, respetivamente). Estes resultados estão de acordo com os estudos de Yoshida *et al.* (2011), que indicaram os ácidos oleico, linoleico e palmítico como predominantes no grão de arroz. Observou-se ainda que o processo de biofortificação provocou variações significativas nos teores dos ácidos gordos, salientando-se, portanto, a variação genotípica entre as amostras estudadas. Quanto ao ácido oleico e linoleico, verificou-se que o segundo foi mais afetado pela biofortificação, ou seja, a biofortificação mais elevada (60 g Se ha⁻¹) induziu reduções nalgumas das variedades, nomeadamente no OP1109 (SL01 ITO), Ariete, Albatros e OP1109 (SL02 ITO). Por outro lado, verificou-se um incremento dos teores de oleico nas OP1105 (SL01 e 02 ITO) e Albatros (SL01 ATO). Relativamente ao linoleico, a biofortificação de 60 g Se ha⁻¹ induziu aumentos significativos em Albatros (SL01 ITO e ATO) e OP1105 (SL 01 ITO). Aponte-se que os ácidos oleico e linoleico são desejáveis em sementes de arroz por causa de seus efeitos benéficos para a saúde (Kris-Etherton *et al.*, 2004), sendo também menos suscetíveis à oxidação (face ao ácido linolénico). As reduções ocorridas no ácido gordo (C18:2) podem ainda ter influenciado o índice de insaturação (DBI) na maioria das amostras do bloco SL02. Yoshida *et al.* (2011) reportaram que os ácidos gordos monoinsaturados, incluindo os ácidos oleico (C18:1), eicosenóico (C20:1) e erúxico (C22:1) foram responsáveis por 35 – 44% do total, enquanto que os ácidos gordos polinsaturados, incluindo os ácidos linoleico (C18:2) e linolénico (C18:3), foram responsáveis por 33 – 45% do total dos ácidos gordos. Em conjunto, estas frações insaturadas constituíram 74 – 81% do total de ácidos gordos no arroz. Resultados semelhantes foram apresentados por Monks *et al.*, (2013), que relataram que os ácidos gordos insaturados representavam 74% do total dos ácidos gordos, e os ácidos gordos saturados (ácidos palmítico e esteárico) foram responsáveis por 24,1%. Em conjunto, estas frações constituíram 98,0% dos ácidos gordos totais em arroz. Valor semelhante foi encontrado também neste estudo, onde a média dos resultados dos ácidos gordos insaturados foi de 75,18% e dos ácidos gordos saturados foi de 24,80%.

Tabela 3.17. Teores dos ácidos gordos (mg g^{-1} PS) e índice de insaturação (DBI) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respetivamente). Valores médios com letras (a – i) iguais na coluna e letras (r, s, t) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

		Ácidos Gordos (mg g^{-1} PS)											
		C16:0			C18:0			C 18:1					
		Ácido Palmítico			Ácido Estearico			Ácido Oleico					
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹
SL 01 ITO	Ariete	3,08 (abcd; r)	3,11 (bcde; r)	3,11 (bcd; r)	0,32 (ab; r)	0,21 (ab; s)	0,29 (bcde; r)	4,84 (def; r)	4,78 (cde; r)	4,30 (ghi; r)	4,84 (def; r)	4,78 (cde; r)	4,30 (ghi; r)
	Albatros	2,80 (cde; s)	4,06 (a; r)	4,22 (a; r)	0,23 (abc; t)	0,30 (a; s)	0,41 (a; r)	5,12 (bcde; s)	7,84 (a; r)	8,04 (a; r)	5,12 (bcde; s)	7,84 (a; r)	8,04 (a; r)
	OP1105	2,14 (e; s)	2,61 (cde; rs)	2,75 (cd; r)	0,22 (c; r)	0,19 (b; r)	0,22 (cde; r)	4,30 (ef; s)	5,03 (cde; r)	5,39 (cdef; r)	4,30 (ef; s)	5,03 (cde; r)	5,39 (cdef; r)
	OP1109	3,74 (a; r)	3,39 (ab; r)	2,76 (cd; s)	0,25 (abc; r)	0,19 (b; r)	0,23 (ab; r)	4,28 (ef; r)	4,87 (cde; r)	4,53 (fgh; r)	4,28 (ef; r)	4,87 (cde; r)	4,53 (fgh; r)
SL 01 ATO	Ariete	2,43 (de; r)	2,60 (de; r)	2,43 (d; r)	0,25 (abc; r)	0,21 (ab; r)	0,23 (de; r)	4,25 (ef; r)	4,60 (de; r)	4,47 (fgh; r)	4,25 (ef; r)	4,60 (de; r)	4,47 (fgh; r)
	Albatros	2,80 (cde; r)	2,82 (bcde; r)	3,02 (bcd; r)	0,33 (ab; r)	0,23 (ab; s)	0,31 (bcde; r)	5,34 (abcd; s)	5,63 (bc; rs)	6,13 (bcd; r)	5,34 (abcd; s)	5,63 (bc; rs)	6,13 (bcd; r)
	OP1105	2,60 (cde; r)	2,56 (e; r)	2,39 (d; r)	0,25 (abc; r)	0,19 (b; r)	0,25 (e; r)	5,43 (abcd; r)	5,51 (bcde; r)	5,17 (defg; r)	5,43 (abcd; r)	5,51 (bcde; r)	5,17 (defg; r)
	OP1109	2,72 (cde; r)	2,67 (bcde; r)	2,80 (bcd; r)	0,27 (abc; r)	0,18 (b; s)	0,23 (bcde; rs)	5,04 (bcde; r)	4,57 (e; r)	4,68 (efgh; r)	5,04 (bcde; r)	4,57 (e; r)	4,68 (efgh; r)
SL 02 ITO	Ariete	2,94 (bcd; r)	3,14 (bcde; r)	2,43 (d; s)	0,28 (abc; r)	0,22 (ab; r)	0,21 (bcde; r)	4,92 (cdef; r)	4,89 (cde; r)	3,37 (i; s)	4,92 (cdef; r)	4,89 (cde; r)	3,37 (i; s)
	Albatros	3,56 (ab; r)	3,34 (abc; r)	3,43 (bc; r)	0,33 (a; r)	0,22 (ab; s)	0,34 (abc; r)	6,20 (a; r)	6,33 (b; r)	6,33 (bc; r)	6,20 (a; r)	6,33 (b; r)	6,33 (bc; r)
	OP1105	2,89 (bcd; r)	2,96 (bcde; r)	2,95 (bcd; r)	0,21 (c; r)	0,22 (ab; r)	0,25 (bcde; r)	4,04 (f; t)	4,83 (cde; s)	5,66 (bcde; r)	4,04 (f; t)	4,83 (cde; s)	5,66 (bcde; r)
	OP1109	2,67 (cde; r)	2,86 (bcde; r)	2,69 (d; r)	0,22 (bc; r)	0,17 (b; r)	0,20 (bcde; r)	4,54 (def; rs)	4,83 (cde; r)	4,00 (hi; s)	4,54 (def; rs)	4,83 (cde; r)	4,00 (hi; s)
SL 02 ATO	Ariete	2,75 (abc; r)	2,72 (bcde; r)	2,73 (cd; r)	0,24 (abc; r)	0,22 (ab; r)	0,19 (bcde; r)	4,60 (def; r)	4,56 (e; r)	4,10 (hi; r)	4,60 (def; r)	4,56 (e; r)	4,10 (hi; r)
	Albatros	3,27 (abc; r)	3,32 (bcd; r)	3,53 (ab; r)	0,33 (ab; r)	0,25 (ab; s)	0,33 (bcd; r)	6,04 (ab; r)	5,64 (bc; r)	6,05 (bcd; r)	6,04 (ab; r)	5,64 (bc; r)	6,05 (bcd; r)
	OP1105	2,82 (cde; r)	2,98 (bcde; r)	2,71 (cd; r)	0,25 (abc; r)	0,22 (ab; r)	0,25 (bcde; r)	5,94 (abc; r)	6,29 (b; r)	6,45 (b; r)	5,94 (abc; r)	6,29 (b; r)	6,45 (b; r)
	OP1109	2,68 (cde; r)	2,83 (bcde; r)	2,89 (bcd; r)	0,22 (c; r)	0,18 (b; r)	0,21 (bcde; r)	5,13 (bcde; r)	4,60 (e; rs)	4,35 (ghi; s)	5,13 (bcde; r)	4,60 (e; rs)	4,35 (ghi; s)
		C18:2			C18:3			DBI					
		Ácido Linoleico			Ácido Linolénico			Índice de Insaturação					
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹
SL 01 ITO	Ariete	5,21 (abcde; r)	5,05 (bc; r)	4,75 (b; r)	0,17 (c; r)	0,22 (ab; r)	0,17 (abc; r)	4,49 (abc; r)	4,51 (ab; r)	4,07 (cde; r)	4,49 (abc; r)	4,51 (ab; r)	4,07 (cde; r)
	Albatros	5,24 (abcde; s)	7,26 (a; r)	6,91 (a; r)	0,16 (c; r)	0,27 (a; r)	0,19 (abc; r)	5,14 (a; r)	5,19 (a; r)	4,72 (abcd; r)	5,14 (a; r)	5,19 (a; r)	4,72 (abcd; r)
	OP1105	3,58 (f; s)	4,19 (c; rs)	4,52 (bc; r)	0,15 (c; rs)	0,18 (b; rs)	0,20 (ab; rs)	4,81 (ab; r)	5,08 (ab; r)	4,74 (abcd; r)	4,81 (ab; r)	5,08 (ab; r)	4,74 (abcd; r)
	OP1109	5,51 (abc; r)	5,01 (bc; rs)	4,36 (bcd; s)	0,21 (b; rs)	0,21 (ab; rs)	0,16 (abc; rs)	3,84 (c; r)	4,20 (b; r)	4,34 (bcde; r)	3,84 (c; r)	4,20 (b; r)	4,34 (bcde; r)
SL 01 ATO	Ariete	4,27 (ef; r)	4,71 (bc; r)	4,59 (b; r)	0,16 (bc; r)	0,20 (b; r)	0,14 (bc; r)	4,73 (abc; r)	5,05 (ab; r)	5,00 (abc; r)	4,73 (abc; r)	5,05 (ab; r)	5,00 (abc; r)
	Albatros	4,77 (def; s)	5,30 (bc; rs)	5,98 (a; r)	0,14 (c; rs)	0,21 (ab; rs)	0,12 (c; rs)	4,73 (abc; r)	5,36 (a; r)	5,36 (a; r)	4,73 (abc; r)	5,36 (a; r)	5,36 (a; r)
	OP1105	4,33 (bcde; r)	4,49 (bc; r)	4,23 (bcd; r)	0,19 (bc; r)	0,20 (b; r)	0,17 (bc; r)	4,94 (ab; r)	5,31 (a; r)	5,07 (ab; r)	4,94 (ab; r)	5,31 (a; r)	5,07 (ab; r)
	OP1109	4,98 (abc; r)	4,77 (bc; r)	4,51 (bc; r)	0,19 (bc; r)	0,19 (b; r)	0,17 (abc; r)	5,00 (a; r)	4,98 (ab; r)	4,47 (abcde; r)	5,00 (a; r)	4,98 (ab; r)	4,47 (abcde; r)
SL 02 ITO	Ariete	5,65 (abc; r)	5,32 (bc; r)	3,22 (d; s)	0,18 (bc; r)	0,20 (b; r)	0,12 (c; r)	4,98 (a; r)	4,65 (ab; r)	3,63 (e; s)	4,98 (a; r)	4,65 (ab; r)	3,63 (e; s)
	Albatros	5,99 (ab; r)	5,61 (b; rs)	4,95 (b; s)	0,19 (bc; rs)	0,22 (ab; rs)	0,15 (bc; rs)	4,65 (abc; rs)	5,01 (ab; r)	4,25 (bcde; s)	4,65 (abc; rs)	5,01 (ab; r)	4,25 (bcde; s)
	OP1105	4,17 (ef; r)	4,22 (c; r)	3,48 (cd; r)	0,21 (bc; r)	0,20 (b; r)	0,14 (bc; r)	4,01 (bc; r)	4,24 (b; r)	3,89 (de; r)	4,01 (bc; r)	4,24 (b; r)	3,89 (de; r)
	OP1109	5,48 (abcd; r)	5,42 (b; r)	3,36 (cd; s)	0,20 (bc; r)	0,20 (b; r)	0,14 (bc; r)	5,32 (a; r)	5,25 (a; r)	3,70 (e; s)	5,32 (a; r)	5,25 (a; r)	3,70 (e; s)
SL 02 ATO	Ariete	4,96 (bcde; r)	4,83 (bc; r)	4,40 (bc; r)	0,18 (c; r)	0,19 (b; r)	0,15 (bc; r)	4,83 (ab; r)	4,85 (ab; r)	4,45 (abcde; r)	4,83 (ab; r)	4,85 (ab; r)	4,45 (abcde; r)
	Albatros	6,17 (a; r)	5,62 (b; r)	5,37 (b; r)	0,20 (bc; r)	0,21 (ab; r)	0,16 (bc; r)	5,14 (a; r)	4,78 (ab; rs)	4,35 (bcde; s)	5,14 (a; r)	4,78 (ab; rs)	4,35 (bcde; s)
	OP1105	4,71 (cdef; s)	5,09 (bc; r)	4,67 (b; rs)	0,30 (a; r)	0,24 (ab; r)	0,23 (a; r)	5,03 (a; r)	5,20 (a; r)	5,33 (a; r)	5,03 (a; r)	5,20 (a; r)	5,33 (a; r)
	OP1109	4,32 (def; r)	4,47 (bc; r)	4,24 (bcd; r)	0,25 (ab; r)	0,18 (b; r)	0,18 (abc; r)	4,83 (ab; r)	4,56 (ab; r)	4,14 (bcde; r)	4,83 (ab; r)	4,56 (ab; r)	4,14 (bcde; r)

DBI = [(% de monoenes + 2 x% de dienes + 3 x% de trienes) / % de ácidos gordos saturados] (Mazliak, 1983).

3.1.8. Açúcares Solúveis

O arroz apresenta pequenas quantidades de açúcares livres, localizados principalmente nas camadas externas do grão, sendo a sua concentração afetada pela variedade, grau de moagem e processamento (Matsuo, 1995). Na tabela 3.18, encontram-se os teores dos açúcares solúveis totais de grãos integrais moídos das 4 variedades / genótipos em estudo. Verificou-se que, em comparação com o controle, a biofortificação com 60 g Se ha⁻¹ induziu o aumento significativo no teor total de açúcares, nomeadamente, em Albatros e OP1109 (exceto no bloco SL02 ITO). Por oposição, Ariete foi afetada negativamente, com reduções significativas em SL01 ITO, SL02 ITO e SL02 ATO. No entanto, apesar das reduções, a variedade Ariete revelou elevados níveis de açúcares face aos restantes genótipos. O genótipo OP1105, cultivado no bloco SL02 ITO e ATO, apresentou aumentos significativos nos teores totais de açúcares solúveis quando submetido a aplicação de 60 g Se ha⁻¹. Contudo, no bloco SL01 ITO e ATO, não se verificaram alterações para este genótipo.

Tabela 3.18. Teor de açúcares solúveis totais (mg g⁻¹ ps) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respetivamente). Valores médios (n = 3) com letras (a - g) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Açúcares solúveis totais (mg g ⁻¹ ps)					
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	
SL01 ITO	Ariete	14,23 (a; r)	11,74 (ab; r)	10,96 (bcd; s)	
	Albatros	10,75 (bc; s)	12,13 (a; r)	12,03 (bc; r)	
	OP1105	9,82 (bcde; r)	10,12 (bcd; r)	8,97 (efg; r)	
	OP1109	7,57 (f; s)	9,44 (cd; r)	10,09 (cdef; r)	
SL01 ATO	Ariete	8,35 (def; s)	10,25 (abc; r)	10,91 (bcde; r)	
	Albatros	8,18 (def; s)	9,93 (bcd; r)	10,89 (bcde; r)	
	OP1105	8,03 (ef; r)	8,23 (d; r)	8,64 (fg; r)	
	OP1109	10,15 (bcd; r)	11,03 (abc; r)	10,93 (bcde; r)	
SL02 ITO	Ariete	10,48 (bc; r)	9,26 (cd; r)	7,48 (g; s)	
	Albatros	10,44 (bc; r)	10,94 (abc; r)	7,14 (g; s)	
	OP1105	7,97 (ef; s)	9,94 (bcd; s)	11,16 (bcd; r)	
	OP1109	15,99 (a; r)	11,48 (ab; s)	9,62 (def; s)	
SL02 ATO	Ariete	11,57 (b; r)	10,78 (abc; rs)	9,53 (def; s)	
	Albatros	10,68 (bc; s)	11,83 (ab; s)	14,19 (a; r)	
	OP1105	9,14 (cdef; s)	11,07 (abc; r)	12,10 (b; r)	
	OP1109	9,22 (cdef; s)	11,11 (abc; r)	10,54 (bcdef; r)	

Os açúcares solúveis, especialmente a sacarose, são um produto primário da fotossíntese e desempenham um papel fundamental para o crescimento e desenvolvimento das plantas (Smeekens, 2000). O conteúdo em açúcares solúveis nos grãos de arroz é reduzido; mas pode afetar o sabor e a cor que evoluem durante a cozedura ou outro processo de transformação (Smyth e Henry, 1989 *cf.* Yang *et al.*, 2014), destacando-se as reações de Maillard, que ocorrem entre os grupos amina livre da lisina e/ou outros ácidos aminados e os grupos carbonilo dos açúcares redutores (tais como a glucose e a maltose) (Camire *et al.*, 1990).

No âmbito deste estudo verificou-se que a sacarose se destacou com o teor mais elevado, (ca. 74% do total de açúcares solúveis), seguida da glucose (ca. 9,6%), rafinose (8,6%) e frutose (6,9%).

Aponte-se que Sugiyama *et al.* (1995), num estudo para determinar os componentes químicos e a respectiva distribuição no arroz moído, relataram que a sacarose foi responsável por 90% do açúcar livre e a proporção na camada externa ultrapassava 60%. A proporção de frutose ou o teor de glucose na camada externa era baixa, correspondendo aproximadamente a 23%. Tran *et al.* (2004) também realizaram um estudo de comparação entre o arroz integral e o arroz branqueado, com diferentes rendimentos de moagem, e quantificaram teores de sacarose de ca. 7 mg g⁻¹ PS e de 0,4 mg g⁻¹ PS de glucose, observando também que estes teores reduziam à medida que aumentava o polimento do arroz.

Na tabela 3.19 encontra-se detalhado o perfil dos açúcares solúveis (rafinose, sacarose, glucose e frutose) e os teores individuais de cada variedade / genótipo. Em condições controlo os valores mais elevados para a rafinose ocorreram na variedade Ariete (SL01 ITO) (1,29 mg g⁻¹ PS), porem o teor mais baixo também foi verificado em Ariete cultivado no bloco SL02 ITO (0,68 mg g⁻¹ PS), enquanto que no processo de biofortificação com 60 g Se ha⁻¹ ocorreu o decréscimo do teor de rafinose no primeiro caso e se manteve estável no segundo. Na Albatros os teores de rafinose não sofreram alterações com a biofortificação em Se, exceto no SL02 ITO, onde prevaleceu uma redução significativa (50% face ao controlo). O genótipo OP1105 nas aplicações com selenito nos blocos SL01 e SL02, não apresentaram alterações, mas nas aplicações com selenato, verificou-se uma redução significativa no bloco SL01 e um aumento significativo no bloco SL02.

Relativamente à sacarose, em condições controlo, na variedade Ariete os teores foram similares aos da rafinose, com valores elevados no bloco SL01 ITO e mais baixos no bloco SL02 ITO. Aponte-se, contudo, que neste caso se verificou que a implementação de um sistema de biofortificação apoiado em teores crescentes de Se reduziu progressivamente os níveis de sacarose, podendo estes decréscimos ter-se refletido no teor total dos açúcares (Tabela 3.18). Tal como verificado na rafinose, a Albatros também apresentou reduções significativas quando cultivada no bloco SL02 ITO, ainda que nos outros blocos a crescente biofortificação com Se tenha aumentado significativamente os teores deste açúcar. O genótipo OP1105, cultivado no bloco SL01, relativamente à sacarose, apresentou uma redução significativa com aplicações de selenito, mas não revelou alterações com a aplicação de selenato. Ainda sobre o OP1105, no bloco SL02, com aplicação das duas formas de Se houve incremento progressivo da sacarose com o aumento das concentrações de Se. Já o genótipo OP1109 apresentou algumas oscilações nos teores de sacarose, tendo-se verificado que o mesmo possuía o valor mais elevado sob condições controlo no bloco SL02, enquanto que em condições de biofortificação, neste mesmo bloco, apresentou reduções significativas. Constatou-se ainda que este genótipo apresentou os valores mais baixos de sacarose com a aplicação de 60 g Se ha⁻¹ na forma selenito. Tal como quantificado para a rafinose, no bloco SL01, a aplicação da biofortificação com selenito incrementou os teores de açúcar na OP1109, tendo-se verificado o valor mais elevado com a aplicação de 30 g Se ha⁻¹. Paralelamente, com as aplicações de selenato não se verificaram alterações significativas. Relativamente aos teores de Glucose, verificou-se uma grande variação entre os genótipos (controlo) nos diferentes blocos de cultivo e nas 2 formas de Se aplicadas no itinerário de biofortificação. O teor mais elevado (controlo) foi observado no genótipo OP1109 (2,13 mg g⁻¹ PS), que

diferiu estatisticamente dos restantes, e o valor mais baixo foi encontrado em Albatros (0,23 mg g⁻¹ PS). Quanto ao efeito da biofortificação em Se sobre os teores deste açúcar, à semelhança da sacarose, a variedade Ariete apresentou reduções significativas com o aumento da biofortificação com selenito, e por outro lado aumentou significativamente com aplicações de selenato. No bloco SL02 não se verificaram alterações significativas. A variedade Albatros apresentou os teores mais baixos em todos os blocos e tratamentos, no entanto foi detetado um aumento significativo nos tratamentos com selenato. O genótipo OP1105 respondeu positivamente ao tratamento de biofortificação e apresentou aumentos significativos, porém este efeito só não foi observado nos grãos do bloco SL02 ITO. O genótipo OP1109, sob condições de biofortificação, apresentou aumentos significativos em SL01 ITO e SL02 ATO, por outro lado, os teores de glucose diminuíram significativamente em SL01 ATO e SL02 ITO.

Relativamente ao conteúdo em Frutose nas amostras de farinha de arroz das diferentes amostras analisadas, verificou-se uma grande oscilação sob condições controlo (0,30 – 1,49 mg g⁻¹ PS), na Albatros (SL01 ITO) e OP1105 (SL01 ATO), respetivamente. Quantificando o efeito da biofortificação com Se sobre o teor de frutose, em Ariete cultivada no bloco SL01, constataram-se decréscimos na aplicação de selenito e acréscimos com a aplicação de selenato. Por outro lado, no bloco SL02, a aplicação com selenato (60 g ha⁻¹) reduziu em 77% o teor de frutose. Na Albatros, tal como observado na glucose, a frutose revelou os teores mais baixos em relação às restantes variedades / genótipos, contudo, observou-se um incremento bastante acentuado em SL01 ATO e SL02 ITO com o aumento da concentração de Se aplicada. O genótipo OP1105 apresentou aumentos progressivos em todos os blocos e formas de Se aplicado. No âmbito processo de biofortificação com teores crescentes de Se aplicado, o OP1109 apresentou aumentos significativos nos teores de frutose, quando aplicado selenito tanto no bloco SL01 como no bloco SL02.

Verificou-se que o processo de biofortificação induziu aumentos significativos nos teores totais de açúcares na maioria das amostras de grãos (farinha integral). Segundo Yao *et al.* (2009), os incrementos na acumulação de amido e açúcares solúveis em grãos de arroz provenientes de plantas pré-tratadas com Se podem ser atribuídos aos teores mais elevados de pigmentos fotossintéticos e, conseqüentemente ao anabolismo fotossintético. Reconhece-se que a utilização industrial de farinha de arroz é mais adequada para o desenvolvimento de produtos isentos de glúten, e devido à grande influência dos teores de açúcares sobre os produtos finais. Aponte-se ainda a relevância destes açúcares, pois: uma interação com as moléculas de proteína ou amido durante o processo de cozedura; propicia uma massa mais suave, e capaz de originar um produto final de textura macia e volume adequada; a gelatinização do amido é retardada; facilita a incorporação de ar na gordura durante o processo de método cremoso; propicia a caramelização quando expostos a altas temperaturas, oferecendo coloração e aroma agradáveis na cozedura (FIB, 2009).

Tabela 3.19. Teores de açúcares solúveis (mg g^{-1} PS) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 3 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respetivamente). Valores médios ($n = 3$) com letras (a – i) iguais na coluna e letras (r, s, t) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Açúcares Solúveis (mg g^{-1} PS)								
Bloco	Genotipo	Rafinose			Sacarose			
		0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO	Ariete	1,29 (a; r)	1,16 (a; r)	0,95 (bcde; s)	10,53 (ab; r)	8,59 (bcd; s)	8,47 (bc; s)	
	Albatros	0,88 (cdef; r)	1,00 (abc; r)	0,96 (bcde; r)	9,17 (bc; s)	10,45 (a; r)	10,52 (a; r)	
	OP1105	0,97 (bcde; r)	0,95 (abcd; r)	0,82 (cdef; r)	7,54 (cdef; r)	7,90 (bcd; r)	6,03 (efg; s)	
	OP1109	0,73 (ef; s)	0,95 (abcd; r)	0,92 (bcde; r)	6,06 (fg; s)	7,25 (cde; r)	7,13 (cdef; rs)	
SL01 ATO	Ariete	0,84 (cdef; r)	0,86 (bcd; r)	0,82 (cdef; r)	6,25 (defg; r)	7,80 (cd; r)	7,68 (bcd; r)	
	Albatros	0,70 (ef; r)	0,81 (cd; r)	0,81 (cdef; r)	7,05 (g; s)	8,26 (bcd; r)	8,46 (bc; r)	
	OP1105	0,85 (cdef; r)	0,87 (bcd; r)	0,57 (fg; s)	5,68 (efg; r)	5,79 (e; r)	5,90 (fg; r)	
	OP1109	0,76 (def; r)	0,85 (cd; r)	0,76 (def; r)	6,95 (cd; r)	8,71 (bc; r)	8,79 (b; r)	
SL02 ITO	Ariete	0,68 (f; r)	0,68 (d; r)	0,55 (fg; r)	8,60 (f; r)	7,46 (cd; s)	5,87 (fg; t)	
	Albatros	0,80 (cdef; r)	0,89 (abcd; r)	0,40 (g; s)	8,41 (cde; r)	8,50 (bcd; r)	4,94 (g; s)	
	OP1105	0,69 (ef; s)	0,99 (abcd; r)	1,04 (bcd; r)	5,68 (g; t)	6,97 (de; s)	8,55 (bc; r)	
	OP1109	1,04 (abc; r)	1,03 (abc; r)	0,73 (ef; s)	11,94 (a; r)	7,89 (cd; s)	5,61 (fg; t)	
SL02 ATO	Ariete	1,25 (ab; r)	1,14 (ab; r)	1,09 (bc; r)	8,70 (cd; r)	8,44 (bcd; r)	7,62 (bcde; r)	
	Albatros	1,06 (abc; r)	1,15 (a; r)	1,15 (b; r)	9,05 (bc; s)	9,85 (ab; s)	11,36 (a; r)	
	OP1105	0,71 (ef; t)	1,16 (a; s)	1,51 (a; r)	5,91 (fg; s)	8,10 (cd; r)	8,84 (b; r)	
	OP1109	1,03 (abcd; r)	1,07 (abc; r)	0,92 (b; r)	6,32 (fg; r)	7,21 (cde; r)	6,74 (def; r)	

Açúcares Solúveis (mg g^{-1} PS)								
Bloco	Genotipo	Glucose			Frutose			
		0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO	Ariete	1,49 (b; r)	1,18 (b; s)	1,12 (cde; s)	0,92 (bc; r)	0,81 (bc; r)	0,42 (def; s)	
	Albatros	0,40 (fg; r)	0,32 (f; r)	0,31 (i; r)	0,30 (fgh; r)	0,37 (def; r)	0,25 (ef; r)	
	OP1105	0,98 (cd; s)	0,96 (bc; s)	1,22 (cd; r)	0,33 (fgh; s)	0,32 (ef; s)	0,90 (bc; r)	
	OP1109	0,42 (fg; t)	0,81 (cd; s)	1,53 (ab; r)	0,36 (fgh; r)	0,42 (def; r)	0,50 (de; r)	
SL01 ATO	Ariete	1,00 (cd; s)	1,17 (b; s)	1,55 (ab; r)	0,26 (gh; s)	0,42 (def; s)	0,87 (bc; r)	
	Albatros	0,23 (g; s)	0,52 (ef; r)	0,63 (h; r)	0,20 (h; s)	0,34 (def; s)	1,00 (b; r)	
	OP1105	0,96 (cd; s)	0,96 (bc; s)	1,36 (bc; r)	0,54 (defg; s)	0,62 (cd; rs)	0,81 (bc; r)	
	OP1109	1,59 (b; r)	0,88 (c; s)	0,87 (efgh; s)	0,85 (bc; r)	0,59 (cde; s)	0,51 (de; s)	
SL02 ITO	Ariete	0,74 (de; r)	0,79 (cde; r)	0,70 (gh; r)	0,46 (efgh; r)	0,34 (def; r)	0,36 (ef; r)	
	Albatros	0,66 (ef; r)	0,77 (cde; r)	0,78 (fgh; r)	0,56 (def; t)	0,77 (bc; s)	1,01 (b; r)	
	OP1105	0,95 (cd; r)	1,04 (bc; r)	0,65 (gh; s)	0,65 (cde; s)	0,94 (ab; r)	0,92 (bc; r)	
	OP1109	2,13 (a; r)	1,62 (a; s)	1,69 (a; s)	0,87 (bc; s)	0,94 (ab; s)	1,59 (a; r)	
SL02 ATO	Ariete	0,81 (cde; r)	0,80 (cde; r)	0,64 (gh; r)	0,81 (bcd; r)	0,41 (def; s)	0,18 (f; t)	
	Albatros	0,32 (g; t)	0,56 (def; s)	1,02 (def; r)	0,26 (gh; s)	0,27 (f; s)	0,66 (cd; r)	
	OP1105	1,03 (c; r)	0,98 (bc; r)	0,92 (efg; r)	1,49 (a; r)	0,83 (bc; s)	0,84 (bc; s)	
	OP1109	0,82 (cde; s)	1,63 (a; r)	1,57 (ab; r)	1,05 (b; s)	1,21 (a; rs)	1,31 (a; r)	

3.1.9. Proteínas

Na tabela 3.20 encontram-se os valores das percentagens de proteína total nas variedades / genótipos dos grãos de arroz (farinha integral). Em condições controlo, verificou-se um teor ligeiramente mais elevado na OP1109 (8,08%) cultivada no bloco sem adubação de fundo (SL01 ITO), que por sua vez não diferiu de Ariete (SL02 ITO). O valor mais baixo (controlo) foi observado na Ariete (SL01 ITO) (5,93%). Contudo, verificou-se que as aplicações de Se no âmbito da biofortificação incrementaram a percentagem proteica desta variedade até 30 g Se ha⁻¹. Em Albatros verificaram-se bastantes oscilações nas aplicações com selenito, tanto no bloco SL01 como no bloco SL02, sendo que no bloco SL01 o valor máximo foi encontrado na aplicação de 4 g Se ha⁻¹ e no SL02 o valor máximo foi observado na aplicação de 30 g Se ha⁻¹, e estas não diferiram do controlo. No genótipo OP1105 não se visualizaram quaisquer alterações, ou seja, o processo de biofortificação não interferiu nos teores de proteína. Já em OP1109, assim como em Albatros, registaram-se algumas oscilações nos teores da proteína, nomeadamente em grãos provenientes das aplicações com selenito sem adubação de fundo (SL01 ITO), que apresentaram reduções significativas com o aumento da concentração de Se. Com adubação de fundo (SL02 ITO) também ocorreram reduções nos tratamentos com 4, 20 e 60 g Se ha⁻¹, contudo, não diferiram do controlo.

Tabela 3.20. Percentagem de proteína total em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 5 tratamentos, cultivados em 2 blocos sem e com adubação de fundo (SL01 e SL02, respetivamente). Valores médios (n = 2) com letras (a – h) iguais na coluna e letras (r, s, t) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Proteína Total (%)						
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	4 g Se ha ⁻¹	20 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO	Ariete	5,93 (h; t)	6,69 (bcdef; rs)	7,00 (abcd; r)	6,98 (bcde; r)	6,34 (c; st)
	Albatros	6,39 (gh; rs)	6,80 (abcdef; r)	6,18 (f; s)	6,19 (e; s)	6,35 (c; rs)
	OP1105	6,30 (gh; r)	6,54 (cdef; r)	6,53 (cdef; r)	6,36 (ef; r)	6,43 (bc; r)
	OP1109	8,08 (a; r)	7,07 (abcd; s)	6,74 (bcdef; s)	6,90 (bcde; s)	7,00 (ab; s)
SL01 ATO	Ariete	6,37 (gh; r)	6,17 (f; r)	6,56 (cdef; r)	6,62 (cdef; r)	6,42 (bc; r)
	Albatros	6,47 (gh; r)	6,28 (ef; r)	6,31 (ef; r)	6,40 (ef; r)	6,47 (bc; r)
	OP1105	6,67 (efg; r)	6,83 (abcde; r)	6,65 (bcdef; r)	6,40 (ef; r)	6,89 (abc; r)
	OP1109	6,72 (defg; r)	6,74 (abcdef; r)	6,45 (def; r)	7,10 (abcd; r)	7,03 (ab; r)
SL02 ITO	Ariete	7,90 (ab; r)	6,89 (abcde; s)	7,41 (a; rs)	6,96 (bcde; s)	7,32 (a; s)
	Albatros	7,14 (cdef; r)	6,44 (def; s)	6,85 (abcde; rs)	6,94 (bcde; rs)	6,75 (abc; rs)
	OP1105	7,41 (bc; r)	7,22 (ab; r)	7,21 (ab; r)	7,29 (ab; r)	7,27 (a; r)
	OP1109	7,32 (bcd; rs)	7,11 (abc; s)	7,20 (ab; s)	7,72 (a; r)	6,95 (abc; s)
SL02 ATO	Ariete	7,35 (bcd; r)	7,39 (a; r)	7,16 (abc; rs)	7,18 (abc; rs)	6,69 (abc; s)
	Albatros	6,49 (fgh; rs)	6,38 (ef; s)	6,86 (abcde; rs)	6,51 (def; rs)	6,91 (abc; r)
	OP1105	6,93 (cdefg; r)	7,10 (abc; r)	6,89 (abcde; r)	7,35 (ab; r)	6,86 (abc; r)
	OP1109	7,15 (cde; r)	7,31 (abc; r)	7,44 (a; r)	7,26 (abc; r)	7,21 (a; r)

Por ser um dos cereais mais consumidos no mundo, o arroz tem um elevado potencial como fonte de proteína de baixo custo, embora seja o que contém a menor quantidade de proteínas (7 a 9%) entre os cereais com um índice de consumo mundial mais relevante (Shih e Daigle, 2000). A proteína de arroz é incolor, com sabor agradável, e pode ser adequada (como

fonte de proteína hipoalergénica) para substituir parcialmente o leite e os alimentos formulados para crianças (Flocchi *et al.*, 2003).

Souza *et al.* (2016), ao estudarem um método rápido de extração das proteínas da farinha de arroz, quantificaram valores totais de 7%. Friedman (1996) também relatou valores oscilando entre 5 - 7%. Neste estudo, as percentagens de proteína encontram-se próximas dos valores indicados pela literatura, ainda que com algumas variações (Tabela 3.20).

Aponte-se que a qualidade proteica do arroz é ligeiramente inferior à de aveia, embora supere a do trigo e do milho. Além disso, a proteína do arroz integral tem um perfil de aminoácidos essenciais semelhante aos requisitados para crianças de 2 a 5 anos de idade, encontrados na proteína da caseína e da soja (Wang *et al.*, 1999). Reconhece-se ainda que é uma fonte de proteína altamente nutritiva, hipoalergénica, e particularmente saudável para o consumo humano (Shih e Daigle, 2000).

O arroz, e em especial a farinha de arroz, devido às suas propriedades funcionais únicas, tem sido usado num número crescente de novos alimentos, nomeadamente tortilhas, bebidas, carnes processadas, pudins, molho de salada e pães sem glúten (Mccue, 1997; Kadan *et al.*, 2001). Estes alimentos geralmente exigem farinhas de arroz que possuam teores de amilose e proteínas conhecidas (Kadan *et al.*, 1997). No entanto, as condições ambientais durante o enchimento do grão, especialmente a fertilidade do solo e a precipitação (Graham *et al.*, 1999), podem influenciar a acumulação de proteína no grão de arroz em desenvolvimento e, conseqüentemente, afetar as propriedades funcionais da farinha resultante. Note-se que as variações no teor da proteína modificam significativamente a qualidade do grão (Futakuchi *et al.*, 2008), podendo influenciar de forma negativa o sabor da farinha.

3.1.10. Parâmetros Colorimétricos

Os parâmetros de cor do arroz constituem um fator relevante para o consumidor e para a indústria alimentar (Wadsworth, 1994). O arroz com coloração mais branca tem maior valor de mercado e parece deter uma maior preferência por parte dos consumidores (Yadav e Jindal, 2001). Nas tabelas que se seguem são apresentados os valores dos parâmetros de cor do arroz moído (farinha integral).

Tabela 3.21. Determinação da cor dos grãos (farinha integral) pelo sistema CIELAB, através dos parâmetros de luminosidade (L^*) e coordenadas de cromaticidade (a^* e b^*) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito - ITO) em 5 tratamentos, cultivados no bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios ($n = 4$) com letras (a) iguais na coluna e letras (r) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

		Cor das Farinhas					
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	4 g Se ha ⁻¹	20 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	
SL01 ITO	L^*	Ariete	71,21 (a; r)	69,61 (a; r)	69,49 (a; r)	67,56 (a; r)	72,64 (a; r)
		Albatros	70,66 (a; r)	69,34 (a; r)	72,12 (a; r)	70,30 (a; r)	71,71 (a; r)
		OP1105	69,88 (a; r)	67,94 (a; r)	70,36 (a; r)	70,10 (a; r)	69,17 (a; r)
		OP1109	69,95 (a; r)	68,10 (a; r)	70,64 (a; r)	71,86 (a; r)	72,90 (a; r)
	a^*	Ariete	3,49 (a; r)	3,84 (a; r)	3,61 (a; r)	3,82 (a; r)	3,76 (a; r)
		Albatros	4,53 (a; r)	4,14 (a; r)	4,03 (a; r)	3,84 (a; r)	4,41 (a; r)
		OP1105	3,60 (a; r)	4,05 (a; r)	3,22 (a; r)	3,73 (a; r)	3,56 (a; r)
		OP1109	3,17 (a; r)	3,73 (a; r)	3,91 (a; r)	2,51 (a; r)	2,93 (a; r)
	b^*	Ariete	19,92 (a; r)	21,45 (a; r)	20,72 (a; r)	22,97 (a; r)	21,03 (a; r)
		Albatros	22,58 (a; r)	23,08 (a; r)	22,50 (a; r)	23,97 (a; r)	21,50 (a; r)
		OP1105	20,26 (a; r)	21,18 (a; r)	21,76 (a; r)	20,92 (a; r)	21,51 (a; r)
		OP1109	21,64 (a; r)	21,08 (a; r)	21,85 (a; r)	21,26 (a; r)	22,20 (a; r)

Nos grãos provenientes de plantas sem adubação de fundo (Bloco SL01) não se detetaram diferenças significativas nas coordenadas de cor (Tabela 3.21). No entanto, em condições controle, Ariete apresentou uma tendência para a cor mais clara (valores de L^* mais elevado), e na aplicação de selenito mais elevada (60 g Se ha⁻¹) observou-se que OP1109 apresentou o valor de L mais alto. Considerando que a coordenada b^* de cromaticidade indica que as amostras tendem para a cor amarela, este resultado já era esperado por se tratar de farinha de arroz integral. Segundo Lamberts *et al.* (2008), a camada de farelo, assim como a camada da casca, também contém ácidos fenólicos e, além disso, contém diversos carotenoides (β -caroteno, luteína, licopeno e zeaxantina) que também conferem coloração amarela ou vermelha. Albatros apresentou os valores mais elevados de a^* e b^* (tendência para cores mais escuras), embora, não se tenham verificado diferenças significativas relativamente aos restantes genótipos. Através dos resultados do bloco SL01 com aplicação foliar de selenito, é possível afirmar que as diferentes concentrações de selenito em plantas cultivadas sem adubação de fundo, não provocaram alterações na cor das farinhas analisadas. Note-se, contudo, que, para além dos fatores inerentes a cada variedade (Lanning e Siebenmorgen, 2013), é preciso ter em consideração fatores externos que podem influenciar a cor das farinhas de arroz. Processos de pós-colheita comuns, tais como armazenagem e secagem podem causar o amarelecimento ou vermelhidão do grão de arroz (Dillahunty, 2001).

Tabela 3.22. Determinação da cor dos grãos (farinha integral) pelo sistema CIELAB, através dos parâmetros de luminosidade (L*) e coordenadas de cromaticidade (a* e b) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenato - ATO) em 5 tratamentos, cultivados no bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios (n = 4) com letras (a, b) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Bloco	Genótipo	Cor das Farinhas					
		0 g Se ha ⁻¹	4 g Se ha ⁻¹	20 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	
SL01 ATO	L*	Ariete	68,59 (a; s)	83,13 (a; r)	70,90 (a; s)	70,10 (a; s)	70,38 (a; s)
		Albatros	72,86 (a; r)	71,28 (b; r)	70,38 (a; r)	68,91 (a; r)	69,23 (a; r)
		OP1105	69,52 (a; s)	77,60 (a; r)	68,57 (a; s)	69,84 (a; s)	68,73 (a; s)
		OP1109	69,43 (a; r)	70,25 (b; r)	70,18 (a; r)	70,63 (a; r)	72,19 (a; r)
	a*	Ariete	4,16 (a; r)	-2,71 (b; s)	3,28 (a; r)	3,45 (a; r)	3,93 (a; r)
		Albatros	3,89 (a; r)	4,21 (a; r)	4,72 (a; r)	4,17 (a; r)	4,39 (a; r)
		OP1105	3,30 (a; r)	3,30 (a; r)	3,56 (a; r)	3,49 (a; r)	3,68 (a; r)
		OP1109	3,58 (a; r)	4,16 (a; r)	3,11 (a; r)	3,82 (a; r)	3,52 (a; r)
	b*	Ariete	20,26 (a; s)	25,74 (a; r)	19,22 (a; s)	19,35 (a; s)	20,55 (a; s)
		Albatros	20,52 (a; r)	20,75 (a; r)	22,21 (a; r)	20,70 (a; r)	22,45 (a; r)
		OP1105	19,92 (a; r)	20,22 (a; r)	20,27 (a; r)	20,02 (a; r)	19,93 (a; r)
		OP1109	20,46 (a; r)	21,26 (a; r)	20,58 (a; r)	21,12 (a; r)	21,00 (a; r)

Relativamente aos parâmetros de cor das farinhas de grãos biofortificados com selenato e sem adubação de fundo (Tabela 3.22), verificaram-se ligeiras diferenças entre as concentrações aplicadas. Com base nos parâmetros de luminosidade (L*) e cromaticidade (a* e b*), a variedade Ariete com aplicação foliar de 4 g Se ha⁻¹ apresentou uma tendência para farinhas mais claras, pois os valores mais altos de L* indicam maior reflectância da luz. O valor de a* das variedades / genótipos (exceto Ariete) não diferiram significativamente, indicando que a aplicação de selenato não influenciou a extensão da variação de cor mais escura (tendência ao vermelho). Kaur *et al.* (2015), num estudo com dois tipos de cultivos de arroz (orgânico e convencional com aplicação de fertilizante), também constataram a ausência de diferenças significativas entre as farinhas com e sem fertilização, e observaram que o arroz branqueado de ambos os modos de cultivo era de cor amarelada (*i.e.*, com os valores b* positivos).

Tabela 3.23. Determinação da cor dos grãos (farinha integral) pelo sistema CIELAB, através dos parâmetros de luminosidade (L*) e coordenadas de cromaticidade (a* e b) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito - ITO) em 5 tratamentos, cultivados no bloco com adubação de fundo (SL02). Valores médios (n = 4) com letras (a, b) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Bloco	Genótipo	Cor das Farinhas					
		0 g Se ha ⁻¹	4 g Se ha ⁻¹	20 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	
SL02 ITO	L*	Ariete	71,93 (a; r)	71,09 (a; r)	71,08 (a; r)	68,85 (b; r)	69,53 (ab; r)
		Albatros	69,78 (a; r)	70,26 (a; r)	69,41 (a; r)	69,29 (b; r)	68,84 (b; r)
		OP1105	74,03 (a; r)	70,74 (a; rs)	70,68 (a; rs)	70,19 (b; rs)	69,43 (ab; s)
		OP1109	70,38 (a; s)	70,79 (a; rs)	71,18 (a; rs)	74,30 (a; r)	72,52 (a; rs)
	a*	Ariete	3,15 (ab; r)	3,05 (a; r)	3,57 (a; r)	3,15 (ab; r)	3,52 (ab; r)
		Albatros	4,06 (a; r)	4,33 (a; r)	4,01 (a; r)	4,60 (a; r)	4,66 (a; r)
		OP1105	2,18 (b; r)	2,83 (a; r)	2,86 (a; r)	2,89 (b; r)	2,93 (b; r)
		OP1109	3,66 (ab; r)	3,82 (a; r)	3,81 (a; r)	2,28 (b; r)	2,82 (b; r)
	b*	Ariete	20,93 (ab; r)	22,36 (ab; r)	22,28 (ab; r)	23,37 (a; r)	22,78 (a; r)
		Albatros	23,09 (a; r)	23,51 (a; r)	24,09 (a; r)	24,19 (a; r)	23,49 (a; r)
		OP1105	19,36 (b; s)	20,67 (b; rs)	21,35 (b; rs)	22,38 (ab; r)	22,01 (a; r)
		OP1109	22,81 (a; r)	21,91 (ab; r)	21,00 (b; r)	20,33 (b; r)	21,31 (a; r)

Na tabela 3.23, é apresentado o perfil colorimétrico das farinhas de arroz de plantas cultivadas em bloco com adubação de fundo (SL02) e aplicação foliar de selenito (ITO). Verificou-se que relativamente à luminosidade (L^*), OP1109 destacou-se com valores mais elevados nas maiores concentrações de selenito, sendo significativamente diferente do controlo. Em contrapartida, OP1105 apresentou um resultado oposto, pois as farinhas mais claras foram observadas em condições de controlo. Quanto à coordenada de cromaticidade (a^*), verificou-se que o tratamento de biofortificação com as diferentes concentrações de Se não se traduziram em alterações significativas. No entanto, observou-se uma ligeira variação entre os genótipos, nomeadamente em Albatros, que apresentou valores mais elevados de a^* em todas as concentrações de Se, e na máxima concentração de Se (60 g ha^{-1}) foi significativamente diferente de OP1105 e OP1109. Esta mesma tendência foi observada na coordenada b^* , com baixa significância. Em suma, Albatros teve o maior índice de vermelho (a^*) e amarelecimento (b^*), assim como uma baixa luminosidade (L^*), indicando uma maior pigmentação nas farinhas.

Tabela 3.24. Determinação da cor dos grãos (farinha integral) pelo sistema CIELAB, através dos parâmetros de luminosidade (L^*) e coordenadas de cromaticidade (a^* e b^*) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenato - ATO) em 5 tratamentos, cultivados no bloco com adubação de fundo (SL02). Valores médios ($n = 4$) com letras (a, b) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

		Cor das Farinhas					
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	4 g Se ha ⁻¹	20 g Se ha ⁻¹	30 g Se ha ⁻¹	60 g Se ha ⁻¹	
SL02 ATO	L^*	Ariete	71,73 (a; r)	74,24 (a; r)	70,14 (a; r)	71,02 (a; r)	71,02 (a; r)
		Albatros	72,16 (a; r)	70,84 (a; r)	70,93 (a; r)	71,88 (a; r)	70,31 (a; r)
		OP1105	71,17 (a; r)	70,05 (a; r)	68,02 (a; r)	71,92 (a; r)	71,46 (a; r)
		OP1109	71,82 (a; r)	69,94 (a; r)	72,73 (a; r)	72,98 (a; r)	71,95 (a; r)
	a^*	Ariete	4,23 (a; r)	3,18 (ab; r)	3,47 (a; r)	3,32 (a; r)	4,16 (a; r)
		Albatros	3,72 (a; r)	4,68 (a; r)	4,43 (a; r)	3,58 (a; r)	4,09 (a; r)
		OP1105	1,77 (b; r)	2,32 (b; r)	3,67 (a; r)	2,94 (a; r)	2,77 (ab; r)
		OP1109	3,15 (ab; rs)	4,15 (a; r)	2,41 (a; s)	1,68 (a; s)	2,24 (b; s)
	b^*	Ariete	19,82 (a; r)	20,15 (a; r)	21,48 (a; r)	22,29 (a; r)	21,41 (ab; r)
		Albatros	20,83 (a; r)	22,41 (a; r)	22,07 (a; r)	21,39 (a; r)	23,26 (a; r)
		OP1105	21,15 (a; r)	20,86 (a; r)	21,52 (a; r)	19,50 (a; r)	20,51 (b; r)
		OP1109	21,60 (a; r)	21,85 (a; r)	22,46 (a; r)	21,74 (a; r)	22,36 (ab; r)

De acordo com os resultados (tabela 3.24), é possível constatar que as aplicações foliares de selenato em bloco com adubação de fundo, não provocaram alterações significativas na cor das farinhas, exceto na coordenada de cromaticidade a^* na OP1109, onde ocorreu uma ligeira diferença com valores de a^* mais elevados (tendência para tons vermelhos) na aplicação de 4 g Se ha^{-1} . Notou-se também uma ligeira diminuição de L^* (menos brilhante) e tons amarelos (b^* positivo). Contudo, ressalta-se que houve fraca ou nenhuma diferença entre as variedades / genótipos ou tratamentos, o que denota aparências físicas semelhantes quando cultivadas nas referidas condições. Acresce que o grau de moagem também influencia fortemente a cor final do arroz. No caso das amostras em estudo, a farinha foi obtida a partir do grão integral. Segundo Lamberts *et al.* (2007), o farelo e as camadas exteriores do endosperma contêm pigmento vermelho / amarelado, e a moagem de grãos de arroz resulta numa mistura de uma pequena fração escura (farelo e endosperma exterior) e uma grande parte menos pigmentada (o

endosperma interior). O arroz é geralmente (processado) polido a 10% (ficando cerca de 90% do peso do grão), com algum vestígio de farelo e do embrião frequentemente restante nas ranhuras á sua superfície. Se polido em percentagens superiores, o arroz torna-se mais branco em cor e mais saboroso. Se polido até deixar cerca de 60% ou 70% do peso do grão, o núcleo resultante do arroz polido consiste de amido quase puro (Itani *et al.*, 2002). Este fato foi constatado por Lamberts *et al.* (2007), que estudaram o efeito da moagem na coloração e nas propriedades do grão de arroz. Estes mesmos autores referiram que a luminosidade (L^*) aumenta com o incremento da remoção das camadas de farelo e do embrião.

3.2. Segundo Ano de Ensaio

3.2.1. Solo e Água de Cultivo

As plantas foram cultivadas sob condições de terrenos alagados. O solo e a água de cultivo do 2º ano de ensaio possuíam a composição indicada nas Tabelas 3.25 e 3.26. No segundo ano de ensaio, foi implementado no campo o sistema sem adubação de fundo referente ao bloco SL01 do primeiro ano (conforme descrito no item 3.1.1).

Tabela 3.25. Características químicas e físicas do solo. Valores médios (n = 3).

Amostras	pH	P	K	Mg	Matéria Orgânica	Textura
		P ₂ O ₅ mg Kg ⁻¹	K ₂ O mg Kg ⁻¹	mg Kg ⁻¹	%	
BL – SL01	5,3	61 (Médio)	<24	56 (Baixo a médio)	0,85	Grosseira

Tabela 3.26. Características físicas e químicas nas lâminas de água à superfície dos solos de cultivo do arroz no decurso do segundo ano de ensaio. Valores médios (n = 3).

Amostras	Condutividade	pH	HCO ₃	Na	K	Ca	Mg
2014 BL – SL 01	0,513	6,7	138,00	65,38	8,49	38,4	16,69

Foram aferidas as características físicas e químicas nas lâminas de água de cultivo no segundo ano de ensaio (Tabela 3.26), observaram-se pequenas alterações face ao primeiro ano, por se tratar de um bloco com cultivos anteriores. Quanto à condutividade, verificaram-se valores superiores em relação ao ano anterior, ainda que dentro dos parâmetros aceitáveis e sem restrições para o uso agrícola, conforme definido pelo Decreto-Lei nº 236/98, para águas destinadas à rega. O pH da água apresentou valores próximos da neutralidade, e a condutividade não mostra problemas de salinização, segundo Ayers e Westcot (1985), encontrando-se na faixa normal para culturas agrícolas. A concentração de bicarbonato sofreu um acréscimo face ao ano anterior, eventualmente devido a alterações das condições ambientais, nomeadamente na precipitação e temperatura (Simões, 1998), com comportamento muito irregular ao longo do ano hidrológico e entre anos hidrológicos. As concentrações de Na na lâmina de água eram elevadas, se adotados os referenciais descritos por Ayers e Westcot (1985). O Ca e o Mg apareceram em quantidades semelhantes ao ano anterior. Neste enquadramento aponte-se que, segundo Stone *et al.* (2016), o excesso de sais nas proximidades do sistema radicular reduz o crescimento das plantas, devido a efeitos específicos e não-específicos, os quais, por sua vez, dependem da qualidade e da quantidade dos sais presentes. Os efeitos específicos, ou fisiológicos, são aqueles causados por um desequilíbrio nas concentrações relativas de várias espécies de iões em relação a um outro, enquanto os efeitos não-específicos, ou osmóticos, são causados pela concentração total de sais, indiferente às espécies presentes.

3.2.2. Parâmetros Meteorológicos

O ciclo cultural teve duração de 5 meses, compreendido entre os meses de maio a outubro. A temperatura máxima registada pela estação meteorológica de Paúl de Magos variou entre 17,5 e 35,3 °C, e a temperatura mínima oscilou entre 7,2 e 19,5 °C (Figura 3.35). Além das temperaturas diárias foram também registados os volumes de precipitação que evidenciam quantidades mais elevadas no final do ciclo, ou seja, início do outono.

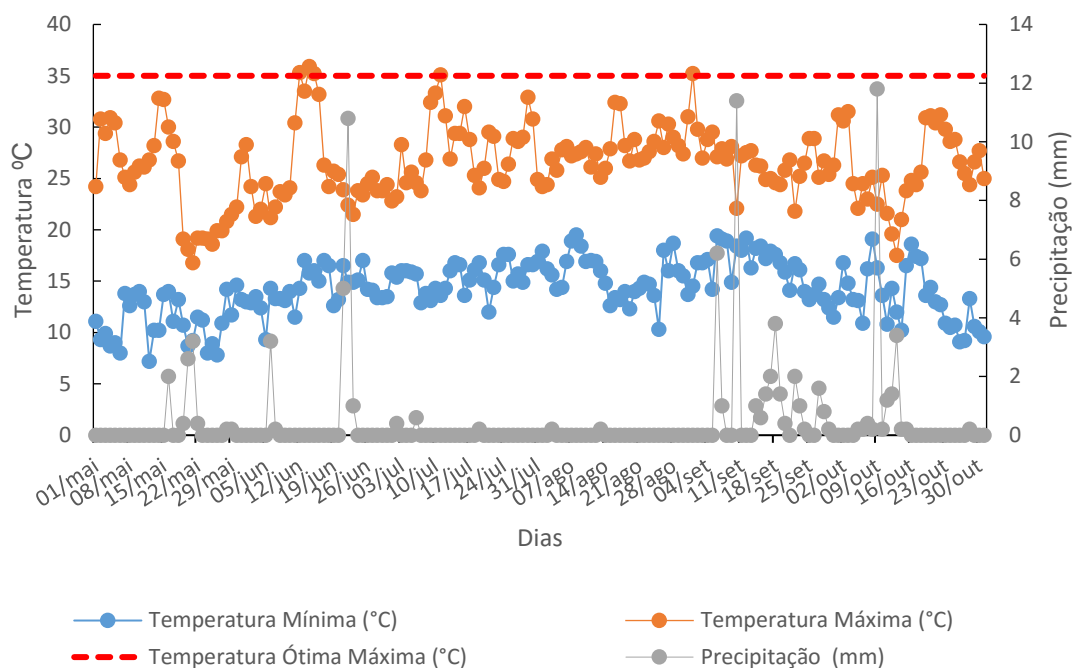


Figura 3.35. Condições climáticas no campo experimental, no decurso do 2º ano do ensaio (2014). Fonte: Salvaterra de Magos, Estação / Posto Meteorológico Paúl de Magos, Associação dos Regantes e Beneficiários do Vale do Sorraia.

Face ao ano anterior considerou-se que, ao longo de todo ciclo, as temperaturas máximas se mantiveram dentro dos níveis adequados para a cultura do arroz. Quanto às temperaturas mínimas, observou-se que estas possuíam médias mais elevadas do que no ano anterior. Segundo Figueiredo *et al.* (2013), a par do tipo de solo, a temperatura e a radiação também são importantes, pois as maiores produtividades de arroz são obtidas nas regiões temperadas, com temperaturas médias oscilando entre 13 – 20 °C na primavera, durante o crescimento, e uma temperatura mínima de 19 °C na fase correspondente à maturação do grão, no outono. Yao *et al.* (2007) relataram que uma elevação da temperatura afeta a fenologia e o rendimento de grãos das culturas. Nos seus estudos verificaram redução da produtividade com o aumento da temperatura máxima, resultante da maior esterilidade de espigas no arroz, e com o aumento da temperatura mínima, pelo aumento da taxa de respiração noturna e, consequentemente, consumo de biomassa.

3.2.3. Desenvolvimento Fenológico das Variedades e Genótipos

As fases fenológicas do arroz e o respectivo ponto de desenvolvimento (maturação completa e colheita) de cada genótipo são apresentados na Figura 3.36. Verificou-se que, assim como no primeiro ano, as principais fases fenológicas foram semelhantes para as 4 variedades / genótipos. Contudo, o ciclo foi mais longo, nomeadamente, 145 dias até atingirem a completa maturação fisiológica. Este fato foi ocasionado pelo atraso na emergência das plantas, que parece ter sido motivado por condições climáticas do respetivo ano de ensaio (Figura 3.36). A Fenologia da planta é sensível à mudança do clima, o aumento da variabilidade da temperatura pode prolongar a época de cultivo de arroz (Zhang e Tao, 2013).

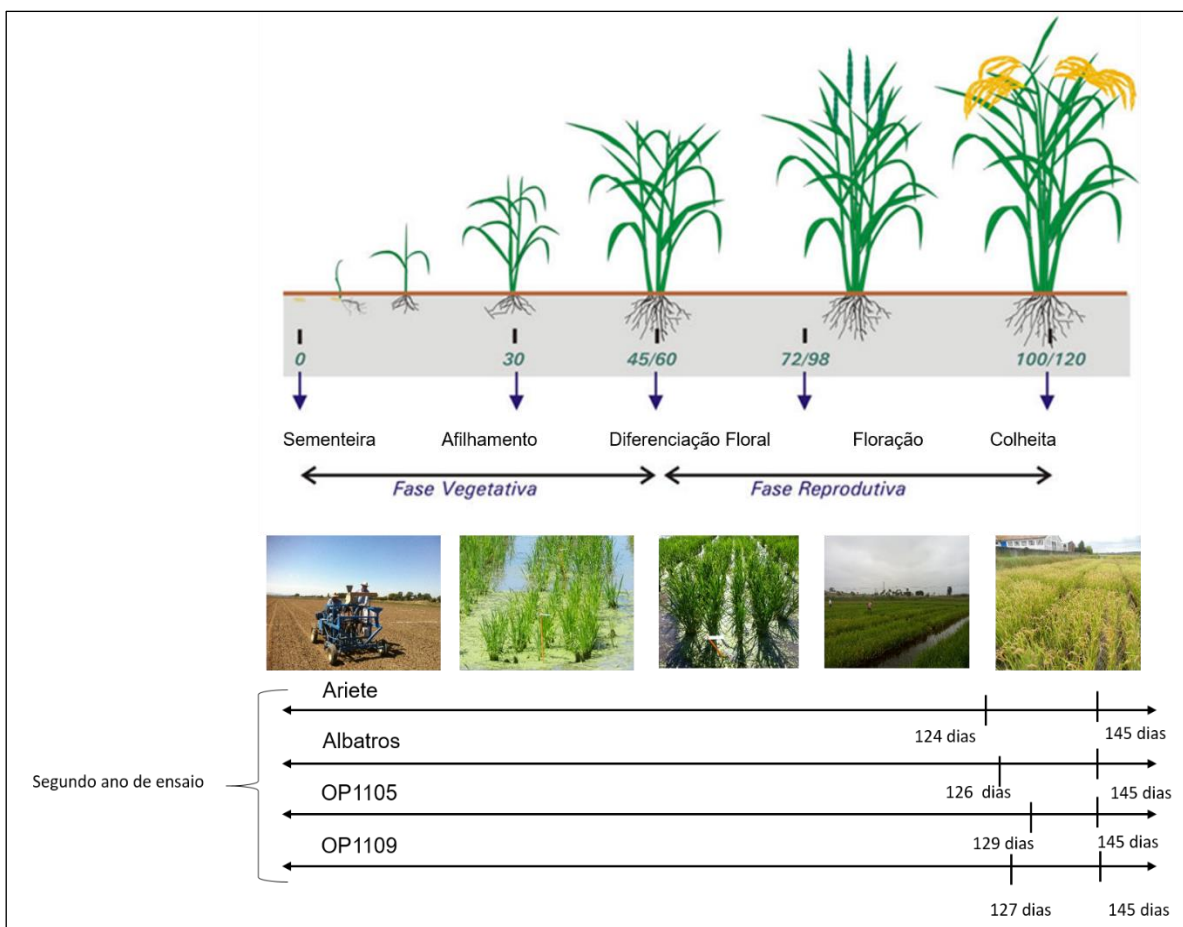


Figura 3.36. Diagrama do ciclo de vida do arroz (2014).

3.2.4. Parâmetros Fotossintéticos – Trocas Gasosas Foliaves

À semelhança do primeiro ano, no segundo ano de ensaio, os testes de quantificação de taxas de mobilização de fotoassimilados, foram efetuadas em épocas importantes do ciclo de vida da planta (início do encanamento e início do enchimento do grão). Na tabela 3.27 encontram-se os resultados das determinações em condições controlo em 2 épocas distintas do desenvolvimento da planta. Nas tabelas 3.28 - 3.31 encontram-se ainda os parâmetros fotossintéticos analisados após a aplicação da biofortificação, com vista à avaliação dos impactes dos tratamentos de Se na produção e acumulação de fotoassimilados da planta. As trocas gasosas foliaves, obtidas por meio de um sistema portátil de medição do CO₂ por infravermelhos (IRGA), permitem uma avaliação do funcionamento global do metabolismo fotossintético, no qual se baseiam o desempenho e a capacidade produtiva das plantas.

Tabela 3.27. Parâmetros fotossintéticos em 4 genótipos de arroz, em condições controlo em 2 fases do desenvolvimento das plantas. Taxa de assimilação líquida (*Pn*), taxa de condutância estomática para a água (*gs*), taxa de transpiração (*Tr*) e eficiência instantânea do uso de água (*iWUE*, calculada pela relação *Pn/gs*). Valores médios (*n* = 3) com letras (a) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Parâmetros Fotossintéticos										
Bloco	Genótipo	<i>Pn</i> ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		<i>gs</i> ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		<i>Tr</i> ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		<i>iWUE</i> ($\mu\text{mol CO}_2/(\text{mmol H}_2\text{O})$)		
		30 Jul.	24 Set.	30 Jul.	24 Set.	30 Jul.	24 Set.	30 Jul.	24 Set.	
SL01	Ariete	18,77 (a; r)	8,87 (b; s)	154,33 (a; r)	98,33 (a; s)	3,56 (a; r)	2,98 (a; s)	0,124 (a; r)	0,075 (a; r)	
	Albatros	16,97 (a; r)	9,30 (ab s)	148,33 (a; r)	101,33 (a; s)	3,45 (a; r)	2,94 (a; s)	0,115 (a; r)	0,096 (a; r)	
	OP1105	16,47 (a; r)	15,23 (a; r)	145,33 (a; r)	103,67 (a; r)	3,31 (a; r)	3,10 (a; r)	0,116 (a; r)	0,152 (a; r)	
	OP1109	15,47 (a; r)	10,87 (ab; s)	126,67 (a; r)	125,00 (a; r)	3,26 (a; r)	3,29 (a; r)	0,124 (a; r)	0,087 (a; r)	

De 30 de Julho para 24 de Setembro, Ariete revelou um decréscimo da taxa de assimilação líquida (P_n) nas plantas sem aplicação de Se, decorrente do evoluir do ciclo de vida e das condições ambientais prevaletentes na altura das medições. Tal como na P_n , a condutância estomática (g_s) mostrou um decréscimo entre 30 de Julho e 24 de Setembro. A Tr também apresentou redução significativa, indiciando assim, menor intensidade transpiratória em Setembro. Contudo, não se traduziu numa maior $iWUE$. A variedade Albatros apresentou um comportamento semelhante ao da Ariete em vários aspetos. A P_n decresceu de Julho para Setembro nas plantas controlo (sem aplicação de Se). Os valores de g_s e Tr mostraram igualmente um decréscimo de Julho para Setembro. Entre o final de Julho e o final de Setembro OP1105, revelou decréscimos em todos os parâmetros, ainda que não tenham sido significativos. Em OP1109 ocorreu um decréscimo da P_n , mas os outros parâmetros mantiveram-se inalterados.

Na tabela 3.28 são apresentados os resultados da taxa fotossintética líquida. As leituras foram realizadas nas plantas controlo e em plantas que já haviam sido submetidas ao itinerário de biofortificação, encontrando-se então na fase de enchimento do grão.

Tabela 3.28. Taxa fotossintética líquida (P_n) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios ($n = 3$) com letras (a) iguais na coluna e letras (r) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

P_n ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)					
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	120 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO	Ariete	8,87 (a; r)	8,87 (a; r)	10,00 (a; r)	12,33 (a; r)
	Albatros	10,23 (a; r)	10,77 (a; r)	14,23 (a; r)	11,73 (a; r)
	OP1105	15,23 (a; r)	9,80 (a; r)	11,67 (a; r)	10,97 (a; r)
	OP1109	10,87 (a; r)	10,87 (a; r)	10,10 (a; r)	13,43 (a; r)
SL01 ATO	Ariete	8,87 (a; r)	10,23 (a; r)	10,47 (a; r)	9,97 (a; r)
	Albatros	10,23 (a; r)	11,50 (a; r)	7,77 (a; r)	9,97 (a; r)
	OP1105	15,23 (a; r)	9,43 (a; r)	12,50 (a; r)	8,50 (a; r)
	OP1109	10,87 (a; r)	10,17 (a; r)	12,50 (a; r)	11,57 (a; r)

Na Ariete verificou-se que a aplicação foliar de Se provocou um ligeiro, mas crescente aumento da P_n com a aplicação de selenito e selenato, contudo esse aumento não foi significativo. Esta tendência está de acordo com os resultados de 2013, nos quais a dose máxima (60 g Se ha⁻¹) também apresentou um valor aumentado de P_n . Tal como em Ariete, também na Albatros, a aplicação na forma de selenito promoveu, de forma crescente, a P_n até 180 g Se ha⁻¹, o que corrobora os dados de 2013 (neste ano a P_n subiu com concentrações até 60 g Se ha⁻¹). Com a aplicação de selenato houve um decréscimo de P_n para concentrações a partir de 120 g Se ha⁻¹, apesar de a dose máxima não apresentar um valor significativamente menor que o controlo. A aplicação foliar de selenito e selenato no OP1105 provocou um ligeiro decréscimo de P_n (já observada com 120 g Se ha⁻¹). Note-se que em 2013 os valores de P_n obtidos com 60 g ha⁻¹ foram semelhantes aos do controlo (0 g Se ha⁻¹), mas já com uma tendência decrescente,

que continuou para a dose imediatamente acima (120 g Se ha⁻¹), e depois se manteve para concentrações superiores. Relativamente ao genótipo OP1109, a aplicação de Se (independentemente da forma) também não teve um efeito significativo na *Pn*, algo que já se verificava para 60 g Se ha⁻¹ em 2013. Esta estabilidade relativamente às concentrações de Se pode indicar que este genótipo, tal como Ariete e Albatros, será adequado à biofortificação com Se, e poderão eventualmente tolerar concentrações mais elevadas.

Wang *et al.* (2012) verificaram que o arroz submetido a baixas concentrações de Se, apresenta melhores taxas fotossintéticas. No entanto, sugeriram que o tratamento com concentrações mais elevadas (10 mg / L de selenito de sódio) poderá danificar o aparelho fotossintético e inibir o respetivo metabolismo. Porém, no sorgo, a aplicação de Se parece aumentar significativamente a taxa fotossintética, a condutância estomática e a taxa de transpiração (Djanaguiraman *et al.*, 2010). A restauração da fotossíntese nas plantas sob stresse, após a aplicação Se, pode estar estreitamente relacionada com a regeneração do ciclo Asada-Halliwell, que tenderá a favorecer a restauração da estrutura dos cloroplastos e o incremento da produção de outros metabolitos vitais, como a glutatona reduzida - *GSH* (Wang *et al.*, 2012). Ding *et al.* (2014), ao estudarem duas populações de arroz, descobriram diferentes padrões fotossintéticos. Estes autores verificaram que a *Pn* variou entre 13,6 – 30,9 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e entre 16,1 – 33,2 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Neste trabalho, os valores variaram de 8,7 a 15,23 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ sob condições de controlo (Ariete e OP1105, respetivamente). Assim, tal como observado no presente estudo, na qual não se observaram diferenças significativas entre os genótipos e os tratamentos, estes autores também não encontraram diferenças significativas entre as duas populações de genótipos. Lidon *et al.* (2004), num estudo sobre a acumulação de Mn em arroz, reportaram que os valores de *Pn* decresceram gradualmente com o tratamento de Mn, com redução de 21%. Os valores encontrados por esses autores também variaram entre 3,7 e 15 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Proietti *et al.* (2013) também estudaram a *Olea europaea* L., efetuando aplicações de Se para verificar se este elemento poderia ser eficaz na redução do stresse causado pela seca. Os resultados indicaram que, sob stresse hídrico, a aplicação foliar de Se poderia aumentar a fotossíntese (*Pn*) e o rendimento de frutos, assim como regular o estado hídrico de árvores e manter um nível elevado do teor de água nas folhas. Segundo estes autores, o Se aumentou ainda a atividade de enzimas antioxidantes. De fato, em azevém foi demonstrado que o Se em baixas concentrações atua como um antioxidante, ainda que a concentrações mais elevadas atue como um pro-oxidante (Hartikainen *et al.*, 2000). Nawaz *et al.* (2015 a) estudaram os efeitos da aplicação de Se em plantas de trigo sob condições normais e de déficit hídrico, observando que a suplementação de Se melhorou significativamente a *Pn* e a *gs* em condições normais e de falta de água. Segundos os autores, esta resposta poderá estar relacionada com o papel positivo do Se na defesa do aparelho fotossintético.

Equacionando o efeito da aplicação de Se na *gs* (Tabela 3.29), verificou-se que em Ariete a formulação de selenito não afetou sensivelmente a *gs* (Tabela 3.29), mas com selenato constatou-se que a *gs* decresceu com o aumento da dose aplicada de Se. Em Albatros, com a aplicação de selenito as plantas mostraram o mesmo padrão da *Pn*, com um máximo a 300 g Se

ha⁻¹, enquanto que com a aplicação de selenato ocorreu um decréscimo dos valores de *gs* e *Tr* em qualquer das concentrações aplicadas. Em OP1105, a aplicação de selenito e selenato provocaram igualmente o decréscimo destes parâmetros (tal como para *Pn*), exceto na dose de 300 g Se ha⁻¹ com selenito. Aponte-se que em 2013 os valores de *gs* e *Tr*, com 60 g Se ha⁻¹ já mostravam uma tendência para decréscimo, situação que se acentuou em 2014 com 120 g Se ha⁻¹. Em OP1109, observaram-se decréscimos da *gs* em ambas as formas (selenito e selenato) em qualquer das concentrações, exceto para 120 g Se ha⁻¹ de selenito. A concentrações menores (2013) o efeito de decréscimo de *gs* e *Tr* também já fora observado.

Tabela 3.29. Condutância Estomática (*gs*) estomática em 4 genótipos de arroz submetidos a biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios (n =3) com letras (a, b, c) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

		<i>gs</i> (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)			
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	120 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO	Ariete	98,33 (a; r)	108,33 (ab; r)	100,33 (ab; r)	106,17 (ab; r)
	Albatros	101,33 (a; r)	109,33 (ab; r)	119,00 (a; r)	130,00 (a; r)
	OP1105	103,67 (a; r)	76,67 (abc; rs)	56,33 (bc; s)	120,33 (a; r)
	OP1109	125,00 (a; r)	125,00 (a; r)	75,67 (abc; s)	86,67 (abc; rs)
SL01 ATO	Ariete	98,33 (a; r)	77,67 (abc; rs)	65,33 (bc; rs)	51,00 (c; s)
	Albatros	101,33 (a; r)	60,67 (bc; rs)	40,33 (c; s)	81,00 (abc; rs)
	OP1105	103,67 (a; r)	48,00 (c; s)	55,33 (bc; s)	81,00 (abc; rs)
	OP1109	125,00 (a; r)	77,00 (abc; s)	55,33 (bc; s)	58,00 (bc; s)

Tadina *et al.* (2007) estudaram duas cultivares de trigo expostas a três tratamentos: déficit hídrico (DH), pulverização foliar por Se (como selenato), e a combinação de ambos (DH + Se). Em DH a *gs* foi significativamente menor, enquanto que nas plantas DH + Se a *gs* aumentou. Os autores verificaram que em DH os estomas foram parcialmente fechados, de modo que a *gs* foi significativamente menor do que em plantas controlo. O fecho dos estomas contribuiu para redução da perda de água e a manutenção do potencial hídrico favorável nas plantas. A adição de Se mitigou este efeito negativo do DH sobre os estomas. Geralmente o fecho de estomas é a primeira reação da planta ao stresse hídrico (Kawakami *et al.*, 2006). Proietti *et al.* (2013) ao estudarem a aplicação de Se em *Olea europaea* L. também verificaram que, em geral, os tratamentos com Se, especialmente em concentração elevada, aumentaram significativamente a *gs* (até 50%) em plantas com stresse hídrico. Kuznetsov *et al.* (2003) também verificaram que o Se regula o estado da água das plantas de trigo, pelo fato de manter o alto conteúdo de água em seus tecidos. Por oposição, no nosso estudo constatou-se que a máxima concentração de Se, principalmente na forma de selenato, apresentou valores de *gs* mais baixos em relação ao controlo, ainda que para a Ariete e a OP1109, essa redução não tenha sido significativa.

Relativamente à taxa de transpiração (*Tr*) (Tabela 3.30), a Ariete apresentou um padrão de variação semelhante à de *gs*, verificando-se que a aplicação com selenito não interferiu com a *Tr* (mesmo na dose mais elevada a 300 g Se ha⁻¹), enquanto que o selenato provocou um

decréscimo progressivo da *Tr*. Em Albatroz, com a aplicação de selenito nas plantas, a *Tr* apresentou o mesmo padrão da *Pn*, com um valor máximo na aplicação de 180 g Se ha⁻¹. A *Tr* em qualquer das concentrações de selenato aplicadas apresentou um decréscimo, que foi significativo com 120 e 180 g Se ha⁻¹. Relativamente à OP1105, com aplicação de selenito a 180 g Se ha⁻¹, ocorreu o valor mais baixo de *Tr*, tal como observado em *gs* (note-se que este resultado se refletiu na *iWUE*). Na aplicação de selenato, estas reduções foram observadas em 120 e 180 g Se ha⁻¹, que também provocou impacte na *iWUE*. Na OP1109, as duas formas de Se (selenito e selenato) induziram decréscimos em qualquer das concentrações (exceto com 120 g Se ha⁻¹ de selenito).

Tabela 3.30. Transpiração (*Tr*) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO), cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios (n = 3) com letras (a, b, c) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o de Tukey ($\alpha = 0,05$).

<i>Tr</i> (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)					
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	120 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO	Ariete	2,98 (a; r)	2,91 (ab; r)	2,94 (ab; r)	2,92 (a; r)
	Albatros	2,94 (a; r)	2,90 (ab; r)	3,23 (a; r)	3,18 (a; r)
	OP1105	3,10 (a; rs)	2,40 (abc; rs)	1,84 (c; s)	3,14 (a; r)
	OP1109	3,29 (a; r)	3,29 (a; r)	2,34 (abc; s)	2,23 (ab; s)
SL01 ATO	Ariete	2,84 (a; r)	2,36 (abc; rs)	1,97 (bc; s)	1,72 (b; s)
	Albatros	2,94 (a; r)	1,92 (bc; s)	1,38 (c; s)	2,31 (ab; rs)
	OP1105	3,10 (a; r)	1,61 (c; s)	1,89 (c; s)	2,31 (ab; rs)
	OP1109	3,29 (a; r)	2,34 (abc; s)	1,89 (c; s)	1,88 (b; s)

Habibi (2013) investigou as mudanças nos parâmetros fisiológicos em cevada de primavera, sob stresse hídrico e pulverização de Se, tendo constatado que a *Tr* não foi afetada significativamente pelo stresse hídrico, enquanto que a *gs* foi reduzida fortemente em condições de seca, ainda que tenha aumentado com as aplicações de Se. Acrescentaram ainda que a pulverização com Se elevou a taxa de crescimento das plantas, aumentou o teor relativo de água e a acumulação da matéria seca face ao controlo. Segundo estes autores, a aplicação de selenato poderá ser usada para promover a indução do sistema antioxidante em plantas, melhorando assim a resistência das mesmas. No nosso estudo, verificou-se que sob condições de biofortificação, o selenato promoveu menor transpiração das plantas, fato esse, mais evidenciado nas aplicações de 120 e 180 g Se ha⁻¹. Contrariamente aos nossos resultados, Proietti *et al.* (2013) verificaram que concentrações mais elevadas de Se, nomeadamente, o tratamento 150 mg L⁻¹ Se, aumentou a *Tr* em *Olea europaea* L.

Equacionando a eficiência instantânea do uso da água (*iWUE*) (Tabela 3.31), em Ariete, como consequência das variações da *Pn* e *gs* (ou *Tr*), ocorreu apenas um ligeiro aumento, que foi progressivo com concentrações crescentes de selenato (devido ao decréscimo de *gs* ou *Tr*, apesar da *Pn* permanecer estável). Em Albatros a *iWUE* apresentou-se estável com selenito e aumentou com a aplicação de selenato, para todas as concentrações de Se. Relativamente à OP1105, o valor de *iWUE* aumentou nalgumas das concentrações de Se, eventualmente devido

ao maior decréscimo de *gs* do que de *Pn*. Em OP1109, como consequência da manutenção da *Pn* e decréscimo de *gs*, os valores de *iWUE* tenderam a aumentar.

Tabela 3.31. Eficiência instantânea do uso da água (*iWUE*) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios (n =3) com letras (a, b) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o de Tukey ($\alpha = 0,05$).

<i>iWUE</i> ($\mu\text{mol CO}_2$)/(mmol H ₂ O)						
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	120 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹	
SL01 ITO	Ariete	0,075 (a; r)	0,094 (b; r)	0,126 (b; r)	0,097 (b; r)	
	Albatros	0,096 (a; r)	0,100 (b; r)	0,119 (b; r)	0,096 (b; r)	
	OP1105	0,152 (a; rs)	0,129 (ab; rs)	0,209 (ab; r)	0,093 (b; s)	
	OP1109	0,087 (a; r)	0,087 (b; r)	0,135 (ab; r)	0,125 (ab; r)	
SL01 ATO	Ariete	0,092 (a; s)	0,133 (ab; rs)	0,163 (ab; rs)	0,200 (a; r)	
	Albatros	0,096 (a; s)	0,196 (a; r)	0,197 (ab; r)	0,153 (ab; rs)	
	OP1105	0,152 (a; r)	0,197 (a; r)	0,226 (a; r)	0,153 (ab; r)	
	OP1109	0,087 (a; t)	0,136 (ab; st)	0,226 (a; r)	0,203 (ab; rs)	

No ambiente natural, as plantas estão bem adaptados para minimizar danos que só ocorrem em condições extremas. Sob condições de seca moderada, a planta pode induzir alterações na perda e captação de água, permitindo a manutenção do conteúdo relativo de água das folhas, dentro dos limites que permitam manter a capacidade fotossintética. Em contrapartida, níveis severos de stresse hídrico levam a alterações desfavoráveis de fotossíntese e crescimento. Portanto, baseado na presença ou ausência de água, são ativados diferentes mecanismos de respostas (Yordanov *et al.*, 2003). Neste enquadramento, segundo Proietti *et al.* (2013), tratamentos de Se são eficientes para aumentar significativamente o teor relativo de água em condições de stresse hídrico, sem diferenças significativas entre as dosagens utilizadas. De fato estes autores obtiveram um aumento do teor hídrico relativo até 40% nas plantas que receberam aplicação de Se. Kaur *et al.* (2015) também avaliaram os efeitos da adição de várias concentrações de Se (1, 2,5 e 5 ppm) em plantas de feijão, e verificaram que o Se melhorou o estado hídrico das folhas, muito provavelmente através da regulação da *gs*. Assim como no primeiro ano de ensaio, as plantas foram cultivadas sob condições de alagamento, por isso, não ocorreu stresse hídrico nas plantas. No entanto, sob condições de biofortificação com 300 g Se ha⁻¹ verificou-se que as plantas atingiram a senescência mais cedo e apresentaram escurecimento nas folhas. Nasser (2015), que estudou a aplicação foliar de Se em batatas, observaram que as plantas apresentaram dano severo em todas as concentrações testadas (0,10; 0,21; 0,31 e 0,42%) de Se. Tais danos foram irreversíveis, de modo a impossibilitar as análises de trocas gasosas e fluorescência. A alta fitotoxicidade demonstra que a aplicação foliar desse elemento deve ser em concentrações menores. De fato, o elevado teor de Se no tecido poderá ter aumentado a peroxidação lipídica das membranas celulares e comprometido o metabolismo vegetal, o que, conseqüentemente acarretou distúrbios na homeostase mineral (Hawrylak-Nowak *et al.*, 2015).

3.2.5. Parâmetros da Produção

No segundo ano de ensaio, o PMG revelou alterações significativas (Tabela 3.32). Constatou-se que nos genótipos OP1105 e OP1109, com aplicações de selenito nas concentrações mais elevadas (180 e 300 g Se ha⁻¹) ocorreram valores mais elevados. No entanto, para esses genótipos não se observaram diferenças entre 120, 180 e 300 g Se ha⁻¹. O peso mais baixo foi verificado na Albatros. Adicionalmente observou-se que as concentrações de Se não interferiram no peso desta variedade, assim como na Ariete. Nas pulverizações com selenato, verificaram-se reduções significativas na Ariete e na OP1105, quando estas receberam a máxima concentração de selenato

A Albatros e a OP1109 mantiveram-se estáveis, e não apresentaram diferenças significativas com a aplicação de Se no âmbito do itinerário de biofortificação, confirmando-se como os genótipos menos e mais produtivos em valores absolutos, respetivamente. Assim, tal como verificado no primeiro ano de ensaio, a OP1109 manteve os níveis de PMG elevados, novamente diferindo da Albatros, tanto com a aplicação de selenito como de selenato (tabela 3.32).

Tabela 3.32. Peso de Mil Grãos (g) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios (n =3) com letras (a, b, c) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

		Peso de Mil Grãos (g)					
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	120 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹		
SL01 ITO	Ariete	24,14 (ab; r)	24,05 (b; r)	23,72 (cd; r)	23,12 (b; r)		
	Albatros	22,28 (bc; r)	21,10 (d; r)	22,08 (de; r)	21,38 (b; r)		
	OP1105	24,52 (ab; s)	25,73 (ab; rs)	25,52 (bc; rs)	27,18 (a; r)		
	OP1109	25,46 (a; s)	27,03 (a; rs)	27,90 (a; r)	27,35 (a; rs)		
SL01 ATO	Ariete	25,10 (ab; r)	23,72 (bc; rs)	24,07 (cd; r)	21,83 (b; s)		
	Albatros	20,71 (c; r)	21,50 (cd; r)	21,30 (e; r)	20,87 (b; r)		
	OP1105	24,22 (ab; r)	26,72 (a; r)	24,80 (c; rs)	21,52 (b; s)		
	OP1109	25,39 (a; r)	27,20 (a; r)	27,23 (ab; r)	27,07 (a; r)		

Tal como foi observado no nosso estudo (nas variedades Ariete e Albatros SL01 ITO; Albatros e OP1109 SL01 ATO), Wang *et al.* (2013 a) ao estudarem a biofortificação de milho com aplicações foliares com concentrações de 0, 57, 114, 171, 228 e 285 g Se ha⁻¹ (sob a forma de selenito), não observaram um efeito significativo no rendimento de grãos durante um período de ensaio de dois anos. Vários ensaios de campo confirmaram este resultado, e não se detetaram efeitos significativos da aplicação de Se no índice de produtividade e colheita em trigo de inverno (Broadley *et al.*, 2010), rendimento de alho (Pöldma *et al.*, 2011) e no rendimento de grãos de milho (Chilimba *et al.*, 2012). Por outro lado, Wang *et al.* (2013 b), ao verificar o efeito da adubação de selenito na produção de arroz, referiu que o processo de biofortificação estimulou

a produção de grãos maiores e rendimentos mais elevados, e encurtou o número de dias do ciclo, conduzindo a uma maturidade mais rápida do arroz. Wang *et al.* (2012) sugeriram que o aumento do rendimento de arroz pode decorrer da promoção do crescimento das plantas proveniente da adição otimizada de selenito durante o crescimento vegetativo. Nawaz *et al.* (2015 b), num estudo sobre os efeitos da pulverização foliar de Se em trigo, constataram que o Se melhorou as componentes de produção e de rendimento e reforçou o PMG em 26%. Lyons *et al.* (2005 b), em ensaios de campo com trigo, usaram até 120 g Se ha⁻¹ como selenato de sódio, e não observaram redução da produção ou outros efeitos adversos. Além disso, em ensaios-piloto usando selenato em até 500 g Se ha⁻¹ no solo, ou 330 g Se ha⁻¹ de aplicação foliar, não detetaram sintomas de toxicidade de Se. Por outro lado, Marchezan *et al.* (2001), ao avaliar a aplicação de fertilizantes foliares minerais compostos de micronutrientes nos estádios iniciais das plantas de arroz, constataram a ausência de qualquer efeito no rendimento de grãos de arroz nos três anos de cultivo, havendo, no entanto, no segundo ano de cultivo, diferenças na estatura de plantas, no PMG e na percentagem de grãos inteiros e no terceiro ano, na esterilidade de espiguetas, PMG e percentagem de grãos inteiros. Fang *et al.* (2008) reafirmaram que não houve qualquer efeito significativo na aplicação foliar (no estádio de crescimento da panícula) de Zn, Se e Fe sobre a produtividade da cultura e o PMG de arroz.

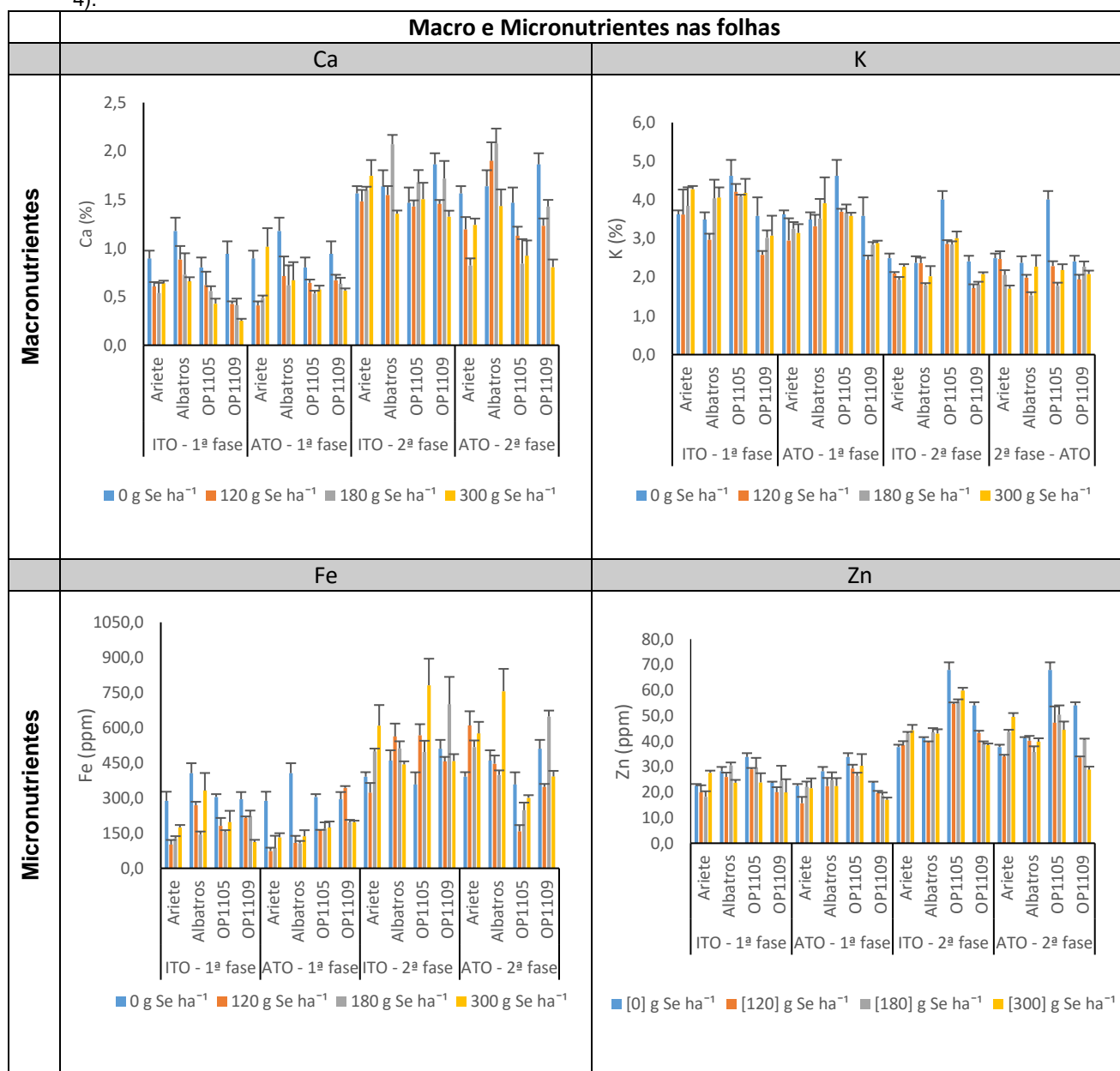
Kaur e Nayyar (2015), ao estudarem o feijoeiro (plantas com e sem stresse salino), verificaram que as plantas em stresse salino tiveram redução de 44% das vagens em comparação com as plantas controlo, mas quando aplicaram 1 ppm de Se às plantas, ocorreu um aumento de 19% no número de vagens. Quando 1 ppm de Se foi aplicado as plantas com stresse salino, o número de vagens melhorou significativamente em 32%. No entanto com aplicações maiores de Se, estes autores constataram uma redução acentuada no número de vagens. Segundo Wang *et al.* (2013 a), o efeito do Se no crescimento, e conseqüentemente no rendimento das plantas, está relacionado com as suas taxas de aplicação e variedade das culturas. Portanto, variedades diferentes podem dar respostas diferentes. Segundo Fageria (1998), devido à exigência nutricional variável entre espécies e variedades da mesma espécie, é comum observar produtividades diferentes sob as mesmas condições de fertilidade.

3.2.6. Mobilização e Acumulação de Elementos Minerais

3.2.6.1. Concentração Total nas Folhas

No quadro 3.2 são apresentados os resultados da concentração de elementos minerais nas folhas das plantas biofortificadas com Se (selenito e selenato). As análises dos elementos minerais foram realizadas em duas fases. Na primeira análise (128 dias após a sementeira), as plantas já tinham sido biofortificadas duas vezes com intervalos de ca. 15 dias entre as aplicações, e na segunda análise (145 dias após a sementeira), as plantas já tinham sido sujeitas à 3ª e última aplicação foliar de Se.

Quadro 3.2. Macronutrientes e micronutrientes nas folhas em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas. Valores médios ($m \pm SE$; $n = 4$).



A análise foliar é uma ferramenta complementar à análise do solo, e permite a determinação do teor dos nutrientes no tecido vegetal durante o cultivo das plantas. Os íons metálicos (e.g. Fe, Mn, Cu, Zn, Mg) são essenciais para o crescimento das plantas e produção; sendo cofatores para a maioria das enzimas antioxidantes e necessários para muitas atividades metabólicas nos vegetais (Yu e Rengel, 1999). Segundo Hawrylak-Nowak *et al.* (2015), apesar da informação insuficiente sobre a influência do Se na absorção e acumulação de outros elementos essenciais para as plantas, sabe-se que biofortificação com Se poderá influenciar no equilíbrio global de nutrientes de uma planta.

Os efeitos das aplicações de Se são evidentes nos teores de Ca (Tabela 3.33), tendo-se observado que da 1ª para a 2ª fase, as concentrações de 120, 180 e 300 g Se ha⁻¹, provocaram aumentos significativos nas percentagens de Ca nas folhas que foram submetidas à biofortificação de selenito. Quanto à exposição das plantas ao selenato, ocorreu uma concentração significativamente mais elevada de Ca, para Albatros na presença de 120 g Se ha⁻¹ e para Ariete, Albatros e OP1109 com aplicações de 180 g de Se ha⁻¹. Considerando o efeito do aumento das concentrações de Se aplicada ao nível foliar, verificou-se uma forte redução dos teores de Ca na Albatros, tanto na 1ª fase (com duas pulverizações), como na 2ª fase (submetidos a terceira pulverização) dos tratamentos. Contudo, na 2ª fase verificaram-se aumentos significativos até 180 g Se ha⁻¹. O OP1109 apresentou um forte decréscimo de Ca, principalmente com Se na forma de selenito. Quanto à variedade Ariete, os teores de Ca foram afetados negativamente pelas aplicações de selenato nas concentrações de 120 e 180 g Se ha⁻¹. Na OP1105 não se verificaram alterações com o aumento das concentrações de Se.

Tabela 3.33. Percentagem de Ca nas folhas em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas. Valores médios ($m \pm SE$; $n = 4$) com letras (a - g) iguais na coluna e letras (r, s, t) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

		Ca (%)			
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	120 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO 1ª fase	Ariete	0,893 (cd; r)	0,604 (fg; r)	0,537 (c; r)	0,639 (ef; r)
	Albatros	1,178 (b; r)	0,883 (cdefg; rs)	0,728 (c; s)	0,658 (ef; s)
	OP1105	0,802 (d; r)	0,619 (fg; r)	0,558 (c; r)	0,429 (ef; r)
	OP1109	0,941 (cd; r)	0,425 (g; s)	0,412 (c; s)	0,251 (f; s)
SL01 ATO 1ª fase	Ariete	0,893 (cd; rs)	0,409 (g; t)	0,488 (c; st)	1,015 (bcde; r)
	Albatros	1,178 (b; r)	0,712 (defg; s)	0,617 (c; s)	0,669 (def; s)
	OP1105	0,802 (d; r)	0,643 (efg; r)	0,533 (c; r)	0,573 (ef; r)
	OP1109	0,941 (cd; r)	0,669 (defg; r)	0,632 (c; r)	0,563 (ef; r)
SL01 ITO 2ª fase	Ariete	1,564 (ab; r)	1,482 (ab; r)	1,597 (ab; r)	1,746 (a; r)
	Albatros	1,639 (ab; rs)	1,547 (ab; s)	2,070 (ab; r)	1,355 (abc; s)
	OP1105	1,467 (abc; r)	1,430 (abc; r)	1,681 (ab; r)	1,505 (ab; r)
	OP1109	1,863 (a; r)	1,456 (abc; rs)	1,718 (ab; rs)	1,325 (abc; s)
SL01 ATO 2ª fase	Ariete	1,564 (ab; r)	1,194 (bcde; s)	0,821 (c; s)	1,240 (abcd; rs)
	Albatros	1,639 (ab; s)	1,899 (a; r)	2,079 (a; r)	1,433 (abc; s)
	OP1105	1,467 (abc; r)	1,128 (bcdef; rs)	0,841 (c; s)	0,921 (cde; r)
	OP1109	1,863 (a; r)	1,231 (bcd; st)	1,429 (b; s)	0,804 (cdef; t)

Corroborando os resultados observados neste estudo, Souza *et al.* (2013), verificaram que o teor de Ca em plantas de linhagens de trigo brasileiras decresceu substancialmente com o selenito em quase todas as amostras analisadas, com 33% de redução. Hawrylak-Nowak *et al.* (2015) também observaram que os efeitos do Se na concentração de Ca na parte aérea de plantas de pepino dependiam da forma química de Se adicionado ao meio de crescimento. Considerando que os tratamentos com selenito entre 30 e 60 μM diminuíram significativamente a concentração de Ca, a exposição das plantas ao selenato resultou numa concentração ligeiramente mais elevada de Ca. Aponte-se, contudo que um aumento significativo foi observado apenas na presença de 40 e 80 μM Se aplicada como selenato. No presente trabalho, apesar de algumas reduções verificadas com as aplicações de Se, constataram-se valores mais elevados de Ca face ao ano anterior, onde as plantas foram expostas a concentrações mais baixas de Se.

Ao contrário do que foi observado nos outros elementos minerais, os teores de K (Tabela 3.34) foram mais elevados na 1ª fase (após 2 aplicações das soluções de biofortificação). Verificou-se que nas aplicações com 120 g Se ha⁻¹ na forma selenito, houve uma redução significativa na variedade Ariete e no genótipo OP1105 (comparação entre a 1ª e 2ª fase). Quanto às aplicações de selenato, também se observou que a 3ª dose, que corresponde à 2ª fase, afetou negativamente a concentração de K nas folhas de alguns genótipos. Em Ariete esta redução foi significativa com aplicações de 300 g Se ha⁻¹. Na Albatros e na OP1105, este efeito foi observado a partir de 120 g Se até à concentração máxima. Na OP1109 não se observaram alterações após a terceira aplicação foliar. No que diz respeito ao efeito do aumento das concentrações de Se, o impacto mais negativo foi observado no genótipo OP1105 que apresentou reduções significativas

nos teores de K nas folhas, principalmente nas concentrações mais elevadas. Note-se que tal fato só não foi observado em selenito (1ª fase), em que este genótipo se manteve estável desde o controlo até a máxima concentração de Se.

Tabela 3.34. Percentagem de K nas folhas em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas. Valores médios ($m \pm SE$; $n = 4$) com letras (a - e) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

		K (%)			
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	120 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO 1ª fase	Ariete	3,626 (ab; r)	3,619 (abc; r)	3,846 (a; r)	4,277 (a; r)
	Albatros	3,491 (ab; rs)	2,969 (abcde; s)	4,039 (a; r)	4,061 (abc; r)
	OP1105	4,623 (a; r)	4,208 4,2 (a; r)	4,089 (a; r)	4,179 (ab; r)
	OP1109	3,587 (ab; r)	2,582 (bcde; s)	3,022 (a; rs)	3,078 (abcd; rs)
SL01 ATO 1ª fase	Ariete	3,626 (ab; r)	2,951 (bcde; r)	3,256 (a; r)	3,146 (abcd; r)
	Albatros	3,491 (ab; r)	3,320 (abcd; r)	3,518 (a; r)	3,916 (abc; r)
	OP1105	4,623 (a; r)	3,696 (ab; rs)	3,668 (a; s)	3,586 (abc; s)
	OP1109	3,587 (ab; r)	2,449 (bcde; s)	2,841 (a; rs)	2,887 (cde; rs)
SL01 ITO 2ª fase	Ariete	2,496 (b; r)	2,096 (de; r)	1,931 (ab; r)	2,273 (de; r)
	Albatros	2,374 (b; r)	2,367 (cde; r)	1,798 (ab; r)	2,028 (de; r)
	OP1105	4,012 (a; r)	2,860 (bcde; s)	2,847 (a; s)	3,011 (bcd; s)
	OP1109	2,411 (b; r)	1,716 (e; r)	1,813 (ab; r)	2,080 (de; r)
SL01 ATO 2ª fase	Ariete	2,496 (b; r)	2,474 (bcde; r)	2,060 (ab; r)	1,705 (e; r)
	Albatros	2,374 (b; r)	1,991 (e; r)	1,531 (b; r)	2,275 (de; r)
	OP1105	4,012 (a; r)	2,290 (de; s)	1,778 (ab; s)	2,187 (de; s)
	OP1109	2,411 (b; r)	1,943 (e; r)	2,276 (ab; r)	2,084 (de; r)

Filek *et al.* (2010) estudaram plantas de trigo e colza com incremento de Se nas concentrações de 100 e 200 μM , e verificaram que na parte aérea da colza houve uma diminuição considerável dos macronutrientes, tendo sido maior no tratamento 200 μM . As alterações nas concentrações residuais do K foram marcadamente mais elevadas na dose de 200 μM Se e quando usado para cultivo da colza. No cultivo do trigo, não se verificaram diferenças nos níveis de K, entre o controlo e a máxima concentração de Se. Aponte-se, contudo, que a dose 100 μM Se provocou redução significativa nos teores de K no trigo. Estes autores consideram que as altas concentrações de Se resultam num aumento da saturação da membrana plasmática e acrescentam que a maior redução na acumulação de macronutrientes pode ser devido ao aumento da rigidez da membrana sob o tratamento com concentrações de Se mais elevadas. Hawrylak-Nowak *et al.* (2015) também verificaram uma diminuição significativa nos níveis de K na parte aérea de plantas de pepino, nas aplicações de selenito e selenato, quando essas concentrações foram aumentadas. Contudo, no tratamento com selenito, o declínio no teor de K foi maior em comparação com selenato. Eventualmente o K poderá neste caso proporcionar no citoplasma um ambiente iónico, favorável à manutenção da pressão osmótica nas células, inibindo a produção de espécies reativas de oxigénio (ROS) (Cakmak, 2005).

Na tabela 3.35 encontram-se os resultados dos teores de Fe nas folhas das plantas biofortificadas com Se (selenito e selenato). Observaram-se diferenças significativas entre os

teores de Fe das plantas na 1ª fase (2 aplicações) em relação às plantas da 2ª fase (3 aplicações) das soluções de biofortificação.

Tabela 3.35. Teores de Fe (ppm) nas folhas em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas. Valores médios ($m \pm SE$; $n = 4$) com letras (a - h) iguais na coluna e letras (r, s, t) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fe (ppm)					
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	120 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO 1ª fase	Ariete	288,2 (b; r)	101,383 (d; s)	127,405 (e; s)	174,543 (gh; rs)
	Albatros	406,0 (ab; r)	268,910 (bcd; rs)	143,705 (e; s)	331,868 (efg; r)
	OP1105	304,7 (b; r)	181,208 (cd; r)	155,133 (e; s)	197,390 (fgh; r)
	OP1109	294,9 (b; r)	215,008 (cd; rs)	223,213 (de; rs)	111,585 (h; s)
SL01 ATO 1ª fase	Ariete	288,2 (b; r)	73,408 (d; s)	87,373 (e; s)	132,403 (h; s)
	Albatros	406,0 (ab; r)	108,153 (d; s)	106,663 (e; s)	136,558 (gh; s)
	OP1105	304,7 (b; r)	162,053 (cd; r)	168,978 (e; r)	173,568 (gh; r)
	OP1109	294,9 (b; r)	343,193 (bc; r)	196,595 (e; r)	196,845 (fgh; r)
SL01 ITO 2ª fase	Ariete	391,2 (ab; st)	322,725 (bc; t)	498,325 (bc; rs)	609,003 (abc; r)
	Albatros	459,7 (ab; r)	562,800 (a; r)	511,825 (abc; r)	443,588 (cde; r)
	OP1105	357,9 (ab; s)	567,875 (a; rs)	496,448 (bc; s)	781,300 (a; r)
	OP1109	510,1 (a; s)	456,135 (ab; s)	699,983 (a; r)	457,768 (cde; s)
SL01 ATO 2ª fase	Ariete	391,2 (ab; s)	609,785 (a; r)	517,810 (abc; rs)	575,758 (bcd; r)
	Albatros	459,7 (ab; s)	446,425 (ab; s)	398,458 (cd; s)	755,835 (ab; r)
	OP1105	357,9 (ab; r)	157,935 (cd; s)	247,978 (de; rs)	300,783 (efgh; rs)
	OP1109	510,1 (a; rs)	347,530 (bc; t)	647,873 (ab; r)	391,958 (def; st)

Nas aplicações com selenito, verificou-se que nas concentrações de 120 e 180 g Se ha⁻¹ houve um aumento bastante significativo dos teores de Fe da 1ª fase (2 aplicações) para a 2ª fase (3 aplicações), esse comportamento foi semelhante em todas as variedades / genótipos analisados. Porém, na máxima concentração (300 g Se ha⁻¹) apenas Albatros não apresentou aumentos significativos. Nas aplicações com selenato, observaram-se variações menores, observando-se aumentos significativos em Ariete e Albatros com uma biofortificação de 120 g Se ha⁻¹ e em Ariete, Albatros e OP1109 com uma biofortificação de 180 g Se ha⁻¹. Com a máxima concentração, apenas a Ariete e a Albatros apresentaram aumentos significativos na 2ª fase. Ao compararmos as diferentes concentrações numa dada variedade / genótipo, verificamos que nas concentrações mais elevadas de Se, os teores de Fe são mais baixos para a maioria das variedades / genótipos. No entanto, observaram-se aumentos significativos em Ariete e OP1105 que já haviam recebido as 3 aplicações da biofortificação de selenito (2ª fase), assim como em Ariete e Albatros biofortificadas com selenato. Ao fazer-se um paralelo com os resultados do primeiro ano de ensaio de campo, é possível observar que pequenas concentrações de Se provocam poucas ou quase nenhuma alteração nos teores de Fe. Já com concentrações elevadas, como é o caso do segundo ano de ensaio, verificaram-se maiores variações nos valores de Fe. Souza *et al.* (2014) sugerem que o Se pode ter um papel benéfico no

enriquecimento de Fe em linhagens de trigo. Num estudo anterior realizado pelos autores Souza *et al.* (2013), o selenato aumentou a concentração de Fe em rebentos jovens de mais da metade das linhagens de trigo analisadas, mostrando um efeito sinérgico de tratamento com selenato sobre a acumulação de Fe. Um ligeiro aumento no teor de Fe por acção do selenato em variedades de trigo também foi relatado por Filek *et al.* (2010). O aumento de Fe, Zn e Mn e a acumulação destes pode indicar uma mobilização do sistema de defesa por meio da ativação de enzimas antioxidantes, nomeadamente, superóxido dismutase (SOD) (Fridovich, 1995). No entanto, com um excesso aplicação de Se, ocorre a diminuição da acumulação de microelementos nas plantas, em particular do Mn e Zn (Landberg e Greger, 1994). Na tabela 3.36 apresentam-se os teores de Zn nas folhas. Verificou-se que houve um incremento bastante significativo em todas as variedades / genótipos da 1ª fase (2 pulverizações) para a 2ª fase (com total de 3 pulverizações), com as duas formas de Se (selenito e selenato). Os teores mais elevados foram observados no genótipo OP1105, em plantas na fase final do ciclo. Quanto ao efeito das concentrações de Se, verificou-se que OP1105 sofreu reduções significativas com o aumento das concentrações de Se, fato observado desde as primeiras pulverizações, tanto em selenito como em selenato. O OP1109 também apresentou reduções, mas só se constatou tal efeito após a 3ª aplicação da biofortificação (2ª fase) de selenito e selenato. Neste contexto, Filek *et al.* (2010) observaram um ligeiro aumento e uma supressão geral do nível de Zn por selenito e selenato, respetivamente. Estes autores sugeriram que o selenato em dosagens adequadas causa efeitos sinérgicos sobre a acumulação de vários minerais, ao passo que a oferta do selenito reduz o teor desses elementos na maioria das linhas de plântulas de trigo. Longchamp *et al.* (2016) também estudaram a influência do Se na absorção de alguns nutrientes em milho, e quanto ao Zn, estes autores verificaram que, sob elevadas concentrações de Se ($1000 \mu\text{g L}^{-1}$), o selenato causa um forte aumento de Zn na planta inteira e nas raízes (259% e 185%, face ao controlo, respetivamente). No entanto, o fator de translocação e a diminuição da absorção pelas raízes não pareceu ser regulada, o que poderá ter resultado num aumento da concentração de Zn nas raízes. Segundo Marschner (1995), níveis de Zn excessivamente altos na parte aérea (mais de $300 \mu\text{g.g}^{-1}$ PS) são tóxicos e diminuem a atividade fotossintética (Van Assche e Clijsters, 1986). Quanto ao selenito, Longchamp *et al.* (2016) concluíram que não teve nenhum efeito sobre a acumulação de Zn em plantas inteiras e raízes, independentemente da sua concentração na solução nutritiva. Aponte-se, a nível mais geral, que não há consenso sobre o efeito de selenito sobre a acumulação de Zn, com aumentos e diminuições relatados por Arvy *et al.* (1995) e Fargasova *et al.* (2006). Contudo o Zn é necessário para proteger os lípidos da membrana e as proteínas contra o dano oxidativo através da formação de complexos estruturais altamente estáveis. Este elemento, bem como o Mn, o Cu e o Fe, constituem os componentes de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (Cakmak, 2000).

Tabela 3.36. Teores de Zn (ppm) nas folhas em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas. Valores médios ($m \pm SE$; $n = 4$) com letras (a - g) iguais na coluna e letras (r, s, t) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Zn (ppm)					
Bloco	Genótipo	0 g Se ha⁻¹	120 g Se ha⁻¹	180 g Se ha⁻¹	300 g Se ha⁻¹
SL01 ITO 1ª fase	Ariete	22,46 (e; rs)	19,90 (fg; rs)	18,25 (f; s)	27,60 (efg; r)
	Albatros	28,20 (de; r)	26,00 (defg; r)	30,50 (de; r)	23,70 (fg; r)
	OP1105	33,82 (c; r)	29,02 (cdef; rs)	29,70 (def; rs)	23,83 (fg; s)
	OP1109	23,72 (e; r)	20,00 (fg; r)	24,46 (efg; r)	19,89 (fg; r)
SL01 ATO 1ª fase	Ariete	22,46 (e; r)	15,67 (g; r)	22,04 (efg; r)	21,58 (fg; r)
	Albatros	28,20 (de; r)	22,35 (efg; r)	24,74 (efg; r)	22,41 (fg; r)
	OP1105	33,82 (c; r)	29,32 (bcdef; r)	26,39 (efg; r)	30,34 (def; r)
	OP1109	23,72 (e; r)	19,77 (fg; r)	18,79 (fg; r)	17,01 (g; r)
SL01 ITO 2ª fase	Ariete	37,72 (cd; r)	38,41 (bc; r)	42,96 (bc; r)	44,30 (bc; r)
	Albatros	41,19 (c; r)	39,64 (bc; r)	43,48 (bc; r)	43,00 (bc; r)
	OP1105	67,92 (a; r)	54,63 (a; s)	55,64 (a; s)	59,87 (a; rs)
	OP1109	54,01 (b; r)	43,21 (b; s)	39,17 (cd; s)	38,45 (cde; s)
SL01 ATO 2ª fase	Ariete	37,72 (cd; rs)	33,98 (bcde; s)	43,65 (bc; r)	49,51 (ab; r)
	Albatros	41,19 (c; r)	40,20 (b; r)	35,73 (cd; r)	39,79 (bcd; r)
	OP1105	67,92 (a; r)	47,22 (a; s)	50,34 (ab; s)	44,43 (bc; s)
	OP1109	54,01 (b; r)	33,58 (bcd; st)	40,47 (bcd; s)	28,83 (def; t)

Na figura 3.37 e na tabela 3.37, apresentam-se os teores de Se nas folhas, constatando-se a superioridade da concentração de selenito face ao selenato nas folhas das plantas biofortificadas. Adicionalmente, verificou-se que o incremento de Se nas folhas foi proporcional ao aumento das concentrações de selenito ou selenato e consoante ao número de aplicações (1ª fase – duas pulverizações e 2ª fase – três pulverizações). Contudo, ao compararmos as fases para cada forma de Se (selenito ou selenato), verificou-se que não existem diferenças significativas, exceto no tratamento 300 g Se ha⁻¹, onde a Albatros, a OP1105 e a OP1109 apresentaram valores significativamente mais elevados na 2ª fase (com biofortificação de selenito). Relativamente ao efeito do aumento das concentrações de Se nas folhas constatou-se que nas aplicações com selenito houve um aumento significativo do controlo para a máxima concentração (300 g Se ha⁻¹), e nas plantas biofortificadas com selenato apenas a Ariete (1ª fase) apresentou um aumento significativo na máxima concentração. Neste contexto, o aumento da concentração de Se nas folhas de plantas biofortificadas também foi observado por Proietti *et al.* (2013) em *Olea europaea* L., constatado onde se observou que o tratamento com selenato aumentou significativamente o conteúdo em Se (conteúdos médios – 26,0 e 36,0 g kg⁻¹ ps).

No nosso estudo, verificou-se que o selenito foi mais eficaz que o selenato. Por oposição, Souza (2013) relatou que o selenato foi mais eficaz do que o selenito na indução de um aumento do conteúdo de Se em plântulas de trigo. De fato, as plantas tratadas com selenato continham 4 vezes mais Se do que aquelas tratadas com a mesma concentração de selenito. Wang *et al.* (2013 b) também verificaram que, mesmo que em pequenas concentrações, as aplicações de

Se foram suficientes para aumentar o conteúdo de Se na parte aérea de planta de arroz, e considerando aplicações mais elevadas, essa concentração tende a ser mais elevada. No entanto uma concentração elevada de selenito de sódio (10 mg L^{-1} ou mais), poderá inibir o crescimento de plântulas ao suprimir atividades antioxidantes. Segundo Sors *et al.* (2005), este efeito poderá resultar do mau funcionamento das enzimas antioxidantes, por inserção de selenoaminoácidos ou interferência no metabolismo do enxofre.

Tabela 3.37. Teores de Se (ppm) nas folhas em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas. Valores médios ($n = 4$) com letras (a – g) iguais na coluna e letras (r, s, t) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	Se (ppm)		
			120 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO 1ª fase	Ariete	ND	22,780 (a; s)	32,290 (a; s)	54,970 (abc; r)
	Albatros		19,950 (ab; s)	26,585 (abc; s)	46,835 (bc; r)
	OP1105		18,403 (abc; r)	21,305 (bcd; r)	26,020 (def; r)
	OP1109		8,925 (abcd; s)	16,853 (cde; rs)	26,498 (de; r)
SL01 ATO 1ª fase	Ariete		8,110 (abcd; s)	8,710 (de; rs)	19,030 (efg; r)
	Albatros		8,710 (abcd; r)	11,943 (de; r)	14,308 (efg; r)
	OP1105		2,683 (d; r)	4,618 (e; r)	7,528 (g; r)
	OP1109		2,575 (d; r)	5,305 (e; r)	8,203 (g; r)
SL01 ITO 2ª fase	Ariete		20,035 (ab; s)	37,128 (a; r)	40,555 (cd; r)
	Albatros		14,870 (abcd; t)	35,825 (ab; s)	62,345 (a; r)
	OP1105		22,305 (a; s)	27,353 (abc; s)	60,630 (ab; r)
	OP1109		15,095 (abcd; t)	29,203 (abc; s)	55,325 (abc; r)
SL01 ATO 2ª fase	Ariete		3,875 (cd; r)	8,205 (de; r)	10,615 (g; r)
	Albatros		4,745 (cd; r)	8,225 (de; r)	12,400 (efg; r)
	OP1105		6,235 (bcd; r)	4,350 (e; r)	11,065 (fg; r)
	OP1109		12,558 (abcd; r)	7,928 (de; r)	11,060 (fg; r)

ND = Não detetado – abaixo do limite de deteção do equipamento “Espectrofluorímetro de Raio-X Niton Thermal Scientific”.

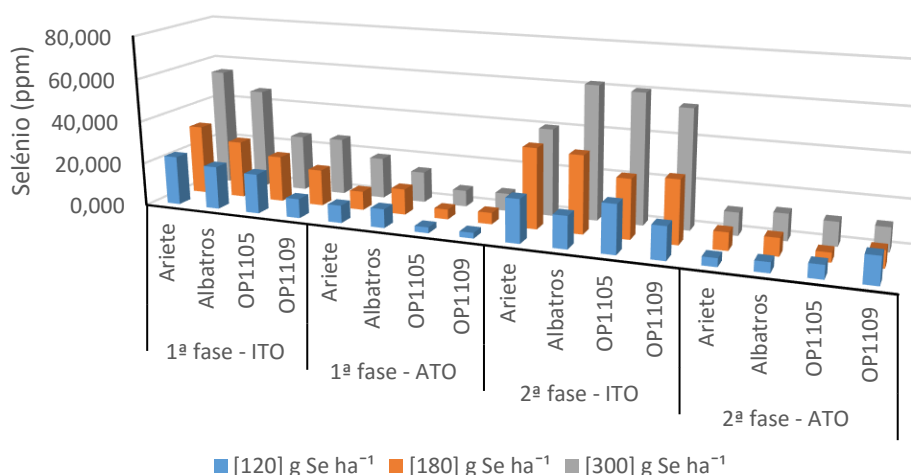


Figura 3.37. Teores de Se (ppm) nas folhas em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 3 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas. Valores médios (n = 4).

3.2.7. Cinzas Totais no Grão

Na percentagem de cinzas (Tabela 3.38) é evidente a supremacia das amostras que foram biofortificadas com selenito e selenato. Verificou-se que este incremento foi progressivo para Albatros (ATO e ITO), OP1105 (ITO) e OP1109 (ATO), pois quanto mais elevada a concentração de Se maior a percentagem de cinzas nos grãos. O genótipo OP1109, quer nas aplicações de selenito quer nas aplicações de selenato destacou-se com as percentagens mais elevadas. Por oposição, Albatros apresentou índices mais baixos, tanto em selenito como em selenato, o que se refletiu na cor da farinha (que será discutido posteriormente nas tabelas 3.51 e 3.52). Albatros apresentou farinhas tendencialmente mais claras. Para todas as variedades e genótipos não se verificaram diferenças significativas entre as aplicações de 120, 180 e 300 g Se ha⁻¹.

Tabela 3.38. Percentagem de cinzas totais em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios com letras (a - d) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Cinzas (%)					
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	120 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO	Ariete	1,721 (a, s)	2,973 (ab, r)	2,863 (bcd, r)	3,000 (ab, r)
	Albatros	1,845 (a, t)	2,547 (cd, s)	2,793 (cd, rs)	3,080 (ab, rs)
	OP1105	1,698 (a, s)	2,817 (bc, r)	3,033 (abcd, r)	3,073 (ab, r)
	OP1109	1,767 (a, s)	3,260 (a, r)	3,313 (a, r)	3,160 (ab, r)
SL01 ATO	Ariete	1,721 (a, s)	2,990 (ab, r)	2,843 (bcd, r)	2,770 (ab, r)
	Albatros	1,845 (a, s)	2,440 (d, r)	2,633 (d, r)	2,760 (b, r)
	OP1105	1,698 (a, s)	2,993 (ab, r)	3,177 (abc, r)	2,947 (ab, r)
	OP1109	1,767 (a, s)	3,273 (a, r)	3,213 (ab, r)	3,267 (a, r)

Storck *et al.* (2005) analisaram a composição mineral de diferentes cultivares de arroz, e nas amostras controle encontraram valores médios de 1,03% a 1,29%, teores esses, que corroboram com os teores que foram detetados para as amostras controle do presente trabalho. Aponte-se ainda que embora o arroz integral tenha maior concentração de minerais do que o polido, isso não significa necessariamente maior quantidade de minerais absorvidos pelo organismo, visto que a biodisponibilidade pode ser afetada pela presença de maiores teores de fibra e ácido fítico no arroz integral (Juliano, 1993).

3.2.8. Concentração Total de Elementos Minerais no Grão

Nas tabelas 3.39, 3.40, 3.41 e 3.42 são apresentados os resultados da concentração de elementos minerais nos grãos (farinha integral) das plantas biofortificadas com Se (selenito e selenato).

A aplicação foliar de Se na forma de selenito ou selenato aumentou a concentração de Se nos grãos (Tabela 3.39). Observaram-se valores mais elevados da concentração de Se nos grãos provenientes da 1ª fase, provavelmente devido ao fato de a análise refletir os teores na panícula e não apenas no grão, ainda num estado de maturação incompleta e com casca. Embora não se observe diferença entre as fases para a maioria das variedades, uma dupla aplicação durante o início do ciclo aparentemente favorece a assimilação de Se pelas plantas. Segundo Wójcik (2004), as aplicações foliares de Se resultam em transferência direta e acumulação de Se nas plantas. A difusão de íons de Se na epiderme foliar aumenta por aplicação nas folhas, mas as suas concentrações elevadas podem levar a toxicidade e causar danos na superfície da mesma (Marschner, 1995).

Quanto ao efeito do aumento das concentrações de Se, visualizaram-se diferenças significativas entre os tratamentos de 120 e 300 g Se ha⁻¹ em todas as variedades e genótipos biofortificados com selenito, exceto no genótipo em Ariete e Albatros (SL01 ATO) na 1ª fase (Tabela 3.39). Relativamente às plantas biofortificadas com selenato, ocorreram aumentos significativos com 300 g Se ha⁻¹ (face a 120 g Se ha⁻¹) na 1ª fase (2 pulverizações) nos genótipos OP1105 e OP1109, e na 2ª fase verificaram-se diferenças significativas entre 120 e 300 g Se ha⁻¹ em todas as variedades / genótipos.

Tal como foi observado nos resultados do primeiro ano de ensaio, a acumulação de Se no grão decorrente da aplicação de selenito foi superior ao selenato. No entanto, os resultados contradizem alguns estudos sobre o enriquecimento com Se que concluíram que o selenato estava mais disponível para a planta do que o selenito. Longchamp *et al.* (2013) afirmaram que a acumulação de Se nas plantas depende das espécies de Se disponíveis. Nawaz *et al.* (2015 b) referem que as propriedades do meio de crescimento têm influência significativa sobre a absorção de Se pela planta. O resultado de uma experiência de hidroponia mostrou que a acumulação de Se em milho a seguir ao tratamento com selenito foi sempre mais elevado do que com selenato (Longchamp *et al.*, 2013). Souza *et al.* (1998) mostraram que o Se adicionado, a partir de selenato era duas a quatro vezes maior do que de selenito na mostarda indiana. Zayed

et al. (1998) e *Li et al.* (2008) encontraram uma acumulação semelhante para duas formas de Se no arroz e no trigo, respectivamente. De acordo com *Zhang et al.* (2003), a acumulação de selenito é maior do que a partir de selenato em soja, independente das concentrações de Se na solução nutritiva. Segundo *Wang et al.* (2013 b) esta inconsistência mostra que não só as formas de Se afetam a concentração de Se na planta, como também afetam a distribuição de Se em planta.

Os mecanismos de captação de selenito não foram documentados. Vários estudos têm sugerido que a captação de selenito nas plantas se processa por difusão passiva (Arvy, 1993; Sors *et al.*, 2005) mas esta hipótese foi contestada por *Li et al.* (2008) que sugere que a captação do selenito é ativa, ainda que inibida por fosfato e inibidores metabólicos. No entanto, num estudo realizado por *Longchamp et al.* (2013) estes autores sugeriram que, apesar da elevada concentração de fosfato na solução nutritiva, a captação de selenito permanece superior à do selenato. Acresce ainda que a adição de Se como fertilizante aumenta o teor de Se de plantas cultivadas, mas este efeito é viável apenas se o aumento do teor de Se na planta não tiver influência negativa sobre a absorção de outros elementos essenciais.

Tabela 3.39. Teores de Se (ppm) em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas. Valores médios (n = 3) com letras (a – d) iguais na coluna e letras (r, s, t) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Bloco	Genótipo	Se (ppm)			
		0 g Se ha ⁻¹	120 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹
SL 01 ITO 1ª fase	Ariete	ND	20,56 (a, s)	26,31 (a, r)	30,61 (b, r)
	Albatros		15,78 (ab, t)	22,38 (ab, s)	39,01 (a, r)
	OP1105		14,16 (ab, s)	17,59 (bc, rs)	22,68 (c, r)
	OP1109		14,25 (ab, t)	23,57 (ab, s)	32,09 (ab, r)
SL 01 ATO 1ª fase	Ariete		17,59 (ab, r)	6,45 (d, s)	22,72 (c, r)
	Albatros		4,85 (cd, r)	7,97 (d, r)	10,03 (d, r)
	OP1105		2,57 (d, s)	6,52 (d, rs)	9,31 (d, r)
	OP1109		3,22 (d, s)	4,97 (d, rs)	10,20 (d, r)
SL 01 ITO 2ª fase	Ariete		12,80 (b, s)	17,61 (bc, s)	28,63 (bc, r)
	Albatros		11,44 (bc, t)	19,39 (ab, s)	30,08 (bc, r)
	OP1105		16,16 (ab, s)	17,95 (bc, s)	35,15 (ab, r)
	OP1109		17,08 (ab, s)	11,59 (cd, s)	30,28 (b, r)
SL 01 ATO 2ª fase	Ariete		2,88 (d, s)	6,02 (d, s)	13,17 (d, r)
	Albatros		3,66 (d, s)	7,21 (d, r)	10,08 (d, r)
	OP1105		4,92 (cd, s)	6,67 (d, rs)	10,83 (d, r)
	OP1109		4,34 (cd, s)	6,06 (d, rs)	10,76 (d, r)

ND – Não detetado.

No presente estudo (2º ano de ensaio), o Se não foi detetado nas amostras de controlo, quando estas foram analisadas através da Espectrofluorimetria Acoplada com Raio X (Tabela 3.39). *Souza et al.* (2013) também relataram que o Se não foi detetado em rebentos das linhagens de trigo que cresceram na solução de controlo de nutrientes, mas quando os rebentos

dessas linhagens de trigo foram expostos ao selenato e ao selenito, os níveis totais de Se revelaram diferença de 4 e 2 vezes, respectivamente.

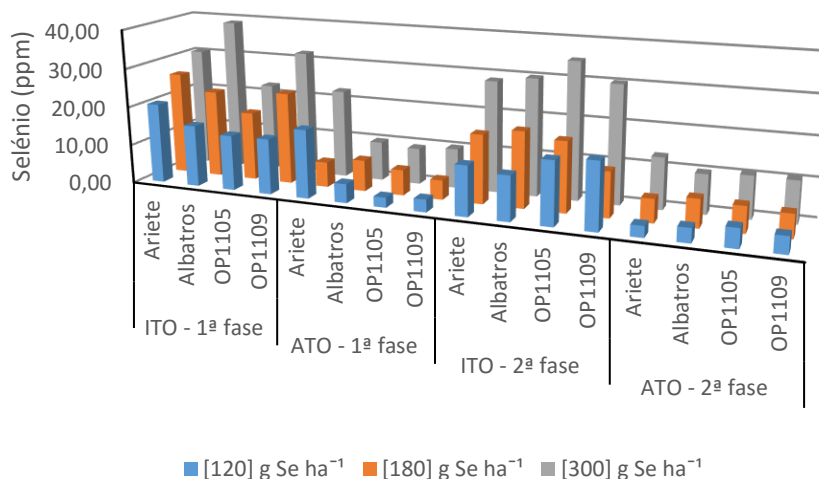


Figura 3.38. Teor de Se (ppm) em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 3 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas. Valores médios (n = 3).

Na tabela 3.40 são apresentados os resultados da concentração de Zn nos grãos moídos das 4 variedades / genótipos em estudo, em duas fases do ciclo de vida das plantas, com duas formas de Se (selenito e selenato), tendo na 1ª fase as plantas sido submetidas a duas aplicações com Se e na 2ª fase, já no final do ciclo, com a terceira aplicação da biofortificação. Constatou-se a ausência de diferenças significativas entre duas ou três pulverizações da solução de Se, tanto com selenito como com selenato. Todavia, foram observadas ligeiras alterações quando comparadas as diferentes concentrações de Se aplicado ao nível foliar, tendo-se verificado diferenças significativas apenas nos grãos de Ariete e Albatros biofortificados com selenato que já haviam sido pulverizados com 3 doses. Para Ariete, o aumento das concentrações de Se provocou um acréscimo de Zn nos grãos a partir de 180 g Se ha⁻¹, e para a Albatros, os teores mantiveram-se até 180 g Se ha⁻¹, evoluindo para um decréscimo nos tratamentos com 300 g Se ha⁻¹.

Tabela 3.40. Teores de Zn (ppm) em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas. Valores médios (n = 3) com letras (a, b) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

		Zn (ppm)			
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	120 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹
ITO 1ª fase	Ariete	23,29 (a, r)	20,78 (ab, r)	24,90 (ab, r)	23,42 (ab, r)
	Albatros	23,93 (a, r)	22,11 (ab, r)	23,38 (ab, r)	25,30 (ab, r)
	OP1105	22,34 (a, r)	21,47 (ab, r)	24,48 (ab, r)	24,49 (ab, r)
	OP1109	28,95 (a, r)	28,28 (a, r)	28,55 (ab, r)	26,67 (ab, r)
ATO 1ª fase	Ariete	23,29 (a, r)	27,45 (a, r)	23,37 (ab, r)	27,87 (a, r)
	Albatros	23,93 (a, r)	20,36 (a, r)	22,48 (ab, r)	20,04 (ab, r)
	OP1105	22,34 (a, r)	21,88 (ab, r)	31,14 (a, r)	28,25 (a, r)
	OP1109	28,95 (a, r)	28,24 (ab, r)	26,74 (ab, r)	22,69 (ab, r)
ITO 2ª fase	Ariete	20,15 (a, r)	20,37 (ab, r)	20,46 (b, r)	24,95 (ab, r)
	Albatros	21,92 (a, r)	20,43 (ab, r)	23,61 (ab, r)	22,20 (ab, r)
	OP1105	22,14 (a, r)	25,93 (ab, r)	28,54 (ab, r)	25,82 (ab, r)
	OP1109	29,34 (a, r)	29,40 (a, r)	28,83 (ab, r)	28,46 (a, r)
ATO 2ª fase	Ariete	20,15 (a, st)	16,75 (b, t)	28,73 (ab, r)	27,67 (a, rs)
	Albatros	21,92 (a, rs)	22,03 (ab, rs)	25,42 (ab, r)	17,34 (b, s)
	OP1105	22,14 (a, r)	21,40 (ab, r)	27,55 (ab, r)	26,08 (ab, r)
	OP1109	29,34 (a, r)	26,10 (ab, r)	25,16 (ab, r)	22,27 (ab, r)

Longchamp *et al.* (2016) verificaram que a adição de selenito em baixas concentrações não provocou aumentos significativos da transferência de Zn nas plantas do milho e, adicionalmente, com elevadas concentrações as quantidades de Zn eram inferiores ao controle. Estes autores relataram ainda que o selenato em concentrações elevadas provocou uma maior acumulação de Zn face ao selenito na planta inteira e nas raízes. Na presença de elevadas concentrações de selenato, a transferência de Zn para os rebentos foi inibida, o que provocou ainda aumentos dos teores de Zn nas raízes. Fargasova *et al.* (2006) também verificaram que a absorção de elementos, tais como Zn e Fe, é inibida pelo aumento dos níveis de Se. Contrariamente, Zembala *et al.* (2010) relataram um aumento na concentração de Zn e uma redução nos teores de Fe de planta de colza (*Brassica napus*) e trigo (*Triticum spp.*), quando o Se foi adicionado às plantas. Da mesma forma, Boldrin *et al.* (2013) indicaram um possível efeito sinérgico da suplementação Se com os teores Zn nos grãos de arroz. Wang *et al.* (2013 a), ao estudarem os efeitos do Se sobre o conteúdo de Zn em milho, verificaram que as diferentes concentrações de Se (aplicações foliares até um total de 228 g Se ha⁻¹) não apresentaram efeitos significativos sobre os teores de Zn. A média encontrada por estes autores foi de 15,5 mg kg⁻¹.

Considerando os itinerários para biofortificação em Se, verificou-se que os teores de Ca não são significativamente influenciados pelo número aplicações da solução de biofortificação nem pela concentração das mesmas (Tabela 3.41). Resultado semelhante foi observado por Wang *et al.* (2013 a) no milho. Estes autores relataram que os teores de Ca não foram afetados

pelas aplicações de Se (solo e foliar), e que os valores encontrados oscilaram entre 0,012 - 0,015%, valores que foram inferiores aos encontrados para o arroz, no presente estudo.

Tabela 3.41. Percentagem de Ca em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas. Valores médios (n = 3) com letras (a) iguais na coluna e letras (r) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

		Ca (%)			
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	120 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO 1ª fase	Ariete	0,093 (a, r)	0,142 (a, r)	0,120 (a, r)	0,108 (a, r)
	Albatros	0,097 (a, r)	0,139 (a, r)	0,109 (a, r)	0,138 (a, r)
	OP1105	0,100 (a, r)	0,118 (a, r)	0,109 (a, r)	0,072 (a, r)
	OP1109	0,121 (a, r)	0,100 (a, r)	0,119 (a, r)	0,093 (a, r)
SL01 ATO 1ª fase	Ariete	0,093 (a, r)	0,141 (a, r)	0,130 (a, r)	0,171 (a, r)
	Albatros	0,097 (a, r)	0,085 (a, r)	0,125 (a, r)	0,119 (a, r)
	OP1105	0,100 (a, r)	0,086 (a, r)	0,133 (a, r)	0,125 (a, r)
	OP1109	0,121 (a, r)	0,106 (a, r)	0,126 (a, r)	0,104 (a, r)
SL01 ITO 2ª fase	Ariete	0,144 (a,r)	0,139 (a,r)	0,128 (a,r)	0,133 (a,r)
	Albatros	0,119 (a, r)	0,105 (a, r)	0,113 (a, r)	0,128 (a, r)
	OP1105	0,110 (a, r)	0,162 (a, r)	0,169 (a, r)	0,151 (a, r)
	OP1109	0,125 (a, r)	0,129 (a, r)	0,137 (a, r)	0,108 (a, r)
SL01 ATO 2ª fase	Ariete	0,144 (a, r)	0,173 (a, r)	0,166 (a, r)	0,159 (a, r)
	Albatros	0,119 (a, r)	0,127 (a, r)	0,128 (a, r)	0,125 (a, r)
	OP1105	0,110 (a, r)	0,134 (a, r)	0,137 (a, r)	0,151 (a, r)
	OP1109	0,125 (a, r)	0,124 (a, r)	0,105 (a, r)	0,081 (a, r)

Relativamente à interação entre a biofortificação com Se e a acumulação de K, verificou-se que os teores deste elemento tendem a diminuir com o aumento do número de aplicações de Se (Tabela 3.42). Verificou-se que essas reduções dos teores de K foram significativas com 3 aplicações de selenito na Ariete (120, 180 e 300 g Se ha⁻¹), Albatros (120 e 300 g Se ha⁻¹) e OP1109 (120 e 180 g Se ha⁻¹). Nas aplicações de selenato, observaram-se reduções significativas na Ariete (180 g Se ha⁻¹), Albatros (300 g Se ha⁻¹) e OP1105 (180 g Se ha⁻¹). Mas ressalva-se que essas reduções podem ter sido motivadas pelo estágio de desenvolvimento das panículas e pelo processamento do grão na 2ª fase.

Quanto ao aumento das concentrações numa dada variedade / genótipo, verificou-se que na 1ª fase (2 pulverizações), as plantas sofreram algumas oscilações nos teores de K, sendo que para a maioria não subsistiram diferenças entre o controlo e a máxima concentração de Se, exceto em Ariete (1ª fase - ITO) e Albatros (1ª fase - ATO). Nos grãos resultantes de plantas da 2ª fase (3 pulverizações), não se observaram quaisquer diferenças significativas com o aumento das concentrações de Se nas variedades / genótipos analisados.

Tabela 3.42. Percentagem de K em grãos de arroz (farinha integral) de 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) com 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01) em duas fases de desenvolvimento das plantas. Valores médios (n = 3) com letras (a - e) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Bloco	Genótipo	K (%)			
		0 g Se ha ⁻¹	120 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹
ITO 1ª fase	Ariete	0,686 (a, s)	0,894 (ab, rs)	0,836 (abcd, rs)	0,898 (abc, r)
	Albatros	0,724 (a, r)	0,969 (a, r)	0,864 (abc, r)	0,906 (abc, r)
	OP1105	0,809 (a, rs)	0,955 (a, r)	0,732 (bcde, s)	0,692 (bcd, s)
	OP1109	0,723 (a, s)	0,960 (a, r)	0,931 (ab, s)	0,931 (ab, s)
ATO 1ª fase	Ariete	0,686 (a, r)	0,696 (abc, r)	0,889 (abc, r)	0,825 (abcd, r)
	Albatros	0,724 (a, s)	0,711 (abc, s)	0,874 (abc, rs)	1,050 (a, r)
	OP1105	0,809 (a, rs)	0,738 (abc, s)	1,018 (a, r)	0,929 (ab, rs)
	OP1109	0,723 (a, s)	0,960 (a, r)	0,931 (ab, rs)	0,931 (ab, rs)
ITO 2ª fase	Ariete	0,693 (a, r)	0,506 (c, r)	0,555 (e, r)	0,576 (d, r)
	Albatros	0,704 (a, r)	0,616 (bc, r)	0,623 (cde, r)	0,562 (d, r)
	OP1105	0,636 (a, r)	0,698 (abc, r)	0,837 (abcd, r)	0,814 (abcd, r)
	OP1109	0,673 (a, r)	0,660 (bc, r)	0,578 (de, r)	0,700 (bcd, r)
ATO 2ª fase	Ariete	0,693 (a, r)	0,509 (c, r)	0,552 (e, r)	0,645 (cd, r)
	Albatros	0,704 (a, r)	0,628 (bc, r)	0,824 (abcde, r)	0,695 (bcd, r)
	OP1105	0,636 (a, r)	0,641 (bc, r)	0,570 (de, r)	0,698 (bcd, r)
	OP1109	0,673 (a, r)	0,705 (abc, r)	0,688 (bcde, r)	0,687 (bcd, r)

Souza *et al.* (2013) constataram que os níveis de K não se alteraram face aos tratamentos com Se, e afirmaram ainda que de modo geral os macronutrientes K e P não foram afetados. Resultados semelhantes também foram encontrados por Wang *et al.* (2013 a), que mostraram que os teores de K não foram significativamente afetados pelas aplicações foliares de Se em grãos de milho.

3.2.9. Análise Qualitativa de Elementos Minerais

De entre os principais constituintes do grão, o endosperma é a fração mais importante no que diz respeito à nutrição humana, uma vez que é a parte do grão consumido principalmente em muitos países. As sementes contêm tecidos ovulares (embrião, endosperma e aleurona) cercados por tecidos maternos (revestimento de semente) (Figura 3.39). A semente em desenvolvimento está ligada à planta mãe por um único feixe vascular (Zhang *et al.*, 2007). Este feixe vascular termina no revestimento da semente e não é simplasticamente ligado ao endosperma ou embrião. Os nutrientes que se deslocam para a semente são depositados a partir do floema, enquanto o excesso de água é mobilizado no sentido oposto, a nível vascular, através do xilema (Oparka e Gates, 1984).

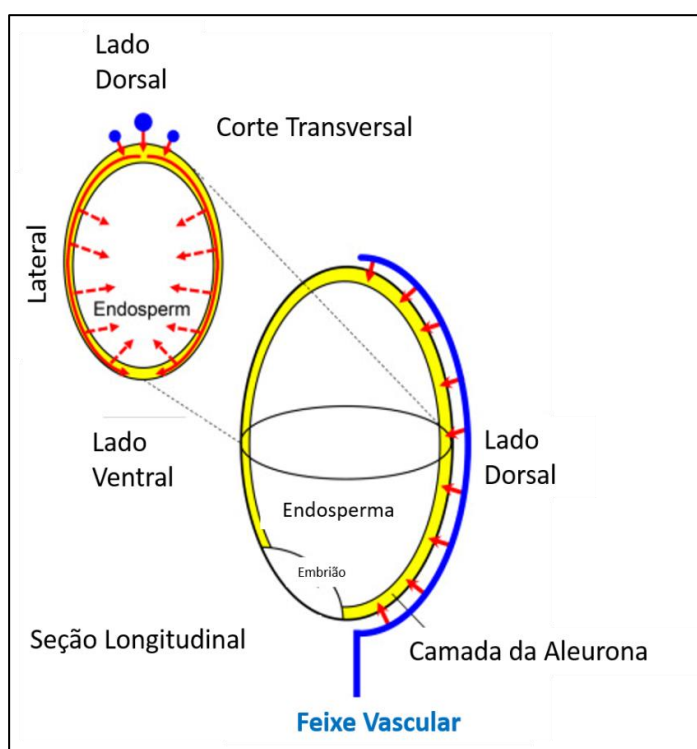




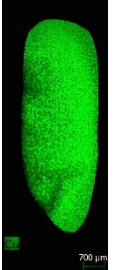
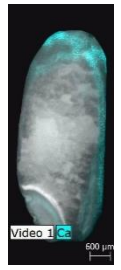
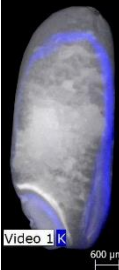
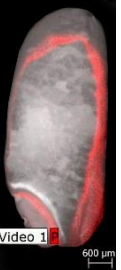


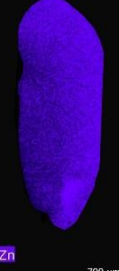
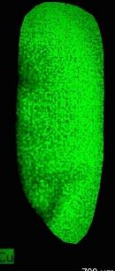

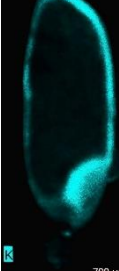
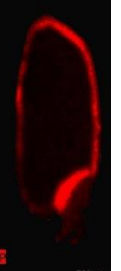

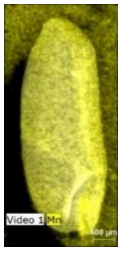
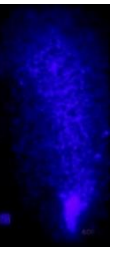

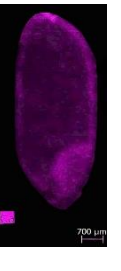
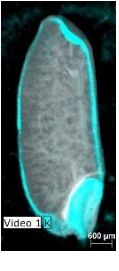

Figura 3.39. Representação esquemática do transporte de minerais no grão de arroz. Pontos e linha azuis indicam o feixe vascular, bandas amarelas indicam a camada da aleurona e as setas vermelhas indicam a direção do transporte de minerais. Fonte: adaptado de Hoshikawa, 1990

Neste enquadramento, nos quadros 3.3 - 3.6, encontram-se, em corte longitudinal, as deposições nos tecidos de elementos minerais nos diferentes tecidos do grão de cada variedade / genótipo. Foram identificados os micronutrientes Fe, Mn, Zn e Cu e os macronutrientes Ca, K e P, além do Se, que será discutido posteriormente. O padrão de distribuição desses elementos foi investigado nos grãos controlo e com proveniência a partir de plantas submetidas ao itinerário de biofortificação com 300 g Se ha⁻¹.

Através das imagens (Quadro 3.3) pode ser observada a acumulação dos diferentes minerais em partes específicas do grão da variedade Ariete. Os micronutrientes parecem estar essencialmente depositados no embrião e com alguns vestígios mais próximos das camadas




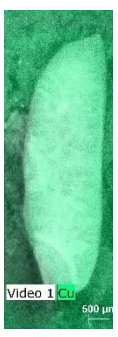


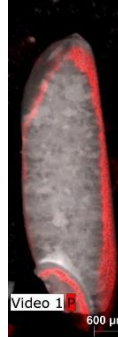

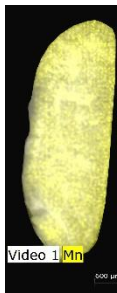

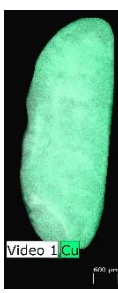
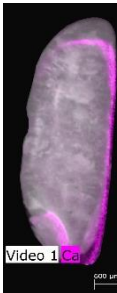
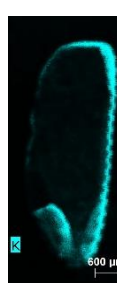
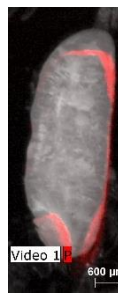



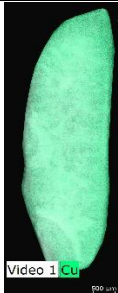

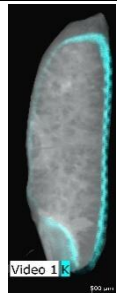

mais internas do grão. De entre os micronutrientes identificados no quadro 3.3, o Cu parece estar melhor distribuído por todo grão, como mostram os mapeamentos espectrais. Os macronutrientes Ca, K e P, estão nitidamente distribuídos na região correspondente ao farelo do grão e camadas externas.

Quadro 3.3. Localização dos elementos minerais (Fe, Mn, Zn, Cu, Ca, K e P) na variedade Ariete, em amostras controle e com aplicações foliares de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) na concentração de 300 g Se ha⁻¹. Análise realizado com recurso à fluorescência de raios X (sistema μ -EDXRF).

		Ariete						
		Microminerais				Macrominerais		
300 g Se ha ⁻¹	Controlo							
	ITO							
	ATO							





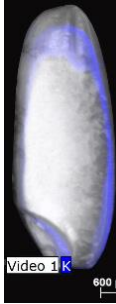


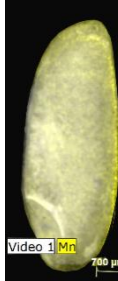
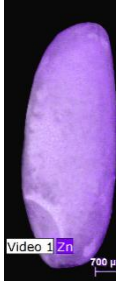
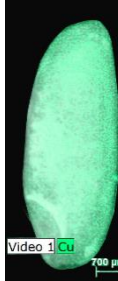
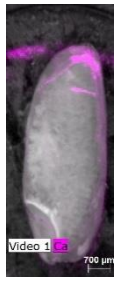
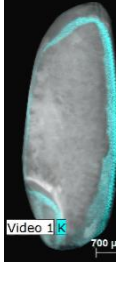
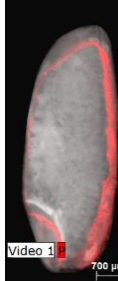



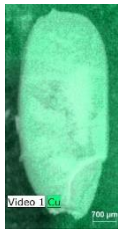
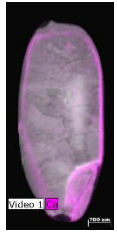
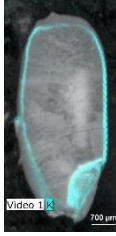
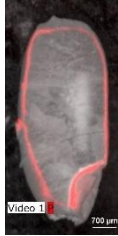
No Quadro 3.4 são apresentados os mapeamentos espectrais da variedade Albatros, tendo-se verificado que os micronutrientes tendem a ter uma distribuição equitativa por todo o grão desta variedade. Embora pareçam uniformemente distribuídos, o Fe e Mn predominam na aleurona. Os macronutrientes têm um perfil semelhante ao que foi observado em Ariete, com tendência para se acumularem nas camadas exteriores do grão. Constata-se ainda que nos grãos biofortificado (selenito e selenato) há uma forte tendência para acumular minerais no embrião.

Quadro 3.4. Localização dos elementos minerais (Fe, Mn, Zn, Cu, Ca, K e P) na variedade Albatros, em amostras controle e com aplicações foliares de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) na concentração de 300 g Se ha⁻¹. Análise realizado com recurso à fluorescência de raios X (sistema μ -EDXRF).

Albatros							
	Microminerais				Macrominerais		
Controlo	 Video 1 Fe 600 μ m	 Video 1 Mn 600 μ m	 Video 1 Zn 600 μ m	 Video 1 Cu 500 μ m	 Video 1 Ca 600 μ m	 Video 1 K 600 μ m	 Video 1 P 600 μ m
300 g Se ha ⁻¹ ITO	 Video 1 Fe 600 μ m	 Video 1 Mn 600 μ m	 Video 1 Zn 600 μ m	 Video 1 Cu 600 μ m	 Video 1 Ca 600 μ m	 Video 1 K 600 μ m	 Video 1 P 600 μ m
300 g Se ha ⁻¹ ATO	 Video 1 Fe 600 μ m	 Video 1 Mn 600 μ m	 Video 1 Zn 600 μ m	 Video 1 Cu 600 μ m	 Video 1 Ca 600 μ m	 Video 1 K 600 μ m	 Video 1 P 600 μ m




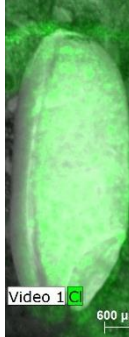
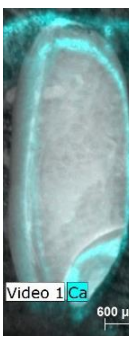
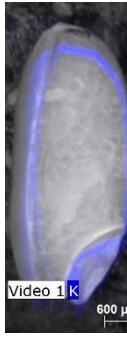
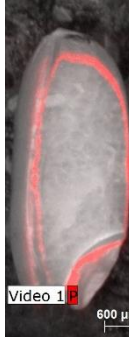
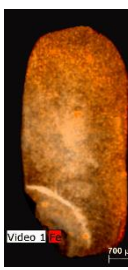
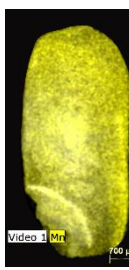
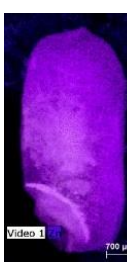
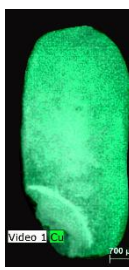

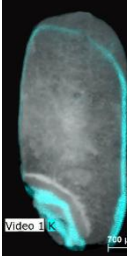
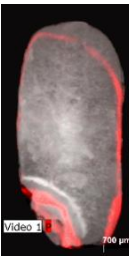



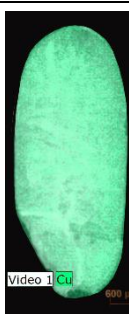
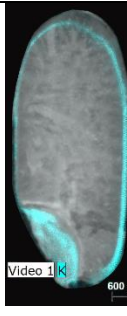
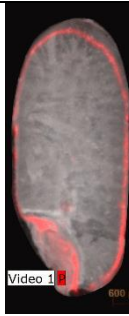
O mapeamento espectral do OP1105 (Quadro 3.5) revelou variação na distribuição dos microelementos face à forma de Se aplicada. A extensão dos elementos nos grãos controlo foi mais pronunciada. O Fe e Mg, em grãos biofortificados com selenito, encontravam-se mais depositados na região apical grão, e com ligeira deposição nas camadas do farelo em direção ao centro do grão. O Zn encontrava-se uniformemente distribuído ao longo do grão, e o Cu seguiu a mesma tendência do Zn, porém com propensão a depositar-se no embrião. Nos grãos biofortificados com selenato, para todos os micronutrientes, verificou-se uma forte tendência para deposição nas camadas mais internas (mais evidente para o Mn). Relativamente aos macronutrientes Ca, K e P, a tendência geral apontou para a deposição nas regiões periféricas do grão, ainda que de forma mais pronunciada no embrião e na região apical do grão.

Quadro 3.5. Localização dos elementos minerais (Fe, Mn, Zn, Cu, Ca, K e P) no genótipo OP1105, em amostras controle e com aplicações foliares de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) na concentração de 300 g Se ha⁻¹. Análise realizado com recurso à fluorescência de raios X (sistema μ-EDXRF).

OP1105							
	Micronutrientes				Macronutrientes		
Controlo	 Video 1 Fe 600 μm	 Video 1 Mn 600 μm	 Video 1 Zn 600 μm	ND	 Video 1 Ca 600 μm	 Video 1 K 600 μm	 Video 1 P 600 μm
300 g Se ha⁻¹ ITO	 Video 1 Fe 700 μm	 Video 1 Mn 700 μm	 Video 1 Zn 700 μm	 Video 1 Cu 700 μm	 Video 1 Ca 700 μm	 Video 1 K 700 μm	 Video 1 P 700 μm
300 g Se ha⁻¹ ATO	 Video 1 Fe 700 μm	 Video 1 Mn 700 μm	 Video 1 Zn 700 μm	 Video 1 Cu 700 μm	 Video 1 Ca 700 μm	 Video 1 K 700 μm	 Video 1 P 700 μm

No quadro 3.6 apresenta-se a localização dos micro e macronutrientes em cortes longitudinais dos grãos do genótipo OP1109. Verificou-se que os microelementos estão ligeiramente dispersos pelo grão, mas com predominância nas camadas externas e no embrião. Os macronutrientes Ca, K e P estão bem evidenciados, depositando-se sobretudo nas camadas da aleurona e embrião independentemente do tratamento a que foram submetidos.

Quadro 3.6. Localização dos elementos minerais (Fe, Mn, Zn, Cu, Ca, K e P) no genótipo OP1109, em amostras controle e com aplicações foliares de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) na concentração de 300 g Se ha⁻¹. Análise realizado com recurso à fluorescência de raios X (sistema μ-EDXRF).

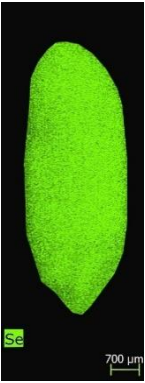
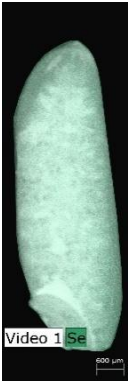

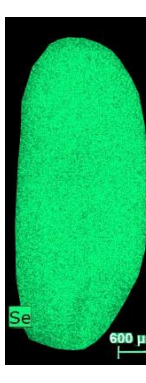
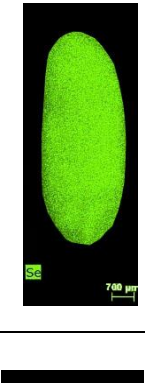
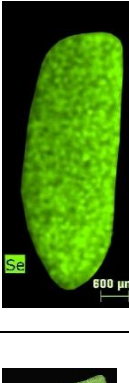

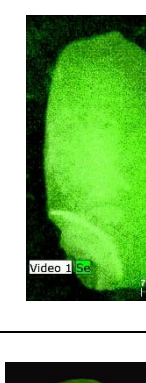
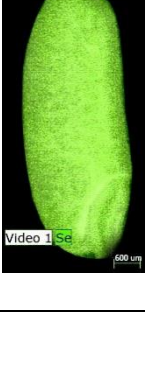

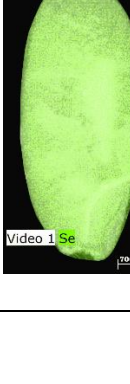

OP1109							
	Micronutrientes				Macronutrientes		
Controlo	 Video 1 Fe 600 μm	 Video 1 Mn 600 μm	 Video 1 Zn 600 μm	 Video 1 Cu 600 μm	 Video 1 Ca 600 μm	 Video 1 K 600 μm	 Video 1 P 600 μm
300 g Se ha ⁻¹ ITO	 Video 1 Fe 700 μm	 Video 1 Mn 700 μm	 Video 1 Zn 700 μm	 Video 1 Cu 700 μm	 Video 1 Ca 700 μm	 Video 1 K 700 μm	 Video 1 P 700 μm
300 g Se ha ⁻¹ ATO	 Video 1 Fe 600 μm	 Video 1 Mn 600 μm	 Video 1 Zn 600 μm	 Video 1 Cu 600 μm	ND	 Video 1 K 600 μm	 Video 1 P 600 μm

Num estudo realizado por Lu *et al.* (2013), nos tecidos dos grãos de arroz, estes autores verificaram que os minerais se depositaram preferencialmente no embrião e / ou na camada de aleurona. Neste contexto, tal como visualizado no nosso estudo, esses autores também observaram concentrações mais elevadas de elementos minerais na fração do farelo (relativamente ao arroz polido). Neste enquadramento, sugere-se que a aleurona será um reservatório de armazenamento de metais carregados positivamente, tais como Ca, Mg, K, Zn e Fe, presumivelmente para apoio dos processos essenciais para a germinação de sementes e subsequente crescimento (Meharg *et al.*, 2008). Tem sido ainda relatado que os metais se acumulam preferencialmente nos tecidos de embrião e da aleurona (Lombi *et al.*, 2009). O embrião pode considerar-se a estrutura mais importante nas sementes, pois é o constituinte mais eficiente para armazenar elementos minerais necessários para as funções enzimáticas, para a captação de energia, manutenção de turgor das células no embrião, visto que, o gasto energético

para mover esses elementos de locais de armazenamento no endosperma seria maior. O armazenamento destes elementos no endosperma também pode acelerar o início da germinação, caso sejam detetadas as condições ambientais apropriadas. Os dados de mapeamento μ -EDXRF (Quadro 3.3 - 3.6) apoiam a tese de que os nutrientes minerais principais estão localizadas nos tecidos do embrião. Assim, segundo Lu *et al.* (2013), a remoção da casca, do embrião e da camada de aleurona, durante descasque e polimento, reduz substancialmente o valor nutriente mineral dos grãos de arroz. O farelo de arroz tem sido reconhecido como uma fonte muito valiosa de nutrientes devido aos seus elevados teores de lípidos, proteínas, vitaminas, minerais e fibra (Sun *et al.*, 2010). Lu *et al.* (2013) apoiam ainda a ideia de que o arroz integral é preferível do ponto de vista da saúde, pois contém mais componentes minerais nutricionais que o arroz polido. Iwai *et al.* (2012) estudaram a dinâmica e distribuição de elementos minerais no arroz em desenvolvimento e em grãos maduros, usando análise de imagem por μ -XRF, e verificaram que embora as concentrações de cada elemento na área de acumulação sejam diferentes em grãos maduros, os padrões de localização dos elementos não se alteraram significativamente. P, Ca, K, e Fe acumularam principalmente na camada de aleurona. No entanto, o Zn e o Cu acumulam-se de forma consistente a partir da camada de aleurona em direção ao interior do endosperma. Este comportamento também foi observado nas amostras de arroz biofortificado com Se neste estudo.

A deposição de Se em tecidos do grão de arroz de cada variedade / genótipo foi determinada em corte longitudinal (Quadro 3.7), tendo-se verificado que a distribuição espacial de Se foi uniforme. Contudo, nos grãos biofortificados foram observados depósitos em áreas isoladas, na superfície dos grãos, sobretudo na região embrionária e com uma possível migração para o endosperma.

Quadro 3.7. Localização do Se em Ariete, Albatros, OP1105 e OP1109, em amostras controle e com aplicações foliares de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) na concentração de 300 g Se ha⁻¹. Análise realizado com recurso à fluorescência de raios X (sistema μ-EDXRF).

		Selênio			
		Ariete	Albatros	OP1105	OP1109
Controlo					
	300 g Se ha ⁻¹ ITO				
	300 g Se ha ⁻¹ ATO				

Resultado semelhante foi obtido por Moore *et al.* (2010), que analisaram a distribuição do Se em grãos de trigo, e constataram que este elemento estava uniformemente distribuído em toda a matriz da aleurona, ainda que concentrado principalmente na região circundante aos grânulos de amido nas células do endosperma amiláceo. Estes resultados são ainda

consistentes com os de Eurola *et al.* (1991) que demonstraram que as frações de farinha obtidas a partir da incorporação de células da aleurona continham concentrações ligeiramente mais elevadas de Se. Os resultados de Lyons *et al.* (2005 a) também são concordantes com o nosso estudo, tendo estes autores revelado que a concentração de Se no embrião foi de apenas 1,5 vezes maior do que no endosperma (incluindo a aleurona), e que o Se foi uniformemente distribuído por todo o grão. Segundo Feeney *et al.* (2003) a distribuição do Se é muito semelhante à do enxofre, uma vez que partilham os mesmos mecanismos de absorção e transporte.

3.2.10. Localização Tecidual de Elementos Minerais

A análise espectral, com sonda de raio X acoplada a microscopia electronica de varrimento, seguindo uma perspectiva semi-quantitativa, foi efectuada considerando três pontos: A (embrião); B (região equatorial); C (região apical), em grãos obtidos sem aplicação de Se, ou seja, controlo / selenito (Figuras 3.40 – 3.43) e controlo / selenato (Figuras 3.44 – 3.47), assim como com aplicação de 300 g Se ha⁻¹ na forma selenito (Figuras 3.48 – 3.51) e selenato (Figuras 3.52 – 3.55):

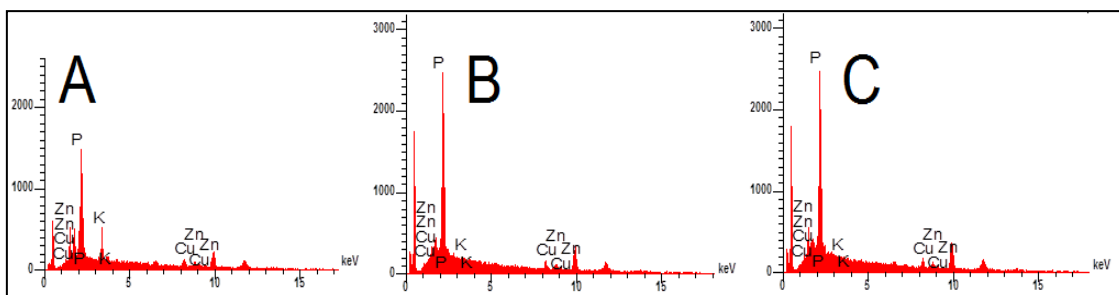


Figura 3.40. Espectro do grão de arroz da variedade Ariete (controlo/selenito). A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

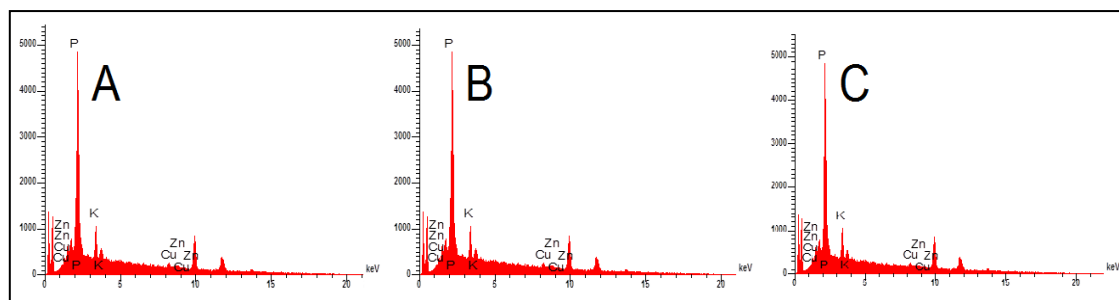


Figura 3.41. Espectro do grão de arroz da variedade Albatros (controlo/selenito). A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

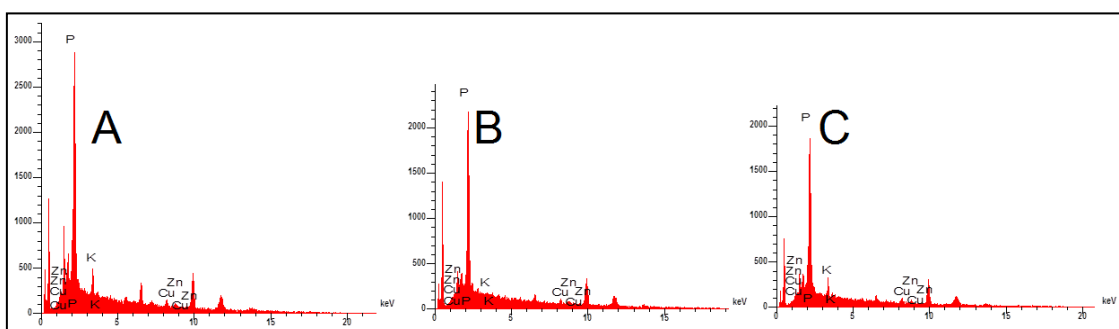


Figura 3.42. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1105 (controlo/selenito). A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

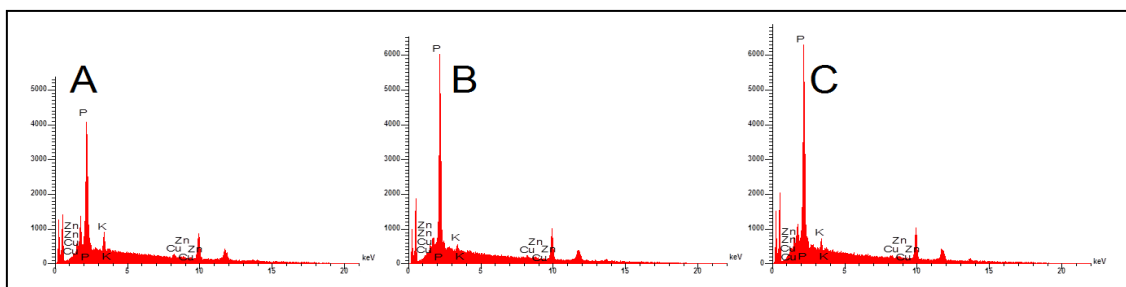


Figura 3.43. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1109 (controlo/selenito). A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

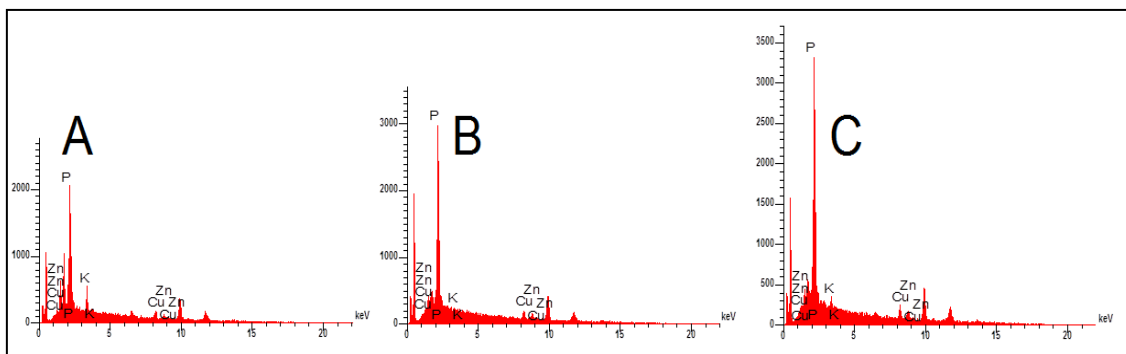


Figura 3.44. Espectro do grão de arroz da variedade Ariete (controlo/selenito). A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

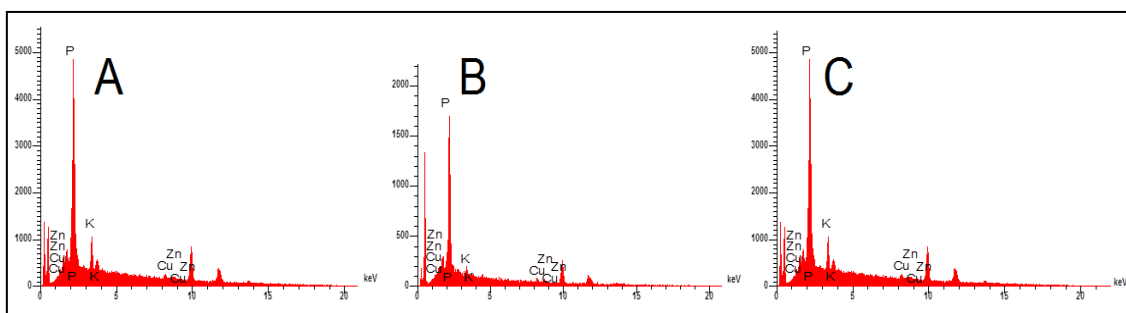


Figura 3.45. Espectro do grão de arroz da variedade Albatros (controlo/selenato). A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

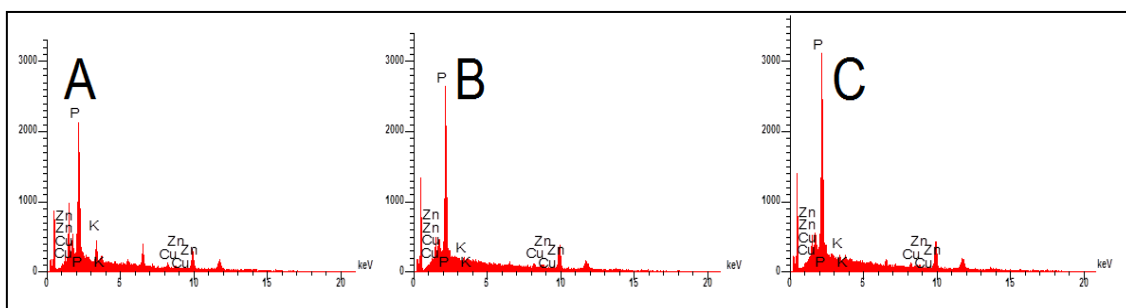


Figura 3.46. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1105 (controlo/selenato). A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

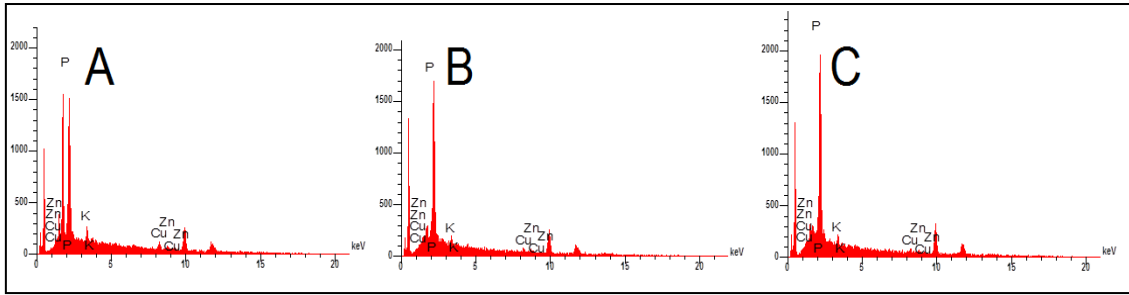


Figura 3.47. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1109 (controlo/selenato). A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

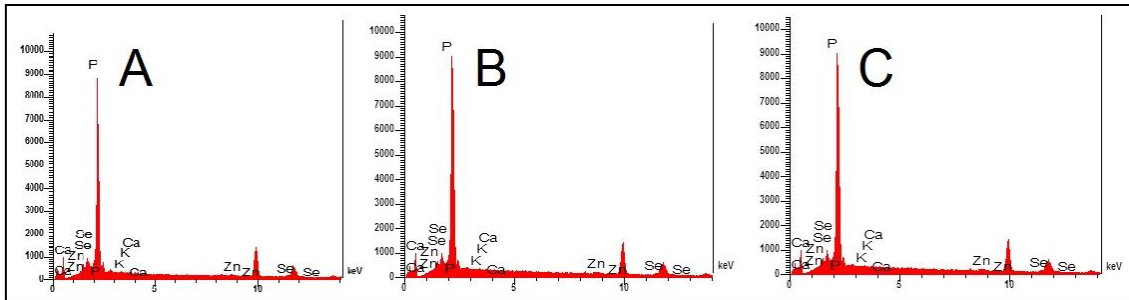


Figura 3.48. Espectro do grão de arroz da variedade Ariete com aplicação de selenito (300 g Se ha^{-1}) no segundo ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

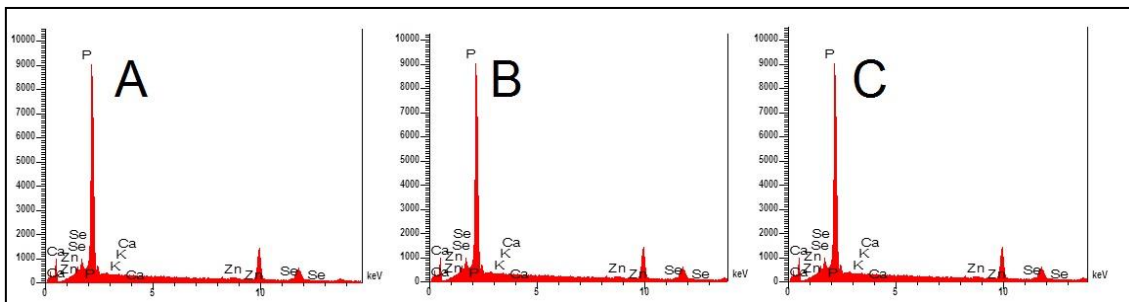


Figura 3.49. Espectro do grão de arroz da variedade Albatros com aplicação de selenito (300 g Se ha^{-1}) no segundo ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

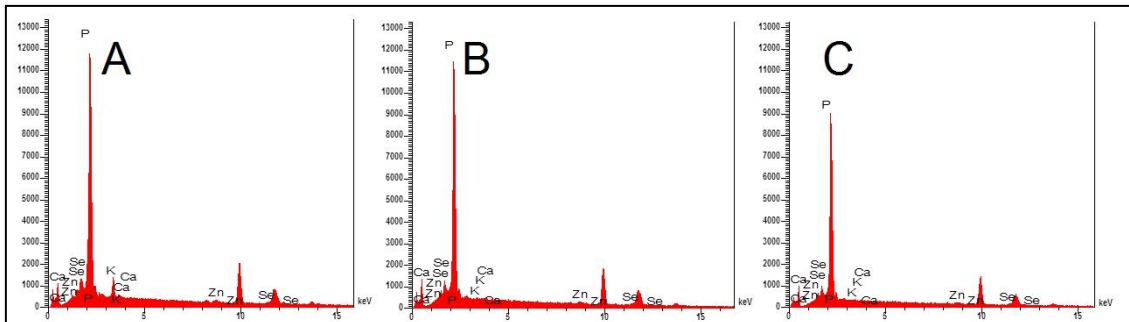


Figura 3.50. Espectro do grão de arroz da variedade OP1105 com aplicação de selenito (300 g Se ha^{-1}) no segundo ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

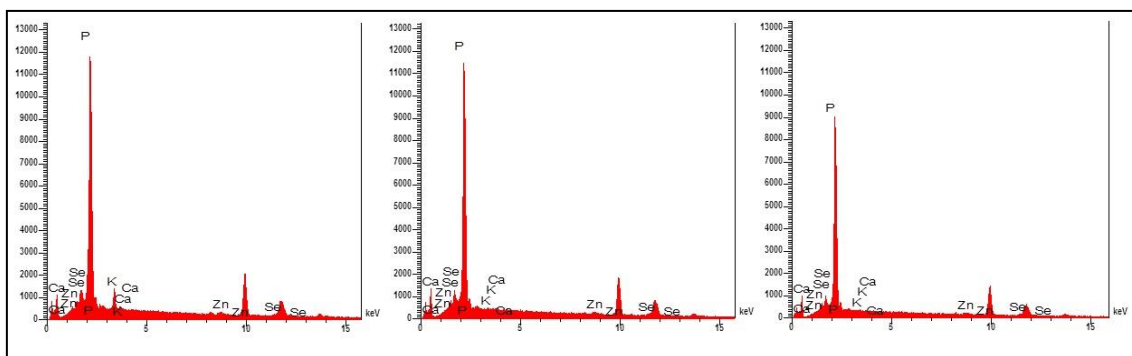


Figura 3.51. Espectro do grão de arroz da variedade OP1109 com aplicação de selenito (300 g Se ha^{-1}) no segundo ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

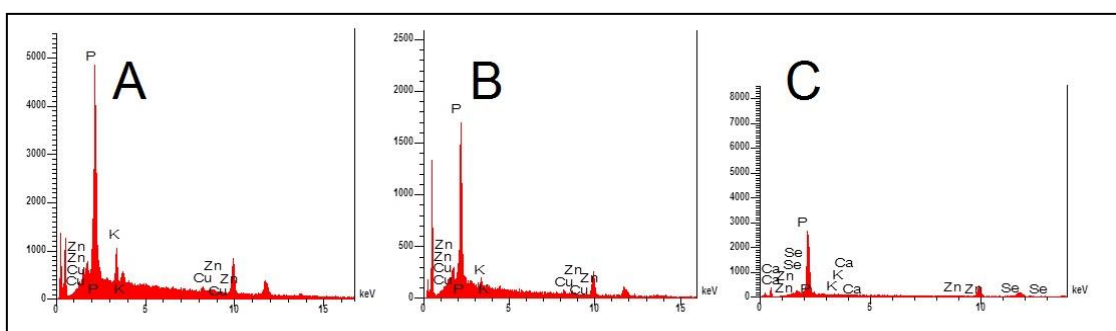


Figura 3.52. Espectro do grão de arroz da variedade Ariete com aplicação de selenato (300 g Se ha^{-1}) no segundo ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

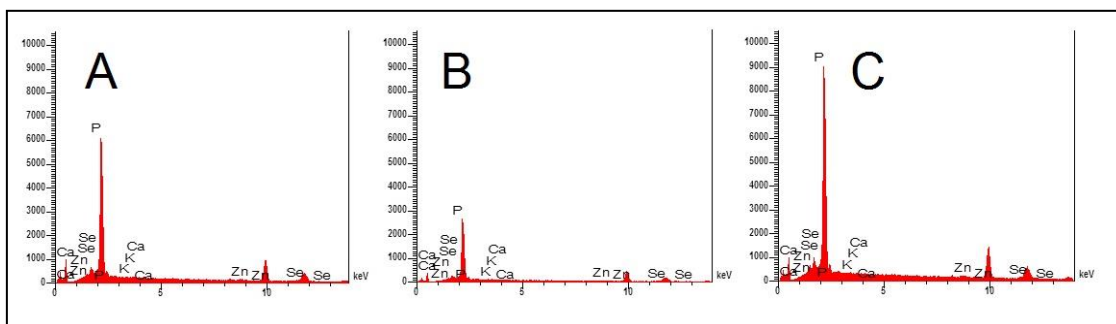


Figura 3.53. Espectro do grão de arroz da variedade Albatros com aplicação de selenato (300 g Se ha^{-1}) no segundo ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

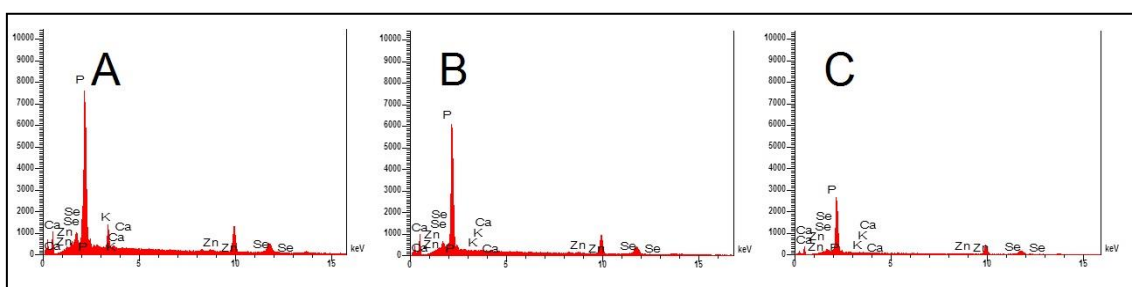


Figura 3.54. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1105 com aplicação de selenato (300 g Se ha^{-1}) no segundo ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

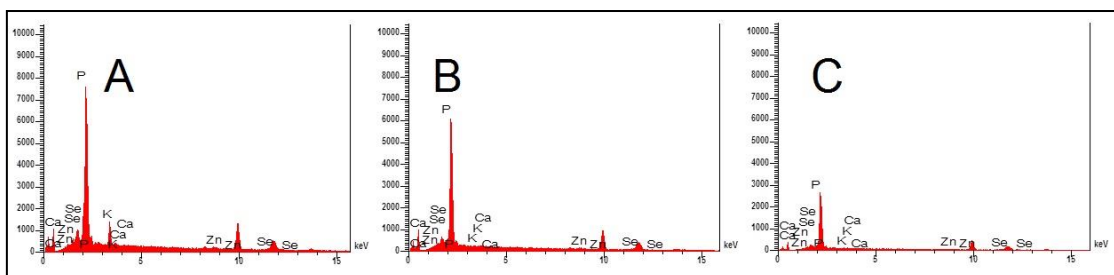


Figura 3.55. Espectro do grão de arroz do genótipo OP1109 com aplicação de selenato (300 g Se ha^{-1}) no segundo ano de ensaio. A – Embrião; B – Zona equatorial do grão; C – Região apical do grão.

Neste enquadramento, a análise sobre localização tecidual dos macroelementos minerais dos grãos controlo e biofortificado (Tabela 3.43) revelou que para o K e o Ca, a percentagem foi ligeiramente superior em amostras controlo. Com predominância de K no embrião e no ápice do grão, ressalta-se que o processo de biofortificação promoveu a redução substancial de K, e apenas sob condições de biofortificação com selenato mostrou ser menos sensível à concentração de 300 g Se ha^{-1} . Quanto à distribuição de Ca, este parece depender de fatores genéticos do que da forma de Se aplicado. Os resultados da localização tecidual do P nas diferentes partes do grão revelaram uma distribuição uniforme, não afetada pela biofortificação com Se. O Mg revelou um padrão de distribuição semelhante ao Ca, e parece ser pouco influenciado pela biofortificação aplicada ao nível foliar.

Tabela 3.43. Análise semi-quantitativa de elementos minerais (%)* e localização tecidual de K, Ca, P e Mg, por microscopia eletrônica de varrimento com sonda de raios X, em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 2 tratamentos.

Elementos Minerais (%)*										
Genótipo	Se	Partes do Grão	K		Ca		P		Mg	
			0 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹
Ariete	ITO	Embrião	26,96	3,39	4,09	3,61	59,24	59,97	4,99	6,89
		Z. equatorial	7,14	3,29	6,37	3,71	61,51	59,87	8,02	6,89
		R. Apical	4,63	3,39	6,92	3,71	40,73	59,87	8,19	6,79
	ATO	Embrião	26,96	5,55	6,92	3,67	40,73	61,50	4,99	6,70
		Z. equatorial	5,49	4,58	5,62	3,41	45,39	67,23	9,04	4,98
		R. Apical	13,76	3,39	5,63	3,67	57,09	59,87	8,88	6,99
Albatros	ITO	Embrião	21,07	3,40	10,72	3,66	37,76	59,87	5,07	6,89
		Z. equatorial	21,97	3,39	10,72	3,74	36,76	59,87	5,07	6,89
		R. Apical	22,90	3,39	10,79	3,74	35,76	59,87	5,07	6,79
	ATO	Embrião	22,94	22,90	10,79	10,79	35,06	29,76	5,77	5,07
		Z. equatorial	17,67	17,67	6,16	6,16	48,48	45,48	7,70	5,70
		R. Apical	22,87	4,58	10,70	3,51	36,86	66,23	5,08	4,93
OP1105	ITO	Embrião	18,87	18,20	5,52	4,66	50,12	60,54	7,86	4,16
		Z. equatorial	7,68	5,08	6,88	3,87	45,69	66,70	10,92	5,67
		R. Apical	16,66	3,39	5,70	3,67	52,74	59,77	6,14	6,89
	ATO	Embrião	9,16	7,52	7,72	5,20	55,63	66,70	5,80	5,08
		Z. equatorial	7,83	5,55	7,34	3,67	48,98	61,57	9,67	6,35
		R. Apical	10,68	4,58	5,54	3,41	55,80	67,23	7,33	4,93
OP1109	ITO	Embrião	21,04	18,20	7,63	4,66	33,81	60,54	5,13	4,16
		Z. equatorial	14,28	5,08	7,80	3,87	44,28	66,77	7,48	5,67
		R. Apical	14,50	3,39	6,34	3,61	52,14	59,87	7,44	6,89
	ATO	Embrião	20,21	7,51	4,41	5,20	44,20	66,71	9,81	5,08
		Z. equatorial	16,67	5,55	6,16	3,67	49,48	61,57	7,64	6,35
		R. Apical	14,58	4,58	7,74	3,41	55,39	67,23	6,46	4,93

*Num total de 10 elementos analisados (Na, Mg, P, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Se), sendo o somatório de 100%.

A análise semi-quantitativa dos micronutrientes (Fe, Mn, Zn e Cu) no grão, a nível geral, revelou maior percentagem nos grãos sob condições controlo (Tabela 3.44). Contudo, esta tendência foi mais forte no Fe e no Cu. Quanto ao Mn e ao Zn, o processo de biofortificação não promoveu alterações substanciais entre o controlo e os grãos biofortificados. Considerando a predominância da localização dos elementos nos grãos, esta foi bastante variável, e foi influenciada pelo genótipo e pelas formas de Se aplicada. Relativamente à biofortificação com selenito, para o Fe, verificou-se que o selenito promoveu maior acumulação na região apical em todas as variedades e genótipos, com maiores proporções na Ariete e na Albatros. O Mn, o Zn e o Cu, revelaram uma distribuição bastante uniforme em Ariete e na Albatros, enquanto que OP1105 e o OP1109 mostraram maior acumulação na região apical do grão. Sob biofortificação com selenato (300 g Se ha⁻¹), o Fe predominou na região apical de Ariete, OP1105 e OP1109, e na região equatorial da Albatros. O Mn revelou estar uniformemente distribuído em todas as

partes analisadas. Por oposição, o Cu predominou no embrião, embora, denotando uma distribuição equitativa nas diferentes partes.

Tabela 3.44. Análise semi-quantitativa de elementos minerais (%)* e localização tecidual de Fe, Mn, Zn e Cu, por microscopia eletrônica de varrimento com sonda de raios X, em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 2 tratamentos.

Elementos Minerais (%)*										
Genótipo	Se	Partes do Grão	Fe		Mn		Zn		Cu	
			0 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹
Ariete	ITO	Embrião	4,07	1,89	2,75	2,48	7,21	8,67	5,16	2,15
		Z. equatorial	2,20	2,89	2,44	2,48	6,80	8,67	3,70	2,18
		R. Apical	1,53	2,89	2,74	2,48	9,48	7,57	8,66	2,18
	ATO	Embrião	2,63	0,59	4,06	1,13	9,39	10,67	8,97	2,88
		Z. equatorial	3,28	1,30	2,69	1,19	13,78	7,47	13,15	1,93
		R. Apical	2,46	1,89	1,70	1,48	5,24	8,67	4,17	2,15
Albatros	ITO	Embrião	3,70	1,89	3,64	2,48	9,09	8,67	7,64	2,15
		Z. equatorial	3,74	2,89	3,64	2,48	9,08	8,67	7,60	2,18
		R. Apical	3,74	2,89	3,64	2,48	9,09	7,57	7,60	2,18
	ATO	Embrião	3,84	3,74	3,50	3,64	9,09	9,09	7,63	7,60
		Z. equatorial	2,43	2,43	3,48	3,48	8,00	8,00	3,43	3,43
		R. Apical	3,72	1,30	3,64	1,19	9,09	7,24	7,68	1,96
OP1105	ITO	Embrião	3,74	0,99	3,12	0,51	4,82	5,50	3,94	1,04
		Z. equatorial	3,92	0,90	5,29	1,20	12,56	5,74	5,25	1,40
		R. Apical	6,16	1,98	1,83	3,67	5,77	8,67	4,74	2,25
	ATO	Embrião	5,31	0,82	3,48	1,32	4,58	6,20	6,95	3,78
		Z. equatorial	6,16	0,50	3,26	1,13	10,05	10,90	4,85	2,86
		R. Apical	1,99	1,30	2,44	1,19	9,30	7,20	5,49	1,93
OP1109	ITO	Embrião	5,09	0,99	5,17	0,51	10,84	5,5333	10,69	1,04
		Z. equatorial	4,77	0,90	4,82	1,20	6,06	5,84	12,76	1,40
		R. Apical	2,69	1,89	2,83	1,48	4,76	8,67	8,81	2,15
	ATO	Embrião	2,13	0,82	2,13	1,32	7,49	6,23	5,88	3,78
		Z. equatorial	2,43	0,59	2,48	1,13	3,40	10,90	9,00	2,88
		R. Apical	1,36	1,30	1,70	1,19	4,80	7,24	6,64	1,93

*Num total de 10 elementos analisados (Na, Mg, P, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Se), sendo o somatório de 100%.

Considerando ainda a localização tecidual do Se dos grãos controle e biofortificado (Tabela 3.45), foi possível verificar que a biofortificação com selenito e com selenato, incrementou os níveis de Se nos grãos de todas as variedades / genótipos analisados. Para Ariete e a Albatros, ocorreu uma distribuição equitativa do Se nas duas formas aplicadas (ITO e ATO). Já em OP1105 e OP1109, o Se predominou na região equatorial e no ápice do grão, nas duas formas (ITO e ATO).

Tabela 3.45. Análise semi-quantitativa e localização tecidual de Se (%)*, por microscopia eletrônica de varrimento com sonda de raios X, em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 2 tratamentos.

Genótipo	Se	Partes do Grão	Selênio (%)*			
			0 g Se ha ⁻¹		300 g Se ha ⁻¹	
			* %Se	SD	* %Se	SD
Ariete	ITO	Embrião	0,03	0,000	6,16	0,25
		R.equatorial	0,05	0,000	5,13	0,25
		Ápice	0,03	0,000	6,13	0,25
	ATO	Embrião	0,02	0,000	6,00	0,17
		R.equatorial	0,03	0,000	6,00	0,12
		Ápice	0,03	0,000	7,70	0,25
Albatros	ITO	Embrião	0,02	0,000	6,10	0,25
		R.equatorial	0,01	0,000	5,16	0,25
		Ápice	0,03	0,000	6,10	0,25
	ATO	Embrião	0,03	0,000	6,03	0,00
		R.equatorial	0,08	0,000	5,08	0,00
		Ápice	0,05	0,000	6,20	0,12
OP1105	ITO	Embrião	0,02	0,000	3,26	0,26
		R.equatorial	0,04	0,000	6,16	0,10
		Ápice	0,03	0,000	7,70	0,25
	ATO	Embrião	0,03	0,000	2,93	0,20
		R.equatorial	0,04	0,000	6,37	0,17
		Ápice	0,03	0,000	6,70	0,12
OP1109	ITO	Embrião	0,01	0,000	3,23	0,26
		R.equatorial	0,02	0,000	6,06	0,25
		Ápice	0,01	0,000	7,76	0,25
	ATO	Embrião	0,05	0,000	2,90	0,20
		R.equatorial	0,07	0,000	6,35	0,17
		Ápice	0,06	0,000	6,23	0,12

*Num total de 10 elementos analisados (Na, Mg, P, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Se), sendo o somatório de 100%.

A variação na distribuição dos elementos minerais no grão (Tabela 3.43 – 3.45), segundo Liang *et al.* (2007) poderá ser explicado pelo fato de que o conteúdo dos minerais em arroz serem afetados pelas características genéticas das variedades e pelos fatores ambientais. Wang *et al.* (2011) estudaram a distribuição de 6 elementos minerais em 3 variedades de arroz de origem chinesa, tendo constatado que seguiu a seguinte ordem Mg > Ca > Mn > Zn > Fe > Se. Estes autores relataram ainda que, a maioria dos elementos estavam presentes nas frações da parte mais exterior (farelo e fração exterior do endosperma no grão integral). Estes resultados corroboram o presente estudo, onde também foram encontrados níveis baixos de elementos minerais no endosperma, com consideravelmente mais Zn, Fe, K, Ca e Mn no embrião e nas regiões exteriores do grão. Tsukada *et al.* (2007) também relataram que o conteúdo mineral de arroz no Japão seguiu a ordem como Mg > Ca > Zn > Mn > Fe > Se. No nosso estudo, em termos gerais, nas amostras biofortificadas, obtivemos a seguinte ordem P > Zn > K > Mg > Se > Ca > Cu > Mn > Fe. Segundo D'Illo *et al.* (2002) estas diferenças podem ser devido a muitos fatores em cada país, tais como variedades de arroz, o solo, fertilizantes e produtos químicos agrícolas. Drahoňovský *et al.* (2016) presumem ainda que, as mudanças do conteúdo de elementos essenciais individuais estão relacionadas com os processos bioquímicos específicos de cada planta. Outro fator que pode contribuir para a diferença na proporção dos elementos minerais, é o processo de moagem. De fato, Wang *et al.* (2011), verificaram que os minerais no arroz integral diminuíram com o aumento do grau de moagem. Itani *et al.* (2002) também reportaram que os

elementos minerais (P, K, Mg, Ca e Mn) diminuíram a partir da fração mais exterior para a parte interior. Além disso, Wang *et al.* (2011) verificaram ainda que o nível de Mg diminuiu a uma velocidade maior em comparação com os outros elementos minerais. Em contraste, a moagem teve pouco efeito detetável sobre teores de Zn e Se. Isto sugere que os macroatmentos, nomeadamente o Mg, parecem estar mais concentrados na camada exterior, ao passo que a distribuição dos microelementos, como o Zn e o Se, parecem ser relativamente uniformemente distribuído no grão. Os resultados estão parcialmente de acordo com o estudo relatados por Liang *et al.* (2008).

3.2.11. Lípidos

Os ácidos gordos totais foram quantificados e encontram-se sumarizados na tabela 3.46. Foram analisados 3 tratamentos, controlo; 180 g Se ha⁻¹ e 300 g Se ha⁻¹. Através da análise estatística verificou-se que não houve diferenças significativas face à aplicação de selenito e selenato para a mesma variedade / genótipo nos respetivos tratamentos. Quanto ao efeito do aumento da concentração de Se sob a forma de selenito (SL01 ITO), verificou-se que em todas as variedades e genótipos, o aumento da concentração de Se induziu o aumento no teor de ácidos gordos totais, sendo este significativo para Albatros a partir de 180 g Se ha⁻¹ e para Ariete em 300 g Se ha⁻¹. OP1105 alcançou o máximo teor no tratamento com 180 g Se ha⁻¹ e sofreu redução com 300 g Se ha⁻¹ mantendo-se superior ao controlo. OP1109 manteve-se inalterado. Nas aplicações de selenato, observaram-se aumentos significativos em Ariete e na Albatros a partir de 180 g Se ha⁻¹. No OP1105 e na OP1109 não se observaram diferenças significativas entre o controlo a as amostras biofortificadas. Comparativamente ao 1º ano do ensaio (sob condições de biofortificação com concentrações mais baixas), de modo geral, verificaram-se teores de ácidos gordos totais mais elevados no 2º ano de ensaio (sob concentrações de Se mais elevadas).

Tabela 3.46. Teores de ácidos gordos totais (mg g⁻¹ PS) em em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 3 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios (n = 3) com letras (a - d) iguais na coluna e letras (r, s, t) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Ácidos Gordos Totais (mg g ⁻¹ PS)				
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO	Ariete	13,85 (a; s)	15,36 (b; rs)	16,74 (ab; r)
	Albatros	13,74 (a; s)	19,05 (a; r)	18,73 (a; r)
	OP1105	10,57 (b; t)	15,97 (b; r)	13,43 (d; s)
	OP1109	14,25 (a; r)	15,36 (b; r)	15,42 (bcd; r)
SL01 ATO	Ariete	11,54 (ab; t)	14,03 (b; s)	16,44 (abc; r)
	Albatros	13,54 (a; s)	19,79 (a; r)	19,10 (a; r)
	OP1105	12,98 (ab; r)	14,25 (b; r)	13,89 (cd; r)
	OP1109	13,38 (a; r)	14,86 (b; r)	13,94 (cd; r)

Fairulnizal *et al.* (2015) determinaram o teor de lípidos dos produtos comerciais de arroz de três variedades de arroz na Malásia, e encontraram valores oscilando em torno de 3,8 a 4,6 mg g⁻¹, inferiores aos descritos no presente trabalho. Estes resultados provavelmente decorrem

do processamento que os autores efetuaram previamente no arroz (arroz polido), e que foi diferente neste estudo (*i.e.*, os grãos que foram analisados na sua forma integral). O arroz branqueado normalmente contém pequenas quantidades de lípidos (inferior a 5% _{PS}) em comparação com o arroz integral (cerca de 15% _{PS}) (Kitta *et al.*, 2005). Assim, tal como indicado anteriormente no 1º ano de ensaio, o elevado conteúdo de gordura no farelo de arroz (15 a 23 g 100⁻¹ g) representa uma vantagem, dada a indicação de possível utilização em dietas para adultos e crianças, com o objetivo de reduzir proporcionalmente a ingestão de ácidos gordos saturados (Slavin e Lampe, 1992). Por outro lado, acarreta um problema tecnológico importante. Devido à intensa atividade das lipases que se inicia após o processamento do grão de arroz, e devido a produção de ácidos gordos livres e glicerol, e na presença de lipoxigenase endógena, o arroz processado deteriora-se rapidamente por rancidificação (Warren e Farrell, 1990). Refira-se que Pomeranz (1992) relatou que a composição do arroz depende do método de processamento e variedade. O potencial do arroz para contribuir para o fornecimento de lípidos essenciais na dieta é geralmente subestimado. Isto pode ser devido ao fato de que a forma predominante de arroz disponível no mercado ser o arroz polido, que contém apenas quantidades insignificantes de lípidos. Quase todo o teor de gordura do arroz se localiza nas camadas exteriores do grão, que são removidas durante a moagem. O teor de lípidos, ou gordura de arroz, ocorre principalmente na fração do farelo (20%, _{PS}), especificamente como corpos lipídicos, ou esferossomas, na camada de aleurona e farelo.

No arroz, prevalece uma elevada proporção de ácidos gordos insaturados, que representam até 80% do total de ácidos gordos. Devido ao elevado grau de insaturação, o óleo de farelo de arroz é conhecido por ter efeitos positivos, reduzindo o colesterol no sangue. Os principais ácidos gordos insaturados no arroz são o ácido oleico (C18:1) (monoinsaturado) e o ácido linoleico (C18:2 polinsaturado - um ácido gordo essencial) (Oko *et al.*, 2012). Num estudo realizado por Kitta *et al.* (2005), verificou-se que os principais ácidos gordos em cultivares de arroz do tipo Japónica são os ácidos oleico (C18:1, > 30%), linoleico (C18:2, ~ 30%), e palmítico (C16:0, 20%) . Aponte-se que estes resultados estão de acordos com os encontrados neste estudo.

Os perfis dos diferentes ácidos gordos nas farinhas de arroz foram comparados entre as amostras controlo e biofortificadas com 180 e 300 g Se ha⁻¹ sob a forma de selenito e selenato (Tabela 3.47). Os principais componentes dos ácidos gordos foram os ácidos oleico (C18:1) e linoleico (C18:2), cuja acumulação variou conforme a variedade / genótipo e a concentração / forma de Se aplicada. Constatou-se que não existem diferenças significativas entre os diferentes ácidos gordos, entre a aplicação de selenito e selenato, para a maioria das variedades / genótipos.

Relativamente aos tratamentos com Se, verificou-se que o aumento das concentrações de Se, aplicado sob a forma de selenito, induziu o aumento de ácido oleico (C18:1) nas concentrações de 180 g Se ha⁻¹ (Albatros, OP1105 e OP1109), não havendo alteração em Ariete. Este ácido gordo aumentou significativamente em resposta à aplicação de selenato em Ariete e Albatros, a partir de 180 g Se ha⁻¹. Relativamente ao ácido linoleico, face à aplicação de selenito,

observaram-se aumentos significativos na Ariete, Albatros e OP1105, sendo que nesta última o teor máximo de C18:2 foi obtido com 180 g Se ha⁻¹. Considerando a aplicação de selenato, foram registados aumentos significativos apenas em Ariete e Albatros. O ácido palmítico (C16:0) com o aumento das concentrações de selenito, apresentou aumento significativo em Albatros e em OP1105 a partir de 180 g Se ha⁻¹ (*i.e.*, no OP1105 registou-se o maior aumento sob 180 g Se ha⁻¹). Ariete e OP1109 mantiveram-se inalterados. Considerando as aplicações de selenato, registaram-se aumentos significativos em Albatros a partir de 180 g Se ha⁻¹ e em Ariete com aplicações de 300 g Se ha⁻¹. OP1105 e OP1109 mantiveram-se estáveis. O ácido esteárico (C18:0) foi o que sofreu menor variação quanto às concentrações aplicadas, tendo-se observado apenas na OP1105 um aumento significativo com a aplicação de 180 g Se ha⁻¹. Quanto ao ácido linolénico (C18:3), encontrado em menor proporção de entre os ácidos gordos identificados, apresentou comportamento semelhante ao ácido linoleico. Relativamente ao índice de insaturação (DBI), não se verificaram diferenças entre as formas de Se aplicado (selenito e selenato) nas variedades / genótipos. Equacionando o aumento das concentrações de Se, constatou-se que, o valor de DBI aumentou significativamente apenas em OP1109 com aplicação de selenito, a partir de 180 g Se ha⁻¹.

Tabela 3.47. Teores dos ácidos gordos (mg g^{-1} PS) e índice de insaturação (DBI) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 3 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios ($n = 3$) com letras (a - d) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

		Ácidos Gordos mg g^{-1} PS								
		C16:0			C18:0			C18:1		
		Ácido Palmítico			Ácido Estearico			Ácido Oleico		
Bloco	Genótipo	0 g Se ha^{-1}	180 g Se ha^{-1}	300 g Se ha^{-1}	0 g Se ha^{-1}	180 g Se ha^{-1}	300 g Se ha^{-1}	0 g Se ha^{-1}	180 g Se ha^{-1}	300 g Se ha^{-1}
SL01 ITO	Ariete	3,08 (ab; r)	3,10 (bc; r)	3,57 (ab; r)	0,32 (a; r)	0,28 (a; r)	0,24 (a; r)	4,84 (a; r)	5,52 (b; r)	5,63 (c; r)
	Albatros	2,80 (bc; s)	4,10 (a; r)	3,68 (a; r)	0,23 (a; r)	0,32 (a; r)	0,33 (a; r)	5,12 (a; s)	6,96 (a; r)	6,99 (a; r)
	OP1105	2,14 (c; s)	3,32 (abc; r)	2,74 (b; rs)	0,22 (a; s)	0,38 (a; r)	0,27 (a; rs)	4,30 (a; t)	6,99 (a; r)	5,82 (abc; s)
	OP1109	3,74 (a; r)	3,24 (bc; r)	3,23 (ab; r)	0,25 (a; r)	0,31 (a; r)	0,30 (a; r)	4,28 (a; s)	5,52 (b; r)	5,70 (bc; r)
SL01 ATO	Ariete	2,43 (bc; s)	2,84 (c; rs)	3,27 (ab; r)	0,25 (a; r)	0,30 (a; r)	0,30 (a; r)	4,25 (a; s)	5,15 (b; rs)	5,92 (abc; r)
	Albatros	2,80 (bc; s)	3,85 (ab; r)	3,85 (a; r)	0,33 (a; r)	0,36 (a; r)	0,33 (a; r)	5,34 (a; s)	7,46 (a; r)	6,95 (ab; r)
	OP1105	2,60 (bc; r)	2,98 (c; r)	2,82 (b; r)	0,25 (a; r)	0,33 (a; r)	0,33 (a; r)	5,43 (a; r)	6,34 (ab; r)	5,93 (abc; r)
	OP1109	2,72 (bc; r)	3,07 (bc; r)	3,12 (ab; r)	0,27 (a; r)	0,32 (a; r)	0,28 (a; r)	4,98 (a; r)	5,48 (b; r)	4,92 (c; r)
		C18:2			C18:3			DBI		
		Ácido Linoleico			Ácido Linolénico					
Bloco	Genótipo	0 g Se ha^{-1}	180 g Se ha^{-1}	300 g Se ha^{-1}	0 g Se ha^{-1}	180 g Se ha^{-1}	300 g Se ha^{-1}	0 g Se ha^{-1}	180 g Se ha^{-1}	300 g Se ha^{-1}
SL01 ITO	Ariete	5,21 (ab; s)	6,11 (b; rs)	6,90 (ab; r)	0,17 (abc; s)	0,21 (bcd; rs)	0,23 (abc; r)	4,49 (ab; r)	5,25 (a; r)	5,12 (a; r)
	Albatros	5,24 (ab; s)	7,22 (ab; r)	7,34 (a; r)	0,16 (abc; s)	0,23 (ab; r)	0,25 (a; r)	5,14 (a; r)	4,91 (a; s)	5,45 (a; r)
	OP1105	3,58 (ab; s)	4,88 (cd; r)	4,25 (d; rs)	0,15 (bc; s)	0,21 (bcd; r)	0,17 (d; rs)	4,81 (ab; r)	4,52 (a; r)	4,77 (a; r)
	OP1109	5,51 (a; r)	5,89 (bc; r)	5,86 (bc; r)	0,21 (a; r)	0,22 (abc; r)	0,22 (abcd; r)	3,84 (b; s)	4,84 (a; r)	5,00 (a; r)
SL01 ATO	Ariete	4,27 (b; t)	5,41 (bcd; s)	6,54 (ab; r)	0,16 (bc; s)	0,17 (cd; s)	0,24 (ab; r)	4,73 (ab; r)	5,06 (a; r)	5,32 (a; r)
	Albatros	4,77 (ab; s)	7,73 (a; r)	7,59 (a; r)	0,14 (c; s)	0,26 (a; r)	0,26 (a; r)	4,73 (ab; r)	5,50 (a; r)	5,39 (a; r)
	OP1105	4,33 (ab; r)	4,24 (d; r)	4,46 (d; r)	0,19 (abc; r)	0,16 (d; r)	0,19 (cd; r)	4,94 (ab; r)	4,45 (a; r)	4,76 (a; r)
	OP1109	4,98 (a; r)	5,48 (bc; r)	4,92 (cd; r)	0,19 (ab; r)	0,20 (bcd; r)	0,20 (bcd; r)	5,00 (ab; r)	4,84 (a; r)	4,49 (a; r)

DBI = [(% monoenes + 2 x % dienes + 3 x % trienes) / % ácidos gordos saturados] (Mazliak, 1983).

3.2.12. Açúcares Solúveis

O teor total dos açúcares solúveis, que se apresentam na tabela 3.48, mostraram que existem diferenças significativas entre o selenito e o selenato apenas no tratamento com 300 g Se ha⁻¹, tendo a Ariete, Albatros e OP1109 revelado um menor teor de açúcares totais, em plantas tratadas com selenato.

Tabela 3.48. Teor de açúcares solúveis totais (mg g⁻¹ PS) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 3 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios (n = 3) com letras (a - d) iguais na coluna e letras (r, s, t) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Açúcares Solúveis Totais (mg g ⁻¹ PS)							
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹		180 g Se ha ⁻¹		300 g Se ha ⁻¹	
SL01 ITO	Ariete	10,51	(a, t)	13,32	(ab, s)	15,54	(a, r)
	Albatros	10,85	(a, s)	13,60	(ab, r)	14,46	(ab, r)
	OP1105	11,63	(a, r)	12,32	(bc, r)	12,67	(cd, r)
	OP1109	11,20	(a, t)	12,79	(ab, s)	15,80	(a, r)
SL01 ATO	Ariete	10,51	(a, s)	12,46	(bc, r)	12,66	(cd, r)
	Albatros	10,85	(a, s)	14,54	(a, r)	11,39	(d, s)
	OP1105	11,63	(a, s)	11,40	(c, s)	13,20	(bc, r)
	OP1109	11,20	(a, s)	13,04	(ab, r)	12,59	(cd, r)

Quanto ao efeito do aumento das concentrações de Se no total de açúcares solúveis, observou-se que com a aplicação de selenito, a variedade Ariete, Albatros e OP1109 apresentaram acréscimos significativos e progressivos a partir de 180 g Se ha⁻¹. OP1105, por sua vez, não apresentou alterações com o aumento das concentrações de Se. Sob ação do selenato, OP1105 e OP1109 apresentaram aumentos significativos, mas em OP1105 esse aumento foi registado apenas na máxima concentração. Por outro lado, Albatros, apresentou acumulação máxima a 180 g Se ha⁻¹, reduzindo acentuadamente a 300 g Se ha⁻¹.

Tabela 3.49. Teores de açúcares solúveis (mg g^{-1} PS) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 3 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios ($n = 3$) com letras (a – d) iguais na coluna e letras (r, s, t) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Açúcares Solúveis (mg g^{-1} PS)								
Bloco	Genótipo	Rafinose			Sacarose			
		0 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹	
SL01 ITO	Ariete	0,91 (b, s)	1,03 (b, s)	1,38 (a, r)	8,25 (a, s)	11,02 (a, r)	11,61 (a, r)	
	Albatros	1,14 (ab, r)	1,21 (ab, r)	1,27 (ab, r)	8,26 (a, s)	11,47 (a, r)	12,17 (a, r)	
	OP1105	1,26 (a, r)	1,12 (ab, r)	1,11 (abc, r)	8,58 (a, s)	8,58 (b, s)	9,63 (b, r)	
	OP1109	0,98 (ab, r)	0,96 (b, r)	1,09 (bc, r)	8,64 (a, t)	10,57 (a, s)	12,05 (a, r)	
SL01 ATO	Ariete	0,91 (b, r)	1,07 (ab, r)	0,99 (c, r)	8,25 (a, r)	8,86 (b, r)	9,37 (b, r)	
	Albatros	1,14 (ab, s)	1,37 (a, r)	0,95 (c, s)	8,26 (a, t)	11,73 (a, r)	9,85 (b, s)	
	OP1105	1,26 (a, r)	1,01 (b, s)	1,13 (abc, rs)	8,58 (a, s)	8,89 (b, s)	10,09 (b, r)	
	OP1109	0,98 (ab, r)	0,94 (b, r)	0,88 (c, r)	8,64 (a, s)	11,01 (a, r)	10,08 (b, r)	

Bloco	Genótipo	Glucose			Frutose		
		0 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹	0 g Se ha ⁻¹	180 g Se ha ⁻¹	300 g Se ha ⁻¹
SL01 ITO	Ariete	0,97 (a, s)	0,98 (bcd, s)	1,90 (a, r)	0,38 (a, s)	0,29 (c, s)	0,65 (ab, r)
	Albatros	1,00 (a, r)	0,68 (d, s)	0,79 (c, rs)	0,45 (a, r)	0,23 (c, s)	0,23 (c, s)
	OP1105	1,30 (a, s)	2,02 (a, r)	1,32 (b, s)	0,50 (a, r)	0,60 (a, r)	0,60 (ab, r)
	OP1109	1,07 (a, s)	0,93 (bcd, s)	1,87 (a, r)	0,50 (a, s)	0,33 (bc, s)	0,80 (a, r)
SL01 ATO	Ariete	0,97 (a, t)	2,00 (a, r)	1,63 (a, s)	0,38 (a, s)	0,53 (ab, r)	0,66 (ab, r)
	Albatros	1,00 (a, r)	1,06 (bc, r)	0,36 (d, s)	0,45 (a, r)	0,38 (bc, rs)	0,23 (c, s)
	OP1105	1,30 (a, r)	1,19 (b, r)	1,41 (b, r)	0,50 (a, r)	0,31 (c, s)	0,57 (b, r)
	OP1109	1,07 (a, r)	0,79 (cd, s)	1,08 (b, r)	0,50 (a, r)	0,29 (c, s)	0,55 (b, r)

A tabela 3.49 mostra o perfil dos açúcares solúveis identificados nas amostras de arroz (farinha). Relativamente à rafinose, observaram-se aumentos significativos na variedade Ariete SL01 ITO sob aplicação de 300 g Se ha⁻¹ e reduções significativas em Albatros, onde as aplicações de selenato (SL01 ATO) a 300 g Se ha⁻¹ provocaram reduções significativas deste açúcar.

As variações observadas face ao aumento das concentrações de Se aplicadas nas variedades / genótipos também se observaram em Albatros e OP1105 com aplicações de selenato, tendo na Albatros aumentado significativamente, enquanto que no OP1105 apresentou redução com a aplicação de 180 g Se ha⁻¹.

A sacarose, identificada como o mais abundante de entre os açúcares analisados, também apresentou diferenças entre selenito e selenato. Este efeito foi detetado na Ariete biofortificada com 180 e 300 g Se ha⁻¹, com aplicações de selenato, ocorrendo uma redução em Albatros e na OP1109 com aplicações de 300 g Se ha⁻¹. Verificou-se ainda que o aumento das concentrações de Se induziu aumentos significativos para todas as variedades e genótipos biofortificados com selenito. Este comportamento também foi observado nas amostras biofortificadas com selenato, mas em Ariete este aumento não foi significativo, e em Albatros e OP1109 o teor máximo de sacarose foi obtido com uma concentração de 180 g Se ha⁻¹.

Relativamente ao teor de glucose nas amostras biofortificadas com selenito e selenato, observou-se que com a aplicação de 180 g Se ha⁻¹ ocorreram variações na Ariete, Albatros e OP1105, ainda que nos dois primeiros tenham ocorrido valores mais elevados sob a biofortificação com selenato e no último com selenito. Albatros e OP1109 apresentaram redução nos teores de glucose face à aplicação de selenato (300 g Se ha⁻¹). O aumento das concentrações de Se induziu aumentos significativos de glucose em Ariete (300 g Se ha⁻¹, OP1105 (180 g Se ha⁻¹) e OP1109 (300 g Se ha⁻¹) com aplicações de selenito. Por outro lado, o aumento das concentrações de Se causaram reduções de glucose na Albatros, em ambas as formas de Se, ainda que mais acentuada sob a forma de selenato.

A frutose destacou-se com os teores mais baixos dos açúcares identificados. Ao compararmos as duas formas de Se aplicada, observou-se a existência de variação na Ariete e na OP1105 no tratamento com 180 g Se ha⁻¹. Aponte-se que na Ariete os maiores teores foram observados em farinhas provenientes da biofortificação com selenato. Paralelamente, na OP1105 este efeito prevaleceu em farinhas provenientes da biofortificação com selenito. Na máxima concentração de Se só se observou uma variação em OP1109, que apresentou maiores teores de frutose face à aplicação de selenito. Ao compararmos as concentrações numa dada variedade / genótipo, verificou-se que o aumento das concentrações de Se sob a forma de selenito induziu aumentos significativos em Ariete e OP1109, e induziu reduções em Albatros. Sob a forma de selenato, o aumento das concentrações de Se provocou acréscimos em Ariete a partir de 180 g Se ha⁻¹, e pequenas oscilações nos restantes genótipos, mas no OP1105 e no OP1109, a acumulação máxima de frutose foi observada com 180 g Se ha⁻¹.

Adotando uma perspetiva geral, verificou-se que as concentrações mais elevadas de Se promoveram aumentos significativos nos teores de açúcares solúveis, principalmente da sacarose. Visando o desenvolvimento de novos produtos e a transformação agroalimentar dos grãos de arroz, a sacarose tem grande relevância na estabilidade dos alimentos processados. Refira-se que, segundo Arunyanart *et al.* (2008), teores acrescidos de sacarose parecem ser um agente eficaz para a redução da sinérese em géis de amido de arroz submetido a ciclos repetidos de congelamento-descongelamento. Assim, a sacarose pode retardar as alterações na textura em gel de amido de arroz, durante ciclos repetidos de congelação-descongelação, podendo desempenhar um papel importante na conservação da qualidade de produtos alimentares congelados.

3.2.13. Proteína

Após os glúcidos, a proteína é o segundo componente mais abundante do arroz (Probart *et al.*, 1993). A proteína de arroz é de qualidade muito elevada, em comparação com a de outras culturas alimentares. O arroz é nutricionalmente superior a muitos outros alimentos que são ricos em glúcidos.

O conteúdo da proteína nas amostras de farinha de arroz é apresentado na tabela 3.50. Verificou-se que, sob condições de controlo o OP1109 possuía os teores mais elevados de

proteína (7,14%) e diferiu das restantes. Esta tendência manteve-se em todas as outras concentrações, onde OP1109 persistiu com valores superiores de proteína total. Para o mesmo genótipo e mesma concentração de Se, não se verificaram diferenças entre o selenito e o selenato.

Tabela 3.50. Percentagem de proteína total em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito – ITO e selenato – ATO) em 5 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios (n = 3) com letras (a – e) iguais na coluna e letras (r, s, t) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

		Proteína Total (%)							
Bloco	Genótipo	0 g Se ha ⁻¹		120 g Se ha ⁻¹		180 g Se ha ⁻¹		300 g Se ha ⁻¹	
SL01 ITO	Ariete	6,06	(b; s)	7,34	(b; r)	7,69	(bc; r)	7,45	(c; r)
	Albatros	6,36	(b; t)	6,86	(b; st)	7,21	(c; rs)	7,72	(c; r)
	OP1105	6,39	(b; s)	7,24	(b; r)	7,45	(c; r)	7,69	(c; r)
	OP1109	7,14	(a; t)	8,30	(a; rs)	8,12	(ab; s)	8,78	(a; r)
SL01 ATO	Ariete	6,06	(b; t)	6,99	(b; s)	7,23	(c; s)	7,83	(bc; r)
	Albatros	6,36	(b; s)	6,99	(b; r)	7,24	(c; r)	7,26	(c; r)
	OP1105	6,39	(b; t)	6,82	(b; st)	7,34	(c; rs)	7,40	(c; r)
	OP1109	7,14	(a; t)	7,99	(a; s)	8,65	(a; r)	8,38	(ab; rs)

Analisando o efeito do aumento das concentrações de Se aplicada ao nível foliar das plantas, verificou-se que os grãos resultantes de plantas biofortificadas aumentaram progressivamente a percentagem de proteína conforme aumentou-se a concentração de Se, tanto em selenito como em selenato, para a maioria das amostras.

O interesse pelas proteínas do arroz vem aumentando, não apenas como suplemento alimentar, mas também para uma ampla gama de aplicações na indústria dos alimentos. As proteínas do arroz têm ainda recebido atenção devido ao seu alto valor nutritivo, que está relacionada com certas propriedades hipoalergénicas, conteúdo de aminoácidos equilibrado e boa digestibilidade (Ficchi *et al.*, 2003). Além disso, alguns estudos têm mostrado que certas proteínas do arroz exibem função hipocolesterolémica, anti-aterosclerótica e propriedades inibitórias particulares contra as células cancerosas, sugerindo que eles têm potencial como alimento funcional (Burris *et al.*, 2010).

Verificou-se que, nos dois anos de ensaio, os índices de proteínas melhoraram com a aplicação das concentrações de Se. Contudo, no 2º ano de ensaio, os índices foram maiores, e com elevada significância no processo de biofortificação. Note-se, contudo, que o nível de proteína mais elevado, e, por conseguinte, a maior quantidade de aminoácidos pode aumentar as reações de Maillard, gerando compostos castanhos, que contribuem para a coloração de superfície dos biscoitos (Manley, 2011). Outros autores encontraram efeitos semelhantes ao incorporar proteína isolada, ou concentrada, na formulação de *cookies* (Rababah *et al.*, 2006; Singh e Mohamed, 2007), e quando compararam diferentes farinhas com diferentes teores em proteínas (Mancebo *et al.*, 2015). Contudo, o escurecimento dos biscoitos também pode ter um efeito positivo, pois os biscoitos feitos a partir de farinhas de arroz têm uma cor mais clara face aos de farinha de trigo (Mancebo *et al.*, 2015). Deste modo, os elevados teores de proteína poderiam minimizar estas diferenças. Contudo, os autores Puncha-Arnon e Uttapap (2013)

concluíram que os teores elevados de proteína podem interferir na viscosidade da pasta da farinha de arroz submetida a tratamento de calor e humidade, pelo que, para determinadas formulações de produtos que visam maior viscosidade da pasta, terão maior interesse farinhas com teores reduzidos de proteína.

3.2.14. Parâmetros Colorimétricos

Os valores de L^* a^* b^* do arroz submetido a teores crescentes de Se, aplicado nas formas de selenito e selenato, são apresentados nas tabelas 3.51 e 3.52.

Na tabela 3.51, os valores de L^* não apresentam diferenças significativas nem ao nível das variedades / genótipos e nem ao nível das concentrações de selenito aplicado a nível foliar. Contudo, os valores mais elevados de L^* , que indicam maior reflectância de luz, detetaram-se na aplicação com 120 g Se ha^{-1} (exceto para a Albatros que possuía o valor de L^* mais elevado em condições controlo). Contudo, apesar de não existirem diferenças significativas, é possível verificar que os valores foram decrescendo à medida que aumentaram as concentrações de Se.

Quanto aos valores de a^* , observaram-se algumas diferenças significativas, nomeadamente, no OP1105 e OP1109, tendo as amostras cultivadas com 180 g Se ha^{-1} apresentado valores de a^* mais elevados, diferindo assim do controlo.

Equacionando o parâmetro b^* , observaram-se diferenças significativas apenas no OP1109, tendo ocorrido valores mais elevados com 180 g Se ha^{-1} . Segundo Jamin e Flores (1998), a variação de b^* entre as amostras podem ser atribuídas à quantidade de glúcidos e proteína. Mancebo *et al.* (2016), para aferir o efeito dos glúcidos e da proteína de arroz nos parâmetros reológicos e na qualidade de biscoitos sem glúten, verificaram que valores acrescidos de proteína aumentaram o valor de a^* e b^* e reduziram os valores de L^* . No presente trabalho verificou-se que o aumento da proteína foi concomitante com a redução da luminosidade nas farinhas, em valores absolutos.

Tabela 3.51. Determinação da cor dos grãos (farinha integral) pelo sistema CIELAB, através dos parâmetros de luminosidade (L*) e coordenadas de cromaticidade (a* e b) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenito - ITO) em 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios (n = 4) com letras (a, b) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

		Cor das Farinhas								
Bloco		Genótipo	0 g Se ha ⁻¹		120 g Se ha ⁻¹		180 g Se ha ⁻¹		300 g Se ha ⁻¹	
SL01 ATO	L*	Ariete	66,83	(a; r)	68,90	(a; r)	61,09	(a; r)	64,79	(a; r)
		Albatros	72,86	(a; r)	71,32	(a; r)	71,22	(a; r)	67,47	(a; r)
		OP1105	70,86	(a; r)	72,74	(a; r)	66,83	(a; r)	69,09	(a; r)
		OP1109	72,03	(a; r)	75,13	(a; r)	68,76	(a; r)	71,97	(a; r)
	a*	Ariete	3,74	(a; r)	4,01	(a; r)	4,08	(ab; r)	3,44	(a; r)
		Albatros	3,08	(a; r)	3,85	(a; r)	3,76	(b; r)	3,94	(a; r)
		OP1105	3,17	(a; s)	3,47	(a; rs)	4,26	(ab; r)	3,46	(a; rs)
		OP1109	3,09	(a; s)	3,35	(a; s)	4,77	(a; r)	3,24	(a; s)
	b*	Ariete	17,21	(a; r)	17,46	(a; r)	16,93	(a; r)	16,19	(a; r)
		Albatros	17,02	(a; r)	16,90	(ab; r)	16,69	(a; r)	15,00	(a; r)
		OP1105	15,91	(a; r)	15,00	(b; r)	16,69	(a; r)	14,77	(a; r)
		OP1109	16,23	(a; rs)	15,45	(ab; s)	18,72	(a; r)	15,76	(a; s)

Além dos glúcidos e das proteínas, que podem influenciar a cor das farinhas, Boliari (2012) também reportou que a cor da superfície dos grãos é diretamente influenciada pelo nível de Fe depositado sobre a superfície e/ou camada superior de células do endosperma. Assim, neste enquadramento é de realçar que, através da análise de microscopia eletrônica de varrimento, se verificou que todas as variedades / genótipos apresentaram valores mais elevados de Fe em condições controlo, o que poderá justificar a respectiva tendência para valores de b* mais elevados nessa condição. Murphy *et al.* (2008) também afirmou que o conteúdo mineral pode afetar a cor da farinha, dando uma cor mais escura aos produtos finais.

Tabela 3.52. Determinação da cor dos grãos (farinha integral) pelo sistema CIELAB, através dos parâmetros de luminosidade (L*) e coordenadas de cromaticidade (a* e b) em 4 genótipos de arroz submetidos à biofortificação de Se (selenato - ATO) em 4 tratamentos, cultivados em 1 bloco sem adubação de fundo (SL01). Valores médios (n = 4) com letras (a, b) iguais na coluna e letras (r, s) iguais na linha, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

		Cor das Farinhas								
Bloco		Genótipo	0 g Se ha ⁻¹		120 g Se ha ⁻¹		180 g Se ha ⁻¹		300 g Se ha ⁻¹	
SL01 ATO	L*	Ariete	75,07	(a; r)	70,58	(ab; r)	66,92	(a; r)	66,62	(a; r)
		Albatros	76,96	(a; r)	73,97	(a; r)	73,10	(a; r)	72,69	(a; r)
		OP1105	76,24	(a; r)	69,60	(ab; rs)	63,15	(a; s)	69,66	(a; rs)
		OP1109	76,38	(a; r)	63,15	(b; s)	70,34	(a; rs)	72,97	(a; r)
	a*	Ariete	2,04	(a; r)	2,08	(a; r)	2,95	(ab; r)	2,76	(a; r)
		Albatros	1,95	(a; r)	2,79	(a; r)	2,01	(b; r)	2,36	(a; r)
		OP1105	1,34	(a; s)	3,54	(a; r)	3,88	(a; r)	2,92	(a; rs)
		OP1109	1,86	(a; s)	3,88	(a; r)	3,86	(a; r)	3,28	(a; rs)
	b*	Ariete	16,34	(a; r)	18,07	(a; r)	19,64	(a; r)	19,40	(a; r)
		Albatros	17,08	(a; r)	19,09	(a; r)	20,35	(a; r)	18,79	(a; r)
		OP1105	16,89	(a; r)	15,65	(a; r)	16,60	(a; r)	16,38	(a; r)
		OP1109	17,49	(a; r)	16,60	(a; r)	16,84	(a; r)	15,98	(a; r)

A partir dos valores de luminosidade L^* (Tabela 3.52), é possível verificar que as amostras com aplicações de selenato possuíram valores mais elevados de L^* , ou seja, estavam mais próximas da cor branca, por oposição às aplicações com selenito. Verificou-se também que face ao 1º ano de ensaio, se produziram farinhas mais claras. No entanto concentrações muito elevadas de Se, na forma de selenato, produziram farinhas mais escuras, provavelmente devido à maior deposição de minerais. Reconhece-se que o conteúdo de cinzas e polifenóis são fatores críticos que afetam a brancura de farinhas de arroz, que é um importante índice de qualidade (Sakač *et al.*, 2011; Torbica *et al.*, 2012).

Ainda considerando os parâmetros qualitativos das farinhas, as coordenadas a^* e b^* de cromaticidade acompanharam a mesma tendência da luminosidade e tenderam para cores mais próximas da gama de cores claras, com alguma proximidade aos tons amarelados. Em geral, considera-se uma farinha branca aquela que possui valor de L^* superior a 93, de a^* próximo de zero (inferior a 0,5 ou negativo) e de b^* inferior a 8 (Ortolan, 2006).

CAPÍTULO IV

4. Síntese Analítica de Resultados

Ao biofortificarmos quatro variedades / genótipos de arroz, em dois ensaios e anos distintos de cultivo, utilizando no primeiro, concentrações de Se mais baixas, e no segundo concentrações elevadas, foi possível verificar as melhores condições para aplicação da biofortificação com Se, dentro do contexto experimental e das condições edafoclimáticas de cultivo (Ribatejo).

Ainda no primeiro ano, foram aplicadas adubações de fundo visando facilitar a biofortificação. Os resultados obtidos revelaram a reduzida influência desta (ao nível fotossintético), face às plantas que não receberam esta mesma biofortificação no solo. No segundo ano de ensaio, com aplicações foliares mais elevadas e sem adubação de fundo, verificou-se que a aplicação de selenato tinha algum impacto negativo na taxa de fotossíntese, que se conjugou com a menor acumulação de Se. Desta forma, o selenito (que parece promover a Pn em Ariete e Albatros) poderia ser preferencialmente aplicada.

No que se refere ao potencial de utilização dos vários genótipos, verificou-se que, o OP1105 mostrou impacto negativo na assimilação fotossintética em todas as concentrações aplicadas no segundo ano. Para o OP1109, tanto em concentrações baixas (primeiro ano de ensaio), quanto em concentrações elevadas (segundo ano de ensaio), os resultados revelaram que a aplicação de quaisquer das concentrações e formas é possível neste genótipo, uma vez que não se observaram impactos negativos na capacidade de produção de fotoassimilados.

Tendo em conta o impacto nos parâmetros fisiológicos apresentados, principalmente relativos à Pn , deve considerar-se que, os diferentes genótipos respondem de forma distinta às concentrações e formas de Se aplicado foliarmente. A Ariete respondeu melhor à aplicação de selenito em baixas concentrações, nomeadamente de 4 e 60 g Se ha⁻¹: a Albatros teve melhor desempenho nas aplicações de selenato na concentração de 30 g Se ha⁻¹, obtendo-se um estímulo da Pn . Por outro lado, a forma de aplicação em selenato em concentrações elevadas parece ter um impacto negativo na Pn nalgumas concentrações de Se (*i.e.*, Albatros, OP1105), apresentando apenas a vantagem de reduzir a gs e a perda de água pela cultura, o que não será relevante num cultivo em alagamento. No OP1105, a aplicação foliar de Se (mediante a aplicação de selenito) teve melhores resultados para a Pn na concentração de 20 g Se ha⁻¹. Contudo, em concentrações elevadas (selenito e selenato, em qualquer das concentrações) não melhora a Pn , gs ou a Tr , podendo mesmo ter um efeito negativo na capacidade de produção de fotoassimilados, pelo que não se afigura um genótipo particularmente promissor. O OP1109 mostrou, principalmente ao nível da Pn , uma clara insensibilidade à forma e dose de Se aplicado por pulverização foliar, pelo que poderá ser adequado (à semelhança de Ariete e Albatros) à biofortificação com Se, mesmo se para tal, houver necessidade de aplicar concentrações elevadas.

Relativamente ao PMG, de um modo geral, tanto no 1º ensaio como no 2º, constatou-se que as concentrações e as formas de Se (selenito e selenato) tiveram pouca influência sobre a produção dos grãos. Contudo, ocorreu um incremento de PMG nas concentrações mais elevadas de cada ano nos tratamentos (60 g e 300 g Se ha⁻¹, no 1º e 2º ano respetivamente). O genótipo OP1109 destacou-se com os valores mais elevados de PMG.

Os resultados dos teores de minerais nas folhas revelaram que, sob concentrações baixas de biofortificação, ou seja, até 60 g Se ha⁻¹ (primeiro ano de ensaio), os macro e os micronutrientes (Ca, K, Fe, Zn) não sofreram alterações substanciais, sendo que para a maioria dos tratamentos, os níveis se mantiveram estabilizados e com valores ótimos para as plantas de arroz. Por outro lado, as concentrações mais elevadas aplicadas no 2º ano de ensaio provocaram alterações nos teores dos respetivos elementos, sobretudo pelo aumento do número de aplicações. Os resultados mostraram que, com exceção do K, todos os outros elementos apresentaram níveis acrescidos dos seus teores, quando se aplicaram 3 pulverizações de Se, com teores que ultrapassaram a faixa ótima para Fe e Ca. Contudo, nas concentrações mais elevadas de Se, nomeadamente 180 e 300 g Se ha⁻¹, verificou-se a redução dos referidos elementos na primeira fase da biofortificação, quando as plantas haviam recebido duas pulverizações. Quanto aos teores de Se nas folhas, detetado apenas no 2º ensaio, verificou-se que ambas as formas (selenito e selenato) apresentaram aumento da acumulação de Se nas folhas. Esse efeito foi acentuado na presença de selenito, ocorrendo os valores mais elevados nas variedades Ariete e Albatros.

Seguindo o mesmo comportamento observado nas folhas, nos grãos também se verificou a superioridade da acumulação de selenito face ao selenato, tanto no 1º como no 2º ano de ensaio. No 1º ano registou-se um aumento do teor de Se de 0,034 para 2,285 mg kg⁻¹, na variedade Albatros sob a aplicação de selenito no bloco SL01. No 2º ano de ensaio, o aumento de Se foi concomitante com o aumento do teor total de cinzas em todas amostras. Tal como verificado na análise da parte aérea, o selenito promoveu uma maior acumulação de Se nos grãos, fato observado em todas as amostras, com acumulações nos grãos que ultrapassaram os 30 ppm no tratamento com 300 g Se ha⁻¹ (1ª fase – grãos em enchimento). Por conseguinte, na 2ª fase (grãos completamente maduros e descascados), verificou-se que os teores de Se sofrem redução, provavelmente porque parte do selénio translocado foi depositado na casca do grão. Embora a análise fotossintética não tenha revelado toxicidade para as plantas devido às elevadas concentrações de Se, verificou-se que a aplicação da 3ª pulverização na fase final do ciclo foi menos eficaz. Apesar das reduções de Se motivadas pelo processo de descasque dos grãos, os níveis deste elemento nos grãos mantiveram-se elevados. Contudo, a biofortificação só é viável se o aumento do teor Se não tiver influência negativa sobre a absorção de outros elementos essenciais. Além do Se, foram quantificados os teores de Ca, K e Zn nos grãos. Nos dois ensaios de campo, as aplicações de Se aumentaram os teores de Se no grão sem afetar substancialmente os macronutrientes. Para o Ca, os resultados revelaram reduções significativas em OP1109 no tratamento com 30 g Se ha⁻¹ (SL01 ITO) e aumentos significativos em Albatros com 60 g Se ha⁻¹ (SL01 ATO). Contudo, a nível geral os teores de Ca persistiram no intervalo

dos valores considerados usuais. Quanto aos teores de K nos grãos, tal como verificado nas folhas, sofreram redução em Ariete (SL01 ITO) com aplicações de 30 g Se ha⁻¹. Entretanto, verificou-se que os níveis de K foram incrementados face ao controlo. Com concentrações de Se mais elevadas, os níveis de K não foram alterados, mas por outro lado, com o aumento do número de aplicações, os teores de K sofreram reduções significativas em algumas das variedades / genótipos, tanto nas aplicações com selenito quanto com selenato. Quanto ao micronutriente Zn, os resultados revelaram que sob baixas concentrações de Se (60 g Se ha⁻¹), apenas Albatros (SL01 ITO) aumentou significativamente os teores de Zn. Sob concentrações mais elevadas de Se (180 e 300 g Se ha⁻¹) apenas Ariete apresentou níveis acrescidos de Zn. O número de aplicações não interferiu no teor de Zn.

Quanto à distribuição dos elementos minerais no grão com aplicação de baixas concentrações de Se (60 g Se ha⁻¹), observou-se a localização preferencial dos macronutrientes K e P na região do embrião, onde a variedade Ariete se destacou com maiores acumulações destes minerais. O Ca e o Mg tiveram uma distribuição uniforme em todas as partes do grão, e revelaram um comportamento similar entre as variedades / genótipos. No que diz respeito aos microelementos, o Zn apresentou maior acumulação nas regiões mais exteriores do grão. Sob condições biofortificadas com selenito, todas as variedades / genótipos apresentaram aumentos de Zn no embrião. Sob condições biofortificadas com selenato, somente o OP1105 apresentou aumentos na proporção de Zn. Uma menor proporção de Zn foi observado em OP1109, tanto com selenito quanto com selenato. O Fe estava melhor localizado no embrião, e apresentou uma distribuição equitativa nas diferentes variedades / genótipos. O Mn e o Cu apresentaram menores proporções dentre os microelementos, com distribuição semelhante nas diferentes partes analisadas das respectivas variedades / genótipos. Excetuando a OP1109 com aplicações de selenato, todas as outras variedades / genótipos apresentaram incrementos de Cu no embrião, nas duas formas de Se. A localização tecidual do Se foi obtida de forma uniforme por toda a extensão do grão, contudo, observou-se que este se localizava preferencialmente na região equatorial do grão, na maioria dos grãos analisados, tanto nos biofortificados com selenito quanto com selenato.

Os resultados dos elementos minerais dos grãos biofortificados com 300 g Se ha⁻¹ revelou que, para o K e o Ca, a percentagem foi um pouco mais alta no controlo. Com a predominância de K no embrião e no ápice do grão, ressalta-se que o processo de biofortificação promoveu uma redução substancial de K, e apenas a variedade Albatros sob condições de biofortificação com selenato se mostrou menos sensível à concentração de 300 g Se ha⁻¹. Albatros manteve os teores mais elevados de Ca sob elevada concentração de Se. Os resultados da localização tecidual do P nas diferentes partes do grão, mostrou distribuição uniforme e não afetação pela biofortificação com Se. O Mg possuiu um padrão de distribuição semelhante ao Ca, e parece ser pouco influenciado pela biofortificação aplicada ao nível foliar. O Mn, Zn e Cu, tiveram uma distribuição bastante uniforme em Ariete e Albatros, já OP1105 e OP1109 tiveram maior acumulação na região apical do grão.

Sob condições de biofortificação com selenato (300 g Se ha^{-1}), Ariete, OP1105 e OP119 apresentaram predominância de Fe na região apical, e em Albatros o Fe prevaleceu na região equatorial do grão. O Mn permaneceu uniformemente distribuído por todas as partes analisadas. Assim como, o Cu. Para o Fe, verificou-se que o selenito promoveu maior acumulação na região apical, em todas as variedades e genótipos, com quantidades mais elevadas na Ariete e Albatros. Relativamente ao Zn, o processo de biofortificação com 300 g Se ha^{-1} não promoveu alterações substanciais entre controle e os grãos biofortificados. Quanto à localização do Se, este elemento, assim como no 1º ensaio, apresentou uma distribuição uniforme por todo o grão. Contudo, nos genótipos OP1105 e OP1109, este elemento localizou-se preferencialmente na região apical e equatorial do grão, com menores proporções no embrião. A análise espectral dos grãos através da fluorescência de raio X, confirmou a dispersão dos macro e micronutrientes no grão, ficando evidente a deposição dos macro nas camadas mais exteriores e a deposição dos micro com tendência a acumularem-se nas camadas da aleurona em direção ao endosperma. O conhecimento dessas constituições elementares preferenciais dos diferentes tecidos de grãos torna possível projetar produtos alvo com uma constituição nutricional mais viável.

Considerando os parâmetros de qualidade nutricional que influenciam grandemente as propriedades físico-químicas e funcionais dos produtos do arroz, observou-se que as farinhas provenientes da biofortificação com baixas concentrações de Se apresentaram poucas alterações nos teores totais dos ácidos gordos totais (AGT), que refletem o teor de lípidos totais. Apenas Albatros (SL01 ITO e ATO) e OP1105 (SL01 ITO) apresentaram aumentos nos teores totais dos lípidos no tratamento com 60 g Se ha^{-1} . A Ariete e o OP1109, cultivadas no bloco SL02 ITO, apresentaram reduções significativas quando foram submetidos ao tratamento de 60 g Se ha^{-1} , atingindo assim, o valor mais baixo dos ácidos gordos totais. Os ácidos gordos mais abundantes foram o ácido oleico (C18:1) e o linoleico (C18:2). De entre os ácidos gordos insaturados, os ácidos oleico e linoleico são desejáveis em sementes de arroz por causa de seus efeitos benéficos para a saúde e ainda devido à menor propensão para a oxidação em comparação com ácido linolênico. Observou-se ainda que o processo de biofortificação provocou variações significativas nos teores dos ácidos gordos. Em comparação com o ácido oleico, o ácido linoleico (C18:2) foi mais afetado pela biofortificação, ou seja, a biofortificação de 60 g Se ha^{-1} induziu reduções nalgumas das variedades, nomeadamente em OP1109 (SL01 ITO), Ariete, Albatros, OP1109 (SL02 ITO). Por outro lado, verificaram-se incrementos dos teores de ácido oleico em OP1105 (SL01 e 02 ITO) e Albatros (SL01 ATO).

Sob condições de elevadas concentrações de Se (2º ano de ensaio), sob a forma de selenito, verificou-se que em todas as variedades / genótipos, o Se induziu o aumento no teor de lípidos, sendo este significativo a partir de 180 g Se ha^{-1} para Albatros e de 300 g Se ha^{-1} para Ariete. OP1105 alcançou o teor máximo no tratamento com 180 g Se ha^{-1} e sofreu uma redução com a aplicação de 300 g Se ha^{-1} . Sob a forma de selenato, observaram-se aumentos significativos em Ariete e Albatros, a partir de 180 g Se ha^{-1} . Em OP1105 e OP1109 não se observaram diferenças significativas entre o controle e as amostras biofortificadas.

O perfil dos ácidos gordos no segundo ano de ensaio também foi analisado, e constatou-se que o aumento das concentrações de Se na forma de selenito induziu o aumento de C16:0 em Albatros (180 e 300 g Se ha⁻¹), e em OP1105 (180 g Se ha⁻¹). Ainda, mediante a aplicação de selenato, o C16:0 aumentou significativamente na Ariete e na Albatros, a partir de 180 g Se ha⁻¹. O ácido esteárico (C18:0) foi o ácido gordo que sofreu menor variação em resposta às concentrações aplicadas. Relativamente ao ácido oleico, o selenito induziu aumentos significativos em Albatros e OP1105 a partir de 180 g Se ha⁻¹. Decorrente da aplicação de selenato, registaram-se alterações significativas do ácido oleico apenas na Ariete e na Albatros, com aumentos a partir de 180 g Se ha⁻¹. Relativamente ao ácido linoleico, nos tratamentos com selenito, observaram-se aumentos significativos na Ariete, Albatros e OP1105, sendo que neste último o máximo teor de C18:2 foi obtido com a aplicação de 180 g Se ha⁻¹. Sob condições de biofortificação com selenato, foram registados aumentos significativos de C18:2 apenas na Ariete e Albatros. Quanto ao ácido linolénico (C18:3), encontrado em menor proporção dentre os ácidos gordos identificados, apresentou comportamento semelhante ao ácido linoleico. Relativamente ao índice de insaturação (DBI), face ao aumento das concentrações de Se, apenas o genótipo OP1109 (com aplicação de selenito) aumentou significativamente, a partir de 180 g Se ha⁻¹.

O conteúdo de açúcares solúveis totais em grãos de arroz ocorre em pequenas quantidades. No entanto, pode afetar as reações de sabor e cor durante o cozimento ou ainda face a processamentos diversos de transformação. Verificou-se que, em comparação com o controlo, o tratamento com 60 g Se ha⁻¹ induziu um aumento no teor total de açúcares solúveis, nomeadamente, na variedade Albatros e no genótipo OP1109, que apresentaram aumentos significativos, com exceção do bloco SL02 ITO, onde o genótipo OP1109 mostrou uma redução dos teores relativamente ao controlo. Por outro lado, Ariete foi afetada negativamente, com reduções significativas na SL01 ITO, SL02 ITO e SL02 ATO. No entanto, apesar das reduções, a variedade Ariete obteve níveis elevados de açúcares solúveis, em comparação com os restantes genótipos. OP1105, cultivado no bloco SL02 ITO e ATO, apresentou aumentos significativos nos teores totais de açúcares solúveis quando submetido a aplicação de 60 g Se ha⁻¹. No entanto, no bloco SL01 ITO ou ATO, não se verificaram alterações para este genótipo. A sacarose apresentou o teor mais elevado (ca. 74% do total de açúcares solúveis), seguida da glucose (9,6%), rafinose (8,6%) e frutose (6,9%). No tratamento 60 g Se ha⁻¹, Albatros (SL02 ATO) apresentou os índices mais elevados de sacarose e a Albatros (SL02 ITO) obteve os valores mais baixos.

No 2º ano de ensaio, Ariete, Albatros e OP1109, apresentaram acréscimos significativos e progressivos de açúcares solúveis sob condições de biofortificação com concentrações de Se elevadas, a partir de 180 g Se ha⁻¹ (selenito). OP1105, por sua vez, não apresentou alterações com o aumento das concentrações de Se. Sob a aplicação de selenato, Ariete, OP1105 e OP1109 apresentaram aumentos significativos, sendo que em OP1105 esse aumento foi registado apenas na máxima concentração. Por outro lado, Albatros apresentou acumulação máxima com 180 g Se ha⁻¹, reduzindo no entanto acentuadamente com a concentração de 300

g Se ha⁻¹. Assim como aconteceu no 1º ano de ensaio, Albatros destacou-se com o índice mais elevado de sacarose nas aplicações de selenito.

Aferiu-se ainda o teor de proteína total dos grãos moídos, e verificou-se que o processo de biofortificação (até 60 g Se ha⁻¹) não promoveu alterações drásticas nos teores proteicos. Apesar das oscilações entre as diferentes concentrações de Se, os valores mantiveram-se adequados segundo a literatura entre 5 e 8%, destacando-se a OP1109 (SL01 ITO) sob condições controle e a OP1109 (SL02 ITO) no tratamento com 30 g Se ha⁻¹.

Ao contrário do que foi observado no 1º ano de ensaio, sob concentrações baixas de Se, no 2º ano verificou-se que os grãos resultantes de plantas biofortificadas aumentaram progressivamente a percentagem de proteína face ao aumento da concentração de Se, tanto em selenito quanto em selenato. Como no primeiro ano de ensaio, o genótipo OP1109 destacou-se com os valores mais elevados.

No que diz respeito aos efeitos das aplicações de Se na cor dos grãos, constatou-se que, sob baixas concentrações de Se, até 60 g Se ha⁻¹, não se registaram alterações substanciais nesse parâmetro. No 2º ano de ensaio, a coloração das farinhas apresentou-se mais clara. Contudo, concentrações muito elevadas de Se, na forma de selenato, tendem a produzir farinhas mais escuras, provavelmente devido a maior deposição de minerais. Como é já bem evidente, o conteúdo de cinzas e polifenóis são fatores críticos que afetam a brancura de farinhas de arroz, considerada um importante índice de qualidade.

CAPÍTULO V

5. Conclusão e Recomendações

As aplicações foliares com teores mais elevados de Se promoveram uma maior acumulação de Se no grão. Esta acumulação melhorou quando a forma de Se aplicado foi o selenito. Uma concentração considerável de Se pode ser obtida a partir 30 g Se ha⁻¹ até o máximo de 180 g Se ha⁻¹, e com apenas uma pulverização ao nível foliar na fase do espigamento das plantas. Os resultados sugerem que esse procedimento resulta num equilíbrio na absorção, na distribuição de todos os nutrientes e no desenvolvimento da planta, sem provocar sintomas de toxicidade.

Sob condições edafoclimáticas específicas, foi possível alcançar resultados satisfatórios nos dois ensaios realizados em dois anos distintos. No entanto a concentração de Se a ser utilizada, bem como a variedade / genótipo de eleição, parecem estar condicionadas pela área de cultivo e pela finalidade industrial pretendida. Ressalva-se que a biofortificação com Se nos tratamentos com concentrações baixas (30 a 60 g Se ha⁻¹) é fiável para aumentar o conteúdo de Se no grão de arroz, sem afetar negativamente os teores de P, Mg, Mn, Cu e Zn. Esta alternativa poderá ser aplicada em áreas de cultivo com maiores extensões, para aumentar a concentração de Se em grãos de arroz destinado a consumo direto ou para processamento de farinha.

Por outro lado, a biofortificação com Se em concentrações mais elevadas (a partir de 60 até 180 g Se ha⁻¹), considerando-se áreas de cultivo mais restritas, será a melhor alternativa para obter grãos com maior concentração de Se, que poderão ser submetidos ao processamento industrial (*i.e.*, moagem), e incorporar misturas de farinhas. O resultado traduzir-se-á assim, em farinhas biofortificadas com teores de Se seguros e eficazes, para suprir as necessidades específicas de bebés, crianças ou adultos.

Do ponto de vista da composição nutricional do grão, observaram-se alguns efeitos do processo de biofortificação, verificando-se um aumento do teor de ácidos gordos totais (mais expressivo no 2º ensaio), com prevalência dos ácidos gordos oleico e linoleico, mas ressalta-se que este resultado poderá influenciar na manutenção da qualidade do grão processado. Os açúcares totais apresentaram aumentos significativos na maioria dos tratamentos do 1º ensaio, e em todos os tratamentos do 2º ensaio. O teor proteico manteve-se dentro dos valores normais para o arroz, mas aumentou significativamente em todos as variedade / genótipos nas concentrações mais elevadas de Se, estes resultados podem influenciar nas características físicas e sensoriais dos produtos desenvolvido a partir da farinha de arroz biofortificado.

Há cada vez mais evidências da importância do Se na saúde humana. Contudo há um nível baixo de ingestão do mesmo, devido à sua escassez nos alimentos. O aumento do teor de Se em arroz representa uma abordagem nos sistemas alimentares que poderá contribuir para o aumento do consumo de Se pelas populações. A pouca importância dada ao Se na indústria alimentar representa um potencial nicho de mercado e uma oportunidade a ser explorada. A fim de verificar a eficácia da farinha biofortificada naturalmente em Se, nas várias concentrações de

Se utilizadas no processo de biofortificação, recomenda-se a realização de estudos para aferir a biodisponibilidade deste elemento no organismo humano, de modo a quantificar a percentagem do nutriente a ingerir que possa suprir os requisitos fisiológicos do organismo. Isso permitirá definir com precisão a concentração de Se a ser aplicado nas plantas.

Como sugestão para trabalhos futuros, recomenda-se também a análise da qualidade do arroz (composição do amido, textura e análise sensorial), e das propriedades reológicas da farinha de arroz, uma vez que essas informações poderão contribuir para delinear estratégias para o processamento e desenvolvimentos de novos produtos.

6. Referências Bibliográficas

- Abdul-Hamid, A., Raja Sulaiman, R. R., Osman, A., & Saari, N. (2007). Preliminary study of the chemical composition of rice milling fractions stabilized by microwave heating. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, pp. 627-637.
- Adachi, S., Tsuru, Y., Nito, N., Murata, K., Yamamoto, T., Ebitani, T., . . . Hirasawa, T. (2011). Identification and characterization of genomic regions on chromosomes 4 and 8 that control the rate of photosynthesis in rice leaves. *Journal of Experimental Botany*, 62, pp. 1927-1938.
- Ali, M. G., Naylor, R. E., & Matthews, S. (2006). Distinguishing the effects of genotype and seed physiological age on low temperature tolerance of rice (*Oryza sativa* L.). *Experimental Agriculture*, 42, pp. 337-349.
- Alloway, B. J. (2008). *Zinc in Soils and Crop Nutrition* (2 ed.). Belgium and Paris, France: IZA and IFA Brussels. p. 139.
- Almeida, A. S., Marques, P. (2013). A importância da cultura do arroz em Portugal e no Mundo. Seminário de Boas Práticas no Cultivo de Arroz por Alagamento, em Portugal. INIAV, Oeiras.
- Anjum, F. M., Pasha, I., Bugti, M. A. Butt, M. S. (2007). Mineral composition of different rice varieties and their milling fractions. *Pakistan Journal Agricultural Sciences*, 44, pp. 332-336.
- Arthur, J. R., & Beckett, G. J. (1994). New metabolic roles for selenium. *Nutrition Society*, 53, pp. 615-624.
- Arvy, M. (1993). Selenate and selenite uptake and translocation in bean plants (*Phaseolus vulgaris*). *Journal Experimental Botany*, 44, pp. 1083-1087.
- Arvy, M. P., Thiersault, M., & Doireau, P. (1995). Relationships between selenium, micronutrients, carbohydrates, and alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus* cells. *Journal. Plant Nutrition*, 18, pp. 1535-1546.
- Asagawa, M., Kusizaki, M., & Ishizuka, J. (1977). Distribution and behavior of selenium in Japanese grasslands (II). *Japanese Journal Soil Science. Plant Nutrition.*, 48, pp. 293-296.
- Asch, F. (1997). *Physiologische Faktoren der Salzresistenz bei Reis (Oryza Sativa L.)*. 197. Hamburg: University of Hamburg.
- Asnaashari, M., Farhoosh, R., & Sharif, A. (2014). Antioxidant activity of gallic acid and methyl gallate in triacylglycerols of Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion. *Food Chemistry*, 159, pp. 439-444.
- Ayers, R., & Westcot, D. W. (1985). *Water Quality for Agriculture*. 29, p. 174.
- Arunyanart, T., Charoenrein, S. (2008). Effect of sucrose on the freeze-thaw stability of rice starch gels: Correlation with microstructure and freezable water. *Carbohydrate Polymers*, 74, pp. 514-518.
- Azhakanandam, K., Power, J. B., & Lowe, K. C. (2000). Qualitative assessment of aromatic Indica rice *Oryza sativa* L. Proteins, lipids and starch in grain from somatic embryo- and seed-derived plants. *Journal Plant Physiology*, pp. 783-789.
- Bahrami, N., Yonekura, L., Linforth, R., Carvalho Dasilva, M., Hill, S., Penson, S., & Fisk, I. D. (2013). Comparison of ambient solvent extraction methods for the analysis of fatty acids

- in non-starch lipids of wheat and barley flour and maize and tapioca starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, pp. 415-423.
- Bashir, K., Ishimaru, Y., & K., N. N. (2012). Molecular mechanisms of zinc uptake and translocation in rice. *Plant Soil*, 361, pp. 189-201.
- Bashir, K., Takahashi, R., Akhtar, S., Ishimaru, Y., Nakanishi, H., & Nishizawa, N. K. (2013). The knockdown of OsVIT2 and MIT affects iron localization in rice seed. *Rice*, 20, p. 31.
- Bayer, C., & Mielniczuk, J. (1999). Dinâmica e função da matéria orgânica. Em G. A. Santos, & F. A. Camargo, *Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais* (pp. 9-26). Porto Alegre: Genesis.
- Behne, D., Kyriakopoulos, A., Kalcklösch, M., Weiss-Nowak, C., Pfeifer, H., & Gessner, H. (1997). Two new selenoproteins found in the prostatic glandular epithelium and the spermatid nuclei. *Biomedical and Environmental Sciences*, 10, pp. 340-345.
- Bisson, M., Gay, G., Guillard, D., Ghillebaert, F., & Tack, K. (2011). *Lé sélénium et ses composés*. Obtido em Julho de 2015, de <http://www.ineris.fr/substances/fr/substance/getDocument/3012>
- Bitterli, C., Bañuelos, G. S., & Schulin, R. (2010). Use of transfer factors to characterize uptake of selenium by plants. *Journal Geochemistry Explorer*, 107, pp. 206-216.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 37, pp. 911-917.
- Boldrin, P. F. (2011). Biofortificação Agronômica em arroz. Universidade Federal de Lavras - Minas Gerais. p. 63.
- Boldrin, P. F., Faquin, V., Ramos, S. J., Guilherme, L. R. G., Bastos, C. E. A., Carvalho, G. S., & Costa, E. T. de S. (2012). Selenato e selenito na produção e biofortificação agronômica com selênio em arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47, pp. 831-837.
- Boldrin, P. F., Faquin, V., Ramos, S. J., Boldrin, K. V., Avila, F. W., & Guilherme, L. R. (2013). O solo e aplicação foliar de selênio em biofortificação de arroz. *J. Food Composition Analysis*, 31, pp. 238-244.
- Boliani, E. (2012). Adubação e biofortificação: caracterização química e física do arroz (*Oryza sativa* L.). 117. Piracicaba: Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.
- Bouis, H. E., Chassy, B. M., & Ochanda, J. O. (2003). Genetically modified food crops and their contribution to human nutrition and food quality. *Trends Food Science Technology*, 14, pp. 191-209.
- Bouis, H. E., Graham, R. D., & Welch, R. M. (2000). The consultative group on international agricultural research (CGIAR) micronutrients project: Justification and objectives. Em F. a. Bulletin. 374-381.
- Bouis, H. E., Hotz, C., McClafferty, B., Meenakshi, J. V., & Pfeiffer, W. H. (2011). Biofortification: a new tool to reduce micronutrient malnutrition. *Food and Nutrition Bulletin*, 32, pp. 31-40.
- Bowler, C., Van Montago, M., & Inze, D. (1992). Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43, pp. 83-116.
- Broadley, M. R., Alcock, J., Alford, J., Cartwright, P., Foot, I., Fairweather-Tait, S. J., . . . Young, S. (2010). Selenium biofortification of high-yielding winter wheat (*Triticum aestivum* L.) by liquid or granular Se fertilization. *Plant Soil*, 332, pp. 5-18.

- Broadley, M. R., Bowen, H. C., Cotterill, H. L., Hammond, J. P., Meacham, M. C., Mead, A., & White, P. J. (2004). Phylogenetic variation in the shoot mineral concentration of angiosperms. *Journal Experimental Botany*, 55, pp. 321-336.
- Broadley, M. R., White, P., Bryson, R. J., Meacham, M. C., Bowen, H. C., Johnson, S. E., . . . Harriman, M. M. (2006). Biofortification of UK food crops with selenium. *Proceedings of the Nutrition Society*, 65, pp. 169-181.
- Broadley, M. R., Willey, N. J., Wilkins, J., Baker, A. J., Mead, A., & White, P. J. (2001). Phylogenetic variation in heavy metal accumulation in angiosperms. *New Phytologist*, 152, pp. 9-27.
- Brodribb, T. J., & Holbrook, N. M. (2003). Stomatal Closure during Leaf Dehydration, Correlation with Other Leaf Physiological Traits. *Plant Physiology*, 132, pp. 2166-2173.
- Burks, A. W., & Helm, R. M. (1994). Hypoallergenicity of rice protein. *American Association of Cereal Chemists*.
- Burris, R. L., Xie, C. H., Thampi, P., Wu, X., Melnyk, S. B., & Nagarajan, S. (2010). Dietary rice protein isolate attenuates atherosclerosis in apoE-deficient mice by upregulating antioxidant enzymes. *Atherosclerosis*, 212, pp. 107-115.
- Cakmak, I. (2000). Possible roles of zink in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *New Phytologist*, 146, pp. 185-205.
- Cakmak, I. (2005). The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal Plant Nutrition Soil Science*, 168, pp. 521-530.
- Cakmak, I. (2008). Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification? *Plant and Soil*, 302, pp. 1-17.
- Cakmak, I., Pfeiffer, W. F., & McClafferty, B. (2010). Biofortification of durum wheat with zinc and iron. *Cereal Chemistry*, 87, pp. 10-20.
- Camelo, A. L., & Gomez, P. A. (2004). Comparison of color indexes for tomato ripening. *Horticultura Brasileira*, 22, pp. 534-537.
- Camire, M. E., Camire, A., Krumbur, K. (1990). Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29, pp. 35-57.
- Campos-Bowers, M. H., & Wittenmyer, B. F. (2007). Biofortification in China: practice and policy. *Health Research Policy and Systems*, 5, p. 10.
- Carey, A.-M., Lombi, E., Donner, E., de Jonge, M. D., Punshon, T., Jackson, B. P., & Meharg, A. A. (2012). A review of recent developments in the speciation and location of arsenic and selenium in rice grain. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 402, pp. 3275-3286.
- Carol, L. (1990). Functional properties and applications of stabilized rice bran in baked products. *Journal of Food Technology*, p. 74.
- Carvalho, S., & Vasconcelos, M. (2013). Producing more with less: strategies and novel technologies for plant-based food biofortification. *Food Research International*, 54, pp. 961-971.
- Castelo, P. M. (2009). Alternativas tecnológicas para produção de arroz. 61. Portugal: Universidade Técnica de Lisboa.
- Centritto, M.; Lauteri, M.; Monteverdi, M. C. & Serraj, R.(2009). Leaf gas exchange, carbon isotope discrimination, and grain yield in contrasting rice genotypes subjected to water deficits during the reproductive stage. *Journal of Experimental Botany*, 60, pp. 2325-2339.

- Champagne, E. T. (2004). *Rice: chemistry and technology* (Vol. 3). Published Hardback.
- Chassaing, H., Chéry, C. C., Bordin, G., & Rodriguez, A. R. (2002). Development of new analytical methods for selenium speciation in selenium-enriched yeast material. *Journal of Chromatography*, 976, p. 409.
- Chaudhary, M., Garg, A. K., & Mittal, G. K. (2010). Effect of organic selenium supplementation on growth, Se uptake and nutrient utilization in guinea pigs. *Biological Trace Elemental Research*, 133, pp. 217-226.
- Chávez-Murillo, C. E., Méndez-Montevalvo, G., Wang, Y.-J., & Bello-Pérez, L. A. (2012). Starch of diverse Mexican rice cultivars: physicochemical, structural, and nutritional features. 64, pp. 745-756.
- Chen, L., Yang, F., Xu, J., Yun, H., Hu, Q., Zhang, Y., & Pan, G. (2002). Determination of selenium concentration of rice in China and effect of fertilization of selenite and selenate on Se content of rice. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 50, pp. 5128-5130.
- Chilimba, A. D., Young, S. D., Black, C. R., Meacham, M. C., Lammel, J., & Broadley, M. R. (2012). Agronomic biofortification of maize with selenium (Se) in Malawi. *Field Crop Research*, 125, pp. 118-128.
- Chugh, V., & Dhaliwal, H. (Chugh, V and Dhaliwal, H.S. Chapter 9 - Biofortification of Staple Crops, In *Agricultural Sustainability*, Academic Press, San Diego, 2013, Pages 177-196 de 2013). Chapter 9 - Biofortification of Staple Crops. Em *In Agricultural Sustainability* (pp. 177-196). San Diego: Academic Press.
- Cochard, H., Coll, G., Le Roux, X., & Ameglio, T. (2002). Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal closure during water stress in walnut. *Plant Physiology*, 128, pp. 282-290.
- Concenço, G., Ferreira, E. A., Silva, A. A., Ferreira, F. A., Viana, R. G., D'Antonino, L., . . . Fialho, C. M. (2007). Uso da água em biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) em condição de competição. *Planta Daninha*, 25, pp. 449-455.
- Concenço, G., Sant'Anna, S. J., Schwanke, A. M., Galon, L., Ferreira, E. A., Aspiazú, I., . . . Ferreira, F. A. (2009). Uso da água por plantas híbridas ou convencionais de arroz irrigado. *Planta Daninha*, 27, pp. 447-453.
- Cordeiro, A. C., Suhre, E., Medeiros, R., & Vilarinho, A. A. (2010). Sistemas de cultivo e manejo de água na produção de diferentes genótipos de arroz em várzea, no estado de Roraima. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 40, pp. 362-369.
- Curtin, D., Hanson, R., Lindley, T. N., & Butler, R. C. (2006). Selenium concentration in wheat (*Triticum aestivum*) grain as influenced by method, rate, and timing of sodium selenate application. *Journal Crop Horticultural*, 34, pp. 329-339.
- D'Ilio, S., Alessandrelli, M., Cresti, R., Forte, G., & Caroli, S. (2002). Arsenic content of various types of rice as determined by plasma-based techniques. *Microchemical Journal*, 73, pp. 195-201.
- Daniels, L. A. (1996). Selenium metabolism and bioavailability. *Biological Trace Elemental Research*, 54, pp. 185-199.
- Davies, D. P., & O'Hare, B. (2004). Weaning: A worry as old as time. *Current Paediatrics*, 14, pp. 83-96.
- Demingé, C., Sabboh, H., Révész, C., & Meneton, P. (2004). Protective effects of high dietary potassium: nutritional and metabolic aspects. *Journal of Nutrition*, 134, pp. 2903-2906.
- Deobald, H. J. (1972). Rice flours. Em D. F. Houston, *Rice: chemistry and technology* (pp. 264-269). Saint paul: american association of cereal chemistry (AACC).

- Department of Health. (1991). Dietary reference values for food energy and nutrients for the United Kingdom. Report on Health and Social Subjects. *Her Majesty's Stationery Office*, 41.
- Dillahunty, A. L., Siebenmorgen, T. J., & Mauromoustakos, A. (2001). Effect of temperature, exposure duration, and moisture content on color and viscosity of rice. *Cereal Chemistry*, 78, pp. 559-563.
- Ding, L., Li, Y. R., Li, Y., Shen, Q. R., & Guo, S. W. (2014). Effects of drought stress on photosynthesis and water status of rice leaves. *Chinese Journal Rice Science*, 28, pp. 65-70.
- Djanaguiraman, M., Prasad, P. V., & Seppänen, M. (2010). Selenium protects sorghum leaves from oxidative damage under high temperature stress by enhancing antioxidant defense system. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, pp. 999-1007.
- Drahoňovský, J., Száková, J., Mestek, O., Tremlová, J., Kaňa, A., Najmanová, J., & Tlustoš, P. (2016). Selenium uptake, transformation and inter-element interactions by selected wildlife plant species after foliar selenate application. *Environmental and Experimental Botany*, 125, pp. 12-19.
- Duan, M. J., Sun, Z. Z., Shu, L.P., Tan, Y.N., Yu, D., Sun, X. W., Liu, R.F., Li, Y. J., Gong, S.Y., & Yuan, D. Y. (2013) Genetic analysis of an elite super-hybrid rice parent using high-density SNP markers. *Rice*, 6, 21
- Duarte, R. F., Prom-u-thai, C., Amaral, D. C., Faquin, V., Guilherme, L. R. G., Reis, A. R., Alves, E. Determination of zinc in rice grains using DTZ staining and ImageJ software. *Journal of Cereal Science*, 68, pp. 53-58.
- Eich-Greatorex S., Sogn T.A., Øgaard A.F., Aasen I. (2007): Plant availability of inorganic and organic selenium fertiliser as influenced by soil organic matter content and pH. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 79, pp. 221-231.
- Ekanayake, L. J., Thavarajah, D., Vial, E., Schatz, B., McGee, R., & Thavarajah, P. (2015). Selenium fertilization on lentil (*Lens culinaris* Medikus) grain yield, seed selenium concentration, and antioxidant activity. *Field Crop Research*, 177, pp. 9-14.
- El-Bayoumy, K. (2001). The protective role of selenium on genetic damage and on cancer. *Mutation Research*, 475, pp. 123-139.
- Elrashidi, M. A., Adriano, D. C., Workman, S. M., & Lindsay, W. L. (1987). Chemical equilibria of selenium in soils: a theoretical development. *Soil Science*, 144, pp. 141-152.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. (2005). *Arvore do Conhecimentos – Irrigação e drenagem. Arroz*. Obtido em Outubro de 2015, de <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fojwocdg02wyiv80bhgp5pox11yjx.html>.
- Eurola, M. H., Ekholm, P. I., Ylinen, M. E., Koivistoinen, P. E., Varo, P. T. (1991). Selenium in Finnish foods after beginning the use of selenate supplemented fertilizers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 56, pp. 57-70.
- Eurola, M., Alfthan, G., Aro, G., Ekholm, P., Hietaniemi, V., Heikki, R., . . . vemalainen, E.-R. (2003). Results of the finnish selenium monitoring program 2000-2001. *MTT Agrifood Research Finland. Agrifood Research Reports* (p. 42). Jokioinen.
- Fagan, E. B., Dourado Neto, D., Vivian, R., Franco, R. B., Yeda, M. P., Massignam, L. F., . . . Martins, K. V. (2010). Efeito da aplicação de piraclostrobina na taxa fotossintética, respiração, atividade da enzima nitrato redutase e produtividade de grãos. *Bragantia*, pp. 771-777.

- Fageria, N. K. (1992). *Maximizing crop yields*. New York: Marcel Dekker.
- Fageria, N. K. (1998). Otimização da eficiência nutricional na produção das culturas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 2, pp. 6-16.
- Fageria, N. K., & Santos, A. B. (2003). Manejo do potássio. Em N. K. Fageria, L. F. Stone, & A. B. Santos, *Manejo da fertilidade do solo para o arroz irrigado*. (pp. 121-142). Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão.
- Fageria, N. K., Baligar, V. C., & Jones, C. A. (1997). *Growth and mineral nutrition of field crops*. New York: M. Dekker.
- Fageria, N. K., Ferreira, E., Prabhu, A. S., Filho, M. P. B., Filippi, M. C. (1995). Seja doutor do seu arroz. *Potafos - Arquivo do Agrônomo*, 9, pp. 1-22.
- Fageria, N., & Souza, N. (1995). Resposta das culturas de arroz e feijão em sucessão a adubação em solo de cerrado. 30, pp. 359-368.
- Fairulnizal, M. M., Norhayati, M. K., Zaiton, A., Norliza, A. H., Rusidah, S., Aswir, A. R., . . . Mohd Zainuldin, T. (2015). Nutrient content in selected commercial rice in Malaysia: An update of Malaysian food composition database. *International Food Research Journal*, 22, pp. 768-776.
- Fairweather-Tait, S. J., Bao, Y., Broadley, M. R., Collings, R., Ford, D., & Hesketh, J. E. (2011). Selenium in human health and disease. *Antioxidants Redox Signal*, 14, pp. 1337-1383.
- Fang, Y., Wang, L., Xin, Z., Zhao, L., An, X., & Hu, Q. (2008). Effect of Foliar Application of Zinc, Selenium, and Iron Fertilizers on Nutrients Concentration and Yield of Rice Grain in Chin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, pp. 2079-2084.
- FAO. (2009). *High-level expert forum - How to feed the world in 2050*. Rome, Italy.
- FAOSTAT. (2013). *FAOSTAT*. Obtido de Food and Agricultural commodities production: <http://faostat.fao.org/>
- FAOSTAT. (2015). *FAOSTAT*. Obtido de Food and Agriculture Organization - Statistics division: <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E%202015>
- FAOSTAT. (2016). *Food and Agriculture Organization*. Obtido de <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>
- Fargasova, A., Pastierova, J., & Svetkova, K. (2006). Effect of Se-metal pair combinations (Cd, Zn, Cu, Pb) on photosynthetic pigments production and metal accumulation in *Synapis alba* L. seedlings. *Plant Soil Environment*, 52, pp. 8-15.
- Feeney, K. A., Heard, P. J., Zhao, F. J., & Shewry, P. R. (2003). Determination of the distribution of sulphur in wheat starchy endosperm cells using secondary ion mass spectrometry (SIMS) combined with isotope enhancement. *Journal of Cereal Science*, 37, pp. 311-318.
- Feng, R., Wei, C., & Tu, S. (2013). The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environment Experimental Botany*, 87, pp. 58-68.
- Ferreira, A. R. (2014). Influência da variedade do arroz no seu comportamento em cozedura e processamento industrial . 223. Porto: Universidade do Porto - Portugal .
- FIB - Food Ingredients Brazil. (2009). Panificação: os ingredientes enriquecedores. *Revista-FI*, 10, pp. 22-27.
- Figueiredo, N. M. (2011). Dinâmica do Azoto em Campis Alagados para produção de Arroz, em Salvaterra de Magos. 60. Portugal: Universidade Técnica de Lisboa.
- Filek, M., Zembala, M., Hartikainen, H., Miszalski, Z., Kornas, A., Wietecha-Postuszny, R., & Walas, S. (2009). Changes in wheat plastid membrane properties induced by cadmium

- and selenium in presence/absence of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 96, pp. 19-28.
- Filek, M., Zembala, M., Kornaś, A., Walas, S., Mrowiec, H., & H., H. (2010). The uptake and translocation of macro- and microelements in rape and wheat seedlings as affected by selenium supply level. *Plant Soil*, 336, pp. 303-312.
- Fiocchi, A., Travaini, M., D'Auria, E., Banderali, G., Bernardo, L., & Riva, E. (2003). Tolerance to a rice hydrolysate formula in children allergic to cow's milk and soy. *Clinical and Experimental Allergy*. 33, pp. 1576-1580.
- Fridovich, I. (1995). Superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem*, 64, pp. 97-112.
- Friedman, M. (1996). Nutritional value of proteins from different food sources. A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, pp. 6-29.
- Futakuchi, K., Watanabe, H., & Jones, M. P. (2008). Relationship of grain Protein Content to Other Grain Quality Traits in Interspecific *Oryza sativa* L. x *Oryza glaberrima* Steud. Progenies. *Agriculture Journal*, 3, pp. 50-57.
- Galinha, C., Freitas, M., Pacheco, A. M., Coutinho, J., Maças, B., & Almeida, A. S. (2013). Selenium supplementation of Portuguese wheat cultivars through foliar treatment in actual field conditions. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 297, pp. 227-231.
- García-Bañuelos, M. L., Hermosillo-Cereceres, M. A., & Sánchez, E. (2011). The importance of selenium biofortification in food crops. *Current Nutrition Food Science*, 7, pp. 181-190.
- Geng, J. M., Yu, A., & Tang, S. M. (2010). Screening enriched-selenium hybrid rice cultivars of Hainan Province. *Chin. Agricultural Science Bulletin*, 26, pp. 376-380.
- Gill, S. S., Tajrishi, M., Madan, M., & Tuteja, N. (2013). A DESD-box helicase functions in salinity stress tolerance by improving photosynthesis and antioxidant machinery in rice (*Oryza sativa* L. cv. PB1). *Plant Molecular Biology*, 82, pp. 1-22.
- Girling, C. A. (1984). Selenium in agriculture and the environment. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 11, pp. 37-65.
- Graham, R. D., Knez, M., & Welch, R. M. (2012). How much nutritional iron deficiency in humans globally is due to an underlying zinc deficiency? *Advances in Agronomy*, 115, pp. 1-40.
- Graham, R., Senadhira, D., Beebe, S., Iglesias, C., & Monasterio, I. (1999). Breeding for micronutrient density in edible portions of staple food crops: conventional approaches. *Field Crops Research*, 60, pp. 57-80.
- Gregório, G. B., Dharmawansa, S., Htut, H., & Graham, R. D. (2000). Breeding for trace mineral density in rice. *Food and Nutrition Bulletin*, 21, pp. 382-386.
- Guerinot, M. L. (2007). It's elementary: Enhancing Fe³ reduction improves rice yields. *Dartmouth College, Hanover*, p. 2.
- Guerrero, B., Llugany, M., Palacios, O., & Valiente, M. (2014). Dual effects of different selenium species on wheat. *Plant Physiology and Biochemistry*, 83, pp. 300-307.
- Gujral, H. S., & Rosell, C. M. (2004). Improvement of the breadmaking quality of rice flour by glucose oxidase. *Food Research International*, 37, pp. 75-81.
- Guo, L., Lang, M., Chandrasekar, R., & Liu, G. (2014) Advances in the Study of Genetic Enrichment of Selenium in Plants. *Cloning Transgeneses*, 3, pp 121.

- Gupta, U. (1995). Effects of selcote(r) ultra and sodium selenate (laboratory versus commercial grade) on selenium concentration in feed crops. *Journal of Plant Nutrition*, 18, pp. 1629–1636.
- Habermann, G., Ellsworth, P. V., Cazoto, J. L., Feistler, A. M., Silva, L., Donatti, D. A., & Machado, S. R. (2011). Leaf paraheliotropism in *Styrax camporum* confers increased light use efficiency and advantageous photosynthetic responses rather than photoprotection. *Environmental and Experimental Botany*, 71, pp. 10-17.
- Habibi, G. (2013). Effect of drought stress and selenium spraying on photosynthesis and antioxidant activity of spring barley. *Acta Agriculturae Slovenica*, pp. 31-39.
- Hansen, T. H., Laursen, K. H., Persson, D. P., Pedas, P., Husted, S., & Schjoerring, J. K. (2009). Micro-scaled high-throughput digestion of plant tissue samples for multi-elemental analysis. *Plant Methods*, 5, p. 12.
- Hansen, T. H., Lombi, E., Fitzgerald, M., Laursen, K. H., Frydenvang, J., Husted, S., . . . Schjoerring, J. K. (2012). Losses of essential mineral nutrients by polishing of rice differ among genotypes due to contrasting grain hardness and mineral distributio. *Journal Cereal Science*, 56, pp. 307-315.
- Hart, D. J., Fairweather-Tait, S. J., Broadley, M. R., Dickinson, S. J., Foot, I., Knott, P., . . . Hurst, R. (2011). Selenium concentration and speciation in biofortified flour and bread: Retention of selenium during grain biofortification, processing and production of Se-enriched food. *Food Chemistry*, 126, pp. 1771-1778.
- Hartikainen, H. (2005). Biogeochemistry of selenium and its impact of food chain quality and human health. *Journal of Trace Elements Medicine and Biology*, 18, pp. 309-318.
- Hartikainen, H., Ekholm, P., Piironen, V., Xue, T., Koivu, T., & Yli-Halla, M. (1997). Quality of the ryegrass and lettuce yields as affected by selenium fertilization. *Agr. Food Science*, 6, pp. 381-387.
- Hartikainen, H., Xue, T. L., & Piironen, V. (2000). Selenium as an antioxidant and pro-oxidant in ryegrass. *Plant Soil*, 225, pp. 193-200.
- Hawkesford, M. J., & Zhao, F. J. (2007). Strategies for increasing the selenium content of wheat. *Journal Cereal Science*, 46, pp. 282-292.
- Hawrylak-Nowak, B., Matraszek, R., & Pogorzelec, M. (2015). The dual effects of two inorganic selenium forms on the growth, selected physiological parameters and macronutrients accumulation in cucumber plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37-41, pp. 1-13.
- He, F. J., & MacGregor, G. A. (2008). Beneficial effects of potassium on human health. *Physiology Plant*, 133, pp. 725-735.
- Hirschi, K. D. (2009). Nutrient biofortification of food crops. *Annual Review Nutrition*, 29, 401-421.
- Hladun, K. R., Parker, D. R., Tran, K. D., & Trumble, T. J. (2013). Effects of selenium accumulation on phytotoxicity, herbivory, and pollination ecology in radish (*Raphanus sativus* L.). *Environmental Pollution*, 172, pp. 70-75.
- Hu, J., Zhao, Q., Cheng, X., Selomulya, C., Bai, C., Zhu, X., & Xiong, H. (2014). Antioxidant activities of Se-SPI produced from soybean as accumulation and biotransformation reactor of natural selenium. *Food Chemistry*, 146, pp. 531-537.
- Hu, Q., Chen, L., Xu, J., Zhang, Y., & Pan, G. (2002). Determination of selenium concentration in rice and the effect of foliar application of Se-enriched fertiliser or sodium selenite on the selenium content of rice. *Journal Science Food and Agriculture*, 82, pp. 869-872.
- IFA . (2000). O Uso de Fertilizantes Minerais e o Meio Ambiente. *International Fertilizer Industry Association*, p. 63.

- INE. (Setembro de 2015). *Instituto Nacional de Estatística*. Obtido de <https://www.ine.pt>
- Itani, T., Tamaki, M., Arai, E., & Horino, T. S. (2002). Distribution of amylose, nitrogen, and minerals in rice kernels with various character. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*, pp. 5326-5332.
- Iwai, T., Takahashi, M., Oda, K., Terada, Y., & Yoshida, K. T. (2012). Dynamic Changes in the Distribution of Minerals in Relation to Phytic Acid Accumulation during Rice Seed Development. *Plant Physiology*, *160*, pp. 2007-2014.
- Galhano C., Rocha F. & Gomes C. (1999). Geostatistical analysis of the influence of textural, mineralogical and geochemical parameters on the geotechnical behaviour of the 'Argilas de Aveiro' Formation (Portugal). *Clay Minerals* *34*, pp. 109-116.
- Jaimez, R. E., Rada, F., García-Núñez, C., & Azócar. (2005). Seasonal variations in leaf gas exchange of plantain cv. 'Hartón' (Musa AAB) under different soil water conditions in a humid tropical region. *Scientia Horticulturae*, *104*, pp. 79-89.
- Jamin, F. F., & Flores, R. R. (1998). Effect of additional separation and grinding on the chemical and physical properties of selected corn dry-milled streams. *Cereal Chemistry*, *75*, pp. 166-170.
- Ji, L. L., Stratman, F. W., & Lardy, H. A. (1998). Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle: influences of selenium deficiency, chronic training, and acute exercise. *Arch. Biochemical and Biophysical*, *263*, p. 150.
- Johnson, C., Ge, X., Green, K., & Liu, X. (2000). Selenium distribution in the local environment of selected villages of the Keshan disease belt. *People's Republic of China. Applied Geochemistry*, *15*, pp. 385-401.
- Ju, Z., Hettiarachchy, N., & Rath, N. (2001). Extraction, denaturation and hydrophobic properties of rice flour proteins. *Journal of Food Science*, *66*, pp. 229-232.
- Juliano, B. (1993). Grain structure, composition and consumers' criteria for quality. Em B. O. Juliano, *Rice in human nutrition*. (p. 162). Rome: FAO.
- Juliano, B.O., Bechtel, D.B. (1985). The Rice Grain and Its Gross Composition. In Rice Chemistry and Technology, 2nd ed.; Juliano, B.O., Ed.; *American Association of Cereal Chemists*: Eagan, MN, USA, pp. 17-57.
- Kabata-Pendias, A. (2011). *Trace elements in soils and plants* (Vol. 4). New York: CRC Press.
- Kadan, R. S., Champagne, E. T., Ziegler, J. G., & Richard, O. A. (1997). Amylose and protein contents of rice cultivars as related to texture of rice-based fries. *Journal Food Science*, *62*, pp. 701-703.
- Kadan, R. S., Robinson, M. G., Thibodeux, D., & Jr., P. A. (2001). Texture and other physicochemical properties of whole rice bread. *Journal Food Science*, *66*, pp. 940-944.
- Kahakachchi, C., Boakye, H. T., Uden, P. C., & Tyson, J. F. (2004). Chromatographic speciation of anionic and neutral selenium compounds in Se-accumulating Brassica juncea (Indian mustard) and in selenized yeast. *Journal Chromatography A*, pp. 303-312.
- Kanemura, T. H. (2005). Analysis of genetic variability in yield-related traits of rice using global core collection II. Leaf photosynthetic rate and associated factors. *Japanese Journal Crop Science*, *74*, pp. 238-239.
- Kapolna, E., Hillestrom, P. R., Laursen, K. H., Husted, S., & Larsen, E. H. (2009). Effect of foliar application of selenium on its uptake and speciation in carrot. *Food Chemistry*, *115*, pp. 1357-1363.

- Kapolna, E., Laursen, K. H., Husted, S., & H., L. E. (2012). Bio-fortification and isotopic labelling of Se metabolites in onions and carrots following foliar application of Se and ⁷⁷Se. *Food Chemistry*, 133, pp. 650-657.
- Kaur, M., Kaur, N., Kaur, M., & Sandhu, K. S. (2015). Some properties of rice grains, flour and starches: A comparison of organic and conventional modes of farming. *Food Science and Technology*, 61, 152-157.
- Kaur, S., & Nayyar, H. (2015). Selenium fertilization to salt-stressed mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) plants reduces sodium uptake, improves reproductive function, pod set and seed yield. *Scientia Horticulturae*, 197, pp. 304-317.
- Kawakami, J., Iwama, K., & Jitsuyama, Y. (2006). Soil water stress and the growth and yield of potato plants grown from microtubers and conventional seed tubers. *Field Crops Research*, 162, pp. 903- 91.
- Kennedy, G., & Burlingame, B. (2003). Analysis of food composition data on rice from a plant genetic resources perspective. *Food Chemistry*, 80, pp. 589-596.
- Kennedy, G., Nantel, G., & Shetty, P. (2003). The scourge of "hidden hunger". Global dimensions of micronutrient deficiencies. *Food Nutrition. Agric.*, 32, pp. 8-16.
- Keskinen, R. (2012). Selenium fertilization: plant uptake and residuals in soil. *MTT Science20*, p. 45.
- Kieliszek, M., & Blazejak, S. (2013). Review Selenium: Significance, and outlook for supplementation. *A Nutrition*, 29, pp. 713-718.
- Kim, J. M., Song, J. Y. & Shin, M. (2010). Physicochemical properties of high amylose rice starches purified from Korean cultivars. *Starch/Starke*, 62, 262-268.
- King, J. (2001). Effect of Reproduction on the Bioavailability of Calcium, Zinc and Selenium. *Journal of Nutrition*, 131, pp. 1355-1358.
- Kiremidjian-Schumacher, L., Roy, M., Wishe, H. I., Cohen, M., & Stotzky, G. (1992). Regulation of cellular immune responses by selenium. *Biological Trace Element Research*, 33, pp. 23-35.
- Kitta, K., Ebihara, M., Lizuka, T., Yoshikawa, R., Isshiki, K., & Kawamoto, S. (2005). Variations in lipid content and fatty acid composition of major non-glutinous rice cultivars in Japan. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, pp. 269-278.
- Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., & Binkoski, A. E. (2004). Polyunsaturated fatty acids and cardiovascular health. *Nutrition Reviews*, 62, pp. 414-426.
- Krishnan, S., Ebenezer, G. A., & Dayanandan, P. (2001). Histochemical localization of storage components in caryopsis of rice (*Oryza sativa* L.). *Current Science*, 80, pp. 567–571.
- Kumar, B. S., & Priyadarsini, K. I. (2014). Selenium nutrition: How important is it? *Biomedicine Preventive Nutrition*, 4, pp. 333-341.
- Kuznetsov, V. V., Kholodova, V. P., Kuznetsov, V. V., & Yagodin, B. A. (2003). Selenium regulates the water status of plants exposed to drought. *Doklady Biological Sciences*, 390, pp. 266-268.
- Ladygin, V. (2004). The effect of root hypoxia and iron deficiency on the photosynthesis, biochemical composition, and structure of pea chloroplasts. *Russian Journal Plant Physiology*, 51, pp. 35-48.
- Lamberts, L., Bie, E. D., Greet, E., Vandeputte, W. S., Veraverbeke, V., Man, W., & Delcour, J. A. (2007). Effect of milling on colour and nutritional properties of rice. *Food Chemistry*, 100, pp. 1496-1503.

- Lamberts, L., Rombouts, I., Brijs, K., Gebruers, K., & Delcour, J. A. (2008). Impact of parboiling conditions on Maillard precursors and indicators in long-grain rice cultivars. *Food Chemistry*, 110, pp. 916-922.
- Landberg, T., & Greger, M. (1994). Cadmium tolerance in salix. *Biol Plant*, 361, pp. 280-281.
- Lanning, S., & Siebenmorgen, T. (2013). Effects of preharvest nighttime air temperatures on whiteness of head rice. *Cereal Chemistry Journal*, (90), pp. 218-222.
- Laspina, N. V., Groppa, M. D., Tomaro, M. L., & Benavides, M. P. (2005). Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. *Plant Science*, 169, pp. 323-330.
- Lauchli, A. (1993). Selenium in plants: uptake, functions, and environmental toxicity. *Botanica Acta*, 106, pp. 455-468.
- Lee, T., Reich, P., & Bolstad, P. (2005). Acclimation of leaf respiration to temperature is rapid and related to specific leaf area, soluble sugars and leaf nitrogen across three temperate deciduous tree species. *Functional Ecology*, 19, p. 640-647.
- Li, H. F., McGrath, S. P., & Zhao, F. J. (2008). Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *New Phytologist*, 178, pp. 92-102.
- Li, Y., Liu, K., & Chen, F. (2016). Effect of selenium enrichment on the quality of germinated brown rice during storage. *Food Chemistry*, 207, pp. 20-26.
- Liang, J. F., Han, B. Z., Han, L. Z., Nout, M. J., & Hamer, R. J. (2007). Iron, zinc and phytic acid content of selected rice varieties from China. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, pp. 504-510.
- Liang, J., Li, Z., Tsuji, K., Nakano, K., Nout, M. J., & Hamer, R. J. (2008). Milling characteristics and distribution of phytic acid and zinc in long-, medium- and short-grain rice. *Journal Cereal Science*, 48, pp. 83-91.
- Lidon, F. C., Barreiro, M. G., & Ramalho, J. C. (2004). Manganese accumulation in rice: implications for photosynthetic functioning. *Journal Plant Physiology* 161, pp. 1235-1244.
- Linus Pauling Institute (2016). Obtido em Janeiro de 2015, de <http://lpi.oregonstate.edu/es/mic/minerales/selenio>.
- Litov, R. E., & Combs, G. F. (1991). Selenium in pediatric nutrition. *Pediatrics*, 87, pp. 339-351.
- Liu, K., & Gu, Z. (2008). Selenium accumulation in different brown rice cultivars and its distribution in fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, pp. 695-700.
- Liu, K., Cao, X., Bai, Q., Wen, H., & Gu, Z. (2009). Relationships between physical properties of brown rice and degree of milling and loss of selenium. *Journal of Food Engineering*, 94, pp. 69-74.
- Liu, Q., Wang, D. J., Jiang, X. J., & Cao, Z. H. (2004). Effects of the interactions between selenium and phosphorus on the growth and selenium accumulation in rice (*Oryza sativa*). *Environ Geochem Health*, 26, pp. 325-330.
- Lockitch, G., Jacobson, B., Quigley, G., P., D., & Pendray, M. (1989). Selenium deficiency in low birth weight neonates: an unrecognized problem. *Journal of Pediatrics*, 114, pp. 865-870.
- Lombi, E., Scheckel, K. G., Pallon, J., Carey, A. M., & Zhu, Y. G. (2009). Speciation and distribution of arsenic and localization of nutrients in rice grains. *New Phytologist*, 184, pp. 193-201.
- Longchamp, M., Angeli, N., & Castrec-Rouelle, M. (2013). Selenium uptake in *Zea mays* supplied with selenate or selenite under hydroponic conditions. *Plant Soil*, 362, pp. 107-117.

- Longchamp, M., Angeli, N., & Castrec-Rouelle, M. (2016). Effects on the accumulation of calcium, magnesium, iron, manganese, copper and zinc of adding the two inorganic forms of selenium to solution cultures of *Zea mays*. *Plant Physiology and Biochemistry*, *98*, pp. 128-137.
- Longchamp, M., Castrec-Rouelle, M., Biron, P., & Bariac, T. (2015). Variations in the accumulation, localization and rate of metabolization of selenium in mature *Zea mays* plants supplied with selenite or selenate. *Food Chemistry*, *182*, pp. 128-135.
- Lorençoni, R. (2013). Caracterização fisiológica de diferentes genótipos de arroz de terras altas. Piracicaba-SP: Universidade de São Paulo.
- Lu, L., Tian, S., Liao, H., Zhang, J., Yang, X., Labavitch, J. M., & Chen, W. (2013). Analysis of Metal Element Distributions in Rice (*Oryza sativa* L.) Seeds and Relocation during Germination Based on X-Ray Fluorescence Imaging of Zn, Fe, K, Ca, and Mn. *Plos One*, *8*, p. e57360.
- Lu, S., Chen, L. N., & Lii, C. Y. (1997). Correlations between the fine structure, physicochemical properties, and retrogradation of amylopectins from Taiwan rice varieties. *Cereal Chemistry*, *74*, pp. 34-39.
- Lucca, P., Poletti, S., & Sautter, C. (2006). Genetic engineering approaches to enrich rice with iron and vitamin A. *Physiologiae Plantarum*, *126*, pp. 291-303.
- Lusosem. (2014). *Catálogo do Arroz*. Obtido em Setembro de 2015, de http://www.lusosem.pt/mediaRep/lusosem/files/Arroz/Catalogo_Arroz_2014.pdf
- Lyons, G. H., Genc, Y., Soole, K., Stangoulis, J. C., Liu, F., & Graham, R. D. (2009). Selenium increases seed production in Brassica. *Plant Soil*, *318*, pp. 73-80.
- Lyons, G. H., Genc, Y., Stangoulis, J. C., Palmer, L. T., & Graham, R. D. (2005 a). Selenium distribution in wheat grain, and the effect of postharvest processing on wheat selenium content. *Biological Trace Element Research*, *103*, pp. 155-168.
- Lyons, G. H., Lewis, J., Lorimer, M. F., Holloway, R. E., Brace, D. M., Graham, R. D., & Stangoulis, J. C. (2004). High-selenium wheat agronomic biofortification strategies to improve nutrition. *Food Agricultural Environment*, *2*, pp. 171-178.
- Lyons, G. H., Stangoulis, J. C., & Graham, R. D. (2005 b). Tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) to high soil and solution selenium levels. *Plant Soil*, *270*, pp. 179-188.
- Ma, C. C., Gao, Y. B., Guo, H. Y., & Wang, J. L. (2004). Photosynthesis, transpiration and water use efficiency of *Caragana microphylla*, *C. intermedia* and *C. korshinskii*. *Photosynthetica*, *42*, pp. 65-70.
- Ma, G., Jin, Y., Li, Y., Zhai, F., Kok, F. J., Jacobsen, E., & Yang, X. (2008). Iron and zinc deficiencies in China: what is a feasible and cost-effective strategy? *Public Health Nutrition*, *11*, pp. 632-638.
- Machado, E. C. (1994). Trocas gasosas e condutância estomática em três espécies de gramíneas. *Bragantia*, *53*, pp. 142-149.
- Machado, E. C. (1996). Trocas gasosas e relações hídricas em dois cultivares de arroz sequeiro, submetidos á deficiência hídrica, em diferentes fases do crescimento vegetativo. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, *8*, pp. 139-147.
- Malavolta, E., Vitti, G. C., & Oliveira, S. A. (1997). Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. p. 319.
- Malik, J., Goel, S., Kaur, N., Sharma, S., Singh, I., & Nayyar, H. (2012). Selenium antagonises the toxic effects of arsenic on mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) plants by restricting

- its uptake and enhancing the antioxidative and detoxification mechanisms. *Environmental and Experimental Botany*, 77, pp. 242-248.
- Mazliak, P. (1983). Plant membrane lipids: changes and alterations during aging and senescence. In: L. Morris (ed.), *Post-harvest Physiology and Crop Preservation. Nato Advanced Study Institutes Series, Plenum Press*, pp. 123-140.
- Mancebo, C. M., Picón, J., & Gómez, M. (2015). Effect of flour properties on the quality characteristics of gluten free sugar-snap cookies. *Food Science and Technology*, 64, pp. 264-269.
- Mancebo, C., Rodriguez, P., & Gomez, M. (2016). Assessing rice flour-starch- protein mixtures to produce gluten free sugar-snap cookies. *Food Science and Technology*, pp. 127-132.
- Manley, D. (2011). *Manley's Technology of Biscuits, Crackers and Cookies* (4 ed.). Boca Raton: Woodhead Publishing Ltd.
- Marchezan, E., Osmar Santos dos, S., Luis Antonio de, A., & Posser, R. S. (2001). Adubação foliar com micronutrientes em arroz irrigado, em área sistematizada. *Ciência Rural*, 31, pp. 941-945.
- Marco, C., & Rosell, C. . (2008). Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads. *European Food Research and Technology*. 227, pp. 1438-1447.
- Marschner, H. (1995). *Mineral nutrition of higher plants*. London: Academic Press.
- Masscheleyn, P. H., Delaune, R. D., & Patrick Jr., W. H. (1990). Transformations of selenium as affected by sediment oxidation-reduction potential and pH. *Environmental Science and Technology*, 24, pp. 91-96.
- Masuda, H., Aung, M. S., & Nishizawa, N. K. (2013). Iron biofortification of rice using different transgenic approaches. *Rice*, 6, p. 40.
- Matsui, T., Namuco, O. S., Ziska, L. H., & Horie, T. (1997). Effects of high temperature and CO2 concentration on spikelet sterility in indica rice. *Field Crops Research*, 51, pp. 213-219.
- Matsuo, T., Kumazawa, K., Ishii, R., Ishihara, K., & Hirata, H. (1995). Science of rice plant. *Physiology: Food and Agriculture Policy Research Center*, 2.
- Mayer, J. E., Pfeifer, W. H., & Beyer, P. (2008). Biofortified crops to alleviate micronutrient malnutrition. *Current Opinion Plant Biology*, 11, pp. 166-179.
- Mccue, N. (1997). Clean labels with rice. *Prepared Foods.*, 166, p. 57.
- McLaughlin, S. B., & Wimmer, R. (1999). Calcium physiology and terrestrial ecosystem processes. *New Phytologist*, 142, pp. 373-417.
- Medlicott, A. P., & Thompson, A. K. (1985). Analysis of sugars and organic acids in ripening of mango fruit (*Mangifera indica* L. var Keitt) by high-performance liquid chromatography. *Journal Science Food and Agriculture*, 36, pp. 561-566.
- Meenakshi, J. V., Johnson, N. L., Manyong, V. M., D. H., Javelosa, J., Yanggen, D. R., . . . Meng, E. (2010). How cost-effective is biofortification in combating micronutrient malnutrition? An ex ante assessment. *World Development*, 38, pp. 64-75.
- Meharg, A. A., Lombi, E., Williams, P. N., Scheckel, K. G., & Feldmann, J. (2008). Speciation and localization of arsenic in white and brown rice grain. *Environmental Science and Technology*, 42, pp. 1051-1057.
- Melo, R., Gellein, K., Evje, L., & Syversen, T. (2008). Minerals and trace elements in commercial infant food. *Food and Chemical Toxicology*, 46, pp. 3339-3342.

- Meng, F., Wei, Y., & Yang, X. (2005). Iron content and bioavailability in rice. *Journal Trace Elements Medicine Biology*, 18, pp. 333-338.
- Metcalfe, L. D., Schemitz, A. A., Pelka & J. R (1966) Rapid preparation of fattyacid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry* 38, pp. 514-515
- Mohan, B., Malleshi, N., & Koseki, T. (2010). Physicochemical characteristics and non-starch polysaccharide contents of Indica and Japonica brown rice and their malts. *LWT-Food Science and Technology*, 43, pp. 784-791.
- Molnárová, M., & Fargasová, A. (2009). Se (IV) phytotoxicity for monocotyledonae cereals (*Hordeum vulgare* L., *Triticum aestivum* L.) and dicotyledonae crops (*Sinapis alba* L., *Brassica napus* L.). *Journal Hazard. Mater*, 172, pp. 854-861.
- Monks, J. L., Vanier, N. L., Casaril, J., Berto, R. M., Oliveira, M. d., Gomes, C. P., . . . Elias, M. C. (2013). Effects of milling on proximate composition, folic acid, fatty acids and technological properties of rice. *Journal of Food Composition and Analysis*, 30, pp. 73-79.
- Monte, C. M., & Giugliani, E. R. (2004). Recommendations for the complementary feeding of the breastfed child. *Journal of Pediatrics*, 80, pp. 131-141.
- Moore, K. L., Schröder, M., Lombi, E., Zhao, F. J., McGrath, S. P., Hawkesford, M. J., . . . Grovenor, C. R. (2010). NanoSIMS analysis of arsenic and selenium in cereal grain. *New Phytology*, 185, pp. 434-445.
- Murphy, K. M., Reeves, P. G., & Jones, S. S. (2008). Relationship between yield and mineral nutrient concentrations in historical and modern spring wheat cultivars *Euphytica*. 163, pp. 381-390.
- Nakamaru, Y. M., & Altansuvd, J. (2014). Speciation and bioavailability of selenium and antimony in non-flooded and wetland soils: A review. *Chemosphere*, 111, pp. 366-371.
- Nasser, V. G. (2015). Biofortificação da Cultura da batata com selênio. 26. Minas Gerais: Universidade Federal de Viçosa.
- National Health and Medical Research Council. (2005). Nutrient Reference Values for Australia and New Zealand Including Recommended Dietary Intakes. *Commonwealth of Australia*, p. 316.
- Navarro-Alarcon, M., & Cabrera-Vique, C. (2008). Selenium in food and the human body: a review. *Science Total Environment*, 400, pp. 115-141.
- Navarro-Alarcon, M., & López-Martínez, C. (2000). Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. *Science Total Environment*, 249, pp. 347-371.
- Nawaz, F., Ahmad, R., Ashraf, M. Y., Waraich, E. A., & Khan, S. Z. (2015 b). Effect of selenium foliar spray on physiological and biochemical processes and chemical constituents of wheat under drought stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 113, pp. 191-200.
- Nawaz, F., Ashraf, M. Y., Ahmad, R., Waraich, E. A., Shabbir, R. N., & Bukhari, M. A. (2015 a). Supplemental selenium improves wheat grain yield and quality through alterations in biochemical processes under normal and water deficit conditions. *Food Chemistry*, 175, pp. 350-357.
- Neal, R. H., Sposito, G., Holtzclaw, K. M., & Traina, S. J. (1987). Selenite adsorption on alluvial soils: II. Solution composition effects. *Soil Science Society of America Journal*, 51, pp. 1165-1169.
- Nestel, P., Bouis, H. E., Meenakshi, J. V., & Pfeiffer, W. (2006). Biofortification of staple food crops. *Journal of Nutrition*, 136, pp. 1064-1067.

- Nollet, M. L. (2000). *Handbook of water analysis*. New York (USA): Marcel Dekker, Inc.
- NP 1996. (2000). Cereais e leguminosas. Determinação do teor em azoto e cálculo do teor em proteína bruta. Método de Kjeldhal.
- Ntanos, D. A., & Koutroubas, S. D. (2002). Dry matter and N accumulation and translocation for Indica and Japonica rice under Mediterranean conditions. *Field Crops Research*, 74, pp. 93-101.
- Nubé, M., & Voortman, R. L. (2006). *Simultaneously addressing micronutrient deficiencies in soils, crops, animal and human nutrition: opportunities for higher yields and better health*. Centre for World Studies, Amsterdam: Staff Working Paper.
- Oko, A. O., Ubi, B. E., Efisue, A. A., & Dambaba, N. (2012). Comparative Analysis of the Chemical Nutrient Composition of Selected Local and Newly Introduced Rice Varieties. *International Journal of Agriculture and Forestry*, 2, pp. 16-23.
- Oparka, K. J., & Gates, P. (1984). Sink anatomy in relation to solute movement in rice (*Oryza sativa* L.): a summary of findings. *Plant Growth*, 2, pp. 297-307.
- Ortiz, R., Trethowan, R. M., Ortiz Ferrara, G., Iwanaga, M., Dodds, J. H., Crouch, J. H., . . . Braun, H. J. (2007). High yield potential, shuttle breeding and a new international wheat improvement strategy. *Euphytica*, 157, pp. 365-384.
- Ortolan, F. (2006). Genótipos de trigo do Paraná – Safra 2004: Caracterização e fatores relacionados à alteração de cor de farinha. 140. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria.
- Ozturk, L., Yazici, M. A., Yucel, C., Torun, C. C., Bagci, A., Ozkan, H., . . . Sayers, Z. I. (2006). Concentration and localization of zinc during seed development and germination in wheat. *Physiology. Plant*, 128, pp. 144-152.
- Pedrero, Z., & Madrid, Y. (2009). Novel approaches for selenium speciation in foodstuffs and biological specimens: A review. *Analytica Chimica Acta*, 634, pp. 135-152.
- Pedrero, Z., Madrid, Y., & Cámara, C. (2006). Selenium species bioaccessibility in enriched radish (*Raphanus sativus*): a potential dietary source of Selenium. *Journal Agriculture Food Chemistry* 54, pp. 2412-2417.
- Pedrero, Z., Madrid, Y., Hartikainen, H., & Camara, C. (2008). Protective effect of selenium in Broccoli (*Brassica oleracea*) plants subjected to cadmium exposure. *Journal Agriculture Food*, 56, pp. 266-271.
- Percival, G. C., & Fraser, G. A. (2001). Measurement of the salinity and freezing tolerance of *Crataegus* genotypes using chlorophyll fluorescence. *Journal Arboriculture*, 27, pp. 233-245.
- Pérez-Corona, M. T., Sanchez-Martinez, M., Valderrama, M. J., Rodriguez, M. E., Camara, C., Madrid, Y. (2011). Selenium biotransformation by *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces bayanus* during white wine manufacture: laboratory-scale experiments. *Food Chemistry*, 124, pp. 1050-1055.
- Pfeiffer, W. H., & McClafferty, B. (2007). HarvestPlus: breeding crops for better nutrition. *Crop Science*, 47, pp. 88-105.
- Pincioli, M., A., A., Vidal, M. C., Añón, E., & Martínez, N. (2009). Comparison between protein functional properties of two rice cultivars. *LWT - Food Science and Technology*, 42, pp. 1605-1610.
- Pinstrup-Andersen, P., Pandya-Lorch, R., & Rosegrant, M. W. (1999). *World Food Prospects: Critical Issues For the Early Twenty-First Century*.

- Pinto, A. (Novembro de 2015). *O arroz*. Obtido de <http://www.agronegocios.eu/noticias/o-arroz>
- Poblaciones, M. J., Rodrigo, S., Santamaría, O., Chen, Y., & McGrath, S. (2014). Agronomic selenium biofortification in *Triticum durum* under Mediterranean conditions: From grain to cooked pasta. *Food Chemistry*, *146*, pp. 378-384.
- Poggi, V., Arcioni, A., Filippini, P., & Pifferi, P. G. (2000). Foliar application of selenite and selenate to potato (*Solanum tuberosum*): effect of a ligand agent on selenium content of tubers. *Journal Agriculture Food Chemistry*, *48*, pp. 4749–4751.
- Polanco, I., Molina, M., Pietro, G., S., C., & Lama, R. (1995.). Dieta y enfermedad celíaca. *Alimentaria*, *33*, pp. 91-93.
- Põldma, P., Tõnutare, T., Viitak, A., Luik, A., & Moor, U. (2011). Effect of selenium treatment on mineral nutrition, bulb size, and antioxidant properties of garlic (*Allium sativum* L.). *Journal Agricultural and Food Chemistry*, *59*, pp. 5498-5503.
- Pomeranz, Y. (1992). Effect of drying on rice quality. *Encyclopedia of Food Science and Technology*, *1*, p. 35.
- PortFIR – Plataforma Portuguesa de Informação Alimentar (2016). Obtido em outubro de 2016 de: <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/AlimentNutricao/AplicacoesOnline/TabelaAlimentos/Paginas/PortFIR.aspx>
- Puncha-Arnon, S., Uttapap, D. (2013). Rice starch vs. rice flour: Differences in their properties when modified by heat–moisture treatment. *Carbohydrate Polymers*, *91*, pp. 85-91.
- Prado, R. M., Romualdo, L. M., & Rozane, D. E. (2008). Aplicação de zinco em sementes de sorgo cv BRS 304: efeitos na nutrição e no crescimento inicial. *Acta Scientiarum Agronomy*, *30*, pp. 471-478.
- Prasad, A. S. (2012). Discovery of human zinc deficiency: 50 years later. *Journal Trace Elements Medicine Biology*, pp. 66-69.
- Probart, C. K., Bird, P. J., & Parker, K. (1993). Diet and Athletic Performance. *Medicine and Clinical Journal of North America*, *77*, pp. 757-772.
- Prochnow, L. I., Alcarde, J. C., & Chien, S. H. (2004). Eficiência agrônômica dos fosfatos totalmente acidulados. Em T. Yamada, & S. R. Abdalla, *Fósforo na agricultura brasileira*. (pp. 605-663). Piracicaba: Potafos.
- Proietti, P., Nasini, L., Buono, D. D., D'Amato, R., Tedeschini, E., & Businelli, D. (2013). Selenium protects olive (*Olea europaea* L.) from drought stress. *Scientia Horticulturae*, *164*, pp. 165-171.
- Qaim, M., Stein, A., & Meenakshi, J. V. (2007). Economics of biofortification. *Agricultural Economics*, *37*, pp. 119-133.
- Rababah, T. M., Al-Mhasneh, M. A., & Ereifej, K. I. (2006). Effect of chickpea, broad bean and isolated soya protein addition on the physiochemical and sensory properties of biscuits. *Journal of Food Science*, *71*, pp. 438-442.
- Ramalho, J. C., Rodrigues, A. P., Semedo, J. N., Pais, I. P., & Martins, L. D. (2013). Sustained Photosynthetic Performance of *Coffea* spp. Under Long-Term Enhanced [CO₂]. *PLoS ONE* *8*, e82712.
- Ramos, S. J., Faquin, V., Guilherme, L. R., Castro, E. M., Avila, F. W., Carvalho, G. S., . . . Oliveira, C. (2010). Selenium biofortification and antioxidant activity in lettuce plants fed with selenate and selenite. *Plant Soil and Environment*, *56*, pp. 584-588.
- Rayman, M. P. (2000). The importance of selenium to human health. *Lancet*, *356*, pp. 233–241.

- Rayman, M. P. (2002). The argument for increasing selenium intake. *Proceedings of the Nutrition Society*, 61, pp. 203-215.
- Rayman, M. P. (2008). Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. *British Journal of Nutrition* 100, pp. 254-268.
- Reilly, C. (1996). Biological role of selenium. *Selenium in food and health*, pp. 25-85.
- Renko, K., Werner, M., Renner-Muller, I., Cooper, T., Yeung, C. H., Hollenbach, B., . . . Schweizer, U. (2008). Hepatic selenoprotein P (SePP) expression restores selenium transport and prevents infertility and motor-incoordination in Sepp-knockout mice. *Biochemical Journal*, 409, pp. 741-749.
- Roman Viñas, B., Ribas Barba, L., Ngo, J., Gurinovic, M., Novakovic, R., Cavelaars, A., . . . Serra Majem, L. (2011). Projected prevalence of inadequate nutrient intakes in Europe. *Annals Nutrition and Metabolism*, 59, pp. 84-95.
- Römheld, V., Kirkby, E. A. (2010). Research on potassium in agriculture: needs and prospects. *Plant Soil*, 335, pp. 155-180.
- Roy, P., Orikasa, T., Okadome, H., Nakamura, N., & Shiina, T. (2011). Processing Conditions, Rice Properties, Health and Environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8, pp. 1957–1976.
- Saenchai, C., Prom-u-thai, C., Jamjod, S., Dell, B., & Rerkasem, B. (2012). Genotypic variation in milling depression of iron and zinc concentration in rice grain. *Plant Soil*, 361, pp. 271-278.
- Sahrawat, K. L. (2004). Iron toxicity in wetland rice and the role of other nutrients. *Journal Plant Nutrition*, 27, pp. 1471-1504.
- Saidi, I., Chtourou, Y., & Djebali, W. (2014). Selenium alleviates cadmium toxicity by preventing oxidative stress in sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings. *Journal of Physiology*. 85-91.
- Sakač, M., Torbica, A., Sedej, I., & Hadnađev, M. (2011). Influence of breadmaking on antioxidant capacity of gluten free breads based on rice and buckwheat flours. *Food Research International*, 44, pp. 2806-2813.
- Saltzman, A., Birol, E., Howarth, E., Bouisa, B. E., Moura, F. F., & Pfeiffer, W. H. (2013). Biofortification: progress toward a more nourishing future. *Global Food Security*, pp. 2:9-17.
- Sanes, F. S., Castilhos, R. M., Scivittaro, W. B., Vahl, L. C., & Morais, J. R. (2013). Morfologia de raízes e cinética de absorção de potássio em genótipos de arroz irrigado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 37, pp. 688-697.
- Schlenker, E. D., & Williams, S. R. (2003). *Essential of nutrition and diet therapy*. Elsevier (Mosby).
- Scotti-Campos, P., Smedeo, J. N., Pais, I. P., Oliveira, M., Passarinho, J. & Ramalho, J. C. (2014). Heat tolerance evaluation of Portuguese old bread wheat varieties. *Emirates Journal. Food Agriculture* 26. Special Issue 'Wheat Landraces'. pp. 170-179.
- Sellapan, K., Datta, K., Parkhi, S. K., & Datta, S. K. (2009). Rice caryopsis structure in relation to distribution of micronutrients (iron, zinc, β -carotene) of rice cultivars including transgenic indica rice. *Plant Science*, 177, pp. 557-562.
- Shao, Y. F., Jin, L., Zhang, G., Lu, Y., Shen, Y., & Bao, J. S. (2011). Association mapping of grain color, phenolic content, flavonoid content and antioxidant capacity in dehulled rice. *Theoretical and Applied Genetics*, pp. 1005-1016.

- Shao, Y., & Bao, J. (2015). Polyphenols in whole rice grain: Genetic diversity and health benefits. *Food Chemistry*, 180, pp. 86-97.
- Shewfelt, R. L., Thai, C. N., & Davis, I. W. (1998). Prediction of changes in color of tomatoes during ripening at different constant temperatures. *Journal Food and Science*, 53, pp. 1433-1437.
- Shih, F., & Daigle, K. (2000). Preparation and characterization of rice protein isolates. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77, pp. 885-889.
- Simões, M. M. (2008). Métodos Cromatográficos, volumétricos e potenciométricos para análise química quantitativa de água subterrânea e sua aplicação no aquífero cenozoico da Bacia do Baixo Tejo, Portugal. *Geociências*, 27, pp. 161-169.
- Simões, M. M. (1998). Contribuição para o conhecimento hidrogeológico do cenozóico na bacia do baixo tejo. 1, 310. Lisboa: Universidade nova de Lisboa. .
- Silva, C. L. (2014). Avaliação da qualidade de uma coleção de germoplasma de arroz. 143. *Instituto Politécnico de Santarém*.
- Silva, M. L. de S., Vitti, G. C., & Trevizam, A. R. (2007). Concentração de Metais Pesados em Grãos de plantas cultivadas em solo de com diferentes níveis de contaminação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42, 527-535.
- Singh, M., & Mohamed, A. (2007). Influence of gluten–soy protein blends on the quality of reduced carbohydrates cookies. *Food Science and Technology*, 40, pp. 353-360.
- Singh, N., Kaur, L., Sandhu, K. S., Kaur, J., & Nishinari, K. (2006). Relationships between physicochemical, morphological, thermal, rheological properties of rice starches, *Food Hydrocolloids*. 20, pp. 532-542.
- Slavin, J. L., & Lampe, J. W. (1992). Health benefits of Rice bran in human nutrition. *Cereal Foods World*, 37, pp. 760-763.
- Smeekens, S. (2000). Sugar-induced signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51, pp. 49-81.
- Smyth, D. A., & Henry, E. P. (1989). Sugar content and activity of sucrose metabolism enzymes in milled rice grain. *Plant Physiology*, 89, pp. 893-896.
- Sneddon, A. (2012). Selenium nutrition and its impact on health. *Rowett Institute of Nutrition and Health*, p. 6.
- Sors, T. G., Ellis, D. R., & Salt, D. E. (2005). Selenium uptake, translocation assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynthesis Research*, 86, pp. 373-389.
- Souza, D., Sbardelotto, A. F., Ziegler, D. R., Marczak, L. D., & Tessaro, I. C. (2016). Characterization of rice starch and protein obtained by a fast alkaline extraction method. *Food Chemistry*, 191, pp. 36-44.
- Souza, G. A., Carvalho, J. G., Rutzke, M., Albrecht, J. C., Guilherme, L. R. G., & Li, L. (2013). Evaluation of germplasm effect on Fe, Zn and Se content in wheat seedlings. *Plant Science*, 210, pp 206-213.
- Souza, G. A., Hart, J. J., Carvalho, J. G., Rutzke, A. M., Albrecht, J. C., Guilherme, L. R., . . . Li, L. (2014). Genotypic variation of zinc and selenium concentration in grains of Brazilian wheat lines. *Plant Science*, 224, pp. 27-35.
- Souza, G., Ribeiro, R., Sato, A., & Oliveira, M. (2008). Diurnal and seasonal carbon balance of four tropical tree species differing in successional status. *Brazilian Journal of Biology*, 68, p. 781-793.

- Souza, M. P., Pilon-Smits, E. A., Mel Lytle, C., Hwang, S., Tai, J., Honma, T. S., . . . Terry, N. (1998). Rate-Limiting steps in selenium assimilation and volatilization by Indian Mustard. *Plant Physiology*, *117*, pp. 1487-1494.
- Spósito, M., Bassanezi, R., & Amorim, L. (2004). Resistance to citrus black spot by the analyses of disease progress curves. *Fitopatologia Brasileira*, *29*, pp. 532-537.
- Stein, A. J. (2014). The poor, malnutrition, biofortification, and biotechnology. Em R. Herring, *The Oxford of Food, Politics and Society* (pp. 1-26). New York: Oxford University Press.
- Stein, A. J., Nestel, P., Meenakshi, J. V., Qaim, M., Sachdev, H. P., & Bhutta, Z. A. (2007). Plant breeding to control zinc deficiency in India: how cost-effective is biofortification? *Public Health Nutrition*., *10*, pp. 492-501.
- Stone, L. F., Silveira, P. M., & Moreira, J. A. (2016). *EMBRAPA de Informação Tecnológica . Arroz – Irrigação e Drenagem*. Obtido em Fevereiro de 2016, de <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fojwoedg02wyiv80bhgp5pox11yix.html>
- Storck, C. R., Silva, L. P., & Comarella, C. G. (2005). Influencia do processamento na composição nutricional de grãos de arroz. *Alimentos e Nutrição*, *16*, pp. 259-264.
- Sugiyama, S., Konishi, M., Terasaki, D., Hatae, K., Shimada, A. (1995). Determination of the chemical components and distribution in the milled rice kernel. (In Japanese, with English abstract.) *Journal Japanese Food Science Technology*, *42*, 401-409.
- Sun, G. X., Liu, X., Williams, P. N., & Zhu, Y. G. (2010). Distribution and translocation of selenium from soil to grain and its speciation in paddy rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental Science Technology*, *44*, pp. 6706-6711.
- Tadina, N., Germ, M., Kreft, I., Breznik, B., & Gaberscik, A. (2007). Effects of water deficit and selenium on common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) plants. *Photosynthetica*, *45*, pp. 472-476.
- Takahashi, M., Nozoye, T., Kitajima, N., Fukuda, N., Hokura, A., Terada, Y., . . . Nishizawa, N. K. (2009). In vivo analysis of metal distribution and expression of metal transporters in rice seed during germination process by microarray and X-ray Fluorescence Imaging of Fe, Zn, Mn, and Cu. *Plant Soil*, *325*, pp. 39-51.
- Tan, J., Baisakh, N., Oliva, N., Parkhi, V., Rai, M., & Torrizo, L. (2005). The screening of rice germplasm, including those transgenic rice lines which accumulate b-carotene in their polished seeds, for their carotenoid profile. *International Journal of Food Science*, *40*, pp. 563-569.
- Tan, J., Zhu, W., Wang, W., Li, R., Hou, S., Wang, D., & Yang, L. (Volume 284, Issues 1–3, 4 de (2002). Selenium in soil and endemic diseases in China. *Science of The Total Environment*, pp. 227-235.
- Tapiero, H., Townsend, D. M., & Tew, K. D. (2003). The antioxidante role of selenium and seleno-componunds. *Biomedicine. Pharmacotherapy*, *57*, pp. 134-144.
- Taylaran, R. D., Adachi, S., Ookawa, T., Usuda, H., & Hirasawa, T. (2011). Hydraulic conductance as well as nitrogen accumulation plays a role in the higher rate of leaf photosynthesis of the most productive variety of rice in Japan. *Journal of Experimental Botany*, *62*, pp. 4067-4077.
- Terry, N., Zayed, A. M., Souza, M. P., & Tarun, A. S. (2000). Selenium in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, *51*, pp. 401-432.
- Thiry, C., Ruttens, A., Temmerman, L., Schneider, Y., & Pussemier, L. (2012). Current knowledge in species-related bioavailability of selenium in food. *Food Chemistry*, *130*, pp. 767-784.

- Thomson, C. D. (2004). Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: A review. *European Journal of Clinical Nutrition* 58, pp. 391-402.
- Torbica, A., Hadnađev, M., & Hadnađev, T. D. (2012). Rice and buckwheat flour characterisation and its relation to cookie quality. *Food Research International*, 48, pp. 277-283.
- Torres, R. L., Gonzáles, R. J., Sánchez, H. D., A., O. C., & Torres, M. A. (1999). Comportamiento de variedades de arroz en la elaboración de pan sin gluten. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, pp. 162-165.
- Tran, T. U., Suzuki, K., Okadome, H., Homma, S., & Ohtsubo, K. (2004). Analysis of the tastes of brown rice and milled rice with different milling yields using a taste sensing system. *Food Chemistry*, 88, pp. 557-566
- Trethowan, R., Reynolds, M., Sayre, K., & Ortiz-Monasterio, I. (2005). Adapting wheat cultivars to resource conserving farming practices and human nutritional needs. *Annals Applied Biology*, 146, pp. 404-413.
- Tsukada, H., Hasegawa, H., Takeda, A., & Hisamatsu, S. (2007). Concentration of major and trace element in polished rice and paddy soils collected in Aomori. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 273, pp. 199-203.
- Turakainen, M., Hartikainen, H., & Seppänen, M. M. (2004). Effects of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and concentrations of soluble sugars and starch. *J Agr Food Chem*, 52, pp. 5378-5382.
- Van Assche, F., & Clijsters, H. (1986). Inhibition of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* by treatment with toxic concentration of zinc: effect on ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Journal Plant Physiology*, 125, pp. 355-360.
- Van Hoewyk, D. (2013). A tale of two toxicities: malformed selenoproteins and oxidative stress both contribute to selenium stress in plants. *Annals of Botany*, 112, pp. 965-972.
- Vasconcelos, M., Datta, K., Oliva, N., Khalekuzzaman, M., Torrizo, L., & Krishnan, S. (2003). Enhanced iron and zinc accumulation in transgenic rice with the ferritin gene. *Plant Science*, 64, pp. 371-378.
- Veloso, C. A., Botelho, S. M., Lopes, A. d., & Carvalho, E. J. (2009). Nutrição mineral e adubação da cultura do arroz de sequeiro. *Documentos / Embrapa Amazônia Oriental*, p. 29.
- Velu, G., Ortiz-Monasterio, I., Cakmak, I., Hao, Y., & Singh, R. P. (2013). Biofortification strategies to increase grain zinc and iron concentrations in wheat. Review. *Journal Cereal Science*, 59, pp. 365-372.
- Vezzani, F. (2001). Qualidade do sistema solo na produção agrícola. 184. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Voss, D. H. (1992). Relating colorimeter measurement of plant color to the Royal Horticultural Society Colour Chart. *HortScience*, 27, pp. 1256-1260.
- Wadsworth, J. I. (1994). Chapter 7: Degree of milling. In *Rice Science and Technology*,. Em W. E. Marshall, & J. I. Wadsworth. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Walter, L. C., Streck, N. A., & Rosa, H. T. (2010). Mudança climática e seus efeitos na cultura do arroz. *Ciencia Rural*, 40, pp. 2411-2418.
- Walter, M., Marchezan, E., & Avila, L. A. (2008). Arroz: Composição e características nutricionais. *Ciencia Rural*, 38, pp. 1184-1192.
- Wang, J., Wang, Z., Mao, H., Zhao, H., Huang, D. (2013 a). Increasing Se concentration in maize grain with soil- or foliar-applied selenite on the Loess Plateau in China, *Field Crops Research*, 150, pp. 83-90.

- Wang, K. M., Wu, J. G., Li, G., Zhang, D. P., Yang, Z. W., & Shi, C. H. (2011). Distribution of phytic acid and mineral elements in three indica rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Journal of Cereal Science*, *54*, pp. 116-121.
- Wang, M., Hettiarachchy, N. S., Qi, M., Burks, W., & Siebenmorgen, T. (1999). Preparation and functional properties of rice bran protein isolate. *Journal Agricultural Food Chemistry*, *47*, pp. 411-416.
- Wang, Y.-D., Wang, X., & Wong, Y.-s. (2012). Proteomics analysis reveals multiple regulatory mechanisms in response to selenium in rice. *Journal of Proteomics*, *75*, pp. 1849-186.
- Wang, Y.-D., Wang, X., & Wong, Y.-S. (2013 b). Generation of selenium-enriched rice with enhanced grain yield, selenium content and bioavailability through fertilisation with selenite. *The Chinese University Food Chemistry*, *141*, pp. 2385-2393.
- Warren, B. E., & Farrell, D. J. (1990). The nutritive value of full fat and defatted Australian rice bran. III. *Feed Science Technology*, *27*, pp. 247-257.
- Waters, B. M., & Sankaran, R. P. (2011). Moving micronutrients from the soil to the seeds: Genes and physiological processes from a biofortification perspective. *Plant Science*, *180*, pp. 562-574.
- Wax, E. (2015). *Diet – calcium*. (A. E. team, Ed.) Obtido em Março de 2016, de (2015). , . Also reviewed by David Zieve, MD, MHA, Isla Ogilvie, PhD, <https://medlineplus.gov/ency/article/002412.htm>.
- Welch, R. M., & Graham, R. D. (2002). Breeding crops for enhanced micronutrient content. *Plant Soil*, *245*, pp. 205-214.
- Welch, R. M., & Graham, R. D. (2004). Genetics of Plant Mineral Nutrition: Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. *Journal of Experimental Botany*, *55*, pp. 353-364.
- Welch, R., & Graham, R. (2005). Agriculture: the real nexus for enhancing bioavailable micronutrients in food crops. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, *18*, pp. 299-307.
- White, P. J., & Broadley, M. R. (2003). Calcium in plants. *Ann. Bot. (Lond.)*, *92*, pp. 487-511.
- White, P. J., & Broadley, M. R. (2005). Biofortifying crops with essential mineral elements, Trends in Plant Science. *10*, pp. 586-593.
- White, P. J., & Broadley, M. R. (2009). Biofortification of crops with seven mineral elements often lackin in human diets - iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytology*, *182*, pp. 49-84.
- White, P., Bowen, H., Parmaguru, P., Fritz, M., Spracklen, W., & Spiby, R. E. (2004). Interactions between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, *55*, pp. 1927-1937.
- White, P., Broadley, M., Bowen, H., & Johnson, S. (2007). Selenium and its relationship with sulfur. Em M. Hawkesford, & L. Kok, *Sulfur in plants – an ecological perspective* (pp. 225-252). Dordrecht: Springer.
- WHO. (2002). Meeting report. informal meeting in order to analyze and develop indicators to complement feeding World Health Organization. *World Health Organization*.
- Williams, P. N., Lombi, E., Sun, G. X., Scheckel, K., Zhu, Y. G., Feng, X., . . . Meharg, A. A. (2009). Selenium characterization in the global supply chain of rice. *Environmental Science Technology*, *43*, pp. 6024-6030.
- Willmer, C., & Fricker, M. (1996). *Stomata*. Chapman & Hall. London, 375 p.

- Wilson, A., Ausman, L. M., Lawton, C. W., Hegsted, D. M., & Nicolosi, R. J. (2000). Comparative cholesterol lowering properties of vegetable oils: beyond fatty acids. *Journal of American College of Nutrition*, 19, pp. 601-607.
- Wissuwa, M., Ismail, A. M., & Yanagihara, S. (2006). Effects of zinc deficiency on rice growth and genetic factors contributing to tolerance. *Plant Physiology*, 146, pp. 731-741.
- Wissuwa, M., Ismail, A., & Graham, R. (2008). Rice grain zinc concentrations as affected by genotype, native soil-zinc availability, and zinc fertilization. *Plant Soil*, 306, pp. 37-48.
- Wójcik, P. (2004). Uptake of mineral nutrients from foliar fertilization. *Journal Fruit Ornamental Plant Research*, 12, pp. 201-218.
- Wu, C., Feng, Y., Shohag, M. J., Lu, L., Wei, Y., Gao, C., & Yang, X. (2011). Characterization of 68Zn uptake, translocation, and accumulation into developing grains and young leaves of high Zn-density rice genotype. *Journal of Zhejiang University*, p. 418.
- Wu, L., Huang, Z. Z., & Burau, R. G. (1988). Selenium accumulation and selenium-salt cotolerance in five grass species. *Crop Science*, 28, pp. 517-522.
- Xue, T. L., Hartikainen, H., & Piironen, V. (2001). Antioxidative and growth-promoting effects of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil*. 55-61.
- Yadav, B., & Jindal, V. K. (2001). Monitoring milling quality of rice by image analysis. *Computers and Electronics in Agriculture*, 33, pp. 19-33.
- Yang, X. E., Jx, W. W., Li, H., & Luo, A. C. (2004). Potassium internal use efficiency relative to growth vigor, potassium distribution and carbohydrate allocation in rice genotypes. *J. Plant Nutrition*, 27, pp. 837-852.
- Yang, X., Q., Y. Z., Shi, C. H., Zhu, M. L., & Graham, R. D. (1998). Genotypic differences in concentrations of iron, manganese, copper, and zinc in polished rice grains. *Journal Plant Nutrition*, 21, pp. 1453-1462.
- Yang, Y., Rao, Y., Xu, J., Shao, G., Leng, Y., Huang, L., . . . Zeng, D. (2014). Genetic analysis of sugar-related traits in rice grain. *South African Journal of Botany*, 93, pp. 137-141.
- Yang, G-Q., Xia, Y. M. (1995). Studies on human dietary requirements and safe range of dietary intakes of selenium in China and their application in the prevention of related endemic diseases. *Biomedical Environmental Sciences*, 8, pp. 187-201.
- Yao, F., Xu, Y., Lin, E., Yokozawa, M., & Zhang, J. (2007). Assessing the impacts of climate change on rice yields in the main rice areas of China. *Climatic Change*, 80, pp. 395-409.
- Yao, X., Chu, J., & Wang, G. (2009). Effects of selenium on wheat seedlings under drought stress. *Biological Trace Elem Research*, 130, pp. 283-290.
- Yao, X., Jianzhou, C., Xueli, H., Binbin, L., Jingmin, L., & Zhaowei, Y. (2013). Effects of selenium on agronomical characters of winter wheat exposed to enhanced ultraviolet-B. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 92, pp. 320-326.
- Yordanov, I., Velikova, V., & Tsonev, T. (2003). Plant responses to drought and stress tolerance.
- Yoshida, H., Tanigawa, T., Yoshida, N., Kuriyama, I., Tomiyama, Y., & Mizushima, Y. (2011). Lipid components, fatty acid distributions of triacylglycerols and phospholipids in rice brans. *Food Chemistry*, 129, pp. 479-484.
- Yoshida, S., & Ahn, S. B. (1968). The accumulation process of carbohydrates in rice varieties in relation to their response to nitrogen in the tropics. *Soil Science Plant Nutrition*, 14, pp. 153-161.

- Yu, L., Li, G., Li, M., Xu, F., Beta, T., & Bao, J. (2016). Genotypic variation in phenolic acids, vitamin E and fatty acids in whole grain rice Pages. *Food Chemistry*, 197, pp. 776-782.
- Yu, Q., & Rengel, Z. (1999). Micronutrient deficiency influences plant growth and activities of superoxide dismutases in narrow-leafed lupins. *Annals of Botany*, 83, pp. 175-182.
- Yu-Dong, W., Xu, W., & Yum-Shing, W. (2013). Generation of selenium-enriched rice with enhanced grain yield, selenium content and bioavailability through fertilisation with selenite. *Food Chemistry*, 141, pp. 2385-2393.
- Zayed, A., Lytle, C. M., & Terry, N. (1998). Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. *Plant*, pp. 284-292.
- Zeigler, R., & Barclay, A. (2008). The relevance of rice. *Rice*, pp. 3-10.
- Zembala, M., Filek, M., Walas, S., Mrowiec, H., Kornás, A., Miszalski, Z., & H., H. (2010). Effect of selenium on macro- and microelement distribution and physiological parameters of rape and wheat seedlings exposed to cadmium stress. *Plant Soil*, 329, pp. 457-468.
- Zhang, L. X. (2011). Study on selenium rich ability of different rice varieties. *Horticultures Seeds*, 3, pp. 111-113.
- Zhang, M., Pinson, S. R., Tarpley, L., Huang, X. Y., Lahner, B., & Yakubova, E. (2014 a). Mapping and validation of quantitative trait loci associated with concentrations of 16 elements in unmilled rice grain. *Theoretical and Applied Genetics*, 127, pp. 137-165.
- Zhang, M., Tang, S., Huang, X., Zhang, F., Pang, Y., Huang, Q., & Yi, Q. (2014). Selenium uptake, dynamic changes in selenium content and its influence on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental Experimental Botany*, 107, pp. 39-45.
- Zhang, P. C., & Sparks, D. L. (1990). Kinetics of selenate and selenite adsorption/desorption at the goethite/water interface. *Environmental Science and Technology*, 24, pp. 1848-1856.
- Zhang, S., & Tao, F. (2013). Modeling the response of rice phenology to climate change and variability in different climatic zones: Comparisons of five models. *European Journal of Agronomy*, 45, pp. 165-176.
- Zhang, W.-H., Zhou, Y., Dibley, K. E., Tyerman, S. D., Furbank, R. T., & Patrick, J. W. (2007). Nutrient loading of developing seeds. *Functional Plant Biology*, 34, pp. 314-331.
- Zhang, Y., Pan, G., Chen, J., & Hu, Q. (2003). Uptake and transport of selenite and selenate by soybean seedlings of two genotypes. *Plant and Soil*, 253, pp. 437-443.
- Zhao, F. J., & McGrath, S. P. (2009). Biofortification and phytoremediation. *Current Opinion in Plant Biology*, 12, pp. 373-380.
- Zhou, Z., Blanchard, C., Helliwell, S., & Robards, K. (2003). Fatty acid composition of three rice varieties following storage. *Journal of Cereal Science*, 37, pp. 327-335.
- Zhou, Z., Robards, K., Helliwell, S., & Blanchard, C. (2002). Composition and functional properties of rice. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, pp. 849-868.
- Zhu, Y. G., Pilon-Smits, E. A., Zhao, F. J., Williams, P. N., & Meharg, A. A. (2009). Selenium in higher plants: Understanding mechanisms for biofortification and phytoremediation. *Trends Plant Science*, 14, pp. 436-442.