

USO DO ESPECTRÔMETRO DE MASSAS COM PLASMA PARA AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DO CULTIVAR DE ARROZ PUITÁ INTA CL SOB DIFERENCIADOS MANEJOS HÍDRICOS

Jaqueline Trombetta da Silva¹, Fernanda Pollo Paniz², Tatiana Pedron², Fabiana Sanchez³, José Maria Barbat Parfitt⁴, Bruno Lemos Batista⁵
Palavras-chave: *Oryza sativa* L, elementos essenciais, deficiência hídrica, ICP-MS

INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um alimento que chega à mesa de mais de 50% da população mundial, sendo uma das maiores culturas, após o milho e o trigo (GOMES, 2004). No Brasil, mais importante produtor não asiático, o consumo chega a mais de 50 kg de arroz/habitante/ano sendo portanto, um componente da cesta básica do brasileiro (IBGE, 2013). No Brasil, o arroz é cultivado preferencialmente na região subtropical, na qual se localizam os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina onde o clima favorável aliado à modernas técnicas de cultivo tem possibilitado uma produtividade média de 7000 kg ha⁻¹, porém constantes mudanças nas condições edafoclimáticas (relação entre a planta, solo e clima) e na preferência de mercado têm conduzido ao desenvolvimento de novos cultivares que atendam às necessidades de mercado (EMBRAPA, 2017).

Neste trabalho o cultivar avaliado foi o PUITÁ INTA-CL, que juntamente com outros cultivares como BR/IRGA 409, IRGA 417 E BRS Pampa possui excelentes características de qualidade de grão (SOBSAI, 2016). O PUITÁ INTA CL é um cultivar desenvolvido pela BASF S.A., derivada da IRGA 417 por mutagênese, recomendada para o sistema de produção CLEARFIELD®, que tem como objetivo o controle de arroz-daninho possuindo tolerância aos herbicidas Only® e Kifix® sendo considerada de segunda geração apresentando estatura de planta baixa, folha pilosa e média suscetibilidade à toxidez por ferro (SOBSAI, 2016).

Diferentemente dos outros cereais o arroz é cultivado geralmente no sistema de inundação contínua, onde a condição de solo inundado pode levar a uma maior mobilização de alguns elementos, em um processo denominado de redução do solo. Com a submersão do solo, ocorrem transformações físicas, químicas e biológicas no solo e um novo estado de equilíbrio se estabelece (SOUSA et al., 2008). Inicialmente, após a supressão do O₂ com a submersão, o metabolismo anaeróbico predomina (SILVA et al., 2008) e a obtenção de energia ocorre através da oxidação do C orgânico, usando compostos oxidados (respiração anaeróbica) como aceptores finais de elétrons em seu metabolismo. Assim, os íons nitrato (NO₃⁻), manganês (Mn⁴⁺), Ferro (Fe³⁺), sulfato (SO₄²⁻), bem como o CO₂, são reduzidos a N₂, Mn²⁺, Fe²⁺, S²⁻ e CH₄, respectivamente, no processo citado anteriormente de redução do solo, sendo posteriormente deslocados para a solução do solo (SOUSA et al., 2008), aumentando a solubilidade de outros elementos.

Dentre os tipos de cultivo, os principais sistemas utilizados são o convencional, cultivo mínimo, plantio direto, pré-germinado e transplante de mudas (SOBSAI, 2016). Em relação às fases de crescimento, a duração do ciclo biológico de plantas de arroz é bastante variável em função da carga genética dos materiais e das condições ambientais nas quais as plantas se desenvolvem, podendo-se encontrar ciclos de 3 a 6 meses. Durante este período, o arroz completa três fases distintas: a) vegetativa; b) reprodutiva e c) maturação (SOBSAI, 2012). Durante todos estes ciclos o arroz é mantido sob alagamento. Estudos têm sido desenvolvidos a fim de avaliar como será o desenvolvimento do cultivar quando o mesmo é mantido sob determinado déficit hídrico. O déficit hídrico em plantas cultivadas afeta o desenvolvimento das culturas em todo o mundo, podendo apresentar um impacto negativo substancial no crescimento e desenvolvimento das plantas (SANTOS e CARLESSO, 1998). Em estudo desenvolvido por Silva et al (2015) foi avaliado o efeito da tensão da água no solo em diferentes fases fenológicas da cultura do arroz irrigado sobre a produtividade de grãos do cultivar BRS Sinuelo CL. Neste estudo foram considerados os seguintes tratamentos: lâmina de água de 7,5 cm de altura e tensões de água no solo correspondentes a 0, 10 e 40 kPa associadas às fases vegetativa, reprodutiva e maturação. Após avaliação dos resultados foi observado que o arroz foi mais sensível ao déficit hídrico durante a fase reprodutiva, onde o aumento da tensão de água no solo reduziu a produtividade de grãos da cultura.

Além da avaliação da produtividade dos grãos é importante avaliar a absorção de elementos considerados importantes em aspectos nutricionais, os quais em alguns casos, baixas ingestões induzem a deficiências nutricionais e altas ingestões podem levar a consequente toxicidade. Elementos como Manganês (Mn), Ferro (Fe), Cobalto (Co), Cobre (Cu), Zinco (Zn) e Selênio (Se) são classificados como elementos-traço devido à sua essencialidade e quantidade limitada em seres humanos. Ao todo, 11 elementos recebem esta classificação. Geralmente sua ingestão diária desses elementos é recomendada ao máximo de 100 mg/dia, a depender do elemento avaliado. Estes elementos são componentes essenciais das estruturas biológicas porém, quando acima das concentrações recomendadas, podem comprometer estas funções se tornando tóxicos (FRAGA, 2005).

Os metais possuem a característica toxicológica de ao reagirem com sistemas biológicos, perderem um ou mais elétrons para formar cátions. Como consequência dessa condição ionizada podem ser muito reativos e interagir com sistemas biológicos em uma grande variedade de modos. Desta forma, uma célula apresentará inúmeros ligantes para ligação ao metal em potencial. Podem agir como inibidores de enzimas, mimetizadores de absorção de metais essenciais e dano oxidativo mediado por esses elementos (KLAASSEN, 2009).

O Mn é um elemento essencial associado ao desenvolvimento ósseo, metabolismo de aminoácidos, lipídios e carboidratos (FRAGA, 2005). Quando em excesso pode levar ao surgimento de distúrbios psicológicos e neurológicos (GOLDHABER, 2003). O Fe é essencial ao organismo, sendo constituinte da hemoglobina, mioglobina e uma série de enzimas (GOLDHABER, 2003). Sua toxicidade é associada às possíveis doenças genéticas relacionadas ao seu metabolismo, repetidas transfusões sanguíneas ou excesso de ingestão (FRAGA e OTEIZA, 2002).

O Co está presente como constituinte da vitamina B₁₂ sendo o átomo central da mesma (PANIZ et al., 2005). Atua também como cofator de enzimas envolvidas na biossíntese do DNA e metabolismo de aminoácidos (SOETAN, OLAIYA e OYEWOLE, 2010). Sua exposição em altos teores é associada aos trabalhadores da indústria do aço e química (ALVES e ROSA, 2003).

O Cu em humanos é necessário para o desenvolvimento do tecido conjuntivo, coberturas nervosas e ossos. Juntamente com o Fe, o Cu participa da produção de energia através do metabolismo. Intoxicações crônicas são raras em humanos, os casos associados podem ser relacionados a lesões hepáticas, sua intoxicação aguda pode levar a efeitos gastrointestinais caracterizados por dor abdominal, náuseas, diarreias e vômitos (FRAGA, 2005). O Zn está envolvido na atividade de aproximadamente 100 enzimas, sua massa presente no corpo humano é da ordem de 2-3 g ficando atrás somente do Fe. A deficiência de Zn na dieta ocorre em países subdesenvolvidos e geralmente está associada à desnutrição, problemas de cicatrização e erros na replicação do DNA. Irritação gastrointestinal e vômitos são observados quando há a ingestão de 2g ou mais de sulfato de Zn (GOLDHABER, 2003 apud PRASAD, 1976).

O Se é essencial devido à sua associação com proteínas, conhecidas como selenoproteínas (cerca de 35 tipos presentes). São fundamentais para o bom funcionamento de mecanismos antioxidantes das células, atuando em processos de defesa do organismo, funcionamento correto da tireoide e absorção de vitamina C (GOLDHABER, 2003; REYES et al., 2003; COMBS, 2001). Casos relacionados à sua intoxicação são associados a problemas respiratórios (quando da intoxicação via aérea), distúrbios gastrointestinais, erupções na pele e anomalias no sistema nervoso (GOLDHABER, 2003; PEDRERO e MADRID, 2009).

Os valores de ingestão diária de vitaminas e minerais recomendadas para adultos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estão indicados na Tabela 1.

¹ Doutoranda em Manejo e Conservação do Solo e da Água, FAEM/UFPEL, Campus Universitário s/n, Pelotas-RS, Caixa Postal 354, jak_trombetta@hotmail.com

² Doutoranda em Ciência e Tecnologia – Química, Universidade Federal do ABC

³ Graduanda em Ciência e Tecnologia - Química, Universidade Federal do ABC

⁴ Pesquisador Dr., Embrapa Clima Temperado

⁵ Professor Dr., Universidade Federal do ABC

Tabela 1: Ingestão diária recomendada para adultos

Elemento	Ingestão diária recomendada
Mn	2,3 mg
Fe	14 mg
Vitamina B ₁₂ ¹	2,4 µg
Cu	900 µg
Zn	7 mg
Se	34 µg

¹ Associada ao Cobalto (origem animal)

Para determinação dos elementos relacionados acima em alimento é importante o emprego de uma técnica sensível que consiga detectar os analitos em questão. A espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) é um método espectroscópico onde é possível a determinação de mais de 70 elementos (SKOOG, 1997). O princípio fundamental do método se baseia na introdução de íons gasosos gerados no plasma indutivo no espectrômetro de massas, os quais são separados em função da razão massa/carga através do transporte e sob ação de campos elétricos que modificam suas trajetórias, assim é possível a detecção em baixas concentrações dos elementos propostos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi determinar os teores de Mn, Fe, Co, Cu, Zn e Se presentes em grãos de arroz descascados no cultivar Puitá Inta CL submetida à deficiência hídrica no solo em diferentes fases fenológicas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado sob condições de campo, na safra agrícola 2015/2016, em área da Estação Experimental Terras Baixas da Embrapa Clima Temperado, em Capão do Leão, RS. Utilizou-se o cultivar de arroz irrigado Puitá Inta CL, de ciclo precoce. A semeadura foi realizada em 16/11/2015 sob preparo convencional do solo. Para a adubação de base foi utilizado 250 kg ha⁻¹ da fórmula 5-20-20 e a cobertura de N foi realizada nas fases V4 e R0 na dose de 50 e 60 kg ha⁻¹ respectivamente. Para o controle de plantas daninhas foi utilizado logo após a semeadura Gamit na dose de 1 L ha⁻¹ e na fase V3 foi aplicado Kifix na dose de 140 g ha⁻¹. Os demais tratos culturais foram realizados conforme as recomendações técnicas para a cultura (SOBSAI, 2016). A cultura foi submetida a diferentes tratamentos de deficiência hídrica no solo em diferentes fases fenológicas. Esses tratamentos foram: lâmina de água de aproximadamente 10 cm (manejo normal de irrigação por inundação o qual corresponde a zero de tensão de água no solo) e tensões correspondentes a 0 (saturação); 10 e 40 kPa associadas às fase vegetativa (estádio de cinco folhas (V5) até a iniciação da panícula (R0)); fase reprodutiva (estádio de diferenciação da panícula (R1) até floração (R4) + 10 dias) e; fase de maturação (estádio R4+10 dias até o estágio de maturação fisiológica (R7)). Os tratamentos foram dispostos em delineamento de blocos ao acaso, com parcelas subdivididas e quatro repetições. O fator fase fenológica foi disposto nas parcelas (20 m x 4,6 m) e o fator tensão de água no solo, nas subparcelas (4,6 m x 3,5 m).

Para análise dos teores de Mn, Fe, Co, Cu, Zn e Se os grãos foram descascados, moídos ((IKA A1, Staufen, Alemanha) e tamizadas (< 250 µm) no Laboratório do Grupo Environmetals Br da Universidade Federal do ABC. As amostras foram pesadas, 200 mg em duplicata, em balança analítica (AY-220, Shimadzu, Japão) e adicionado 1,5 mL de HNO₃ sub-distilado (Savillex Dist, 1000, USA). O material foi mantido em pré-digestão por 24 horas e posteriormente foi adicionado 1 ml de H₂O₂ ultra puro (Sigma) e levado ao banho-maria (SL 150, Solab, Brasil) por 4 horas. Após este período seu volume foi completado até 30 mL com água deionizada de alta pureza (MS 2000, Gehaka, Brasil). Posteriormente o material foi analisado no Espectrômetro de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (Agilent 7900, Hachioji, Japão). As curvas analíticas foram construídas a partir de soluções estoque de 10 mg L⁻¹ (Perkin Elmer, USA). Para verificação dos resultados obtidos foi preparado um material de referência (CRM-TORT-3 e ERMBC211).

As avaliações do efeito da deficiência hídrica no solo sobre os teores dos elementos nos grãos estudados foram ajustados modelos de regressão entre essas variáveis e a tensão média de água no solo. Posteriormente, plotou-se em um gráfico os ajustes da regressão com os respectivos intervalos de confiança, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas, foi utilizado o software "R" (R CORE TEAM, 2016).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinaram-se os teores dos elementos Mn, Fe, Co, Cu, Zn e Se nos grãos de arroz descascados. Os resultados da análise estatística constam na Tabela 2. Observando a análise dos resultados de uma forma geral, pode-se dizer que a deficiência hídrica no solo, na fase vegetativa (V4 - R0) e de maturação (R4+10dias - R7), não afeta a absorção dos nutrientes estudados, com exceção do Se, o qual teve a absorção aumentada quando o déficit ocorreu na fase vegetativa. Em contra partida, quando a deficiência hídrica ocorre na fase reprodutiva R1 até 10 após a floração é possível observar relação significativa entre a magnitude do estresse e a absorção dos elementos, com exceção do Fe. O modelo de regressão ajustado pelo Mn foi linear crescente, ou seja, dentro do intervalo da tensão estudada ocorreu aumento da absorção deste elemento (Tabela 2 e Figura 1). Os demais elementos tiveram um ajuste polinomial convexo, ou seja, dentro das magnitudes das tensões estudadas apresentaram um valor máximo (Tabela 2, Figuras 1, 2 e 3). Os valores máximos para os elementos Co, Cu, e Zn foram nas tensões de 10, 8, 9,9, e 7,9 kPa respectivamente (Figuras 1 e 2). A absorção de Se aumentou com o aumento da tensão de água no solo, tanto no estágio vegetativo como no reprodutivo (Tabela 2), embora as diferenças entre si não sejam significativas, ao se ver pelo intervalo da confiança (Figura 3).

Tabela 2. Modelo de regressão e coeficiente de determinação entre os teores dos elementos analisados nos grãos em função da tensão de água no solo do cultivar Puitá Inta CL, Embrapa Clima Temperado, RS, Pelotas. Safra 2015/2016.

Elemento	Estádios de desenvolvimento					
	Vegetativo		Reprodutivo		Maturação	
	Modelo de regressão ^ε	R ²	Modelo de regressão ^ε	R ²	Modelo de regressão ^ε	R ²
	(µg kg ⁻¹)					
Mn	15183	NS	Y=17728+1878x	0,60**	16108	NS
Fe	8620	NS	8325	NS	8312	NS
Co	18,73	NS	Y=22,2-0,36x ² +7,86x	0,71	29,7	NS
Cu	2034	NS	Y=1981-14,4x ² +287,6x	0,78**	2025	NS
Zn	15350	NS	Y=14824-52,2x ² +825,3x	0,45**	14558	NS
Se	Y=44,7-0,2x ² +4,2x	0,36**	Y=44,2-0,38x ² +6,71x	0,55**	46,5	NS

** significativo a 1%, respectivamente; NS não significativo.

^ε quando não significativa a análise de regressão foi colocada a média dos valores observados e quando significativa o modelo da mesma.

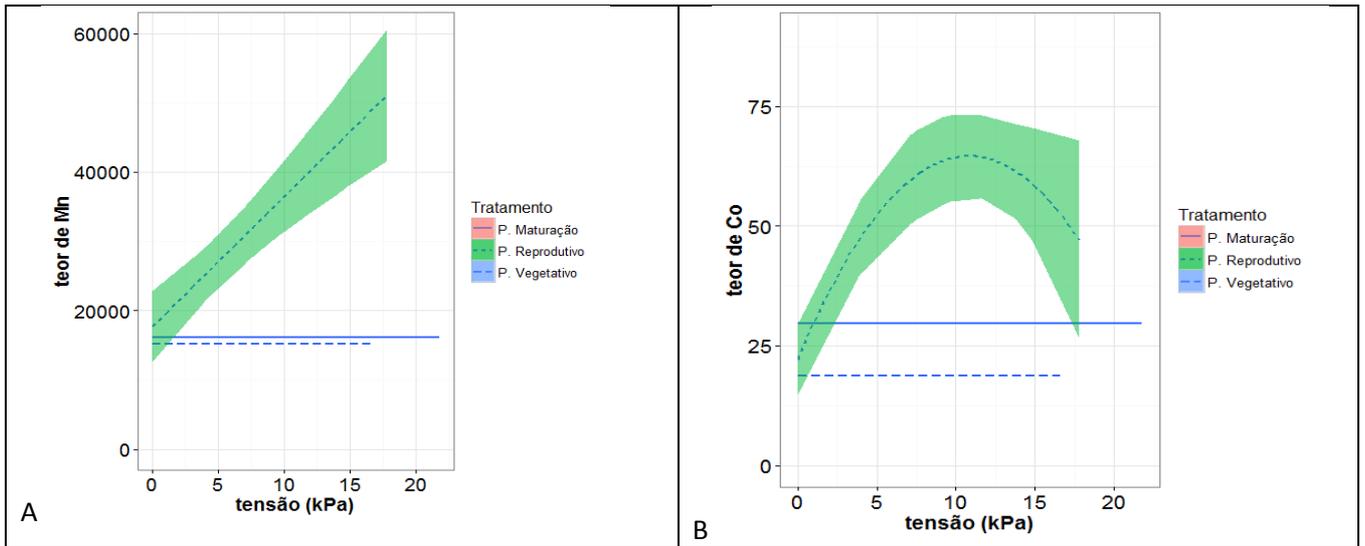


Figura 1. Análise de regressão linear e intervalo de confiança ($\alpha=0,05$) entre a tensão da água no solo (kPa) e o teor do Mn ($\mu\text{g kg}^{-1}$) (A) e Co ($\mu\text{g kg}^{-1}$) (B) nos grãos descascados do arroz em diferentes estádios de desenvolvimento para a cultivar Puitá Inta-CL, na safra 2015/2016.

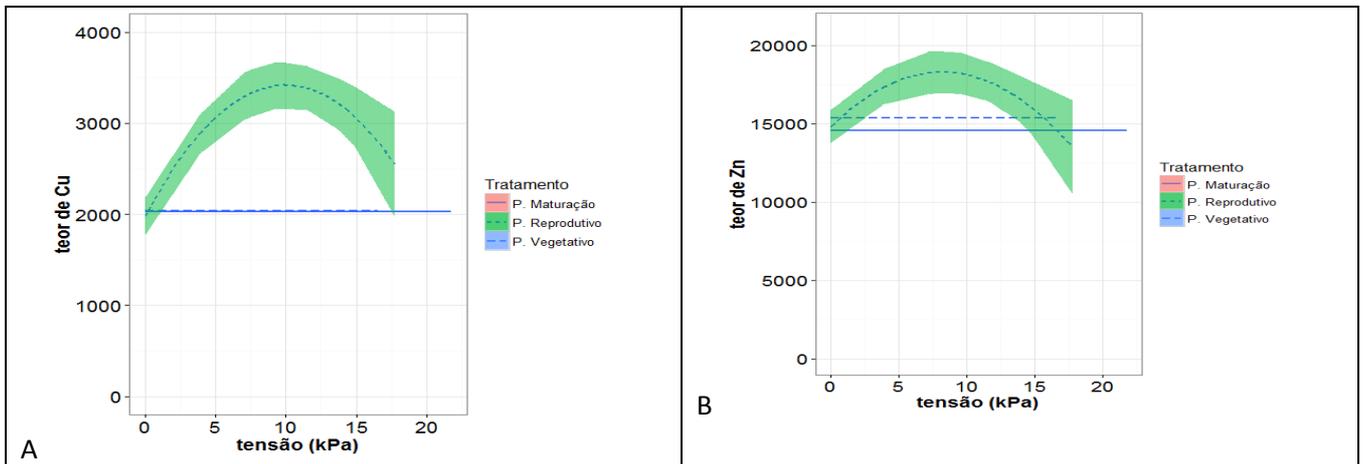


Figura 2. Análise de regressão linear e intervalo de confiança ($\alpha=0,05$) entre a tensão da água no solo (kPa) e o teor do Cu ($\mu\text{g kg}^{-1}$) (A) e Zn ($\mu\text{g kg}^{-1}$) (B) nos grãos descascados do arroz em diferentes estádios de desenvolvimento para a cultivar Puitá Inta-CL, na safra 2015/2016.

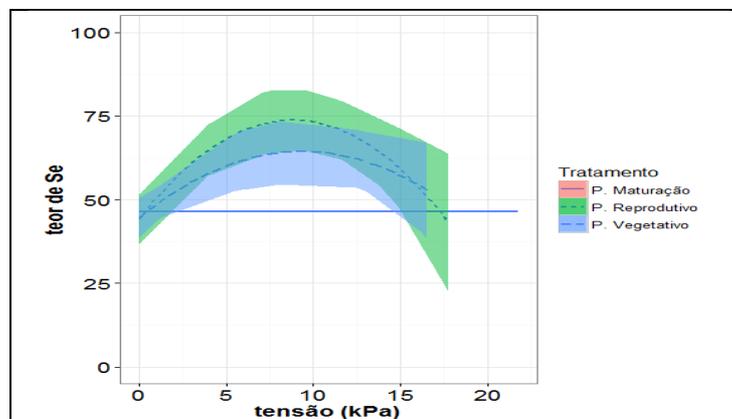


Figura 3. Análise de regressão linear e intervalo de confiança ($\alpha=0,05$) entre a tensão da água no solo (kPa) e o teor do Se ($\mu\text{g kg}^{-1}$) nos grãos descascados do arroz em diferentes estádios de desenvolvimento para a cultivar Puitá Inta-CL, na safra 2015/2016.

Este é o primeiro trabalho em que Mn, Fe, Co, Zn e Se foram avaliados em grãos de arroz produzidos sob diferentes tensões de água durante a irrigação. Uma busca prévia realizada nas principais bases de dados (Web of Science e Google Scholar) não apontou estudos semelhantes a este para os elementos supracitados. Elementos como Arsênio (As), Ferro (associado ao As) e Cádmio (Cd) possuem avaliações relatadas na literatura devido à sua inerente toxicidade. Em estudo realizado por Rahaman e Sinha (2013) foi observada uma redução em torno de 24% da concentração de As nos grãos sob um sistema de irrigação intermitente, no qual o período compreendido entre o 15º ao 40º dia o arroz somente era irrigado 2-4 dias após a redução do nível da água.

CONCLUSÃO

A ocorrência de um período aerado do solo, tensão média entre 0 e 20 kPa, na fase fenológica que compreende o início do primórdio floral (R1) até 10 dias após a floração contribui para o aumento do teor, nos grãos descascados no cultivar Puitá Inta CL, dos nutrientes manganês, cobalto, cobre, zinco.

O teor, nos grãos de arroz descascado do selênio no cultivar Puitá Inta CL, aumenta quando esse período aerado ocorre nas fases vegetativa e início do primórdio floral (R1) até 10 dias após a floração. Entretanto, o teor nos grãos do nutriente ferro não é afetado pela aeração do solo nas fases fenológicas estudadas do cultivar Puitá Inta CL.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, CNPq, FAPESP e FAPERGS pelas concepção de bolsas e os auxílios à pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, Atecla Nunciata Lopes; DELLA ROSA, Henrique Vicente. Exposição ocupacional ao cobalto: aspectos toxicológicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 39, n. 2, p. 129-139, 2003.
- ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária, REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE INGESTÃO DIÁRIA RECOMENDADA (IDR) PARA PROTEÍNA, VITAMINAS E MINERAIS. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0360_23_12_2003.pdf/5d4fc713-9c66-4512-b3c1-afee57e7d9bc – acesso em 23 maio de 2017.
- CANELLAS, L.P. & CAMARGO, F.A.O., eds. Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais & subtropicais. 2.ed. Porto Alegre, Metrópole, 2008. p.525-543.
- COMBS, Gerald F. Selenium in global food systems. *British Journal of Nutrition*, v. 85, n. 05, p. 517-547, 2001.
- EMBRAPA-Agência Embrapa de Inovação Tecnológica. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fojvokoc02wyyiv80bhgp5povqj3b.html>, acesso em 22 maio, 2017.
- FRAGA, Cesar G. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Molecular aspects of medicine*, v. 26, n. 4, p. 235-244, 2005.
- FRAGA, Cesar G.; OTEIZA, Patricia I. Iron toxicity and antioxidant nutrients. *Toxicology*, v. 180, n. 1, p. 23-32, 2002.
- GOLDHABER, Susan B. Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity. *Regulatory toxicology and pharmacology*, v. 38, n. 2, p. 232-242, 2003.
- GOMES, A. S.; Magalhães Júnior, A. M.; Arroz Irrigado no Sul do Brasil, 1ª Ed., EMBRAPA Informação Tecnológica: Brasília, 2004.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Aquisição alimentar domiciliar per capita anual, por Grandes Regiões, segundo os produtos, período 2008-2009. 2013.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Aquisição alimentar domiciliar per capita anual, por Grandes Regiões, segundo os produtos, período 2008-2009. 2013.
- KLAASSEN, Curtis D.; WATKINS III, John B. Fundamentos em Toxicologia de Casarett e Doull (Lange). AMGH Editora, 2009.
- PANIZ, Clóvis et al. Physiopathology of vitamin B12 deficiency and its laboratorial diagnosis. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 41, n. 5, p. 323-334, 2005.
- PEDRERO, Zoyné; MADRID, Yolanda. Novel approaches for selenium speciation in foodstuffs and biological specimens: a review. *Analytica chimica acta*, v. 634, n. 2, p. 135-152, 2009.
- R CORE TEAM R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation, 2016. Available at: <https://www.R-project.org/>.
- REYES, L. Hinojosa et al. Quantitative speciation of selenium in human serum by affinity chromatography coupled to post-column isotope dilution analysis ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 18, n. 10, p. 1210-1216, 2003.
- RAHAMAN, Sefaur; SINHA, Ashim Chandra. Water regimes: an approach of mitigation arsenic in summer rice (*Oryza sativa* L.) under different topo sequences on arsenic-contaminated soils of Bengal delta. *Paddy and Water Environment*, v. 11, n. 1-4, p. 397-410, 2013.
- SANTOS, Reginaldo Ferreira; CARLESSO, Reimar. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 2, n. 3, p. 287-294, 1998.
- Silva, *et al.*, Resposta do arroz irrigado ao déficit hídrico em diferentes fases fenológicas. In: IV Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, 2015.
- SILVA, L. S.; SOUSA, R. O.; POCOJESKI, E. Dinâmica da matéria orgânica em ambientes alagados. In: SANTOS, A.S.; SILVA, L.S.; SKOOG, Douglas A.; WEST, Donald M.; HOLLER, F. James. Fundamentos de química analítica. Reverté, 1997
- SOETAN, K. O.; OLAIYA, C. O.; OYEWOLE, O. E. The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants-A review. *African Journal of Food Science*, v. 4, n. 5, p. 200-222, 2010.
- SOSBAI - SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil/XXX Reunião Técnica da Cultura do Arroz Irrigado. Bento Gonçalves, RS: SOSBAI, 2016. 199 p.
- SOUSA, R.O.; CAMARGO, F.A.O; VAHL, L.C. Solos Alagados (Reações de Redox). In: MEURER, E.J. Fundamentos de Química do Solo. 4 Ed. Porto Alegre, 2010.