



FELIPE PEREIRA CARDOSO

**BIOFORTIFICAÇÃO GENÉTICA E AGRONÔMICA PARA
ENRIQUECIMENTO DE ZINCO EM GRÃOS DE ARROZ: DO
ARROZ EM CASCA AO ARROZ POLIDO**

LAVRAS – MG

2021

FELIPE PEREIRA CARDOSO

**BIOFORTIFICAÇÃO GENÉTICA E AGRONÔMICA PARA ENRIQUECIMENTO
DE ZINCO EM GRÃOS DE ARROZ: DO ARROZ EM CASCA AO ARROZ POLIDO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Produção de espécies de importância na região, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dra. Flávia Barbosa Silva Botelho

Orientadora

LAVRAS -MG

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Cardoso, Felipe Pereira.

Biofortificação genética e agronômica para enriquecimento de zinco em grãos de arroz: do arroz em casca ao arroz polido / Felipe Pereira Cardoso. - 2021.

69 p.

Orientador(a): Flávia Barbosa Silva Botelho.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. arroz de terras altas. 2. biofortificação. 3. fome oculta. I. Botelho, Flávia Barbosa Silva. II. Título.

FELIPE PEREIRA CARDOSO

**BIOFORTIFICAÇÃO GENÉTICA E AGRONÔMICA PARA ENRIQUECIMENTO
DE ZINCO EM GRÃOS DE ARROZ: DO ARROZ EM CASCA AO ARROZ POLIDO**

**GENETIC AND AGRONOMIC BIOFORTIFICATION TO ENRICH RICE GRAINS
WITH ZINC: FROM PADDY RICE TO POLISHED RICE**

APROVADA em 29 de abril de 2021

Dra. Flávia Barbosa Silva Botelho	UFLA
Dr. José Maria Villela Pádua	UFLA
Dr. Luiz Roberto Guimarães Guilherme	UFLA
Dr. Ana Paula Branco Corguinha	Compass Minerals

Prof. Dra. Flávia Barbosa Silva Botelho

Orientadora

LAVRAS -MG

2021

AGRADECIMENTOS

Demonstrar gratidão é reconhecer o valor e importância das pessoas a nossa volta, e aceitar que nada se pode construir ou se concretizar sem a contribuição de muitas ideias e várias pessoas.

Assim, me rendo diante da grandeza e beleza do universo e agradeço, primeiramente e sempre, ao Criador de todas as maravilhas: pela vida e por me permitir realizar tantos sonhos nesta existência, errando e acertando, sorrindo e chorando, aprendendo e crescendo.

Através de meus pais, Tânia e Francisco, agradeço por ter tido a oportunidade de nascer e me criar no seio de uma família incrível e especial, que não me permitiu desistir, mas me ensinou a ser forte e me reinventar o tempo todo.

Aos professores que me conduziram pela ciência e pelos estudos, muita gratidão a todos.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial aos departamentos de Biologia, Agricultura e Ciências do Solo e ao programa de Genética e Melhoramento de Plantas: vocês são a grande base da minha formação e dos resultados alcançados nesse trabalho. Aqui, pude dar asas aos meus sonhos e anseios.

À doutora, professora e orientadora Flávia Botelho, uma de minhas maiores fontes de inspiração, grande profissional e dona de uma sensibilidade incrível, soube conduzir meu aprendizado, mas sobretudo, soube me conduzir como pessoa, com confiança e muitos conselhos que levo pra vida.

Aos profissionais da EPAMIG, sobretudo àqueles que cuidam das plantações, capina e colheita: sem vocês não haveria experimento, e muito menos tanto aprendizado prático.

Aos técnicos e servidores do setor de Grandes Culturas: obrigado pela convivência e tantos conhecimentos repassados.

À CNPq e a CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Aos amigos que o ‘melhor arroz’ me trouxe: a caminhada se tornou mais leve e divertida sabendo que tinha vocês por perto, chova ou faça sol.

Aos membros da banca, que cumprem o difícil papel de avaliar o produto do meu trabalho e dos experimentos: agradeço imensamente cada sugestão e/ou correção feita, é um

orgulho ter profissionais tão gabaritados contribuindo para a excelência dessa dissertação e da minha formação. Vocês são fonte de inspiração.

Enfim, sou grato, de forma muito especial e sem nenhuma modéstia, ao ser humano que me tornei frente às minhas próprias superações. Durante o mestrado, em meio a pandemia da COVID-19, me reinventei, me recriei e me fortaleci, sempre contando com conselhos e ombros amigos. Tenho muito orgulho do que estou me tornando, e sou muito grato à todas as oportunidades que a vida me ofereceu, algumas até bastante desafiadoras: graças a estas situações, cheguei até aqui!

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

*“Let food be thy medicine
and medicine be thy food.”*

Hippocrates

RESUMO

Aproximadamente, 2 bilhões de pessoas no mundo apresentam carência não explícita de um ou mais micronutrientes no organismo, também chamada de fome oculta. Portanto, pesquisas estão sendo realizadas a fim de minimizar os efeitos dessa má nutrição. A deficiência em zinco está entre as deficiências minerais mais prevalentes nos seres humanos, atingindo cerca de 1,2 bilhões de pessoas, podendo ocasionar quadros patológicos graves, como retardo de crescimento, disfunção e comprometimento cognitivo, imunidade suprimida, pneumonia e lesões oculares. Cereais como o arroz (*Oryza sativa* L.) destacam-se por serem consumidos em todos os continentes e classes sociais, desempenhando um importante papel socioeconômico. Dessa forma, objetivou-se verificar a existência de variabilidade genética e o potencial de absorção do micronutriente Zn, nos grãos de linhagens elites de arroz de terras altas oriundos de diferentes processos de beneficiamento, após a realização da biofortificação agronômica. Foram avaliados cinco genótipos dos ensaios de valor de cultivo e uso (VCU), provenientes do programa de melhoramento de arroz de terras altas da Universidade Federal de Lavras - MelhorArroz. Os experimentos foram conduzidos nos municípios de Lavras e Lambari em delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial 5 x 2 (genótipos x ambiente), com três repetições, safra 2019/20. Foram avaliadas as características: altura de planta, peso de mil grãos, produtividade de grãos, renda e rendimento, germinação e o teor de Zn acumulado nos grãos polidos, integrais e grão em casca. Observou-se variabilidade genética, quanto ao acúmulo de Zn nos grãos, atingindo-se o máximo de 47,39 mg kg⁻¹ e 35,25 mg kg⁻¹ de Zn nos grãos integrais e polidos, respectivamente, no genótipo ERF 85-15. Verificou-se que a contribuição média do genótipo ERF 85-15, quando realizado a biofortificação, na ingestão diária de Zn quando considerado o consumo médio de arroz da população mundial foi de 63,6% e 47,4% no arroz integral e polido, respectivamente. Desse modo, as estratégias de biofortificação genética e agronômica combinadas mostraram-se vantajosas em linhagens de arroz de terras altas, sendo sustentáveis e efetivas no combate à deficiência de zinco, sem exigir mudança comportamental dos consumidores.

Palavras-chave: Arroz de terras altas. Biofortificação genética. Fome oculta.

ABSTRACT

Approximately, 2 billion people in the world have some implicit deficiency of one or more micronutrient, also called hidden hunger. Therefore, research is being carried out in order to minimize the effects of this nutrition. Zinc deficiency is among the most prevalent mineral deficiencies in humans, affecting about 1.2 billion people, which can cause severe pathological conditions, such as growth retardation, dysfunction and cognitive impairment, suppressed immunity, pneumonia and eye injuries. Cereals such as rice (*Oryza sativa* L.) stand out for being consumed on all continents and social classes, playing an important socioeconomic role. Thus, the present study aimed to verify the existence of genetic variability and the potential for absorption of the Zn micronutrient, in grains of elite upland rice lines from different beneficiation processes, after the completion of agronomic biofortification. Five genotypes were obtained from the cultivation and use value tests (VCU), from the upland rice breeding program at the Federal University of Lavras - MelhorArroz. The experiments were conducted in the local of Lavras and Lambari in a randomized block design in a 5x2 factorial scheme, with three replications, season 2019/20. The following characteristics were evaluated: plant height, weight of a thousand grains, grain yield, percentage of whole grain yield, germination and accumulated Zn content in polished, brown and paddy rice. Genetic variability was observed regarding the accumulation of Zn in the grains, reaching a maximum of 47.39 mg kg⁻¹ and 35.25 mg kg⁻¹ of Zn in the whole and polished grains, respectively, in the ERF 85-15 genotype. It was found that the average contribution of the ERF 85-15 genotype, when performed a biofortification, in the daily intake of Zn when considering the average rice consumption of the world population was 63.6% and 47.4% in brown rice and polished, respectively. Thus, advanced combined genetic and agronomic biofortification strategies are advantageous in upland rice lines, being sustainable and effective in combating zinc deficiency, without requiring behavioral change from consumers.

Keywords: Upland rice. Genetic biofortification. Hidden hunger.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura do grão de arroz maduro.....	18
Figura 2 – Precipitações e temperaturas médias durante o período de dezembro a abril da safra 2019/2020, nas cidades de Lavras - MG e Lambari - MG.	28
Figura 3- Produtividade média de grãos (kg ha^{-1}) das linhagens de arroz de terras altas em relação aos tratamentos controle e com aplicação de sulfato de zinco considerando os dois ambientes.	40
Figura 4 – Teor médio de zinco (mg kg^{-1}), obtido na média das linhagens de arroz de terras altas, em relação as fontes de variação: A – ambientes, B – beneficiamento, C – genótipos, D - aplicação.	44
Figura 5 – Teor médio de zinco (mg kg^{-1}), encontrado, na média, dos grãos das linhagens de arroz de terras altas em relação ao desdobramento da interação aplicação de sulfato de Zn x ambientes.	45
Figura 6 – Teor médio de zinco (mg kg^{-1}) em relação ao desdobramento da interação genótipos x ambientes (A) e genótipos x aplicações (B), obtidos nos grãos das linhagens de arroz de terras altas.	46
Figura 7 – Teor médio de zinco (mg kg^{-1}) em relação ao desdobramento da interação genótipos x beneficiamentos, obtidos nos grãos das linhagens de arroz de terras altas.....	47
Figura 8 – Médias do caráter teor de Zn (mg kg^{-1}), em função da aplicação ou não de sulfato de zinco em grãos de linhagens de arroz de terras altas, oriundos de diferentes processos de beneficiamento.....	48
Figura 9 – Relação entre o teor de Zn no grão (mg kg^{-1}) e a germinação (%).	52
Figura 10 – Relação entre o teor de Zn no grão (mg kg^{-1}) e o teor de Zn na plântula com 10 dias (mg kg^{-1}).	52
Figura 11 – PCA dos cinco genótipos, com aplicação ou não de sulfato de Zn, em ambos os ambientes, baseado nos caracteres avaliados e análise multielementar nos grãos de arroz.	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Composição centesimal média de arroz polido tipo 1 cru.....	19
Tabela 2 – Valores estimados para a ingestão dietética de referência recomendada de Zinco.	21
Tabela 3 – Atributos químicos e físicos do solo estudado.	29
Tabela 4 – Adubações e correções dos solos estudado.	30
Tabela 5 – Linhagens do programa de melhoramento genético de arroz de terras da Universidade Federal de Lavras em parceria com a Embrapa Arroz e Feijão e Epamig avaliadas na safra 2019/20.....	31
Tabela 6 – Resumo da análise conjunta dos caracteres: altura de plantas (cm), peso de mil grãos (PMG), renda de grãos beneficiados (%), rendimento de grãos inteiros após o beneficiamento (%) e produtividade de grãos (kg ha^{-1}).	39
Tabela 7 – Médias do caráter produtividade de grãos(kg ha^{-1}) obtidos pelas linhagens de arroz de terras altas, em função do desdobramento de genótipos x ambientes x aplicações.....	41
Tabela 8 – Resumo da análise conjunta do caráter teor de Zn (mg kg^{-1}) em grãos de linhagens de arroz de terras altas, oriundo de diferentes tipos de beneficiamento nos dois ambientes....	42
Tabela 9 – Fornecimento diário de Zn (mg dia^{-1}), de acordo com o consumo médio de arroz polido pela população mundial e pelos brasileiros dos cinco genótipos de arroz de terras altas biofortificados com sulfato de Zn.....	50
Tabela 10 – Resumo da análise de variância para as características teor de Zn mg kg^{-1} e germinação (%) em plântulas com 10 dias de germinação.	51
Tabela 11 – Efeito dos genótipos de arroz de terras altas nas eficiências de uso de Zn nos diferentes ambientes.	53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	Cultura do arroz: importância no Brasil e no mundo	16
2.2	Zinco na nutrição humana e de plantas	19
2.3	Biofortificação de alimentos e estratégias no combate à fome oculta	22
2.4	Estratégias de melhoramento genético aplicada a biofortificação de arroz.....	25
3	MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1	Locais de condução dos experimentos	28
3.2	Genótipos.....	30
3.3	Plano Experimental e condução dos experimentos	31
3.4	Características Avaliadas.....	31
3.5	Análise estatística.....	35
4	RESULTADOS	38
4.1	Caracteres agronômicos.....	38
4.2	Teor de Zn em grãos oriundos de diferentes processos de beneficiamento	41
4.3	Impacto da biofortificação na ingestão diária recomendada	49
4.4	Teste de germinação e análise do teor de Zn em plântulas.....	51
4.5	Eficiência na utilização do zinco.....	53
4.6	Análise de componentes principais (PCA)	53
5	DISCUSSÃO	55
6	CONCLUSÕES.....	61
	REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

Após a Segunda Guerra Mundial, a luta contra a fome e a concepção de um estado de segurança alimentar e bem estar nutricional perpetuou-se em âmbito global. Durante o impulso da Revolução Verde, as pesquisas concentraram-se no aumento da produtividade de grãos das culturas básicas a fim de reduzir a chaga supracitada, não dando a devida atenção no que tange à qualidade nutricional dos alimentos. O aumento de produtividade, no entanto, causou diminuição considerável nos teores de nutrientes essenciais (GARVIN et al., 2006; FAN et al. 2008; CAKMAK; KUTMAN, 2018). Além disso, enquanto os cereais básicos se tornaram mais disponíveis, os preços dos alimentos em alguns países aumentaram, tornando os alimentos ricos em micronutrientes menos acessíveis para as populações economicamente vulneráveis (GREBMER et al., 2014).

No que tange à situação do Brasil frente a essa discussão, no final de 2020, o Inquérito Nacional sobre Insegurança Alimentar no Contexto da Pandemia da Covid-19 evidenciou que em números absolutos 116,8 milhões de brasileiros não tem acesso pleno e permanente a alimentos. Desses, 19,1 milhões estavam passando fome (insegurança alimentar grave) (VIGISAN, 2021). Nessa perspectiva, esforços devem se concentrar em um aspecto crítico da fome que geralmente é esquecido: a fome oculta. Acarretada pela deficiência de micronutrientes na dieta, a fome oculta afeta mais de 2 bilhões de pessoas em todo o mundo. As consequências geradas pela deficiência dessas vitaminas e minerais são graves, causando desde comprometimento mental e até mesmo a morte (SHARMA; AGGARWAL; KAUR, 2017; FAO, 2020).

O micronutriente zinco (Zn) é essencial às plantas, sendo um constituinte de enzimas envolvidas no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios, síntese de auxina, formação de pólen e gerenciamento de genes envolvidos na tolerância ao estresse ambiental. A deficiência de zinco no solo, comum nos solos brasileiros, causa esterilidade de espiguetas nas plantas, clorose, redução do crescimento e tolerância ao estresse ambiental. A deficiência do mineral está entre as deficiências mais prevalentes nos seres humanos, atingindo cerca de 1,2 bilhão de pessoas, podendo ocasionar quadros patológicos graves, como retardo de crescimento, disfunção e comprometimento cognitivo, imunidade suprimida, pneumonia e lesões oculares (PRASAD, 2014; WANI et al., 2017).

Dessa forma, surge um novo panorama mundial que exige mudanças na pesquisa agropecuária, levando às instituições de pesquisa a direcionarem o escopo de sua atuação e rever o que consideram um bom desempenho da agricultura, no que diz respeito às práticas de segurança alimentar.

O arroz (*Oryza sativa* L.) foi uma das primeiras plantas domesticadas pelo homem, e por seu importante papel na oferta de grãos, alimentou o homem primitivo, transformando civilizações ao redor do mundo. Desde então, continua sendo um dos cereais mais produzidos e consumidos no mundo, caracterizando-se como principal alimento para mais da metade da população mundial e potencial ferramenta para a erradicação da desnutrição e da fome oculta.

O cereal é cultivado e consumido em todos os continentes e sua importância é destacada principalmente nos países em desenvolvimento, tais como o Brasil, desempenhando papel estratégico na esfera socioeconômica (FAO, 2020). A excelência do arroz na alimentação humana pode ser traduzida no fato de que o cereal é alimento básico em pelo menos 33 países e calcula-se que 80% da ingestão diária de calorias vem do arroz (LIDON et al., 2018). Diante desse fato, o emprego da biofortificação agronômica e genética em linhagens de arroz, torna-se uma estratégia extremamente interessante e promissora no combate a fome oculta, tanto nacionalmente quanto mundialmente.

Cerca de 2500 anos atrás, Hipócrates, frequentemente considerado o “pai da medicina”, adotou pela primeira vez a filosofia do “alimento como remédio”. De fato, outras estratégias podem ser adotadas para combater a deficiência de micronutrientes e amenizar suas consequências, contudo, a biofortificação agronômica e genética, caracterizadas pelo aumento do conteúdo de micronutrientes nos alimentos por meio de melhoramento convencional ou engenharia genética, aliado a práticas agronômicas, são apontadas como a alternativa mais eficientes para reduzir a deficiência de nutrientes, principalmente ferro e zinco, na população mundial (GREBMER et al., 2014).

Durante o processo de melhoramento genético, várias etapas são importantes para obtenção de cultivares biofortificadas. A primeira etapa consiste em explorar a variabilidade existente em Bancos de Germoplasma, a fim de reconhecer o potencial daquela espécie para as futuras etapas do processo de melhoramento, como a seleção e recombinação dos genótipos mais promissores. Contudo, durante esse processo de seleção é importante verificar em qual local dos grãos, nesse caso arroz, a planta é capaz de translocar e armazenar maior teor de

micronutriente. Ressalta-se esse ponto, pois, atualmente, temos grãos oriundos de diferentes tipos de beneficiamento no mercado consumidor.

Diante do exposto, objetiva-se, com a execução da presente proposta, avaliar a existência de variabilidade genética e o potencial de absorção do referido micronutriente, em linhagens elites de arroz de terras altas para as características relacionadas a biofortificação de Zn em grãos oriundos de diferentes processos de beneficiamento, visando à seleção de genótipos com alto teor desse micronutriente para serem recomendados e utilizados em um programa de biofortificação genética.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura do arroz: importância no Brasil e no mundo

A origem do arroz cultivado, *Oryza sativa* L., remonta a 10.000 anos atrás, por meio da domesticação de seu ancestral selvagem (*O. rufipogon*). Desde então, desempenha papel central na nutrição humana, sendo sua domesticação considerada uma das mais importantes inovações tecnológicas da história asiática (WEI; HUANG, 2018).

O gênero *Oryza* abrange 24 espécies, das quais apenas duas são cultivadas (*O. glaberrima* e *O. sativa*) (GE et al., 2002). A espécie *O. sativa* é diploide com $x = 12$ cromossomos ($2n = 2x = 24$), possui genoma compacto e com alta densidade gênica. Como se trata de uma espécie predominantemente autógama, o fluxo gênico no arroz cultivado é restrito. Estima-se que, devido à baixa ocorrência de polinização cruzada, associada à domesticação e seleção artificial, mais de 75% da diversidade genética existente no arroz selvagem foi perdida (ZHU et al., 2007), eliminando diversos alelos favoráveis envolvidos na tolerância a estresses bióticos e abióticos do genoma das variedades atuais.

Embora possua origem asiática, o arroz é cultivado em mais de 120 países, ocupando a terceira posição entre os grãos agrícolas mais produzidos no mundo. Em 2020, a área colhida no mundo foi de 167 milhões de hectares, liderada pela Índia, China, Indonésia e Bangladesh, somando 67% desse total (FAO, 2020). A área plantada aumentou cerca de 42% nos últimos 50 anos e continua crescendo gradualmente.

O cereal é alimento básico da dieta de mais de 50% da população mundial, sobretudo de países emergentes. Sua cadeia produtiva influencia diretamente a renda, a saúde e o bem-estar social da população. Ademais, por ser uma cultura rústica, possui ampla adaptabilidade e estabilidade de produção, fazendo do arroz uma espécie importante para a segurança alimentar do mundo.

O setor agropecuário nacional aumentou sua participação no Produto Interno Bruto (PIB) para 26,6% na economia em 2020 (IBGE, 2020). Apesar da importância da cultura, há redução de área plantada de arroz no Brasil, principalmente no caso do arroz de terras altas. O quinto levantamento da cultura do arroz da safra 2020/21 indicou redução da área plantada de 1,9% em relação à safra anterior. A CONAB prevê um consumo em torno de 10,8 milhões de toneladas no ano de 2021. A projeção de preços elevados, somada à estimativa de fortalecimento da moeda nacional podem alterar o cenário de superávit, que ocorreu no ano de

2020, tendendo para um equilíbrio entre volume exportado e importado em 1,1 milhão de toneladas (CONAB, 2021).

A lavoura orizícola brasileira é dividida em dois sistemas de produção denominados várzeas e terras altas. O arroz de terras altas foi domesticado em regiões montanhosas sob condições de sequeiro, acumulando variância genética para resistência ao déficit hídrico (XIA et al., 2019). Se caracteriza por ser cultivado fora das várzeas e por ter suas necessidades hídricas atendidas pela precipitação pluvial ou, de forma suplementar, pela irrigação por aspersão (XIA et al., 2019). No entanto, segundo Guimarães et al. (2006), o arroz de terras altas apresenta produtividades de grãos inferiores quando comparado com o arroz de várzea, sobretudo pela instabilidade climática, durante o período de cultivo e a ocorrência de doenças fúngicas.

Embora contribua com apenas 8% do total da produção nacional, o arroz de terras altas desempenha papel econômico e social importante no cerrado brasileiro, sobretudo nos estados de Mato Grosso, Rondônia, Tocantins e Goiás. Além disso, possui importância chave na segurança alimentar e nutricional da população local (CONAB, 2015, 2019b; HEINEMANN et al., 2019).

No Brasil, historicamente, os programas de melhoramento de arroz de terras altas têm se concentrado na obtenção de cultivares produtivas, de ciclo curto, resistentes a brusone (*Magnaporthe grisea*) e com adaptação específicas a solos ácidos – típicos do cerrado (SAITO et al., 2018).

Desde a década de 90, a introdução de genótipos do Center for Tropical Agriculture (CIAT) e dos Estados Unidos acelerou o processo de melhoramento para alta produtividade e qualidade de grão, visando principalmente zonas de produções favoráveis. O desenvolvimento da BRS Primavera, com qualidade de grão competitiva frente ao arroz de várzea, é um exemplo de sucesso no cenário brasileiro, sendo ainda hoje o padrão de excelência (BRESEGHELLO et al., 2011; SAITO et al., 2018).

No tocante à iniciativa privada, Breseghello et al. (2011) afirmam que a baixa densidade geográfica da cultura de arroz de terras altas no Brasil faz com que as empresas de sementes normalmente favoreçam cultivares de ampla aptidão, permanecendo pouco exploradas as variâncias relacionadas à interação genótipos x ambientes.

O arroz é classificado em três tipos de produtos: arroz beneficiado polido, parboilizado e integral. O primeiro é a forma predominantemente consumida na mesa dos brasileiros e é obtido por meio do descasque e do polimento do grão. Já o parboilizado caracteriza-se como

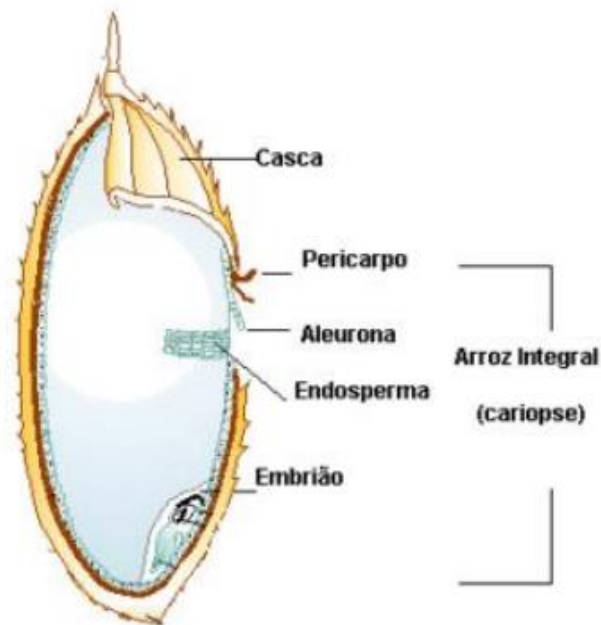
grão que, ainda em casca, foi submetido a um processo hidrotérmico que provoca a gelatinização parcial do amido, sendo, posteriormente seco, descascado e polido. O arroz integral refere-se aquele do qual somente a casca é retirada durante o processo de beneficiamento (BRASIL, 2009; EMBRAPA, 2013).

Embora muitos estudos demonstram que a ingestão do arroz integral é mais saudável do que o arroz polido, a preferência pelo arroz integral na alimentação é limitada, representando apenas 1,5% do consumo de arroz no Brasil (MOHAN et al., 2017; FERREIRA; FIGUEIREDO; LUZ, 2018; SALEH et al., 2019).

Diante disso, o conhecimento a respeito da estrutura do grão de arroz, que é consumido principalmente na forma de grãos inteiros cozidos, é fundamental para o entendimento de suas propriedades físicas e químicas.

O grão de arroz maduro (FIGURA 1) consiste da cariopse envolvida pela casca – camada protetora. A cariopse é formada por diferentes camadas, sendo as mais externas o pericarpo, o tegumento e a camada de aleurona, que juntas representam 5-8% do peso do arroz integral. O embrião está localizado no lado ventral na base do grão, é rico em proteínas e lipídios, e representa 2-3% do arroz integral. O endosperma forma a maior parte do grão (89-94% do arroz integral) e consiste de células ricas em grânulos de amido e com alguns corpos proteicos (JULIANO; TUAÑO, 2018).

Figura 1 – Estrutura do grão de arroz maduro.



Fonte: (GALERA, 2006)

Sob o aspecto nutricional o grão de arroz é considerado uma excelente fonte de energia devido à alta concentração de amido, fornecendo também proteínas, vitaminas, minerais, fibras e por possuir baixo teor de lipídeos (TABELA 1). Nos países em desenvolvimento, onde o arroz é um dos principais alimentos da dieta, ele é responsável por fornecer, em média, 715 kcal per capita por dia, 27% dos carboidratos, 20% das proteínas e 3% dos lipídeos da alimentação (KENNEDY; BURLINGAME, 2003).

Tabela 1– Composição centesimal média de arroz polido tipo 1 cru.

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL	Porção de 100g
Umidade	13%
Valor Energético	346 kcal
Carboidratos	79,1 g
Fibra Alimentar	1,69 g
Proteínas	7,05 g
Lipídeos	0,51 g
Cinzas	0,48 g
Zinco	1,84 mg

Fonte: Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TBCA (2020)

2.2 Zinco na nutrição humana e de plantas

O zinco (Zn) é um metal de transição de número atômico 30, possui coloração branco-azulada com propriedades lustrosas e diamagnéticas. Sendo o 23º elemento mais abundante da crosta terrestre, o zinco forma numerosos sais solúveis – incluindo haletos, sulfatos e nitratos – compostos pouco solúveis e uma variedade de complexos orgânicos solúveis e insolúveis. Sua utilização remonta a antiguidade, e tem sido útil à humanidade desde o mundo antigo. Além disso, o mineral desempenha papel central em diversos processos biológicos, sendo representado em diversas classes enzimáticas (BROADLEY et al., 2007; SCHÖNNENBECK; NEUMANN, 2015; WANI et al., 2017).

No solo, o teor natural de Zn está relacionado a composição química da rocha de origem e aos processos de intemperismo. Pesquisas demonstram que o teor de zinco em solos normais tende a variar de 10 – 100 mg kg⁻¹, apresentando, no mundo, um valor médio de 64 mg kg⁻¹ (KABATA-PENDIAS, 2010; MERTENS J., 2013). O aporte de Zn no solo pode ocorrer de várias formas como: lixiviação de Zn pelas rochas (WUANA; OKIEIMEN, 2011), erosão (LIU et al., 2015), fenômenos naturais (PRASAD, 2008), mineração, metalúrgica, indústria,

fertilização agrícola, atividades relacionadas a saneamento (e.g., lodo de esgoto e água residuária) e energia (e.g., usina a carvão) e precipitação atmosférica (DONG; CHEN; CHEN, 2012; MATEOS-NARANJO; CASTELLANOS; PEREZ-MARTIN, 2014; WUANA; OKIEIMEN, 2011). É reconhecido que o Zn é absorvido pelas plantas na forma Zn^{2+} ou por meio de ligações com ácidos orgânicos. O nutriente se acumula nos tecidos radiculares até que seja translocado, por meio do xilema, para a parte aérea (BROADLEY et al., 2007; NOULAS; TZIOUVALEKAS; KARYOTIS, 2018).

A disponibilidade do micronutriente no solo normalmente é baixa, sendo afetada por fatores que controlam a quantidade de Zn na solução do solo, bem como sua adsorção - dessorção nesse sistema. Esses fatores incluem: teor total de Zn, teor de argila, teor de carbonato de cálcio, atividade microbiana na rizosfera, umidade do solo e concentração de outros nutrientes, principalmente fósforo (SHARMA et al., 2013). Essa baixa disponibilidade, limita a absorção do nutriente pelas plantas que, conseqüentemente, diminuirá o fornecimento do Zn aos animais que consumirem suas partes.

O Zn é um micronutriente essencial para as plantas, e está envolvido em várias funções fisiológicas essenciais, como: estrutura da membrana, fotossíntese, atividade da auxina, metabolismo de lipídios e ácidos nucleicos, expressão e regulação genica, síntese de proteínas e na resistência contra doenças e déficit hídrico. Como cofator, ativa diferentes fito-hormônios, necessários para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Além disso, é essencial para numerosos processos bioquímicos, como produção de nucleotídeos, metabolismo da auxina, ativação enzimática e formação de clorofila (CHANG; LIN; HUANG, 2005; BEGUM et al., 2016). Os sintomas visuais de deficiência incluem entrenós curtos e folhas pequenas. As folhas mais novas geralmente são afetadas primeiro e podem apresentar sinais de clorose internerval (NOULAS; TZIOUVALEKAS; KARYOTIS, 2018).

O Zn é também um elemento essencial na nutrição humana. Estima-se que a quantidade presente no corpo humano de um adulto varia entre 2-4 g, estando amplamente distribuídos nos diversos tecidos. No organismo, apresenta diversas funções biológicas essenciais, sendo o íon central de diversas classes enzimáticas (WANI et al., 2017). A deficiência de zinco afeta cerca de 2 bilhões de pessoas no mundo e, aproximadamente 17,3% da população mundial está sob risco de ingestão inadequada de zinco (WESSELLS; BROWN, 2012; CHEN et al., 2017). A deficiência do micronutriente está relacionada a quadros patológicos graves, como diarreia, imunidade suprimida, teratogênese, pneumonia, atrofia e lesões oculares (WANI et al.,

2017). A deficiência surge, na maioria das vezes, em função de níveis insuficientes de Zn nos alimentos e presença de compostos quelantes.

Outro aspecto em que a deficiência de zinco está relacionada é com resposta imunológica antiviral. O micronutriente atua de maneira sinérgica quando administrado com a terapia antiviral padrão para diversos vírus causadores de doenças de importância como hepatite C, HIV e SARS-Cov-1. Essa eficácia do Zn contra uma série de vírus ocorre principalmente pela interferência do elemento na replicação viral, que incluem: inativação do vírus livre, inibição do desencapsulamento viral e por meio da inibição da transcrição e tradução de proteínas virais (READ et al., 2019). Atualmente, a COVID-19 que é causada pelo SARS-CoV-2 representa o maior desafio de saúde global. Diversos efeitos antivirais, mediados pelo Zn, foram demonstrados anteriormente para diversos nidovírus, ordem da qual o SARS-CoV-2 pertence. Isso sugere que a suplementação de Zn pode ser benéfica para a profilaxia e o tratamento da COVID-19 (KUMAR et al., 2020).

A ingestão diária recomendada (RDA) de Zn é de 11 mg dia⁻¹ para homens e 8 mg dia⁻¹ para mulheres. Entretanto, em algumas fases da vida, ocorre um aumento nas necessidades do mineral (PADOVANI et al., 2006) (TABELA 2).

Tabela 2 – Valores estimados para a ingestão dietética de referência recomendada de Zinco.

Idade	Zinco mg dia⁻¹
Bebês (0-1 ano)	3
Crianças (1-10 anos)	5
Homens (11-51+)	11
Mulheres (11-51+)	8
Grávidas	11
Lactantes (primeiros 6 meses)	12

Fonte: HHS - U.S. Department of Health & Human Services

Para suprir estas necessidades, as principais fontes ricas em zinco incluem carnes em geral, frutos do mar, leites e derivados, cereais em grãos integrais, feijão, nozes, amêndoas,

castanhas e sementes de abóbora. É importante salientar que a ingestão alimentar, sobretudo através de fontes vegetais, não garante a utilização celular deste micronutriente. O fitato, por exemplo, é um dos compostos mais importantes a serem considerados na determinação da biodisponibilidade de zinco, visto sua alta capacidade de ligação com cátions. Como o fitato não pode ser degradado por enzimas endógenas humanas, o zinco quando ligado a substância não pode ser absorvido (DAHDOUH et al., 2019).

Em comparação com alimentos de origem animal, os alimentos à base de cereais, como trigo e arroz, são classificados como fontes muito pobres em Zn, tanto em conteúdo quanto em biodisponibilidade. Sendo assim, a recomendação de ingestão diária do micronutriente pode ser até três vezes maior para dietas com baixa biodisponibilidade, quando comparada a dietas com alta disponibilidade para o mineral (CAKMAK; KUTMAN, 2018).

Isso evidencia a problemática que existe na esfera mundial ao considerar que, atualmente, a maior parte da população mundial depende substancialmente de alimentos à base de cereais como principal fonte de energia e minerais (CAKMAK; KUTMAN, 2018).

2.3 Biofortificação de alimentos e estratégias no combate à fome oculta

A biofortificação, diz respeito ao aumento do conteúdo de minerais e vitaminas dos produtos agrícolas, utilizados na alimentação humana. Não é um conceito novo, surgindo em função da preocupação com o aumento dos índices de desnutrição no mundo e idealizado há mais de uma década como uma maneira de melhorar significativamente as deficiências relacionadas a baixa ingestão de minerais e vitaminas (BASHIR et al., 2013). Pode ser realizada por meio do melhoramento vegetal convencional ou biotecnológico e ou por práticas agrônômicas, das quais se destaca a adubação (BOUIS; SALTZMAN; BIROL, 2019).

No que diz respeito à fome, um aspecto crítico que merece atenção das instituições de pesquisas é a deficiência por micronutrientes, comumente conhecida como fome oculta. A fome oculta ocorre quando os níveis de ingestão e absorção de vitaminas e minerais essenciais são baixos demais para sustentar a boa saúde e desenvolvimento normal do indivíduo (GREBMER et al., 2014).

O uso intensivo de recursos ambientais, o uso de cultivares agrícolas altamente produtivas e pesadas adubações de macronutrientes, para aumentar a oferta de alimentos, sem as devidas compensações de micronutrientes, diminuirão a qualidade micronutricional dos

alimentos vegetais (SHIVAY; PRASAD, 2017), e como consequência o agravamento de problemas nutricionais em seres humanos. A desnutrição e a insegurança alimentar afetam a maior parte da população mundial (FAO, 2020), e grande parte deste problema é causado pela deficiência de micronutrientes que afeta 2 bilhões de pessoas, sendo a Ásia e África os mais prejudicados (MUTHAYYA et al., 2013). Portanto, o desenvolvimento de estratégias que buscam aprimorar a quantidade e qualidade micronutricional em alimentos de forma eficiente são necessárias.

Em países em desenvolvimento, o consumo de frutas, legumes e carnes é baixo, de modo que formas alternativas de combate à deficiência de nutrientes devem ser implementadas para minimizar a fome oculta. Sendo assim, a biofortificação genética e ou agrônômica é uma solução sustentável e econômica frente à problemática da desnutrição, pelo incremento do teor de minerais na alimentação base (SINGH; PRASAD, 2014). Ao contrário de outras formas de fornecimento de nutrientes, como a suplementação e a fortificação, a biofortificação além de eficiente, possui um custo menor que os outros métodos.

Em face do exposto, o Harvest Plus emergiu como um programa de combate à desnutrição em países subdesenvolvidos, por meio do melhoramento genético de alimentos base, aumentando seu teor de micronutrientes. Esse programa é coordenado pelo CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) e IFPRI (Instituto de Pesquisa sobre Políticas Alimentares), que possuem parcerias com várias instituições de ensino e entidades executoras em todo o mundo. Em 2016, o diretor do Harvest Plus, Howarth Bouis, foi laureado com o *World Food Prize*, principal prêmio global que reconhece indivíduos cujas conquistas revolucionárias aliviam a fome e promovem a segurança alimentar no mundo.

Sob essa ótica objetiva, o Projeto HarvestZinc (www.harvestzinc.org), em andamento em sua 4ª fase, surgiu no âmbito do Harvest Plus objetivando a avaliação do potencial de fertilizantes para aumentar a concentração de Zn nos grãos, além de melhorar a produção agrícola em diferentes países-alvo (por exemplo, Índia, China, Paquistão, Tailândia, Turquia, Moçambique, Zimbábue e Brasil). Basicamente, a fertilização com zinco é adotada para manter uma quantidade suficiente do cátion disponível na solução do solo, bem como para manter o transporte adequado de Zn às sementes durante o enchimento de grão (SINGH; PRASAD, 2014).

Segundo Gómez e Ricketts (2013), o desenvolvimento de políticas governamentais para uma melhor ingestão nutricional de classes menos favorecidas é de extrema importância. A biofortificação é altamente viável no que se refere ao combate da desnutrição, sobretudo em

classes sociais vulneráveis que baseiam a sua dieta em grãos (e.g., arroz, trigo, milho) naturalmente deficientes em microelementos, muitas vezes obtidos da agricultura de subsistência e que não foram submetidos a processos de fortificação (BLANCQUAERT et al., 2017; BOUIS; SALTZMAN, 2017; GARG et al., 2018). Sendo assim, a biofortificação deve ser normatizada mundialmente para estabelecer critérios de processamento, marketing e consumo para a difusão eficiente de alimentos biofortificados (HAWKES et al., 2012).

Tem sido observado que plantas obtidas de sementes com altos teores de minerais apresentam maior germinação, vigor e melhor desenvolvimento inicial em condições de estresse (bióticos e abióticos) (BOARETTO; MORAES, 2010). Já foi elucidado na literatura, que sementes biofortificadas com Zn apresentam um desempenho superior às não biofortificadas, especialmente em solos com deficiência do mineral. Adicionalmente, estudos demonstram superioridade de sementes biofortificadas com Zn em suprimir algumas doenças fúngicas de solo (CAKMAK; KUTMAN, 2018), melhoria no vigor e desenvolvimento de plântula, sobretudo em situação de estresse hídrico (CANDAN; CAKMAK; OZTURK, 2018; EI et al., 2020).

Apesar de grande parte dos nutrientes serem assimilados pelas plantas via solo (BENKEBLIA, 2020), características intrínsecas ao genótipo e a insuficiência de nutrientes no solo, dificultam a disponibilidade destes para as plantas (FAGERIA et al., 2009; FERNÁNDEZ; SOTIROPOULOS, BROWN, 2013). No Zn, fontes como o sulfato de zinco ($ZnSO_4$), quelatos de ácido orgânico Zn (Zn-EDTA e Zn-DTPA, Zn-glicina e Zn-arginina), nanopartículas e nanoquelatos de Zn podem ser utilizadas em aplicações foliares (BENKEBLIA, 2020). Na cultura do arroz, adubações foliares com $ZnSO_4$ mostraram um aumento de 32% do teor de Zn no grão, em comparação ao tratamento controle (IMRAN et al., 2015).

Em revisão de diversos trabalhos, realizado por Benkeblia (2020), sugere-se que as aplicações foliares de Zn de devem estar posicionadas entre o pré-florescimento (emborrachamento) e enchimento de grãos.

Nesse contexto, o melhoramento convencional, engenharia genética e intervenções agronômicas, sobretudo o uso de fertilizantes, são as principais ferramentas utilizadas para a biofortificação com Zn. Entretanto, a maior parte do solo cultivado no mundo apresenta problemas físico-químicos que reduzem a disponibilidade do mineral às plantas. Sob tais condições, os genótipos obtidos via melhoramento genético podem ser incapazes de expressar todo seu potencial. Sendo assim, a abordagem agronômica apresenta importantes efeitos

sinérgicos nas abordagens clássicas e moleculares do melhoramento de plantas (CAKMAK; KUTMAN, 2018; CHANAKAN et al., 2020)).

2.4 Estratégias de melhoramento genético aplicada a biofortificação de arroz

O melhoramento genético é uma estratégia promissora para minimizar a deficiência de micronutrientes por meio do incremento no teor de vitaminas e minerais. O sucesso do processo é dependente do uso de tecnologias, acesso a recursos, gestão, investimento, visando sempre atender as características do mercado e que seja economicamente sustentável para o agricultor e consumidor.

O melhoramento genético de arroz no mundo está focado no aumento de produtividade juntamente com uma melhor qualidade físico-química dos grãos. A triagem de genótipos locais, espécies selvagens e cultivares convencionais pode ser utilizada para identificar variações alélicas naturais em arroz para gerar linhagens com alto teor de micronutrientes. Esta, geralmente, é a etapa inicial de um programa de melhoramento visando a biofortificação.

Anuradha et al. (2012) analisaram para teor de Fe/Zn no arroz integral, 126 acessos, incluindo cultivares tradicionais, genótipos selvagens e acessos de germoplasma local. A concentração de Fe variou de 6,2 a 71,6 mg kg⁻¹ e a concentração de Zn variou de 26,2 a 67,3 mg kg⁻¹, e ambos foram maiores em genótipos selvagens. Mais recentemente, um total de 159 genótipos coletados em diferentes estados da Índia foram analisados, apresentando variações na concentração de Fe (6,9 – 22,3 mg kg⁻¹) e Zn (14,5 – 39,2 mg kg⁻¹), com correlação positiva moderada ($r = 0,5\%$) entre o conteúdo desses micronutrientes em arroz integral (MAGANTI; SWAMINATHAN; PARIDA, 2020).

O melhoramento convencional exerce um papel significativo na biofortificação do arroz, sobretudo em aumentos do teor de Fe e Zn, entretanto, alguns gargalos precisam ser superados para cultivares desenvolvidas receberem atenção da comunidade de agricultores, como por exemplo: manutenção ou aumento da produtividade das culturas, estabilidade do nível de nutriente na parte comestível em diferentes ambientes e condições de cultivo, incentivo governamental para produção de alimentos biofortificados (BENKEBLIA, 2020).

Os programas de melhoramento genético de arroz têm como objetivo o desenvolvimento de genótipos superiores pelo emprego de diferentes métodos de melhoramento. Discorrendo sobre os métodos mais utilizados para explorar a diversidade genética disponível destacam-se a introdução de germoplasma, seleção de linhas puras e a hibridação com posterior seleção em

populações segregantes, e mais atualmente, o emprego de engenharia genética (FONCECA et al., 2008).

O desenvolvimento de mapas genéticos robustos e sua disponibilidade no banco em banco de dados tornaram possível a aplicação da seleção assistida por marcadores moleculares para características intrínsecas as principais regiões de um *quantitative trait loci (QTL)*. A base genética do acúmulo de micronutrientes, identificação de genes e mapeamento de QTL auxiliam no desenvolvimento de estratégias mais eficientes para biofortificação. Em arroz, QTL's para teores de Fe e Zn foram mapeados utilizando diferentes populações biparentais. Essas populações incluem progênie F₂ (KUMAR; JAIN; JAIN, 2014), linhagens endogâmicas recombinantes (ZHANG et al., 2014; SUMAN et al., 2021), linhagens duplo haploides (DESCALSOTA-EMPLEO et al., 2019; CALAYUGAN et al., 2020) e retrocruzamentos de linhagens endogâmicas (GARCIA-OLIVEIRA et al., 2009). Recentemente, foram identificados três QTL's para teor de Zn e dois para teor de selênio (Se) no grão, os principais QTL's foram piramidados. As linhagens oriundas da piramidação apresentaram significativo incremento no teor de Zn e Se, bem como, baixo teor de cádmio nos grãos, confirmando que a piramidação de QTL's é uma estratégia eficiente no desenvolvimento de linhagens de arroz com maior aptidão para biofortificação (LIU et al., 2020).

Na ausência de variabilidade genética, a engenharia genética surge como alternativa para desenvolvimento de variabilidade genética, por meio da identificação de alelos candidatos para maior translocação e acúmulo de um dado micronutriente. Esses genes podem ser inseridos em culturas de importância ou até mesmo superexpressos através de técnicas biotecnológicas. A superexpressão de *nicotianamina sintase (NAS)*, que aumenta a síntese de nicotianamina, tem sido amplamente utilizada nos estudos de biofortificação do arroz, levando a um aumento de até 4,5 vezes na concentração de Fe em arroz polido. A estratégia é eficiente pois melhora a absorção do Fe, bem como sua translocação (KAWAKAMI; BHULLAR, 2021).

Provavelmente, o melhor exemplo conhecido da utilização da engenharia genética visando o aumento do teor de nutrientes e vitaminas em arroz foi a obtenção do *Golden rice*, uma variedade de arroz transgênico que sintetiza o betacaroteno, um precursor da vitamina A. O *Golden rice* difere da maioria dos eventos transgênicos pela inserção de três transgenes necessários para a biossíntese do betacaroteno: fitoeno sintase (*psy*) de *Narcissus pseudonarcissus*, ζ-caroteno dessaturase de *Erwinia uredovora* e licopeno β-ciclase de *Narcissus pseudonarcissus* (AMNA et al., 2020). A transformação foi mediada por *Agrobacterium tumefaciens* e consistente com a expectativa, o arroz transformado expressou

endosperma amarelo, sinalizando a expressão de betacaroteno. Experimentos adicionais revelaram que o licopeno β -ciclase era dispensável, levando a construção do plasmídeo pB19hpc com fosfomanose isomerase (PMI) como marcador de seleção, ao invés de genes de resistência a antibióticos, garantindo assim questões de biossegurança (ROYCHOUDHURY; BHOWMIK, 2020). Em 2018, o *Golden rice* recebeu três avaliações positivas das principais agências reguladoras do Canadá, Austrália, Nova Zelândia e Estados Unidos, no final de 2019, a Filipinas aprovou a utilização direta como alimento humano e animal, ou para processamento (ISAAA, 2021).

No Brasil, a rede Biofort obteve um aumento no teor de ferro e zinco de aproximadamente 100% e 50% respectivamente, em comparação com a média encontrada no arroz polido convencional (BIOFORT, 2021). Isso evidencia os avanços que podem ser obtidos para essa característica através do melhoramento genético aliado a biofortificação agrônômica

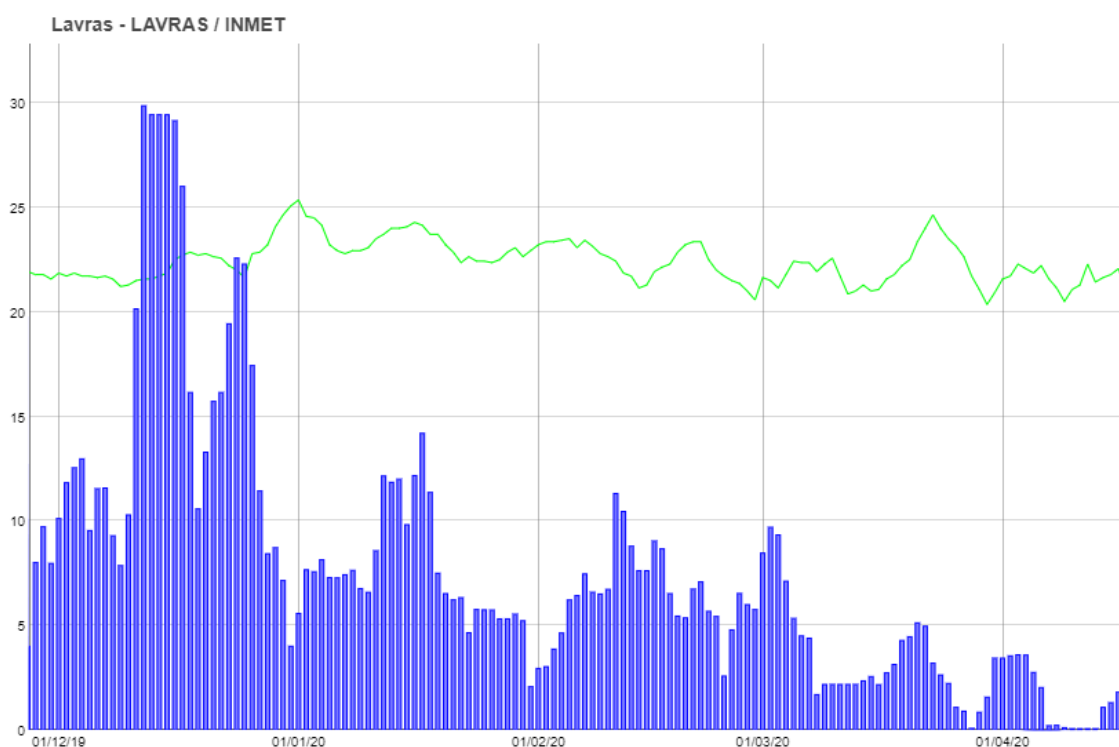
3 MATERIAL E MÉTODOS

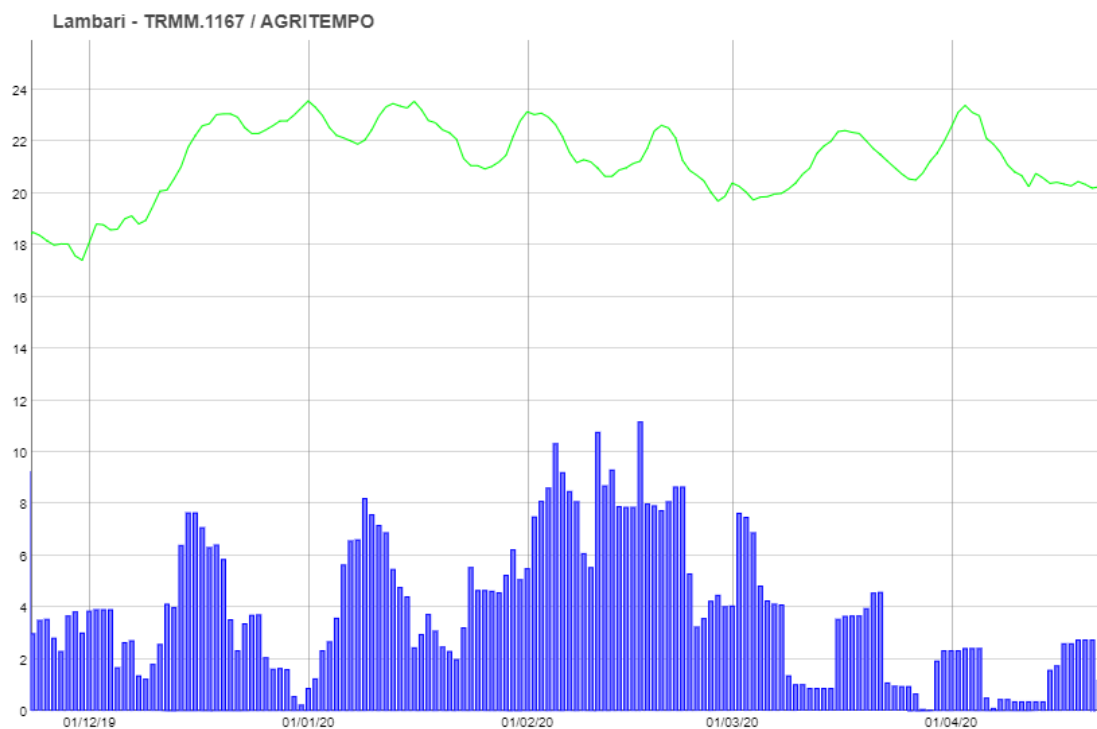
3.1 Locais de condução dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos em dois ambientes: 1. Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Agropecuária (Fazenda Muquém), localizado na Universidade Federal de Lavras, a uma altitude de 918 m, 21°14' de latitude sul e 45°00' de longitude oeste; 2. Campo Experimental da EPAMIG localizado no município de Lambari, a uma altitude de 887 m, 21° 58' de latitude sul e 45° 21' de longitude oeste. Os dados de climatologia dos ambientes estão representados na Figura 2.

Anteriormente à instalação dos experimentos foram coletadas amostras de solo, na profundidade de 0 – 20 cm, para análise das propriedades físico-químicas dos solos (TABELA 3). Os atributos físico-químicos foram determinados de acordo com as metodologias propostas pela Empresa Brasileira de Agropecuária (TEIXEIRA et al., 2017). Foram realizadas as correções e adubações necessárias (TABELA 4) conforme as recomendações para o estado de Minas Gerais.

Figura 2 – Precipitações e temperaturas médias durante o período de dezembro a abril da safra 2019/2020, nas cidades de Lavras - MG e Lambari - MG.





Fonte: Agritempo - Sistema de Monitoramento Agrometeorológico (2021)

Tabela 3 – Atributos químicos e físicos do solo estudado.

Atributos (0-20 cm)	Lavras	Lambari
pH	4,9	4,7
$K_{\text{trocável}} \text{ (mg dm}^{-3}\text{)}$	86,85	62,07
$P_{\text{trocável}} \text{ (mg dm}^{-3}\text{)}$	20,64	12,49
$Ca_{\text{trocável}} \text{ (cmol dm}^{-3}\text{)}$	2,26	1,55
$Mg_{\text{trocável}} \text{ (cmol dm}^{-3}\text{)}$	0,59	0,21
$Al_{\text{trocável}} \text{ (cmol dm}^{-3}\text{)}$	0,30	1,10
$H+Al \text{ (cmol dm}^{-3}\text{)}$	7,50	8
$SB \text{ (cmol}_c \text{ dm}^{-3}\text{)}$	3,07	1,92
$t \text{ (cmol}_c \text{ dm}^{-3}\text{)}$	3,37	3,02
$T \text{ (cmol}_c \text{ dm}^{-3}\text{)}$	10,57	9,92
V (%)	29,07	19,35
M (%)	8,90	36,42
M.O. (dag kg ⁻¹)	2,64	2,63
P-Rem (mg L ⁻¹)	19,50	12
$Zn_{\text{trocável}} \text{ (mg dm}^{-3}\text{)}$	2,70	1,20
$Fe_{\text{trocável}} \text{ (mg dm}^{-3}\text{)}$	30,60	66,90

Mn _{trocável} (mg dm ⁻³)	12	17,10
Cu _{trocável} (mg dm ⁻³)	0,40	69,50
B _{trocável} (mg dm ⁻³)	0,08	0,01
S _{trocável} (mg dm ⁻³)	5,30	4,80
Argila (dag kg ⁻¹)	46	36
Silte (dag kg ⁻¹)	13	32
Areia (dag kg ⁻¹)	41	32

pH= potencial hidrogeniônico; K= potássio; P = fósforo; Mg= magnésio; Al= alumínio ou acidez trocável; H+Al= acidez total; SB= soma de bases; t= capacidade de troca catiônica efetiva; T= capacidade de troca catiônica total; V= saturação por bases; M= saturação por alumínio; M.O.= matéria orgânica; Mn= manganês; Cu= cobre; B= boro.

Tabela 4 – Adubações e correções dos solos estudado.

Correção antes do plantio (60 dias antes da semeadura)			
Nutrientes	Lavras	Lambari	Fontes
Ca e Mg	V%=50	NA	CaCO ₃ /MgCO ₃
Adubação de plantio			
N	20 kg ha ⁻¹	20 kg ha ⁻¹	8-28-16/U
P	35 kg ha ⁻¹	70 kg ha ⁻¹	8-28-16
K	20 kg ha ⁻¹	40 kg ha ⁻¹	8-28-16
Adubação de cobertura (40 dias após a semeadura)			
N	50 kg ha ⁻¹	50 kg ha ⁻¹	SA
K	20 kg ha ⁻¹	20 kg ha ⁻¹	KCl

8-28-16= formulado comercial com as respectivas porcentagens de nitrogênio, fósforo e potássio; CaCO₃/MgCO₃= calcário dolomítico; NA = não aplicado devido a problemas operacionais; KCl= cloreto de potássio; N= nitrogênio; U= ureia; SA= sulfato de amônio.

3.2 Genótipos

Foram avaliados cinco genótipos pertencentes ao ensaio de Valor de Cultivo e Uso (VCU) do programa de melhoramento genético de arroz de terras altas do convênio entre a Universidade Federal de Lavras (UFLA), Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) e Embrapa Arroz e Feijão. A escolha desses genótipos baseou-se nos resultados obtidos anteriormente por Félix (2019), os quais demonstraram-se eficientes na absorção de micronutrientes e na sua translocação para o grão.

Tabela 5 – Linhagens do programa de melhoramento genético de arroz de terras da Universidade Federal de Lavras em parceria com a Embrapa Arroz e Feijão e Epamig avaliadas na safra 2019/20.

Identificação	Genótipos
1	BRS Esmeralda
2	CMG 2188
3	ERF 221-16
4	ERF 221-19
5	ERF 85-15

3.3 Plano Experimental e condução dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos na safra 2019/20, com plantio realizado em dezembro de 2019 e colheita em abril de 2020. O delineamento experimental empregado foi o de blocos completos casualizados, em esquema fatorial 5x2, com três repetições. Os tratamentos foram constituídos de cinco genótipos, associados com e sem a aplicação de sulfato de zinco ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$). As parcelas experimentais foram constituídas por cinco linhas de 4,0 m espaçadas em 0,4 m. As duas linhas externas de cada parcela foram desprezadas na colheita para evitar mistura varietal, sendo a área útil de 4,8 m². A densidade de semeadura foi de 80 sementes/metro nos dois ambientes.

Foi utilizado a semeadura direta e manejo semelhante ao adotado para o plantio comercial na região, sendo irrigado, quando necessário, por meio do sistema de aspersão. Na condução do experimento, foram feitas duas aplicações via foliar de sulfato de zinco ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) na dosagem de 3 kg ha⁻¹, sendo uma aplicação no estágio de alongação de panícula e outra no estágio de enchimento de grãos, visando à acumulação deste pela planta de arroz. Cada parcela se distanciou uma da outra em 0,8 m, visando minimizar o efeito de deriva durante as aplicações.

A solução de sulfato de zinco foi preparada em laboratório, para se obter a concentração de 1 g L⁻¹ de Zn na mistura. Foram acrescentados 5 mL de adjuvante Assist® por L de solução.

3.4 Características Avaliadas

Durante a condução dos experimentos foram avaliadas as seguintes características:

a) Altura de plantas (cm):

Após a emergência, cinco plantas por parcela foram previamente marcadas e identificadas. A altura de plantas foi determinada pela média das alturas individuais das cinco plantas, obtidas com régua graduada a distância entre o nível do solo à extremidade da panícula mais alta.

b) Produtividade de grãos (kg ha⁻¹):

Corresponde à extrapolação do peso dos grãos da área útil da parcela (4,8 m²), após colheita e secagem para 13% de umidade, para 10.000 m².

c) Peso de 1000 grãos (gramas):

Foram coletadas aleatoriamente 8 amostras de 100 grãos, e essas posteriormente pesadas em balança de precisão segundo as normas da Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Das 8 amostras obtidas, realiza-se uma média e posteriormente multiplica pelo fator 10 para obter a massa de 1000 grãos.

d) Renda (%):

Foi obtida uma amostra de 100 g de arroz em casca de cada parcela, as amostras foram beneficiadas (descascadas e polidas) e pesadas. Este processo foi realizado no moinho do modelo Suzuki MT 10.

A renda foi determinada por meio do cálculo percentual de massa de grãos inteiros e quebrados após o beneficiamento em relação à massa inicial dos grãos com casca, conforme a fórmula:

$$Renda (\%) = \frac{\text{Rendimento de grãos beneficiados e brunidos (inteiros + quebrados)}}{\text{Massa de grãos em casca}}$$

e) Rendimento (%):

Foi contabilizado a massa de grãos inteiros e quebrados de cada parcela, resultante do beneficiamento dos grãos de arroz. Este processo foi realizado por meio do moinho modelo Susuki MT 10 e um trieur nº 02. O rendimento de grãos inteiros foi determinado por meio do cálculo percentual de grãos inteiros, conforme a fórmula.

$$Rendimento (\%) = \frac{\text{Rendimento de grãos beneficiados e polidos (inteiros)}}{\text{Massa de grãos em casca}}$$

f) Teste de Germinação (G)

Para o teste de germinação foram utilizadas três repetições de 50 sementes, tendo como substrato o rolo de papel “germitest” umedecido com água destilada no volume de 2,5 vezes o peso do papel. Posteriormente as sementes permaneceram em um germinador digital para germinar previamente regulado à temperatura constante de 25°C. A avaliação da germinação foi realizada no quinto e décimo dia após instalação do teste por contagem das plântulas consideradas

normais, segundo critérios estabelecidos pelas RAS (BRASIL, 2009). Após o teste de germinação, as plântulas foram submetidas a um processo de secagem em estufa 60°C para serem submetidas a análise de teor de zinco.

g) Análise do teor de zinco nos grãos de arroz e plântulas (USEPA 3051A):

Após a colheita e secagem, uma amostra de 30 g de grãos de arroz foi retirada de cada área útil da parcela experimental. Partes das amostras obtidas foram submetidas a diferentes processamentos industriais para obtenção dos grãos integrais e polidos. Portanto, para a determinação dos teores de Zn nas amostras de grãos de arroz oriundos dos diferentes processamentos, foram realizadas o mesmo procedimento que foi descrito a seguir.

A metodologia de extração de Zn utilizada foi a 3051A, proposta pela (USEPA, 2007). Esse método é considerado o procedimento oficial dos EUA para a determinação de elementos-traço em solos, adubos e outros materiais.

O teor de Zn foi analisado da seguinte forma: em uma alíquota de aproximadamente 0,5 g de grãos de arroz moídos foram adicionadas 5mL de $\text{HNO}_3 \geq 65\%$ concentrado, em tubos de teflon® (PTFE), que posteriormente foram hermeticamente fechados e levados ao forno micro-ondas, marca CEM, modelo Mars-5, à pressão de 0,76 Mpa, durante 15 minutos. No extrato obtido, foram adicionados mais 5 mL de água bidestilada, para dar procedimento à análise multielementar, baseada na metodologia descrita pela United States Environmental Protection Agency (USEPA, 2007).

O teor de Zn nas soluções digeridas foi determinado através de espectrometria de emissão de plasma acoplada indutivamente (ICP-OES) da marca Spectro, modelo azul (Alemanha), com correção de fundo. Além disso, amostras de materiais de referência padrão de Zn (Tomato leaves – NIST SRM 1573a) para material vegetal foram incluídas em cada bateria de digestão para garantia e controle de qualidade dos resultados analíticos. O extrato digerido foi aproveitado para leitura Ca, Mg, P, S, K, Cu, Fe e Mn total.

h) Cálculo dos limites de detecção e quantificação de zinco

O limite de detecção (LOD) é a menor concentração de um componente em uma amostra que pode ser detectado, mas não necessariamente quantificado, nas condições declaradas no teste, enquanto que o limite de quantificação (LOQ) é a concentração mais baixa de um componente

em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis nas condições declaradas no teste.

Os LOD's e LOQ's foram estimados utilizando-se 10 extratos em branco, seguindo o procedimento geral de análise. Os valores foram calculados com três e dez vezes o desvio padrão (LOD e LOQ, respectivamente) das 10 soluções em branco preparadas individualmente para análise dos grãos (SHRIVASTAVA; GUPTA, 2011).

i) Eficiência do uso de Zn:

Com a determinação do teor de Zinco nos grãos e com base na adaptação do cálculo realizado por Ducsay et al. (2016), foi calculado o acúmulo de Zn nos grãos (ZnA) (mg ha^{-1}), que é derivado da multiplicação do teor de Zn nos grãos (mg kg^{-1}) pela produtividade de grãos (kg ha^{-1}). Também foi calculado a eficiência agrônômica (kg kg^{-1}), eficiência agro-fisiológica (kg g^{-1}) e eficiência de absorção de Zn pelo grão (ZnEA%), de acordo com Fageria (2009), usando as seguintes equações.

Eficiência agrônômica (EA): A eficiência agrônômica é definida como a produtividade obtida por kg de nutriente aplicado.

$$EA = \frac{\{[\text{Produtividade}]_{\text{com aplicação}} - [\text{Produtividade}]_{\text{sem aplicação}}\}}{[\text{Zn}]_{\text{Dose}}}$$

Eficiência agro-fisiológica (EAF): É definida como a produtividade obtida por g de nutriente absorvido.

$$EAF = \frac{\{[\text{Produtividade}]_{\text{com aplicação}} - [\text{Produtividade}]_{\text{sem aplicação}}\}}{[\text{Zn absorvido}]_{\text{com aplicação}} - [\text{Zn absorvido}]_{\text{sem aplicação}}}$$

Eficiência de absorção (ZnEA): É definida como a porcentagem do nutriente absorvido do nutriente aplicado.

$$\text{ZnEA} = \frac{\{[\text{Zn absorvido}]_{\text{com aplicação}} - [\text{Zn absorvido}]_{\text{sem aplicação}}\} * 100}{[\text{Zn}]_{\text{Dose}}}$$

3.5 Análise estatística

Após a coleta dos dados, foram realizados os testes de pressuposições da ANOVA, referente a normalidade, independência e homogeneidade das variâncias do resíduo. Sendo atendido esses pressupostos, realizaram-se as análises de variâncias individuais e conjuntas por meio do programa R (R Core Team, 2020).

As análises de variância individuais foram realizadas considerando o delineamento em blocos casualizados, com dois fatores. O seguinte modelo estatístico foi empregado:

$$Y_{ijk} = \mu + g_i + b_j + z_k + gz_{ik} + e_{ijk}$$

Em que:

Y_{ijk} : observação referente ao genótipo i , na repetição j , dentro do fator com ou sem zinco k ;

μ : constante associada às observações (média geral);

g_i : efeito fixo do genótipo i ($i = 1, 2, \dots, 5$);

b_j : efeito fixo do bloco j ($j = 1, 2, 3$);

z_k : efeito fixo do fator zinco k ($k = 1, 2$);

$(gz)_{ik}$: efeito fixo da interação do i -ésimo genótipo com o fator zinco k ;

e_{ijk} : é o efeito do erro experimental associado à observação, sendo $e_{ik} \sim N(0, \sigma_e^2)$

Posteriormente foi realizada a análise conjunta para as características altura de plantas, produtividade de grãos, renda de grãos beneficiados, rendimento de grãos inteiros após o beneficiamento e peso de mil grãos (PMG). O modelo estatístico da análise de variância conjunta foi o seguinte:

$$Y_{ijkl} = \mu + g_i + (b_j)_l + z_k + a_l + (ga)_{il} + (gz)_{ik} + (za)_{kl} + (gza)_{ijl} + e_{ijkl}$$

Em que:

Y_{ijkl} : valor observado na parcela que recebeu o genótipo i , no bloco j , dentro do fator com ou sem zinco k , no local l ;

μ : constante associada às observações (média geral);

g_i : efeito fixo do genótipo i ($i = 1, 2, \dots, 5$);

$b_{j(l)}$: efeito do bloco j , no ambiente l ;

z_k : efeito fixo do fator zinco k ; ($k = 1, 2$);

a_l : efeito fixo do ambiente l ($l = 1, 2$);

(ga)_{il}: efeito da interação entre os genótipos *i* e os ambientes *l*;
 (gz)_{ik}: efeito da interação entre os genótipos *i* e o fator zinco *k*;
 (az)_{kl}: efeito da interação entre os ambientes *l* e o fator zinco *k*;
 (gaz)_{ikl}: efeito da interação entre os genótipos *i*, os ambientes *l* e o fator zinco *k*;
 e_{ijkl} : efeito do erro experimental associado à observação, sendo $e_{ijkl} \sim N(0, \sigma_e^2)$

Adicionalmente, foi realizado a análise conjunta envolvendo os dois ambientes para avaliação da característica teor de zinco nos grãos oriundos de diferentes processos de beneficiamento, de acordo com o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + g_i + (b_j)_l + a_l + z_k + t_m + (ga)_{il} + (gz)_{ik} + (za)_{kl} + (zt)_{km} + (gt)_{im} \\ + (at)_{lm} + (gza)_{ikl} + (zat)_{klm} + (gat)_{ilm} + (gzt)_{ikm} + (gzat)_{iklm} + e_{ijkl}$$

Em que:

Y_{ikl} : observação referente ao genótipo *i*, no bloco *j*, no local *l*;

μ : constante associada às observações (média geral);

g_i : efeito do fator genótipo *i* ($i = 1, 2, \dots, 5$);

$b_{j(k)}$ é o efeito do bloco *j*, dentro do ambiente *k*,

a_l : efeito do ambiente *l* ($l = 1, 2$);

z_k : efeito do fator zinco *k* ($k = 1, 2$);

t_m : efeito do fator beneficiamentos *m* ($m = 1, 2, 3$);

(ga)_{il}: efeito da interação entre o fator genótipo *i* e os ambientes *l*;

(gz)_{ik}: efeito da interação entre o fator genótipo *i* e o fator zinco *k*;

(za)_{kl}: efeito da interação entre o fator ambiente *l* e o fator zinco *k*;

(zt)_{km}: efeito da interação entre o fator zinco *k* e o fator beneficiamentos *m*;

(gt)_{im}: efeito da interação entre o fator genótipo *i* e o fator beneficiamento *m*;

(at)_{lm}: efeito da interação entre o fator ambiente *l* e o fator beneficiamento *m*;

(zt)_{km}: efeito da interação entre o fator zinco *k* e o fator beneficiamento *m*;

(gza)_{ikl}: efeito da interação entre os fatores genótipo *i*, o ambiente *l* e o zinco *k*;

(zat)_{klm}: efeito da interação entre os fatores zinco *k*, o ambiente *l* e o beneficiamento *m*;

(gat)_{ilm}: efeito da interação entre os fatores genótipo *i*, o ambiente *l* e o beneficiamento *m*;

(gzt)_{ikm}: efeito da interação entre os fatores genótipo *i*, o zinco *k* e o beneficiamento *m*;

(gzat)_{iklm}: efeito da interação entre os fatores genótipo *i*, zinco *k*, o ambiente *l* e o beneficiamento *m*;

e_{ijk} : é o efeito do erro experimental associado à observação, sendo $e_{ijk} \sim N(0, \sigma_e^2)$

Para cada característica avaliada foi estimado o coeficiente de variação experimental (CV) e a acurácia seletiva (r_{gg}).

$$CV (\%) = \frac{\sqrt{QME}}{\bar{x}} \times 100$$

$$r_{gg} (\%) = \sqrt{1 - \left(\frac{1}{Fc}\right)} \times 100$$

Em que:

QME: Quadrado Médio do Erro;

\bar{x} : Média dos tratamentos avaliados;

Fc: valor do teste F para genótipo

As estimativas das correlações fenotípicas (r_{xy}) entre os caracteres dois a dois foram obtidas pela expressão:

$$r_{xy} = \frac{COV_{xy}}{\sqrt{V_X \cdot V_Y}}$$

Em que:

COV_{xy} : covariância fenotípica entre os caracteres X e Y;

V_X e V_Y : variância fenotípica entre dos caracteres X e Y respectivamente;

A análise de componentes principais (PCA) foi realizada com auxílio do ambiente computacional R (R Core Team, 2020) utilizando os pacotes FactoMineR (LE; JOSSE; HUSSON, 2008), FactoExtra (KASSAMBARA; MUNDT, 2020) e stats (R Core Team, 2020).

4 RESULTADOS

4.1 Caracteres agronômicos

Para melhor entender o comportamento dos genótipos diante da aplicação de sulfato de zinco e suas interações, realizou-se análise de variância conjunta dos ambientes para as características: altura de plantas, peso de mil grãos (PMG), renda de grãos beneficiados, rendimento de grãos inteiros após o beneficiamento e produtividade de grãos.

Do ponto de vista experimental, o CV% é comumente empregado. Pimentel-Gomes (2009) destaca que os CV% inferiores ou iguais a 10% são considerados baixos, indicando ótima qualidade experimental. Por sua vez, um experimento com CV% entre 10% e 20% é considerado médio ou de boa qualidade, entre 20% e 30% é considerado regular enquanto CV% acima de 30% é considerado ruim ou de baixa qualidade. No presente trabalho, o CV foi inferior a 20% para todas as características, indicando uma boa precisão experimental. As estimativas, para os caracteres produtividade e rendimento de grãos inteiros, foram maiores que 10% e isso pode ser justificado por essas características serem altamente influenciadas pela manifestação do ambiente na expressão do fenótipo, mas ainda assim, dentro dos limites observado para essas características na literatura (MORAIS JÚNIOR et al., 2018).

Do ponto de vista genético, um dos parâmetros mais relevantes para avaliação da qualidade experimental é a acurácia seletiva (r_{gg}), pois além de ter a propriedade de informar sobre o correto ordenamento das cultivares para fins de seleção, ela é eficiente na inferência acerca do valor genotípico da linhagem. A estimativa desse parâmetro é dependente da proporção entre as variações de natureza genética e residual associadas ao caráter avaliado, e não apenas da magnitude da variação residual e do número de repetições (RESENDE; DUARTE, 2007). Verifica-se na tabela 6, que as estimativas para todas as características, exceto renda, foram superiores a 90%.

Tabela 6 – Resumo da análise conjunta dos caracteres: altura de plantas (cm), peso de mil grãos (PMG), renda de grãos beneficiados (%), rendimento de grãos inteiros após o beneficiamento (%) e produtividade de grãos (kg ha⁻¹).

^{ns} não significativo (p>0,05) pelo teste F.

FV	GL	QM				
		Altura	PMG	Renda	Rendimento	Produtividade
Ambiente (A)	1	0,384 ^{ns}	1,72551 ^{ns}	898,614**	329,9415**	590953,3**
Zinco (Zn)	1	0,042667 ^{ns}	1,033594 ^{ns}	16,43267 ^{ns}	22,44817 ^{ns}	131873,3 ^{ns}
Genótipo (G)	4	238,5277**	164,5711**	35,97642 ^{ns}	303,2236**	367215,7**
A x Zn	1	0,6 ^{ns}	0,35651 ^{ns}	1,600667 ^{ns}	0,6615 ^{ns}	44639,19 ^{ns}
A x G	4	11,53567 ^{ns}	1,897411 ^{ns}	45,08442 ^{ns}	126,7069**	415979,2**
G X Zn	4	6,137667 ^{ns}	0,800807 ^{ns}	20,07475 ^{ns}	21,97442 ^{ns}	64833,06 ^{ns}
A x Zn x G	4	2,768333 ^{ns}	1,509505 ^{ns}	36,46608 ^{ns}	13,76442 ^{ns}	300896,2**
Bloco / A	4	137,3473**	1,457073 ^{ns}	14,02883 ^{ns}	79,6215 ^{ns}	163471,2**
Erro	36	23,58733	0,801494	24,46717	33,0315	55011,8
Média		85,93	26,49	61,96	31,55	1201,55
CV (%)		5,65	3,38	7,98	18,22	19,52
r_{gg} (%)		94,93	99,76	56,54	94,39	92,21

*significativo (p<0,05) pelo teste F.

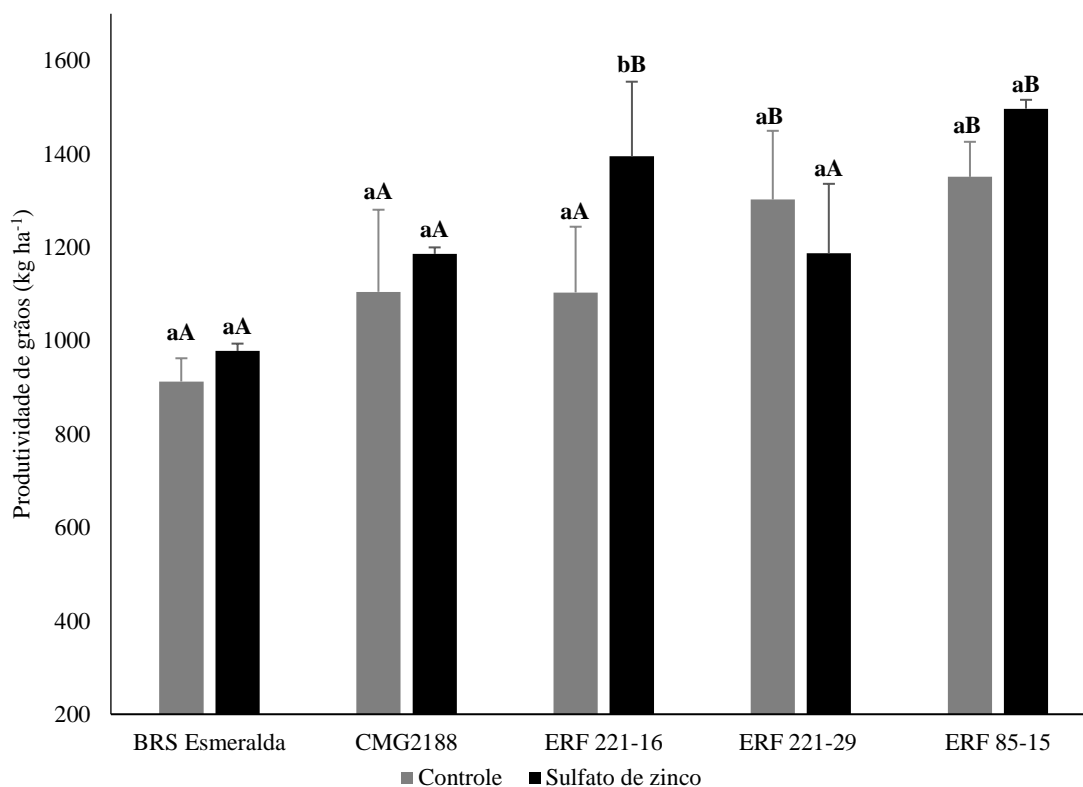
** significativo (p<0,01) pelo teste F.

Houve diferença significativa, considerando a fonte de variação genótipo, para todas as características avaliadas, exceto renda, evidenciando a existência de variabilidade fenotípica para essas características entre os genótipos estudados, predizendo, a princípio, um sucesso na seleção. Para os caracteres produtividade e rendimento de grãos inteiros houve significância da fonte de variação interação genótipos x ambientes, demonstrando que, para essas características, o comportamento dos genótipos não foi coincidente ao longo dos ambientes. Essa interação é de grande importância e um complicador para o melhoramento de plantas, visto que para caracteres controlado por muitos genes, como no caso da produtividade, o desempenho normalmente é variável entre os ambientes.

Não houve diferença significativa em nenhuma característica avaliada no que se refere a aplicação de sulfato de zinco. Entretanto, para a característica produtividade, a interação tripla genótipos x ambientes x aplicação de sulfato de zinco mostrou-se significativa pelo teste F.

Nota-se em relação ao desempenho médio dos genótipos, que o ERF 221-16, no tratamento com sulfato de zinco, apresentou incremento significativo em produtividade de grãos em relação ao tratamento controle. O mesmo não ocorreu, de forma significativa, em relação aos outros genótipos, embora eles tenham diferido entre si para a característica (FIGURA 3).

Figura 3- Produtividade média de grãos (kg ha^{-1}) das linhagens de arroz de terras altas em relação aos tratamentos controle e com aplicação de sulfato de zinco considerando os dois ambientes.



Barra de erro padrão da média; letras iguais minúsculas não diferem estatisticamente dentro da fonte de variação aplicação de zinco pelo teste de Scott-Knott 5%; letras iguais maiúsculas não diferem estatisticamente dentro da fonte de variação genótipos pelo teste de Scott-Knott 5%).

É possível observar, por meio do desdobramento da interação tripla, que o genótipo ERF 221-16 apresentou um incremento em produtividade de 46,9% no ambiente Lambari, quando houve aplicação de sulfato de zinco, enquanto no ambiente Lavras a aplicação não produziu incremento significativo para a característica. O oposto é observado no genótipo CMG 2188,

em que a aplicação produziu incremento significativo, apenas em Lavras. Embora o efeito da aplicação dentro do genótipo ERF 85-15 não tenha produzido incremento significativo, esse genótipo apresentou desempenho satisfatório em ambos os ambientes (TABELA 7).

Tabela 7 – Médias do caráter produtividade de grãos(kg ha⁻¹) obtidos pelas linhagens de arroz de terras altas, em função do desdobramento de genótipos x ambientes x aplicações.

Genótipos	Produtividade (kg ha ⁻¹)			
	Lavras		Lambari	
	Com Zn	Sem Zn	Com Zn	Sem Zn
BRS	1146,35 aA1	1157,91 aA2	809,18 aA1	667,16 aA1
Esmeralda				
CMG 2188	1704,51 bB2	1282,71 aA1	667,04 aA1	926,45 aA1
ERF 221-16	1041,66 aA1	1278,37 aA1	1747,93 bC2	928,01 aA1
ERF 221-29	1069,15 aA1	1275,02 aA1	1305,11 aB1	1329,41 aB1
ERF 85-15	1640,32 aB1	1411,93 aA1	1353,05 aB1	1289,70 aB1

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha no mesmo ambiente pertencem ao mesmo agrupamento de Skott-Knott ($p < 0,05$). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na mesma coluna pertencem ao mesmo agrupamento de Skott-Knott ($p < 0,05$). Médias seguidas pelo mesmo número dentro do mesmo tratamento nos diferentes ambientes, pertencem ao mesmo agrupamento de Skott-Knott ($p < 0,05$).

4.2 Teor de Zn em grãos oriundos de diferentes processos de beneficiamento

No resumo da análise de variância conjunta (TABELA 8), é possível observar que as fontes de variação genótipos, ambientes, aplicação de sulfato de Zn e diferentes processos de beneficiamento influenciaram significativamente a expressão fenotípica da característica, associado a interação significativa desses fatores na maioria das fontes.

Em relação a qualidade experimental, o coeficiente de variação foi 9,18 % e acurácia seletiva 97,96%, indicando uma boa precisão experimental tanto do ponto de vista estatístico quanto genotípico na obtenção das estimativas referentes ao caráter teor de zinco nos grãos.

Tabela 8 – Resumo da análise conjunta do caráter teor de Zn (mg kg^{-1}) em grãos de linhagens de arroz de terras altas, oriundo de diferentes tipos de beneficiamento nos dois ambientes.

FV	GL	QM
		Teor de Zn
Ambiente (A)	1	3308,193**
Zinco (Zn)	1	6444,516**
Genótipo (G)	4	263,3871**
Beneficiamento (B)	2	2083,752**
A x Zn	1	95,71566**
A x G	4	139,662**
A x B	2	256,7206**
G X Zn	4	63,86734**
Zn x B	2	1237,916**
G x B	8	19,85061 ^{ns}
A x Zn x G	4	63,01699**
A x Zn x B	2	121,4068**
A x B x G	8	5,19605 ^{ns}
B x G x Zn	8	2,737377 ^{ns}
A x Zn x G x B	8	4,114619 ^{ns}
Bloco / A	4	141,88**
Erro	36	10,658
Média		35,57
r_{gg} (%)		97,96
CV (%)		9,18

^{ns} não significativo ($p > 0,05$) pelo teste F.

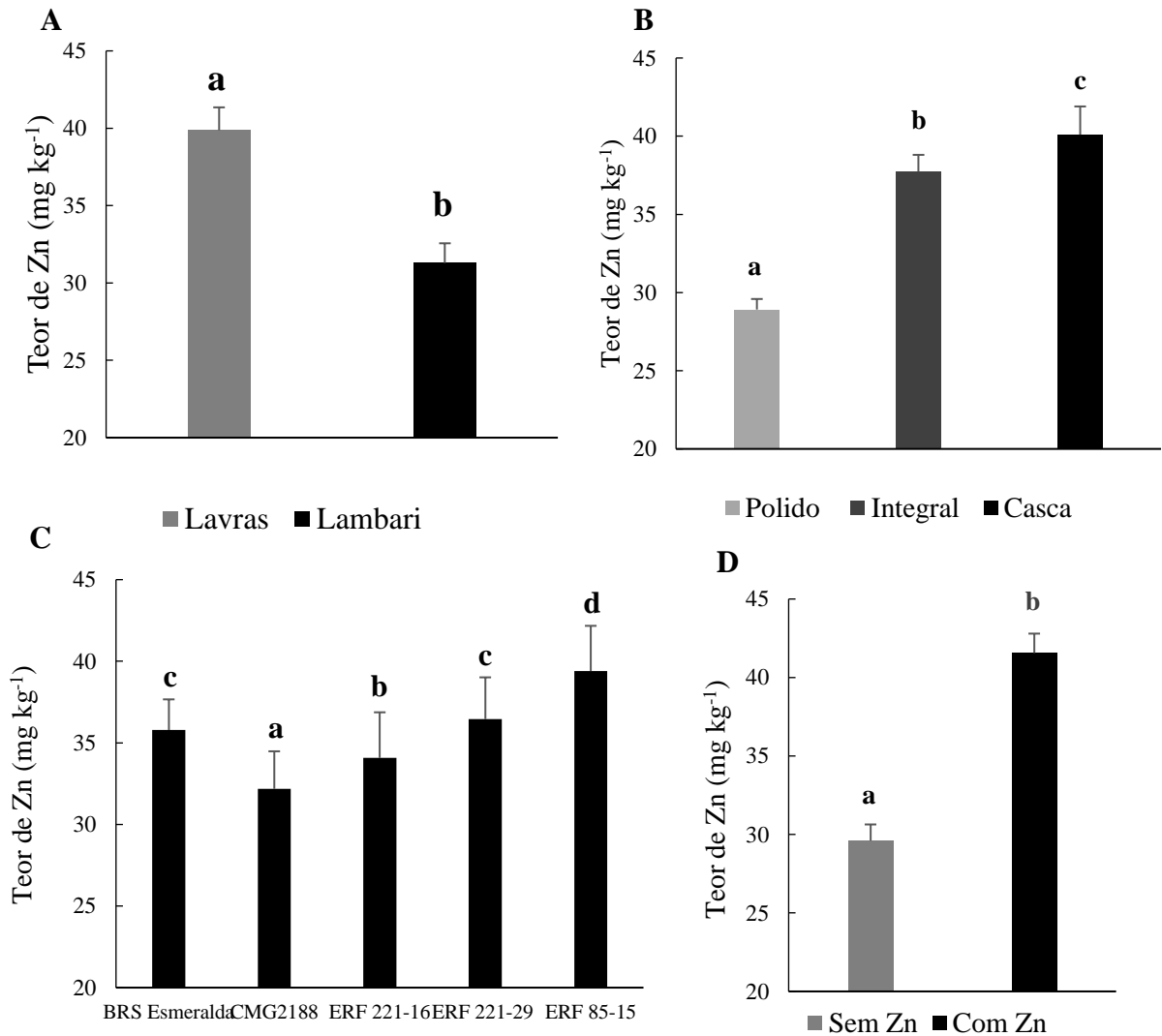
*significativo ($p < 0,05$) pelo teste F.

** significativo ($p < 0,01$) pelo teste F.

A diferença nas concentrações médias de Zn nos grãos foi significativa nos ambientes observados, apresentando acúmulo 21,5% superior no ambiente Lavras em relação ao ambiente Lambari (FIGURA 4a). Após o descasque e polimento dos grãos de arroz, foi observado respectivamente, perda média de 5,9% e 27,9% em relação ao conteúdo observado no arroz em casca (FIGURA 4b). Além disso, existe uma alta correlação fenotípica entre o conteúdo de Zn

antes e depois do polimento ($r = 0,88$) entre os genótipos, demonstrando que embora exista perdas no beneficiamento, essa perda é relativamente constante. O desempenho do genótipo ERF 85-15 foi significativamente superior para acúmulo de Zn em relação aos outros genótipos em todos os tipos de beneficiamento de grãos. Os genótipos BRS Esmeralda e ERF 221-29 apresentaram médias semelhantes estatisticamente, não diferindo entre si para a característica teor de Zn no grão (FIGURA 4c). A aplicação foliar de sulfato de zinco apresentou alta eficiência para a manifestação da característica, gerando um incremento de 28,79% em relação ao tratamento controle (sem aplicação de sulfato de zinco) (FIGURA 4d).

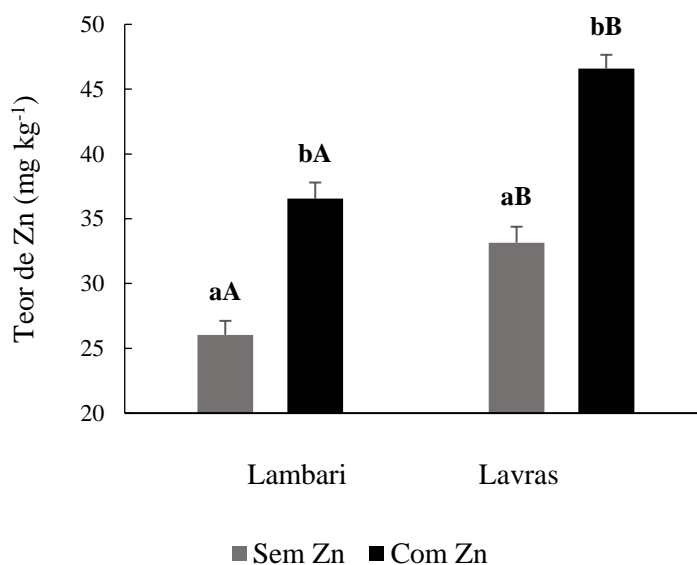
Figura 4 – Teor médio de zinco (mg kg^{-1}), obtido na média das linhagens de arroz de terras altas, em relação as fontes de variação: A – ambientes, B – beneficiamento, C – genótipos, D - aplicação.



(Barra de erro padrão da média; letras iguais não diferem estatisticamente dentro da fonte de variação pelo teste de Scott-Knott 5%).

Foi possível observar, por meio do desdobramento da interação aplicações de sulfato de zinco x ambientes, que o ambiente Lambari apresentou menor expressão da característica teor de Zn nos grãos, com ou sem aplicação de sulfato de Zn, em relação ao ambiente Lavras (FIGURA 5).

Figura 5 – Teor médio de zinco (mg kg^{-1}), encontrado, na média, dos grãos das linhagens de arroz de terras altas em relação ao desdobramento da interação aplicação de sulfato de Zn x ambientes.

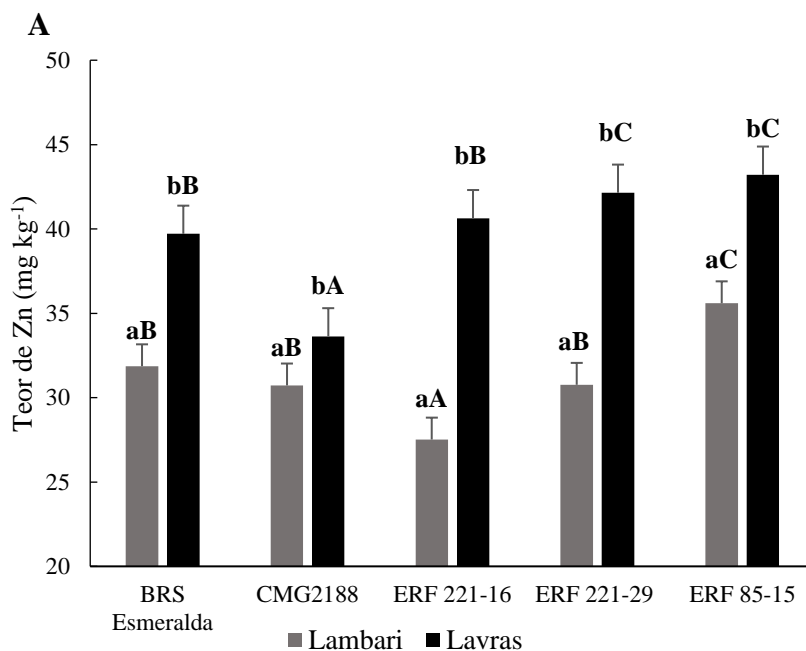


(Barra de erro padrão da média; letras iguais minúsculas não diferem estatisticamente dentro da fonte de variação ambiente pelo teste de Scott-Knott 5%; letras iguais maiúsculas não diferem estatisticamente dentro da fonte de variação aplicação de sulfato de zinco pelo teste de Scott-Knott 5%).

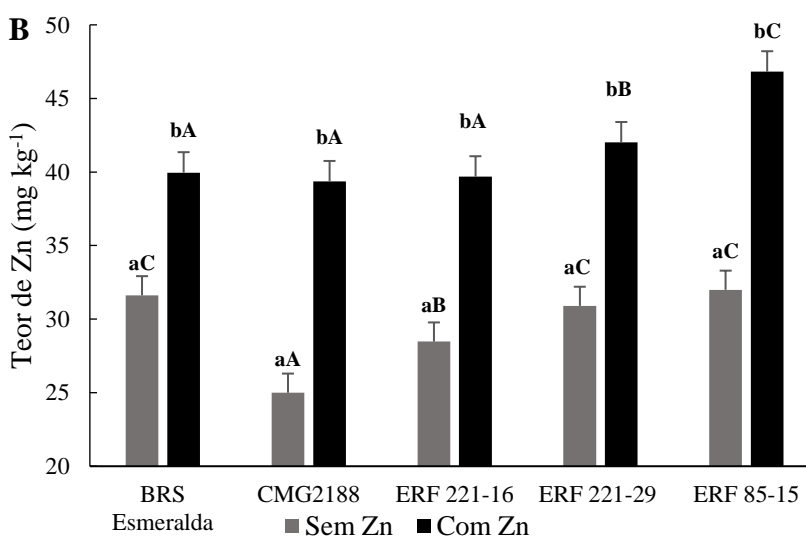
As médias correspondentes aos genótipos, em função do desdobramento da interação genótipos x ambientes e genótipos x aplicações, são apresentadas na figura 6. Foi possível observar que a expressão do caráter teor de Zn, para todos os genótipos observados, diferiram entre os ambientes (FIGURA 6a). O genótipo ERF 85-15 apresentou superioridade em ambos os ambientes.

Para efeito de biofortificação, foi possível observar que a aplicação de sulfato de Zn apresentou efeito significativo para todos os genótipos estudados. O incremento no teor de Zn no grão oriundo dos diferentes processos de beneficiamento, quando realizada a aplicação, variou de 20,87 a 36,49% entre os genótipos (FIGURA 6b). Os genótipos ERF 85-15 e ERF 221-29 apresentaram melhores teores de Zn nos grãos quando submetidos a adubação foliar, com médias de 46,82 e 42,01 mg kg^{-1} respectivamente.

Figura 6 – Teor médio de zinco (mg kg^{-1}) em relação ao desdobramento da interação genótipos x ambientes (A) e genótipos x aplicações (B), obtidos nos grãos das linhagens de arroz de terras altas.



(Barra de erro padrão da média; letras iguais minúsculas não diferem estatisticamente entre os ambientes pelo teste de Scott-Knott 5%; letras iguais maiúsculas não diferem estatisticamente entre os genótipos pelo teste de Scott-Knott 5%).

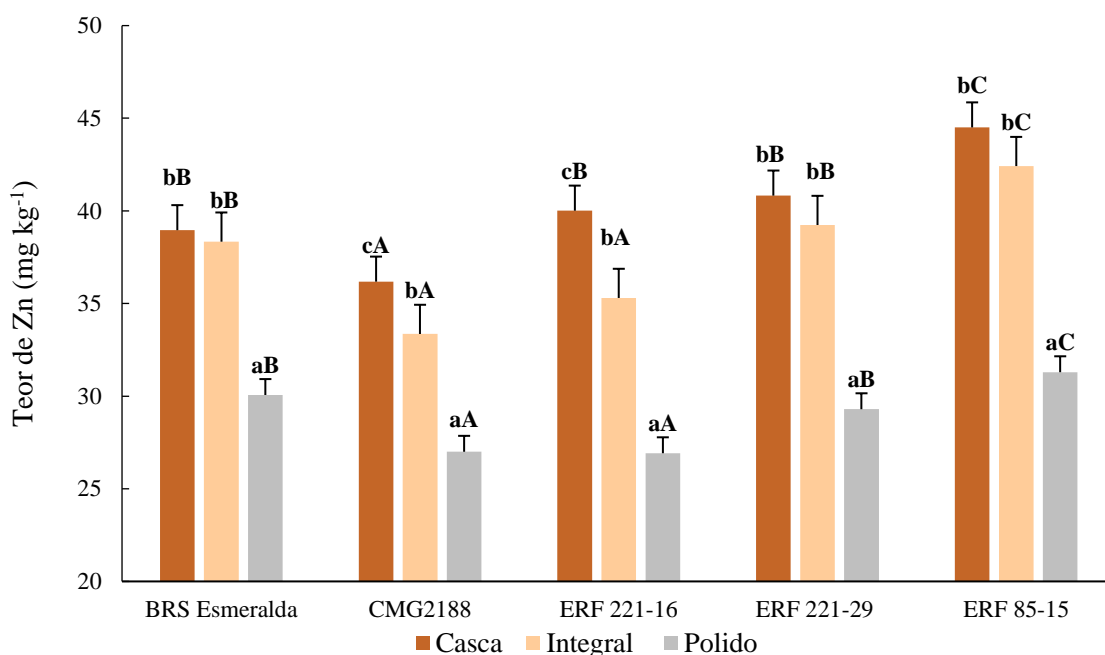


(Barra de erro padrão da média; letras iguais minúsculas não diferem estatisticamente entre as aplicações pelo teste de Scott-Knott 5%; letras iguais maiúsculas não diferem estatisticamente entre os genótipos pelo teste de Scott-Knott 5%).

A interação genótipos x tipos de beneficiamentos não foi significativa, sinalizando que o efeito de interação é nulo ao nível de significância de 5%. Entretanto, o desdobramento da interação genótipos x tipos de beneficiamentos pode ser justificada no sentido de captar informações importantes por meio da comparação de médias (PERECIN; FILHO, 2008).

Sendo assim, por meio do desdobramento da interação genótipos x tipos de beneficiamentos foi possível observar diferenças significativas dos diferentes processos de beneficiamento dentro dos genótipos e dos genótipos dentro dos diferentes processos de beneficiamento (FIGURA 7). O genótipo ERF 85-15 apresentou maior teor de Zn em todos os tipos de beneficiamento, enquanto os genótipos ERF 221-29 e BRS Esmeralda apresentaram teores semelhantes para grão em casca, integral e polido.

Figura 7 – Teor médio de zinco (mg kg^{-1}) em relação ao desdobramento da interação genótipos x beneficiamentos, obtidos nos grãos das linhagens de arroz de terras altas.



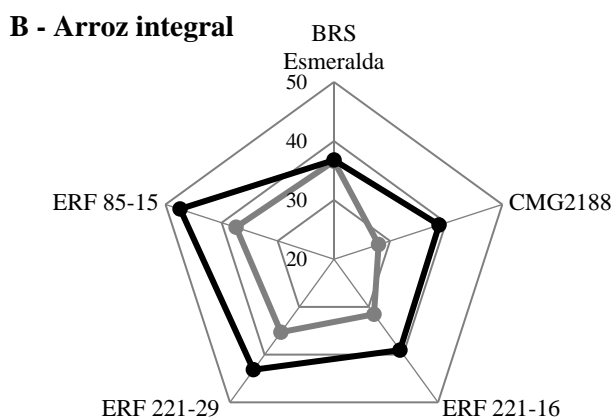
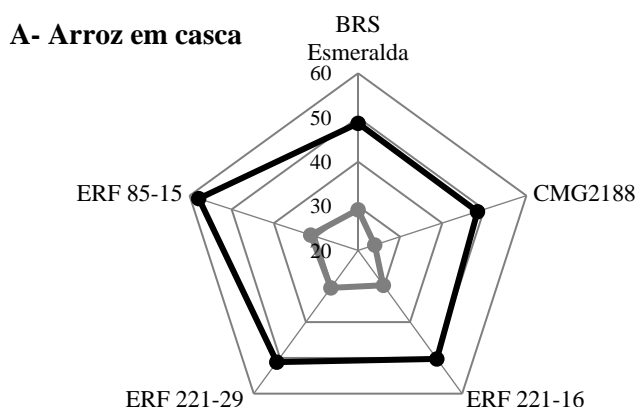
(Barra de erro padrão da média; letras iguais minúsculas não diferem estatisticamente dentro da fonte de variação beneficiamentos pelo teste de Scott-Knott 5%; letras iguais maiúsculas não diferem estatisticamente dentro da fonte de variação genótipos pelo teste de Scott-Knott 5%).

As médias correspondentes aos genótipos, em função da aplicação ou não de sulfato de zinco, nos diferentes processos de beneficiamento são apresentadas na figura 8. É possível observar que a aplicação de sulfato de zinco causou incremento significativo ($p = 0,05$) em todos os genótipos quando considera-se o arroz em casca. Quando se considera o arroz integral

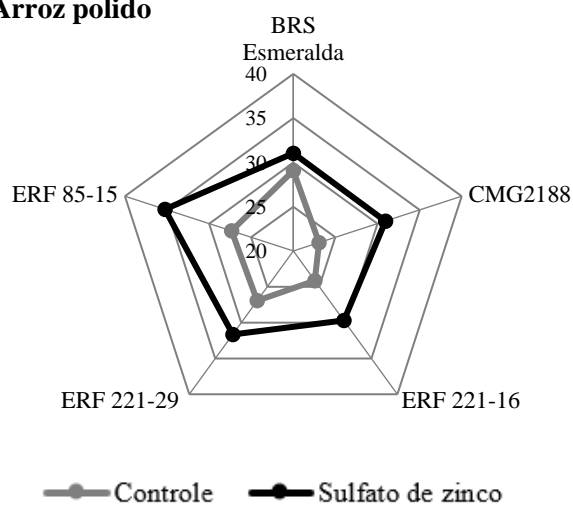
e polido, a aplicação de sulfato de Zn não representou incremento significativo, quanto ao teor de Zn, apenas na cultivar BRS Esmeralda.

O incremento do teor de Zn nos grãos integrais e polidos em decorrência da aplicação de sulfato de Zn foi de 18,24 a 27,82% e 14,88 a 25,49% respectivamente, excluído o genótipo BRS Esmeralda, que não apresentou incremento significativo. A maior resposta a aplicação, em relação ao tratamento controle, foi dada pelo genótipo CMG2188, porém os genótipos que apresentaram maior teor de Zn, quando adubado, foram ERF 85-15 e ERF 221-29, em grão integral, e o ERF 85-15, em grão polido (FIGURA 8).

Figura 8 – Médias do caráter teor de Zn (mg kg^{-1}), em função da aplicação ou não de sulfato de zinco em grãos de linhagens de arroz de terras altas, oriundos de diferentes processos de beneficiamento.



C - Arroz polido



4.3 Impacto da biofortificação na ingestão diária recomendada

Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2021) e a FAO (2020), o consumo domiciliar per capita de arroz por habitante no mundo, é de 147,7 g dia⁻¹ e, no Brasil de 131,4 g dia⁻¹ e a ingestão diária recomendada (RDA) de Zn é de 11 mg dia⁻¹ (PADOVANI et al., 2006). A estimativa do fornecimento de Zn, de acordo com o consumo mundial e dos brasileiros, em relação ao teor médio obtido de Zn nos grãos de arroz biofortificados dos cinco genótipos estudados são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 – Fornecimento diário de Zn (mg dia^{-1}), de acordo com o consumo médio de arroz polido pela população mundial e pelos brasileiros dos cinco genótipos de arroz de terras altas biofortificados com sulfato de Zn.

Fornecimento de Zn (mg dia^{-1}) no consumo de arroz no mundo				
	Integral		Polido	
Genótipos	C/ Zn	S/ Zn	C/ Zn	S/ Zn
BRS	5,43	5,40	4,59	4,29
Esmeralda				
CMG 2188	5,72	4,13	4,57	3,40
ERF 221-16	5,77	4,66	4,39	3,56
ERF 221-29	6,38	5,21	4,67	3,97
ERF 85-15	7,00	5,53	5,21	4,04

Fornecimento de Zn (mg dia^{-1}) no consumo de arroz no Brasil				
	Integral		Polido	
Genótipos	C/ Zn	S/ Zn	C/ Zn	S/ Zn
BRS	4,83	4,81	4,08	3,82
Esmeralda				
CMG 2188	5,09	3,68	4,07	3,03
ERF 221-16	5,13	4,15	3,90	3,17
ERF 221-29	5,67	4,64	4,16	3,54
ERF 85-15	6,23	4,92	4,63	3,59

Exemplo do cálculo realizado:

$$\text{BRS Esmeralda} - 0,1477 \text{ kg dia}^{-1} \times 36,76 \text{ mg kg}^{-1} = 5,43 \text{ mg dia}^{-1}$$

Considerando o fornecimento de Zn, baseado no consumo de arroz por brasileiros, demonstrado na tabela 10, esse fornecimento diário pode ser traduzido em uma variação entre os genótipos de 43,9% a 56,6% da RDA quando considera-se o arroz integral biofortificado e 35,5% a 42,1% da RDA quando considera-se o arroz polido biofortificado.

4.4 Teste de germinação e análise do teor de Zn em plântulas

É importante ressaltar, que no presente trabalho, realizou-se análise de teor de Zn em plântulas oriundas das sementes colhidas biofortificadas e não biofortificadas. Plântulas com 10 dias, oriundas do teste de germinação, foram analisadas quanto ao teor de Zn. No resumo da análise de variância, é possível observar que as fontes de variação genótipos, aplicação de sulfato de Zn e interação genótipos x aplicações de sulfato de zinco influenciaram significativamente a expressão da característica e também na % de germinação (TABELA 10).

Tabela 10 – Resumo da análise de variância para as características teor de Zn mg kg⁻¹ e germinação (%) em plântulas com 10 dias de germinação.

FV	GL	QM	
		Teor de Zn na plântula (mg kg ⁻¹)	Germinação (%)
Bloco	2	115,970853	10,23
Genótipo (G)	4	1618,937392**	193,22**
Zinco (Zn)	1	5546,777696**	790,53**
G X Zn	4	320,633864*	154,32**
Erro	18	106,715364	25,19
Média		134,62	61,93
CV (%)		7,67	8,1
r_{gg} (%)		96,64	93,25

*significativo (p<0,05) pelo teste F.

** significativo (p<0,01) pelo teste F.

Além disso, o teor de Zn no grão teve associação positiva significativa com a % de germinação (r=0,69) e com o teor de zinco na plântula (r=0,82) (Figura 9 e 10).

Figura 9 – Relação entre o teor de Zn no grão (mg kg^{-1}) e a germinação (%).

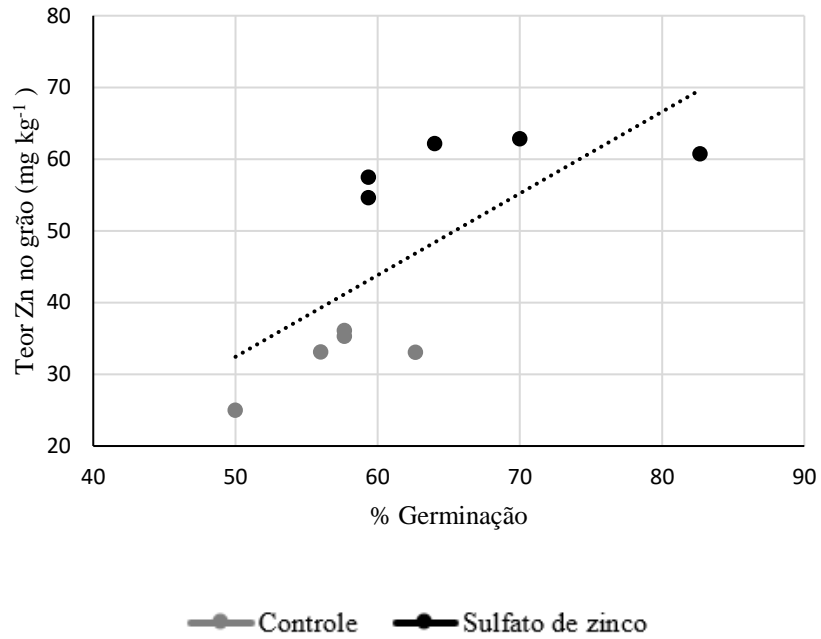
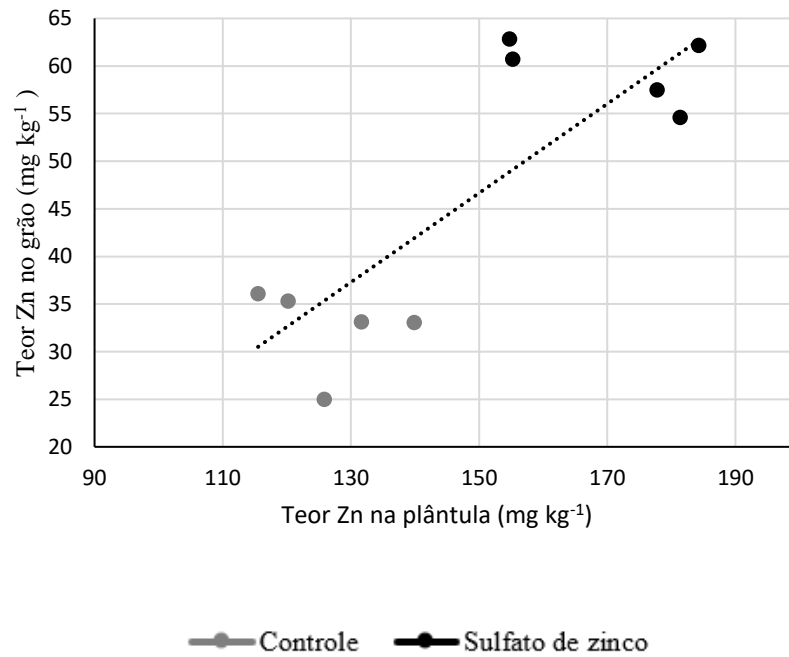


Figura 10 – Relação entre o teor de Zn no grão (mg kg^{-1}) e o teor de Zn na plântula com 10 dias (mg kg^{-1}).



4.5 Eficiência na utilização do zinco

Em relação a eficiência agrônômica (TABELA 11), que é definida como a produtividade (kg) obtida por kg de Zn aplicado, observa-se que apenas o genótipo ERF 221-29 apresentou eficiência negativa, quando feito com base na análise conjunta. O mesmo ocorreu para eficiência agro-fisiológica, definida como a produtividade (kg) obtida por g de Zn absorvido pela planta. A eficiência de absorção de Zn (ZnEA), definida como a porcentagem do nutriente absorvido do nutriente aplicado, variou de 2,95 a 6,24 %. Os genótipos que apresentaram maior eficiência de absorção foram o ERF 85-15 (6,24%) e ERF 221-16 (5,26%).

Tabela 11 – Efeito dos genótipos de arroz de terras altas nas eficiências de uso de Zn nos diferentes ambientes.

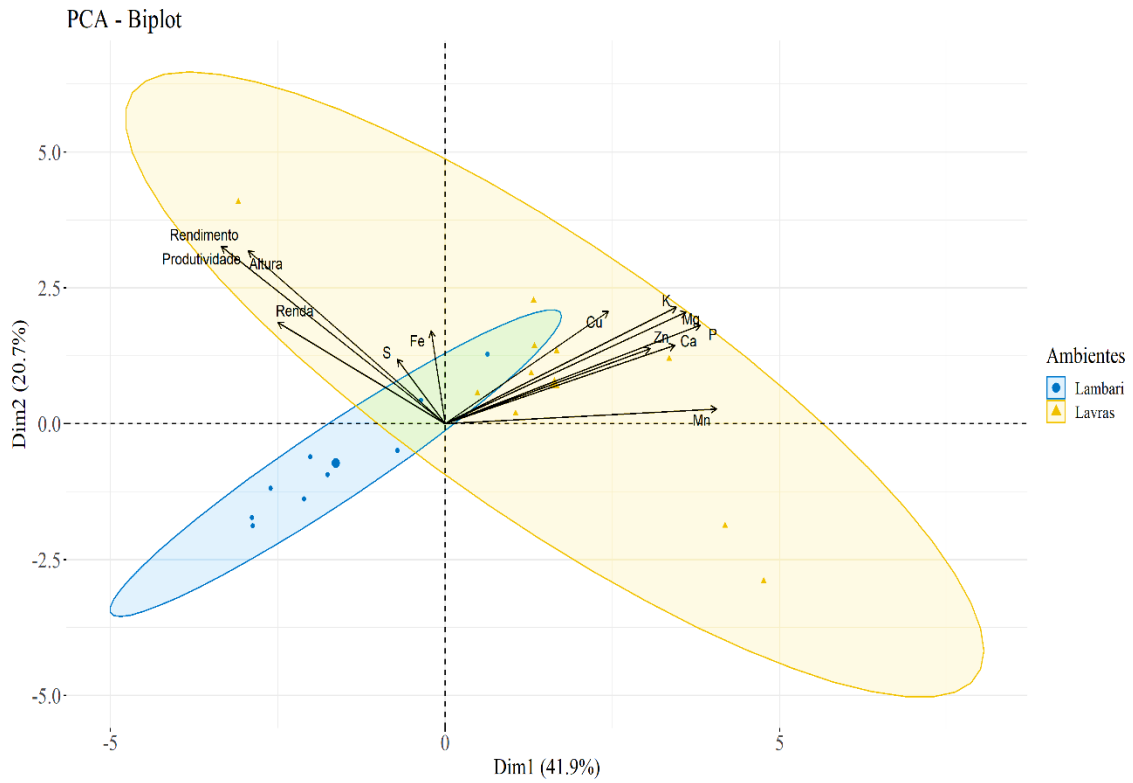
Genótipos	Eficiência de utilização do Zn		
	EA (kg kg ⁻¹)	EAF (kg g ⁻¹)	ZnEA (%)
BRS Esmeralda	91,81	3,10	2,95
CMG 2188	114,27	2,62	4,35
ERF 221-16	410,39	7,80	5,26
ERF 221-29	-161,96	-5,45	2,97
ERF 85-15	205,29	3,29	6,24

EA = Eficiência agrônômica (kg kg⁻¹); EAF = Eficiência agro-fisiológica (kg g⁻¹); ZnEA = Eficiência de absorção de Zn (%).

4.6 Análise de componentes principais (PCA)

Foi realizada análise de componentes principais, onde os dois primeiros componentes foram considerados mais importantes, pela magnitude dos seus respectivos autovalores e, juntos, explicam cerca de 62% da variância. O primeiro componente principal mostrou uma correlação positiva com as variáveis originais referente ao teor de P, Ca, Zn, K, Cu Mn e Mg, e ausência de correlação com os caracteres altura, produtividade, renda, rendimento e para os teores de Fe e S. As variáveis teor de Mg, Mn, P, Ca e K contribuíram com 55% da variação do primeiro componente principal. O segundo componente apresentou associação positiva com todas as variáveis originais, sendo que as características renda, rendimento, altura e produtividade, juntas, explicaram 52% da variância do componente (FIGURA 11).

Figura 11 – PCA dos cinco genótipos, com aplicação ou não de sulfato de Zn, em ambos os ambientes, baseado nos caracteres avaliados e análise multielementar nos grãos de arroz.



5 DISCUSSÃO

O arroz, quando comparado a outros cereais, é uma fonte pobre em micronutrientes essenciais e embora seja uma excelente fonte de carboidrato energético, não consegue atender as necessidades de ingestão diária de minerais demandadas pelo ser humano (CAKMAK; KUTMAN, 2018). A biofortificação visando o aumento do conteúdo de Zn, em grãos, tem sido considerada a solução mais eficiente e sustentável a longo prazo (CHANAKAN et al., 2020). Essa estratégia contempla a biofortificação genética, baseada no melhoramento convencional visando a seleção de genótipos superiores para a característica teor de Zn nos grãos, e a biofortificação agrônômica, que é baseada no manejo eficiente de fertilizantes. A maior eficácia dessas abordagens distintas é relatada quando aplicadas de maneira conjunta (SAHA et al., 2017; MANGUEZE et al., 2018; CALAYUGAN et al., 2020).

O conhecimento da variabilidade genética para características agrônômicas, bem como para concentração de minerais no grão é fundamental para o melhoramento genético visando a biofortificação, pois catalisa o desenvolvimento de novas cultivares que podem contribuir positivamente para mitigar os problemas de saúde agravados pela fome oculta (GREGORIO et al., 2000). Portanto, este estudo foi desenhado com a intenção de compreender a relação genotípica de linhagens de arroz de terras altas frente à biofortificação agrônômica.

A fenotipagem de caracteres agrônômicos é prioridade em um programa de melhoramento genético. A existência de variabilidade, para tais características, ficou evidenciada quando se considerou a fonte de variação genótipos, apresentando diferença significativa em todas as características avaliadas, exceto renda (TABELA 6). A existência de variabilidade genética para características de importância econômica é o motor em um programa de melhoramento. Conforme relatado na literatura, é fundamental a existência de variabilidade genética nos ensaios de VCU, uma vez que essas linhagens são obtidas de diferentes populações, de ampla base genética, submetidas à seleção. Essas diferenças já eram esperadas visto que a variabilidade entre linhagens em ensaios de VCU é que garantem o dinamismo e progresso do programa de melhoramento genético (INÁCIO et al., 2018).

Embora seja um caráter dependente do genótipo, a produtividade de grãos, também, pode ser significativamente afetada pelo uso equilibrado de micronutrientes, sobretudo em situação de estresse. A aplicação de Zn melhora o metabolismo da auxina, das atividades enzimáticas (HASSAN et al., 2020) e a translocação de fotossintatos, aumentando assim a

produtividade (ALI; MUHAMMAD BILAL; SUBHANI, 2021). Embora não tenha ocorrido diferença significativa nas características avaliadas na fonte de variação aplicação de sulfato de zinco, a produtividade de grãos foi significativamente influenciada pela interação tripla genótipos x ambientes x aplicação de sulfato de zinco. Por meio do desdobramento da interação tripla é possível observar o incremento significativo de 46,9% na produtividade do genótipo ERF 221-16 no ambiente Lambari, quando realizou-se aplicação de sulfato de zinco, enquanto no ambiente Lavras a aplicação não produziu incremento significativo para a característica (FIGURA 3; TABELA 7).

Em estudo na cultura do trigo, foi demonstrado que aplicações de Zn conseguem mitigar efeito de estresse hídrico na produtividade de grãos em *Triticum aestivum* L. tanto em vaso quanto no campo, e esse efeito protetivo pode ser descrito pela melhor atividade antioxidante nas plantas tratadas com o micronutriente (MA et al., 2017). Portanto, essa diferença significativa na produtividade no genótipo ERF 221-26, pode ser justificada, visto que houve estresse hídrico de caráter local, no ambiente Lambari, sobretudo nas épocas que antecedeu o florescimento (FIGURA 2).

Vale salientar, conforme discutido anteriormente que, os agricultores são céticos quanto a ter maiores produtividades de grãos e, conseqüentemente, maior lucratividade, investindo em biofortificação (TRIPATHY; BEHERA; SAHU, 2020). Portanto, uma cultivar de arroz biofortificada deve reter alta produtividade, além de ser rica em micronutrientes (TRIPATHY; BALA, 2021). Esses resultados, apoiam a hipótese de que a aplicação de sulfato de zinco pode melhorar a produtividade em arroz de terras altas. Em estudo comparando diferentes aplicações de Zn, em diferentes locais e em diferentes sistemas de produção de arroz, verificou-se que a aplicação com Zn aumentou significativamente a produtividade. Diferenças significativas no efeito dos diferentes tratamentos com Zn foi observada, no entanto, as diferenças foram geralmente pequenas, e a resposta aos tratamentos com Zn variou entre os locais (FAROOQ et al., 2018).

Em um programa de biofortificação de Zn a produtividade de grãos, juntamente com as características de qualidade físico-química e alto teor do micronutriente no grão, são as principais características a serem preconizadas. Estima-se que o endosperma contenha 57% de conteúdo de Zn, enquanto o farelo e o embrião contenham 34% e 9% de Zn, respectivamente, no grão integral. Além disso, cerca de 40% do conteúdo total de Zn, é perdido durante o beneficiamento, polimento e lavagem antes do cozimento (TRIPATHY; BEHERA; SAHU,

2020). Sendo o arroz o principal alimento para mais da metade da população mundial, a biofortificação do cereal, visando níveis superiores de Zn nos grãos polidos, pode ser uma solução econômica e sustentável para auxiliar no combate à desnutrição por esse micronutriente.

Nos genótipos avaliados, as maiores médias de teores de Zn no grão de arroz estão representadas no ambiente Lavras, com acúmulo 21,5% em relação a Lambari (FIGURA 4a). Nesse sentido, nota-se que o ambiente Lambari, na análise dos atributos químicos e físicos do solo (TABELA 3), apresentou médio teor de Zn no solo ($<1,5 \text{ mg dm}^{-3}$). Sob tais condições de disponibilidade inadequada de Zn no solo os genótipos podem ter sido incapazes de expressar todo o seu potencial para acúmulo de Zn no grão.

Como é possível observar, nos tratamentos com aplicação de Zn, o comportamento médio dos genótipos diferiu entre os ambientes (FIGURA 5). Isso ocorre, pois a densidade de Zn nos grãos de arroz é controlada por diversas vias metabólicas que estão relacionadas na absorção do nutriente, transporte para tecidos da planta e na mobilização do Zn para os grãos através do floema. Cada um desses processos é regulado por diversos genes que interagem com o ambiente (NIKOLIC et al., 2016; CAKMAK; KUTMAN, 2018). Além disso, fica evidenciado que a aplicação foliar de sulfato de Zn, em estádios tardios do crescimento, visando o acúmulo do micronutriente no grão, sobretudo em suas frações majoritariamente consumidas, foi eficiente neste estudo.

Evidenciou-se uma alta correlação fenotípica entre o conteúdo de Zn antes e depois do polimento ($r = 0,88$), demonstrando que a perda no beneficiamento é relativamente constante entre os genótipos e que, conseqüentemente, as estimativas de zinco no arroz integral são indicadores eficazes do teor no arroz polido. Padrão semelhante é relatado na literatura, e considerando as perdas durante o polimento, genótipos com teores maiores que 30 mg kg^{-1} de Zn no grão integral podem ser considerados potenciais parentais em um programa de melhoramento genético visando a biofortificação (KUMAR et al., 2017; MAGANTI; SWAMINATHAN; PARIDA, 2020). No trabalho, todos os genótipos biofortificados apresentaram teores de Zn acima de 30 mg kg^{-1} , nos grãos integrais, variando de 36,76 a $47,39 \text{ mg kg}^{-1}$.

Com relação ao zinco no arroz polido, genótipos que apresentam concentrações médias maiores que $25,1 \text{ mg kg}^{-1}$ são classificados como de alto teor (MAGANTI; SWAMINATHAN; PARIDA, 2020). Nesse estudo, quando realizado aplicação de sulfato de zinco, todos os

genótipos apresentaram alto teor de Zn no grão polido, variando de 30,94 a 35,25 mg kg⁻¹. Além disso, cabe ainda destacar que, o genótipo ERF 85-15 apresentou maior teor de Zn em todos os processos de beneficiamento (FIGURA 7 e 8) e que, mesmo quando não aplicado sulfato de zinco, os genótipos desse estudo apresentaram níveis de moderado (16 mg kg⁻¹ a 25 mg kg⁻¹) a alto (>25,1 mg kg⁻¹) de Zn no arroz polido, evidenciando a presença de variabilidade genotípica para o caráter e, em princípio, o sucesso com a seleção de linhagens para maior teor de Zn nos grãos.

Até o momento, a variabilidade genética para teor de Zn tem sido explorada em diversas culturas no objetivo de identificar os melhores genótipos com alto teor de micronutrientes. Foi identificada variação de aproximadamente 3,5 vezes no teor de zinco em grãos de arroz em 939 genótipos, com teor de Zn variando entre 15,9 e 58,4 mg kg⁻¹ (GRAHAM et al., 1999). Variações de 6,3 a 24,4 mg kg⁻¹ e 15,3 a 58,4 mg kg⁻¹, no conteúdo de ferro e zinco respectivamente, foram relatadas em estudo realizado com em 192 genótipos de arroz integral (NACHIMUTHU et al., 2014).

A prevalência da deficiência de zinco nos seres humanos está relacionada a baixa ingestão do nutriente. Em comparação com os alimentos de origem animal, os cereais tem concentrações de Zn baixas demais para garantir o acesso adequado demandado pelo organismo. No entanto, países em desenvolvimento, como o Brasil, dependem substancialmente de alimentos à base de cereais como principal fonte de ingestão diária de calorias (CHEN et al., 2017). A ingestão diária recomendada (RDA) de Zn é de aproximadamente 11 mg dia⁻¹ para adultos, entretanto essa necessidade pode ser até três vezes maior dependendo da biodisponibilidade do Zn no alimento (TRUMBO et al., 2001; CAKMAK; KUTMAN, 2018). Verificou-se que a contribuição média do genótipo ERF 85-15, quando realizado a biofortificação, na ingestão diária de Zn quando considerado o consumo médio de arroz da população mundial foi de 63,6% e 47,4% no arroz integral e polido, respectivamente.

O arroz, sendo um dos principais alimentos, é alvo de muitas pesquisas visando a biofortificação com Zn para alcançar a segurança alimentar e nutricional desse micronutriente (TRIPATHY; BALA, 2021). Estima-se que a deficiência de zinco contribua com, aproximadamente, meio milhão de mortes por ano de crianças menores que 5 anos de idade (KREBS; MILLER; MICHAEL HAMBIDGE, 2014). Considerando o consumo médio de arroz no Brasil, o genótipo ERF 85-15 seria capaz de fornecer 92,6 % da necessidade de ingestão

diária pelo nutriente para crianças nessa faixa etária (considerando a RDA de 5 mg dia⁻¹ de Zn para crianças de 4 – 8 anos de idade (PADOVANI et al., 2006).

Adicionalmente, em estudo objetivando investigar o acúmulo de selênio em vinte genótipos de arroz de terras altas em função da adubação de ureia enriquecida com selenato de sódio, verificou-se elevado acúmulo de Se nos genótipos CMG2188, ERF 85-15, BRS Esmeralda, ERF 221-19 e ERF 221-16 (FELIX, 2019). Isso evidencia, juntamente com os resultados apresentados neste trabalho, a aptidão desses genótipos para biofortificação agrônômica, bem como inclusão destes em um programa de melhoramento visando biofortificação genética para Se e Zn.

Há poucos relatos na literatura, no que se refere aos efeitos da biofortificação com Zn na qualidade da semente, sobretudo, em arroz de terras altas. Isto demonstra a necessidade da realização desse tipo de avaliação de maneira mais específica. Nos cereais, o Zn é rapidamente mobilizado para raízes e coleótilo durante a germinação. Essa maior demanda por Zn pode ser atribuída a rápida divisão e alongamento celular, bem como pela alta síntese de proteína (IMRAN et al., 2017). No mesmo sentido, Candan et al. (2018) registraram menor crescimento em plântulas de tratamentos com baixo teor de Zn em semente de *Triticum durum*, além disso, os resultados desse mesmo trabalho indicam claramente que altas reservas de Zn nas sementes podem ser necessárias para minimizar efeitos de estresse abióticos/bióticos durante o a germinação. Em concordância, Ei et al. (2020), verificou que, selênio combinado com zinco proporcionaram efeito positivo significativo na porcentagem de germinação de sementes de arroz biofortificadas.

Foi observado, neste estudo, que o teor de Zn no grão obteve associação positiva significativa com a porcentagem de germinação ($r=0,69$) e com o teor de Zn na plântula após a germinação ($r=0,82$) (FIGURA 9 e 10). Esses resultados sugerem que a biofortificação, além de produzir grãos mais nutritivos, pode exercer papel benéfico em relação a qualidade das sementes.

No que diz respeito a eficiência de uso de zinco, foram calculadas três eficiências conforme proposto por Fageria (2009): eficiência agrônômica (EA), eficiência agro-fisiológica (EAF) e eficiência de absorção (ZnEA) (TABELA 11). O genótipo ERF 221-16 apresentou maiores valores tanto pra EA quanto pra EAF. Esses resultados refletem o que foi discutido anteriormente a respeito do incremento significativo na produtividade de grãos quando o sulfato de Zn foi aplicado nesse genótipo, sobretudo no ambiente de Lambari. Para a ZnEA, o genótipo

ERF 85-15 apresentou maior eficiência em relação aos outros genótipos (6,24%). Na literatura, as informações sobre a eficiência de uso de Zn são limitadas, entretanto, na literatura foi observado para a cultura do arroz valores em que a ZnEA variou de 0,73 a 1,33% (FAROOQ et al., 2018) e 6,40 a 9,10% (ZULFIQAR et al., 2021), quando considerou-se apenas uma aplicação foliar de Zn 0,5%. A eficiência de absorção de Zn está dentro da faixa encontrada na literatura considerando aplicação foliar de sulfato de zinco. Além disso, Fageria (2009), relata que a eficiência de absorção para micronutrientes é relativamente baixa (5 – 10%) em comparação com a de macronutrientes (10 – 50%) por causa diversos fatores.

A análise de componentes principais (FIGURA 11) demonstrou o papel de dois componentes, explicando 62% da variância existente. As características referentes aos teores de nutrientes encontrados no grão estão compreendidas no primeiro componente principal, enquanto as principais características agronômicas avaliadas ficaram retidas no segundo componente. A partir do gráfico biplot é possível observar, de maneira exploratória, que os teores de S e Fe no grão não estão correlacionados com os demais nutrientes, e que os teores de nutrientes, em geral, não apresentam correlação com as características agronômicas avaliadas nesse estudo. Além disso, o gráfico ainda permite identificar como as amostras estão ordenadas e sua relação entre as variáveis observadas. Logo, pode-se realizar uma espécie de agrupamento, que ilustra o comportamento dos genótipos entre os dois ambientes.

É importante que as estratégias de biofortificação considerem a potencial relação antagônica entre os nutrientes. O teor de Zn no grão exerce influência antagônica no que diz respeito ao teor de Fe, ou seja, quando o aumenta-se o conteúdo de Zn o conteúdo de Fe tende a diminuir (JALAL et al., 2020; RAMZAN et al., 2020). Entretanto, no presente trabalho, não foi observado a existência de correlação negativa significativa entre o teor de Fe e Zn no grão, porém estudos adicionais devem ser realizados quando considerar a aplicação simultânea dos dois elementos visando a biofortificação para ambos nutrientes.

6 CONCLUSÕES

A aplicação foliar de sulfato de Zn mostrou-se promissora, no sentido de biofortificar os grãos de linhagens elites de arroz. Os teores encontrados nos grãos integrais e polidos, em todos os genótipos, demonstraram a eficiência e a importância da biofortificação agrônômica e genética.

No ambiente Lambari, foi possível observar o efeito positivo da biofortificação na produtividade de grãos (kg ha^{-1}). Esses resultados sugerem que o enriquecimento de Zn em grãos pode aumentar o rendimento do produtor em situações de estresse e níveis médios de Zn no solo.

O genótipo ERF 85-15 apresentou boa eficiência de absorção de Zn (6,24%), resultando em alto teor de Zn em grãos integrais ($47,39 \text{ mg kg}^{-1}$) e grãos polidos (35 mg kg^{-1}). Houve perda substancial de Zn durante o polimento do grão, evidenciando a maior qualidade nutricional do grão integral, em todas as linhagens avaliadas.

Alto teor de Zn em sementes oriundas da biofortificação, por meio da aplicação foliar, pode ter importância para uma melhor germinação e desenvolvimento de plântulas. Os esforços em biofortificação com Zn para melhor qualidade nutricional podem simultaneamente trazer benefícios agrônômicos em termos de melhor germinação e estabelecimento da cultura no campo.

REFERÊNCIAS

- ALI, Q.; MUHAMMAD BILAL, C.; SUBHANI, M. N. Zinc application improves the productivity and grain bio-fortification of fine rice. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 58, n. 1, p. 95–102, 2021.
- AMNA et al. Golden Rice: Genetic Engineering, Promises, Present Status and Future Prospects. In: **Rice Research for Quality Improvement: Genomics and Genetic Engineering**, 2020.
- ANURADHA, K. et al. Evaluating rice germplasm for iron and zinc concentration in brown rice and seed dimensions. **Journal of Phytology**, v. 4, n. 1, p. 19–25, 2012.
- BASHIR, K. et al. The road to micronutrient biofortification of rice: Progress and prospects. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1–7, 2013.
- BEGUM, M. C. et al. Auxin signaling is closely associated with Zn-efficiency in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant Interactions**, v. 11, n. 1, p. 124–129, 2016.
- BENKEBLIA, N. (Ed.). **Vitamins and Minerals Biofortification of Edible Plants**. John Wiley & Sons, 2020.
- BIOFORT. Disponível em < <https://biofort.com.br/rede-biofort/>>. Acesso em: 19 de abril de 2021.
- BLANCQUAERT, D. et al. Metabolic engineering of micronutrients in crop plants. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1390, n. 1, p. 59-73, 2017.
- BOARETTO, A.E.; MORAES, M.F. Contribuição da nutrição adequada para qualidade dos alimentos. In: PRADO, R. M. et al. (Eds.). **Nutrição de plantas: diagnose foliar em hortaliças**. Jaboticabal: FCAV, CAPES, FAPESP, CNPq, 9-44p. 2010.
- BOUIS, H. E.; SALTZMAN, A. Improving nutrition through biofortification: a review of evidence from HarvestPlus, 2003 through 2016. **Global food security**, v. 12, p. 49-58, 2017.
- BOUIS, H. E.; SALTZMAN, A.; BIROL, E. Improving nutrition through biofortification. In: **Agriculture for improved nutrition: seizing the momentum**. p. 47–57, 2019.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 6, de 16 de fevereiro de 2009. Aprova o Regulamento Técnico do Arroz, definindo o seu padrão oficial de classificação, com os requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, n. 1, p. 3, 2009.
- _____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 294, de 14 de outubro de 1998. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, n. 1, 3 p., 1998.
- _____. **Regras Para Análise de Sementes (RAS)**. Brasília: MAPA/Assessoria de Comunicação Social, 2009. 399 p.
- BRESEGHELLO, F. et al. Results of 25 years of upland rice breeding in Brazil. **Crop Science**, v. 51, p. 914 – 923, 2011.

- BROADLEY, M. R. et al. Zinc in plants. **New Phytologist**, v. 173, n. 4, p. 677–702, 2007.
- CAKMAK, I. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? **Plant and Soil**, v. 302, n. 1–2, p. 1–17, 2008.
- CAKMAK, I.; KUTMAN, U. B. Agronomic biofortification of cereals with zinc: a review. **European Journal of Soil Science**, v. 69, n. 1, p. 172–180, 2018.
- CALAYUGAN, M. I. C. et al. Genetic Analysis of Agronomic Traits and Grain Iron and Zinc Concentrations in a Doubled Haploid Population of Rice (*Oryza sativa* L.). **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–14, 2020.
- CANDAN, N.; CAKMAK, I.; OZTURK, L. Zinc-biofortified seeds improved seedling growth under zinc deficiency and drought stress in durum wheat. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 181, n. 3, p. 388–395, 2018.
- CHANG, H. B.; LIN, C. W.; HUANG, H. J. Zinc-induced cell death in rice (*Oryza sativa* L.) roots. **Plant Growth Regulation**, v. 46, n. 3, p. 261–266, 2005.
- CHEN, X. P. et al. Harvesting more grain zinc of wheat for human health. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–8, 2017.
- CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos, safra 2020/2021, 4º levantamento. **Companhia Nacional de Abastecimento**, 2021. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em: 20 abril de 2021.
- CONSENSUS, C. Copenhagen Consensus 2008–Results. **Copenhagen Consensus Center**, p. 1-6, 2008.
- DAHDOUH, S. et al. Development of the FAO/INFOODS/IZINCG Global Food Composition Database for Phytate. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 78, p. 42–48, 2019.
- DESCALSOTAEMPLO, G. I. et al.. Genetic mapping of QTL for agronomic traits and grain mineral elements in rice. **The Crop Journal**., 560– 572, 2019.
- DONG, C. D.; CHEN, C. F.; CHEN, C. W. Contamination of zinc in sediments at river mouths and channel in northern Kaohsiung Harbor, Taiwan. **International Journal of Environmental Science and Development**, v. 3, n. 6, p. 517, 2012.
- EI, H. H. et al. Impact of selenium, zinc and their interaction on key enzymes, grain yield, selenium, zinc concentrations, and seedling vigor of biofortified rice. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 14, p. 16940–16949, 2020.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Arroz: O produtor pergunta, a Embrapa responde**. 2 ed. rev. e ampl. Brasília: Embrapa, 2013.
- FAGERIA, N. K. et al. Foliar fertilization of crop plants. **Journal of plant nutrition**, v. 32, n. 6, p. 1044-1064, 2009.
- FAN, M.S. et al. Evidence of decreasing mineral density in wheat grain over the last 160 years. **Journal of Trace Elements in Medicine & Biology**, v. 22, p. 315–324, 2008.

- FAROOQ, M. et al. Application of zinc improves the productivity and biofortification of fine grain aromatic rice grown in dry seeded and puddled transplanted production systems. **Field Crops Research**, v. 216, n. August 2016, p. 53–62, 2018.
- FERNÁNDEZ, V.; SOTIROPOULOS, T.; BROWN, P. H. **Foliar fertilization: scientific principles and field practices**. International Fertilizer Industry Association, 2013.
- FERREIRA, C.M.; FIGUEIREDO, R.S.; LUZ, T.C.L.A. Arroz e feijão: intervenção multiinstitucional em prol do Brasil. **Revista de Política Agrícola**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 96, 2018.
- FONCECA, M. E. N. et al. Impact of agriculture on human health and nutrition. **EOLSS**. 2008.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Statistical Databases: Resources**. Rome: FAO, 2020.
- GALERA, J. S. Substituição parcial da farinha de trigo por farinha de arroz (*Oryza sativa* L.) na produção de “sonho” – estudo modelo. Universidade de São Paulo, 2006.
- GARCIA-OLIVEIRA, A. L., TAN, L., FU, Y., SUN, C. Genetic identification of quantitative trait loci for contents of mineral nutrients in rice grain. **Journal of Integrative Plant Biology**, 51, 84–92, 2009.
- GARG, M. et al. Biofortified crops generated by breeding, agronomy, and transgenic approaches are improving lives of millions of people around the world. **Frontiers in Nutrition**, v. 5, p. 12, 2018.
- GARVIN, D.F. et al. Historical shifts in the seed mineral micronutrient concentrations of US hard red winter wheat germplasm. **Journal of the Science of Food & Agriculture**, v. 86, p. 2213–2220, 2006.
- GE, S. et al. Phylogeny of rice genomes with emphasis on origins of allotetraploid species. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, n. 25, p. 14400–14405, 2002.
- GÓMEZ, M. I.; RICKETTS, K. D. Food value chain transformations in developing countries: Selected hypotheses on nutritional implications. **Food Policy**, v. 42, p. 139-150, 2013.
- GÓMEZ-GALERA, S. et al. Critical evaluation of strategies for mineral fortification of staple food crops. **Transgenic research**, v. 19, n. 2, p. 165-180, 2010.
- GRAHAM, R. et al. Breeding for micronutrient density in edible portions of staple food crops: Conventional approaches. **Field Crops Research**, v. 60, n. 1–2, p. 57–80, 1999.
- GREBMER, K. et al. The challenge of hidden hunger. **Global Hunger Index**, Bonn / Washington, D.C. / Dublin, p. 96, 2014.
- GREGORIO, G. B. et al. Breeding for trace mineral density in rice. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 21, n. 4, p. 382-386, 2000.
- GUIMARÃES, C. M. et al. Sistemas de cultivo. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. (Ed.). **A cultura do arroz no Brasil**. 2. Ed. Rev. e ampl. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, cap. 3, p. 53-96, 2006.

- HASSAN, M.U. et al. The critical role of zinc in plants facing the drought stress. **Agriculture**, v.10, n. 9, 2020.
- HAWKES, C. et al. Linking agricultural policies with obesity and noncommunicable diseases: a new perspective for a globalising world. **Food Policy**, v. 37, n. 3, p. 343-353, 2012.
- HEINEMANN, A. B. et al. Upland rice breeding led to increased drought sensitivity in Brazil. **Field Crops Research**, v. 231, p. 57–67, 2019.
- IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censos 2021**. Rio de Janeiro: IBGE, 2021.
- IMRAN, M. et al. Efficacy of zinc application methods for concentration and estimated bioavailability of zinc in grains of rice grown on a calcareous soil. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 52, n. 1, 2015.
- IMRAN, M. et al. Zinc distribution and localization in primed maize seeds and its translocation during early seedling development. **Environmental and Experimental Botany**, v. 143, n. 8, p. 91–98, 2017.
- INÁCIO, H. B. et al. Phynotypic placticity of upland rice lines cultivated in Minas Gerais State, Brazil. **Australian Journal of Crop Science**, v. 12, n. 5, p. 763–769, 2018.
- ISAA – INTERNATIONAL SERVICE FOR ACQUISITION OF AGRI-BIOTECH APPLICATIONS. **Código do evento: IR-00GR2E-5** Disponível em: < <https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/event/default.asp?EventID=528>>. Acesso em: 15 de abril de 2021.
- JALAL, A. et al. Agro-biofortification of zinc and iron in wheat grains. **Gesunde Pflanzen**, v. 72, n. 3, p. 227–236, 2020.
- JULIANO, B. O.; TUAÑO, A. P. P. Gross structure and composition of the rice grain. In: **Rice**. p. 31–53, 2018.
- KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. 4 ed. Boca Raton: CRC Press, 2010.
- KASSAMBARA, A.; MUNDT, F. Factoextra: Extract and Visualize the Results of multivariate data analyses. **R package version 1.0.7**. 2020. Disponível em: < <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>>
- KAWAKAMI, Y.; BHULLAR, N. K. Delineating the future rice Fe biofortification studies - overview of challenges and future perspectives. **Journal of Experimental Botany**, v. 72, n. 6, p. 2099–2113, 2021.
- KENNEDY, G.; BURLINGAME, B. Analysis of food composition data on rice from a plant genetic resources perspective. **Food Chemistry**, v. 80, n. 4, p. 589–596, 2003.
- KHUSH, G. S. et al. Biofortification of crops for reducing malnutrition. **Plant Biotechnology Reports**, v. 6, n. 3, p. 195-202, 2012.

- KREBS, N. F.; MILLER, L. V.; MICHAEL HAMBIDGE, K. Zinc deficiency in infants and children: A review of its complex and synergistic interactions. **Pediatrics and International Child Health**, v. 34, n. 4, p. 279–288, 2014.
- KUMAR, A. et al. Bioavailability of iron and zinc as affected by phytic acid content in rice grain. **Journal of Food Biochemistry**, v. 41, n. 6, p. 1–9, 2017.
- KUMAR, A. et al. Potential role of zinc supplementation in prophylaxis and treatment of COVID-19. **Medical Hypotheses**, v. 144, p. 109848, 2020.
- KUMAR, J., JAIN, S., JAIN, R. K. Linkage mapping for grain iron and zinc content in F2 population derived from the cross between PAU201 and Palman 579 in rice (L.). **Cereal Research Communications**, 42, 389–400, 2014.
- LE, S.; JOSSE, J.; HUSSON, F. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. **Journal of Statistical Software**. v. 25, n. 1, p. 1-18, 2008.
- LIDON, F. C. et al. Selenium biofortification of rice grains and implications on macronutrients quality. **Journal of Cereal Science**, v. 81, p. 22–29, 2018.
- LIU, C. et al. Development of nutritious rice with high zinc/selenium and low cadmium in grains through QTL pyramiding. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 62, n. 3, p. 349–359, 2020.
- LIU, G. et al. Effects of erosion angle on erosion properties of Fe-B alloy in flowing liquid zinc. **Metallurgical and Materials Transactions A**, v. 46, n. 5, p. 1900-1907, 2015.
- MA, D. et al. Physiological responses and yield of wheat plants in zinc-mediated alleviation of drought stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. May, p. 1–12, 2017.
- MAGANTI, S.; SWAMINATHAN, R.; PARIDA, A. Variation in Iron and Zinc Content in Traditional Rice Genotypes. **Agricultural Research**, v. 9, n. 3, p. 316–328, 2020.
- MANGUEZE, A. V. d. J. et al. Simultaneous Zinc and selenium biofortification in rice. Accumulation, localization and implications on the overall mineral content of the flour. **Journal of Cereal Science**, v. 82, n. 5, p. 34–41, 2018.
- MATEOS-NARANJO, E.; CASTELLANOS, E. M.; PEREZ-MARTIN, A. Zinc tolerance and accumulation in the halophytic species *Juncus acutus*. **Environmental and experimental botany**, v. 100, p. 114-121, 2014.
- MERTENS J., S. E. Zinc. In: **Heavy Metals in Soils**. Environmental Pollution. Dordrecht: Springer, 2013. p. 465–493.
- MORAIS JÚNIOR, O. P. et al. Assessing prediction models for different traits in a rice population derived from a recurrent selection program. **Crop Science**, v. 58, n. 6, p. 2347–2359, 2018.
- MOHAN, V. et al. Hurdles in Brown Rice Consumption. In: Manickavasagan A., Santhakumar C., Venkatachalapathy N. (eds) **Brown Rice**. Springer Cham., p. 255-269, 2017.
- MUTHAYYA, S. et al. The global hidden hunger indices and maps: an advocacy tool for action. **PLoS One**, v. 8, n. 6, 2013.

- NACHIMUTHU, V. V. et al. Genotypic variation for micronutrient content in traditional and improved rice lines and its role in biofortification programme. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 7, n. 9, p. 1414–1425, 2014.
- NIKOLIC, M. et al. The assessment of soil availability and wheat grain status of zinc and iron in Serbia: Implications for human nutrition. **Science of the Total Environment**, v. 553, p. 141–148, 2016.
- NOULAS, C.; TZIOUVALEKAS, M.; KARYOTIS, T. Zinc in soils, water and food crops. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 49, n. October 2017, p. 252–260, 2018.
- PADOVANI, R. M. et al. Dietary reference intakes: Application of tables in nutritional studies. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 741–760, 2006.
- PERECIN, D.; FILHO, A. C. Efeitos por comparações e por experimento em interações de experimentos fatoriais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 68–72, 2008.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 15. Ed. Piracicaba: Ed. ESALQ, 2009. 451 p.
- PRASAD, A. S. Impact of the discovery of human zinc deficiency on health. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 28, n. 4, p. 357–363, 2014.
- PRASAD, M. N. V. Essentiality of zinc for human health and sustainable development. In: _____. **Trace Elements as Contaminants and Nutrients: Consequences in Ecosystems and Human Health**, p. 183-216, 2008.
- RAMZAN, Y. et al. Biofortification with Zinc and Iron Improves the Grain Quality and Yield of Wheat Crop. **International Journal of Plant Production**, v. 14, n. 3, p. 501–510, 2020.
- READ, S. A. et al. The Role of Zinc in Antiviral Immunity. **Advances in Nutrition**, v. 10, n. 4, p. 696–710, 2019.
- RESENDE, M. D. V. de; DUARTE, J. B. Precisão E Controle De Qualidade Em Experimentos De Avaliação De Cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics)**, v. 37, n. 3, p. 182–194, 2007.
- ROYCHOUDHURY, A.; BHOWMIK, R. Genetic Engineering of Rice to Fortify Micronutrients. In: **Rice Research for Quality Improvement: Genomics and Genetic Engineering**. Singapore. p. 563–579, 2020.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2020. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>.
- SAHA, S. et al. Agronomic biofortification of zinc in rice: Influence of cultivars and zinc application methods on grain yield and zinc bioavailability. **Field Crops Research**, v. 210, n. January, p. 52–60, 2017.
- SAITO, K. et al. Progress in varietal improvement for increasing upland rice productivity in the tropics. **Plant Production Science**, v. 21, n. 3, p. 145–158, 2018.

SALEH, A. S. M. et al. Brown Rice Versus White Rice: Nutritional Quality, Potential Health Benefits, Development of Food Products, and Preservation Technologies. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 18, n. 4, p. 1070-1096, 2019.

SCHÖNNENBECK, M.; NEUMANN, F. History of Zinc, its production and usage. **Bericht Report**, 2015

SHARMA, A. et al. Zinc - An Indispensable Micronutrient. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 19, n. 1, p. 11–20, 2013.

SHARMA, P.; AGGARWAL, P.; KAUR, A. Biofortification: A new approach to eradicate hidden hunger. **Food Reviews International**, v. 33, n. 1, p. 1–21, 2017.

SHIVAY, Y. S.; PRASAD, R. Food Crops: Zinc and Iron Biofortification. In: **Encyclopedia of Soil Science**. CRC Press. p. 933-938, 2017.

SHRIVASTAVA, A.; GUPTA, V. B. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. **Chronicles of Young Scientists**, v. 2, n. 1, p. 21–25, 2011.

SINGH, M. K.; PRASAD, S. K. Agronomic aspects of zinc biofortification in rice (*Oryza sativa* L.). Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - **Biological Sciences**, v. 84, n. 3, p. 613–623, 2014.

SUMAN, K. et al. Identification of Promising RILs for High Grain Zinc Through Genotype × Environment Analysis and Stable Grain Zinc QTL Using SSRs and SNPs in Rice (*Oryza sativa* L.). **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 2021.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). **Food Research Center (FoRC)**. Versão 7.1. São Paulo, 2020. Acesso em: 20/04/2021. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca>.

TEIXEIRA, P. C. et al. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro, RJ: Embrapa, v. 4, 2017.

TRIPATHY, S. K.; BALA, A. Phenotyping of Elite Zinc Rich Rice Varieties for Agronomic Traits and Grain Zinc Content. **Journal of Plant Biology and Crop Research**. v. 4, n. 1, p. 5–9, 2021.

TRIPATHY, S. K.; BEHERA, S. K.; SAHU, D. Phenotyping and association analysis of grain zinc content with agro-morphological traits in a core rice germplasm. **International Journal of Chemical Studies**, v. 8, n. 2, p. 685–691, 2020.

TRUMBO, P. et al. Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. **Journal of the American Dietetic Association**, 2001.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA. **Microwave assisted acid digestion of sediments sludge, soils, and oils**. EPA SW 846 3051a, p. 30, 2007.

VIGISAN. Inquérito Nacional sobre Insegurança Alimentar no Contexto da Pandemia da Covid-19 no Brasil. **Rede PENSSAN**, Brasil, p. 66, 2021.

- WANI, A. L. et al. Zinc: An element of extensive medical importance. **Current Medicine Research and Practice**, v. 7, n. 3, p. 90–98, 2017.
- WESSELLS, K. R.; BROWN, K. H. Estimating the Global Prevalence of Zinc Deficiency: Results Based on Zinc Availability in National Food Supplies and the Prevalence of Stunting. **PLOS ONE**. v. 7, n. 11, 2012.
- WEI, X.; HUANG, X. Origin, taxonomy, and phylogenetics of rice. In: **Rice**. Elsevier, 2018. p. 1–29.
- WUANA, R. A.; OKIEIMEN, F. E. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. **ISRN Ecology**, 2011.
- XIA, H. et al. Bi-directional Selection in Upland Rice Leads to Its Adaptive Differentiation from Lowland Rice in Drought Resistance and Productivity. **Molecular Plant**, 2019.
- ZHANG, M. et al. Mapping and validation of quantitative trait loci associated with concentrations of 16 elements in unmilled rice grain. **Theoretical and Applied Genetics**, 127(1), 137–165, 2014.
- ZHANG, R. et al. Segmental duplication of chromosome 11 and its implications for cell division and genome-wide expression in rice. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–12, 2017.
- ZHU, Q. et al. Multilocus analysis of nucleotide variation of *Oryza sativa* and its wild relatives: Severe bottleneck during domestication of rice. **Molecular Biology and Evolution**, v. 24, n. 3, p. 875–888, 2007.
- ZULFIQAR, U. et al. Zinc nutrition to enhance rice productivity, zinc use efficiency, and grain biofortification under different production systems. **Crop Science**, v. 61, n. 1, p. 739–749, 2021.
- .