



## Biofortificação agronômica de zinco, ferro e selênio em grãos de trigo<sup>(1)</sup>.

**Maykom Ferreira Inocencio<sup>(2)</sup>; Antonio Eduardo Furtini Neto<sup>(3)</sup>; Silvio Júnio Ramos<sup>(4)</sup>; Ismail Çakmak<sup>(5)</sup>.**

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos do CNPq e da Universidade de Sabanci, Istanbul, Turquia.

<sup>(2)</sup> Professor do Centro Universitário de Várzea Grande; Várzea Grande, Mato Grosso; e-mail: [maykomagronomia@yahoo.com.br](mailto:maykomagronomia@yahoo.com.br); <sup>(3)</sup> Professor da Universidade Federal de Lavras; Lavras, Minas Gerais; e-mail: [afurtini@ufla.dcs.edu.br](mailto:afurtini@ufla.dcs.edu.br); <sup>(4)</sup> Pesquisador do Instituto Tecnológico Vale; Belo Horizonte, Minas Gerais; e-mail: [silvio.ramos@vale.com](mailto:silvio.ramos@vale.com); <sup>(5)</sup> Professor da Universidade de Sabanci; Istanbul, Turquia; e-mail: [cakmak@sabanciuniv.edu](mailto:cakmak@sabanciuniv.edu);

**RESUMO:** Um grande problema na saúde da população é a deficiência de um ou mais elementos, que pode ser minimizada com a biofortificação alimentar. O objetivo do estudo foi avaliar a influência da aplicação de Zn, Fe e Se na ausência e presença de uma dose complementar de S no solo, na produtividade e na biofortificação agronômica desses elementos em grãos de trigo. Foi realizado um experimento com plantas de trigo no delineamento experimental inteiramente casualizado, com duas doses de S (5 e 50 mg kg<sup>-1</sup>) e quatro tratamentos foliares (controle, Zn, Fe e Se). Cada unidade experimental foi representada por vasos com 3,3 kg de solo com quatro repetições. Os resultados mostraram efeito positivo da aplicação de S na massa seca de grãos e nos teores de Zn, Fe e Se nos grãos das plantas de trigo. Os tratamentos aplicados via foliar foram eficientes na biofortificação agronômica em plantas de trigo.

**Termos de indexação:** enriquecimento nutricional, segurança alimentar, produtividade.

### INTRODUÇÃO

Os problemas relacionados à deficiência nutricional atingem quase metade das pessoas no mundo, especialmente países em desenvolvimento (Çakmak, 2008). Em geral, os elementos limitantes para o bom funcionamento do organismo são o Zn (Welch & Graham, 2004), o Fe (Ozturk et al., 2006) e o Se (Kutman et al., 2011). O problema é agravado quando alimentos são produzidos em áreas onde os teores desses elementos são baixos (Han et al., 2009).

Dentre as funções desses elementos nos seres humanos, destaca-se, no caso do Zn, a sua participação na composição/ativação enzimática, na síntese proteica e na amenização dos efeitos do oxigênio ativo (Çakmak, 2008). O Fe atua nas reações de liberação de energia, na conversão de ribose e desoxirribose e como cofator de reações enzimáticas (Cook et al., 1992). O Se está relacionado com a atividade antioxidante, na

formação de selenoproteínas e na atividade anticancerígena (Rayman, 2002).

Entre as principais culturas no mundo, o trigo tem papel importante na alimentação de grande parte da população dos países em desenvolvimento. Porém, nestes países, os teores de Zn, Fe e S nos grãos são muito baixos e a ingestão diária é insuficiente para garantir a quantidade necessária para os processos metabólicos (Kutman et al., 2011). Pela baixa quantidade requerida pelas plantas, Zn, Fe e Se podem ser aplicados, via foliar, a fim de promover a elevação dos teores nas partes comestíveis da cultura.

Além da biofortificação de Zn nos alimentos, é importante conhecer em quais locais há a maior concentração do elemento, visto que os processos industriais podem contribuir para reduzir o teor de Zn nos grãos. O Zn é acumulado no embrião e na camada de aleurona, cujos teores podem ser de até 150 mg kg<sup>-1</sup>, enquanto que no endosperma são de apenas 15 mg kg<sup>-1</sup> (Ozturk et al., 2006).

Entre as funções do S, evidencia-se a atuação na síntese proteica, na composição de aminoácidos como a cisteína, cistina e metionina (Engle-Stone et al., 2005). Além disso, o S auxilia na translocação do Fe e do Zn pela formação de complexos do tipo tiol (Persson et al., 2009). Sua dinâmica pode ser alterada pela presença do Se, onde parte do S pode ser substituída por esse elemento, com a formação de selenometionina e selenocisteína (Rayman, 2002). Como 10% de todas as proteínas possuem o Zn como constituinte, a deficiência desse nutriente pode desencadear problemas fisiológicos e metabólicos na planta (Çakmak, 2008).

O objetivo do estudo foi avaliar a influência da aplicação de Fe, Se e Zn via foliar na produção e biofortificação de grãos de trigo submetidas à aplicação ou não de enxofre via solo.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa-de-vegetação da Faculdade de Engenharia e Ciências Naturais da Universidade de Sabanci, Istanbul - Turquia. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com duas doses de S na



forma de  $K_2SO_4$  (5 e 50  $mg\ kg^{-1}$ ) aplicados via solo e três tratamentos foliares, Zn (2%,  $ZnNO_3$ ), Fe (2%, Fe-EDTA), Se (0,025%,  $Na_2SeO_4$ ), além do tratamento controle. Cada unidade experimental foi constituída por vasos com 3,3 kg de solo e por cinco plantas de trigo (cultivar Adana 99), com quatro repetições cada. O volume total aplicado da solução em cada vaso foi de 150 mL, o que equivaliu a concentrações de 1,2 mg de Zn, 0,78 mg de Fe e 0,032 mg de Se. No estudo foi efetuada a aplicação foliar em dois estágios R1 e R3 da cultura.

O solo utilizado foi coletado na camada de 0-20 cm na região da Anatólia Central na Turquia e os seus atributos foram: pH em  $H_2O$ : 8,4, matéria orgânica: 1%; S- $SO_4$ : 5,6 mg/kg; Zn: 0,1 mg/kg; Fe: 1,0 mg/kg; argila 110g/kg; silte 160 g/kg; areia: 730 g/kg. A adubação básica foi de (por kg de solo): 100 mg de N e 200 mg de P (MAP), 200 mg de K ( $KNO_3$ ) e 50 mg de Mg ( $MgNO_3$ ). Aos 25 dias após a semeadura, foi realizada a aplicação de 200 mg de N ( $NH_4NO_3$ ).

Aos 120 dias colheram-se as plantas de trigo e onde houve a separação entre a parte aérea e os grãos. Cada parte vegetal foi lavada com água bidestilada e encaminhada para estufa de circulação forçada de ar durante 72 h e depois pesada para a avaliação da sua biomassa. Posteriormente, apenas houve a avaliação química dos grãos que foram então triturados e submetidos a digestão ácida com 2 mL de  $HNO_3$  e 2 mL de  $HClO_4$  a 120 °C por 1 hora em tubos. N, S, Fe, Zn e Se foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica. Para certificação da qualidade das análises foi utilizado material Tomato Leaf, NIST1573a.

Para os teores de ácido fítico foi utilizada a metodologia de Latta & Eskin (1980) e para a distribuição de Zn nos grãos a metodologia de Ozturk et al. (2006). As imagens foram obtidas por uma câmera de alta resolução a partir de um microscópio de reflexão da luz (Nikon SMZ1500).

Os dados foram submetidos à análise de variância e testes de média, com o auxílio do programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2012).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A altura de plantas, o número de perfilhos e de panículas e a produção de massa seca da parte aérea e de grãos de trigo foram influenciados significativamente apenas pela aplicação de S no solo (**Tabela 1**). A produção de massa seca de grãos foi cerca de quatro vezes maior nas plantas cultivadas em solo com 50  $mg\ kg^{-1}$  de S, quando comparado às plantas que receberam apenas 5  $mg\ kg^{-1}$  de S. Aliado ao N, o S é o nutriente que tem maior importância na formação de aminoácidos, proteínas e coenzimas (Black, 2003). Plantas

cultivadas em solos americanos com teores inferiores a 10  $mg\ kg^{-1}$  de S manifestam sintomas de deficiência e redução da produtividade (Engle-Stone et al., 2005).

As concentrações de N e S nos grãos variaram somente em função das doses de S no solo, enquanto que os teores de Fe, Zn, Se e ácido fítico foram influenciados tanto pelas doses de S, quanto pela aplicação de Zn, Fe e Se via foliar. Os teores de ácido fítico foram menores quando se aplicou S na maior dose (**Tabela 2**).

No tratamento com aplicação foliar de Zn, os teores desse nutriente na massa seca de grãos aumentaram aproximadamente de 37 para 58  $mg\ kg^{-1}$ , independente da adubação sulfatada. A aplicação de Se e de Fe promoveu aumento dos teores de Zn em relação ao tratamento controle apenas sob um menor fornecimento de S via solo. Com a aplicação de 50  $mg\ kg^{-1}$  de S, o efeito de Se e de Fe foi praticamente nulo, sendo os teores semelhantes ao do tratamento controle. Houve aumento significativo nos teores de Se nas duas doses de S com a aplicação de selenato de sódio via foliar.

Nos estudos de Vicente et al. (2009), os autores apontam a importância da interação Fe-S, isso porque os dois nutrientes estão associados a proteínas e enzimas como a hidroxilase da fenilalanina e da prolil, tirosina e aconitase. A baixa presença de S ou de Fe reduz drasticamente a produtividade das culturas e a sua aplicação no solo favorece o suprimento para as plantas e o aumento da produtividade. Com a ingestão adequada de Fe há redução drástica da incidência de diversas doenças, dentre elas, a anemia (Cakmak, 2008).

A adição de Se nas plantas de trigo se mostrou positiva, uma vez que os teores do elemento nos grãos aumentaram consideravelmente. Cakmak (2008) afirmou que a prática da biofortificação agrônômica de Se em alimentos é a maneira mais econômica para introduzir, em maiores quantidades, o elemento na dieta humana.

Maior redução na produção de ácido fítico foi observada na maior dose de S no solo, assim como encontrado por Engle-Stone et al. (2005) e Persson et al. (2009). Uma maior disponibilidade de S no solo, favorece a produção de maiores quantidades de fitoquelatinas (Haneklaus et al., 2003) que são importantes na complexação de metais, dentre eles Fe e Zn, o que auxilia na incorporação destes nutrientes no tecido vegetal e, conseqüentemente, minimiza o efeito da insolubilização dos micronutrientes por meio da formação de fitatos.

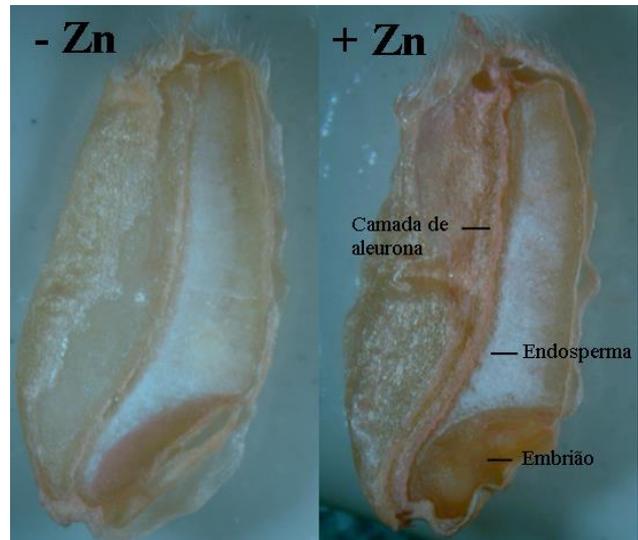
Os menores teores de Se nos grãos de trigo quando do fornecimento de 50  $mg\ kg^{-1}$  de S, em relação àquelas que receberam menor dose do nutriente, pode estar associado ao fato de que o S e

o Se são estruturalmente semelhantes e ocorre uma competição entre estes elementos pelos mesmos sítios de absorção nas raízes das plantas (Rayman, 2002). Também houve um efeito de diluição devido à maior produção de massa seca.

Bilsky et al. (2012) avaliaram a biofortificação agrônômica de Zn, Fe e Se em diversas culturas e concluíram que a adição de fertilizantes promoveu incrementos nos seus teores em triticale, cevada e trigo, uma vez que plantas bem nutridas nestes elementos podem promover a sua translocação para os grãos.

Na dose de  $50 \text{ mg kg}^{-1}$  de S, a produção de ácido fítico nos grãos foi reduzida em aproximadamente 30%. Estudos apontam que teores inferiores do ácido aumentam a bioacessibilidade do Zn e Fe no organismo (Welch e Graham, 2004; Cakmak, 2008). Engle-Stone et al. (2005) afirmam que muitos nutrientes no tecido vegetal são complexados com ácido fítico, o que forma compostos de baixa solubilidade às plantas. No entanto, no trabalho de Persson et al. (2009) foi observado que o Zn pode não estar complexado ao fitato em cevada, desde que as plantas fossem cultivadas com uma adubação sulfatada adequada. A formação de complexos do tipo tiol-zinco e tiol-ferro possibilitam que esses nutrientes sejam mais bem aproveitados pelas plantas (Engle-Stone et al., 2005).

A adição de Zn promoveu aumento nos teores do micronutriente na massa seca dos grãos de trigo (**Tabela 2**), mas a sua distribuição interna no grão não foi uniforme. A maior concentração de Zn (indicada pela coloração avermelhada) foi encontrada na camada de aleurona e no embrião (**Figura 1**). A resposta foi semelhante em todos os tratamentos onde o Zn foi aplicado, independentemente da dose de S aplicada no solo. Assim, a manutenção da camada de aleurona e do embrião durante o processo de beneficiamento dos grãos de trigo é necessária (Ozturk et al., 2006), para garantir altos teores de Zn nos alimentos após o processamento dos grãos.



**Figura 1** - Localização de zinco em grãos de trigo. Tratamento controle (esquerda) e adição de 2% de zinco na forma de sulfato de zinco nos estágios R1 e R3 (direita).

## CONCLUSÕES

Há efeito positivo da aplicação de S na produção de massa seca de grãos e nos seus teores de Zn, Fe e Se em plantas de trigo.

Aplicações foliares com Zn, Fe e Se são eficientes na biofortificação agrônômica em trigo.

A interação entre o S e Zn, Fe e Se deve ser considerada na biofortificação agrônômica.

## REFERÊNCIAS

BILSKI J.; JACOB D.; SOUMAILA F. et al. Agronomic biofortification of cereal crop plants with Fe, Zn, and Se, by the utilization of coal fly ash as plant growth media. *Advances in BioResearch*, 3:130- 136, 2012.

BLACK, R. E. Zinc deficiency, infectious disease and mortality in the developing world. *Journal of Nutrition*, 13: 1485-1489, 2003.

CAKMAK, I. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? *Plant Soil*, 302:1-17, 2008

COOK, J. D.; BAYNES, R. D. & SKIKNE, B. S. Iron deficiency and the measurement of iron status. *Nutrition Research*, 5:189-202, 1992

ENGLE-STONE, R.; YEUNG, A.; WELCH, R. et al. Meat and ascorbic acid can promote Fe availability from Fe-phytate but not from Fe-tannic acid complexes. *Journal Agricultural of Food Chemistry*, 53: 10276–10284, 2005.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistic analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, 35:1039-1042, 2012.



HAN, R. M.; TIAN, Y. X.; LIU, Y. et al. Comparison of flavonoids and isoflavonoids as antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57:3780-3785, 2009.

HANEKLAUS S.; BLOEM E. & SCHNUG E. The global sulphur cycle and its links to plant environment. In: ABROL, Y.P. & AHMAD, A. eds. *Sulphur in Plants*, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2013. p. 1-28.

KUTMAN, U. B.; YILDIZ, B. & CAKMAK, I. Improved nitrogen status enhances zinc and iron concentrations both in the whole grain and the endosperm fraction of wheat. *Journal of Cereal Science*, 53:118-125, 2011.

LATTA, M. & ESKIN, M. A. simple and rapid colorimetric method for phytate determination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28:1313-1315, 1980.

OZTURK, L.; YAZICI, M. A.; YUCEL, C. et al. Concentration and localization of zinc during seed development and germination in wheat. *Physiology Plant*, 128:144-152, 2006.

PERSSON, D. P.; HANSEN, T. H.; LAURSEN, K. H. et al. Simultaneous iron, zinc, sulfur and phosphorus speciation

analysis of barley grain tissues using SEC-ICP-MS and IP-ICP-MS. *Metallomics*, 1:418-426, 2009.

RAYMAN, M. P. The argument for increasing selenium intake. *Proceedings of the Nutrition Society*, 61:203-215, 2002.

TSAO, G. T.; ZHENG, Y.; LU, J. et al. Adsorption of heavy metal ions immobilized phytic acid. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 63:731-741, 1997.

VICENTE, A. R.; MANGANARIS, G. A.; SOZZI, G. O. et al. Nutritional Quality of Fruits and vegetables. In: FLORKOWSKI, W. J.; SHEWFELT, R. L.; BRUECKNER, R. et al. eds. *Postharvest Handling: a Systems Approach*. Amsterdam: Elsevier INC., 2009. p. 81-86.

WELCH, R. M. & GRAHAM, R. D. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. *Journal Experimental Botanic*, 55:353-364, 2004.

**Tabela 1** - Altura de plantas, número de perfilhos e de panículas, massa seca da parte aérea (MSPA) e de grãos (MSG) de trigo em função de doses de enxofre e tratamentos foliares com zinco, ferro e selênio.

S	Tratamento	Altura	Perfilhos	Panículas	MSPA	MSG
mg/kg	Foliar	(cm)	(perf./vaso)	(pan./vaso)	(g/vaso)	(g/vaso)
5	-	74,1 aB	7,5 aB	6,3 aB	16,8 aB	7,3 aB
	Se	76,9 aB	7,0 aB	6,8 aB	17,9 aB	7,6 aB
	Zn	76,1 aB	6,5 aB	6,0 aB	18,1 aB	7,5 aB
	Fe	74,3 aB	7,0 aB	5,8 aB	16,9 aB	6,5 aB
50	-	90,9 aA	16,8 aA	15,0 aA	24,8 aA	27,3 aA
	Se	89,8 aA	16,5 aA	16,0 aA	26,5 aA	26,9 aA
	Zn	89,1 aA	15,8 aA	15,0 aA	25,7 aA	26,6 aA
	Fe	91,2 aA	17,0 aA	15,0 aA	27,1 aA	25,5 aA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna para cada dose de enxofre e maiúscula comparando cada tratamento foliar em cada dose de enxofre não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott,  $p \leq 0,05$ .

**Tabela 2** - Teores de nitrogênio, enxofre, ferro, zinco, selênio e ácido fítico em grãos de trigo em função de doses de enxofre e tratamentos foliares com zinco, ferro e selênio.

Enxofre	Tratamento	Nitrogênio	Enxofre	Ferro	Zinco	Selênio	Ácido Fítico
mg/kg	Foliar	.....g/kg.....	.....mg/kg.....	.....mg/kg.....	.....mg/kg.....	....µg/kg.....	
Teor nos grãos							
5	-	21,0 aA	0,71 aB	23,5 bA	35,1 bA	50 dA	13,7 aA
	Se	20,3 aA	0,76 aB	24,2 bA	48,7 bB	8796 AA	14,5 aA
	Zn	19,8 aA	0,73 aB	24,7 bB	58,8 aA	91 Ca	15,6 AA
	Fe	20,4 aA	0,77 aB	31,7 aA	52,8 bA	86 Ca	14,2 AA
50	-	18,0 aB	1,71 aA	24,1 bA	36,5 bA	37 cB	10,1 aB
	Se	18,1 aB	1,68 aA	26,0 aA	38,7 bA	5013 aB	9,3 BB
	Zn	18,1 aB	1,72 aA	27,5 aA	57,1 aA	57 BB	10,8 aB
	Fe	18,0 aB	1,79 aA	27,2 aB	36,0 bB	47 BA	10,7 aB

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna para cada dose de enxofre e maiúscula comparando cada tratamento foliar nas duas doses de enxofre não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott,  $p \leq 0,05$ .