

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JOÃO AUGUSTO LOPES PASCOALINO

EFICIÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DE ZINCO E SUA RELAÇÃO COM NITROGÊNIO NA
BIOFORTIFICAÇÃO DE GENÓTIPOS DE TRIGO

CURITIBA

2017

JOÃO AUGUSTO LOPES PASCOALINO

EFICIÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DE ZINCO E SUA RELAÇÃO COM NITROGÊNIO NA
BIOFORTIFICAÇÃO DE GENÓTIPOS DE TRIGO

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em
Ciência do Solo, Setor de Ciências Agrárias,
Universidade Federal do Paraná, como requisito
parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência
do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Milton Ferreira Moraes

Coorientador: Prof. Dr. Volnei Pauletti

Coorientador: Dr. Francisco Assis Franco

Coorientador: Dr. Pedro Luiz Scheeren

CURITIBA

2017

P281e Pascoalino, João Augusto Lopes
Eficiência da utilização de zinco e sua relação com nitrogênio
na biofortificação de genótipos de trigo / João Augusto Lopes
Pascoalino. - Curitiba, 2017.
85 p.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de
Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência do
Solo.

Orientador: Milton Ferreira Moraes

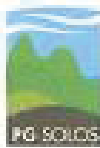
Coorientador: Volnei Pauletti

Coorientador: Francisco Assis Franco

Coorientador: Pedro Luiz Scheeren

1. Trigo - Efeito do Zinco. 2. Trigo - Nutrição. 3. Trigo -
Melhoramento genético. 4. Trigo - Nitrogênio na agricultura. 5.
Ferro. I. Moraes, Milton Ferreira. II. Pauletti, Volnei. III. Franco,
Francisco Assis. IV. Scheeren, Pedro Luiz. V. Título. VI.
Universidade Federal do Paraná.

CDU 631.11



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO
Mestrado e Doutorado



PARECER

A Banca Examinadora designada para avaliar a defesa da Tese de Doutorado de **João Augusto Lopes Pascoalino** intitulada: "**Eficiência da utilização de zinco e sua relação com nitrogênio na biofortificação de genótipos de trigo**", do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, após análise do texto e arguição do candidato, emitem parecer pela "**APROVAÇÃO**" da referida Tese. O candidato atende assim um dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciência do Solo - Área de Concentração Solo e Ambiente.

Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, em Curitiba, 22 de dezembro de 2017.


Prof. Dr. Milton Ferreira de Moraes, Presidente


Prof. Dr. Gabriel Barth, I^o. Examinador


Profa. Dra. Aline Roberta de Carvalho Silvestrin, II^o. Examinador


Dr. Hilbert Blum, III^o. Examinador

Dedico esse trabalho aos meus pais, João Batista Pascoalino e Helena Aparecida Lopes Pascoalino, a minha esposa, Talita Cristiane de Lima Guerra, e aos meus amigos, de fé e de obras.

AGRADECIMENTOS

Pode ser por um simples favor ou por uma grande atitude, mas o agradecimento nunca deve ser esquecido...

Agradeço a Deus, o responsável pela nossa existência, a quem humildemente eu agradeço a cada momento da minha vida, pois é ao seu lado que caminho em prol de alcançar meus objetivos e ajudar ao próximo. Neste momento agradeço por mais esta conquista, na qual almejava tanto, sendo um grande sonho meu e da minha família. Continue guiando meus passos.

A minha família, que é meu porto seguro! Meus pais: João Batista Pascoalino e Helena Aparecida Lopes Pascoalino. Pessoas que tenho grande sentimento de amor, admiração pela forma com que conquista seus objetivos, sempre com coragem, garra, honestidade e simplicidade. Conquistas essas, dedicadas direta e indiretamente para criação e educação minha e de meus irmãos Fernando Augusto Lopes Pascoalino e Renan Augusto Lopes Pascoalino, que também são pessoas maravilhosas e que se espelham em nossos pais igualmente a mim para obter nosso próprio sucesso tanto pessoal, quanto profissional.

A família da minha esposa, Sergio Vicente Guerra, Solange Aparecida de Lima Guerra, Sergio de Lima Guerra, Sebastião de Lima e Candida Polizeli de Lima. O apoio, a ajuda, o carinho que proporcionaram e proporcionam é de grande importância para minha vida. Obrigado pela atenção e pelo carinho dedicado a mim. E quero que saibam que tudo o que fazemos pensando em ajudar ao próximo, nos é devolvido em dobro.

A minha esposa, Talita Cristiane de Lima Guerra, uma pessoa que merece ser homenageada de todas as formas, pois é nesta pessoa que encontro apoio para todas as ocasiões e dificuldades da minha vida. É ela que se preocupa em me fazer feliz, com gestos de atenção, carinho que proporciona momentos de paz e de muita alegria em minha vida. Você faz a diferença, Muito Obrigado. Você é mesmo uma pessoa muito especial!

Aos amigos, que acompanharam minha jornada, compartilhando e auxiliando durante todo o período do mestrado, em inúmeros momentos, sendo de felicidades e dificuldades. Saibam que vocês se tornaram pessoas importantes para mim, e que pretendo cultivar nossa amizade por muito tempo.

Aos professores e funcionários, do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Universidade Federal do Paraná. Aos professores que tem amor em dar aulas, em ensinar o próximo, em trabalhar pelo aprendizado dos mestrandos. Que são responsáveis em passar informações e conhecimentos fundamentais para formação de futuros pesquisadores. Aos funcionários, que permitem e auxiliam no andamento dos trabalhos.

Ao orientador, Milton Ferreira de Moraes, preliminarmente por depositar confiança e acreditar em meu potencial na realização desse trabalho, e também por estar desde o início apoiando e orientando de forma sensata e construtiva. Além, de proporcionar oportunidades únicas de experiência profissional na área de atuação, somando para um completo crescimento pessoal e profissional.

Aos co-orientadores Volnei Pauletti, Francisco de Assis Franco e Pedro Luiz Scheeren que atuaram de forma positiva e complementar na elaboração desse trabalho. Quando necessitados, sempre atenciosos e dispostos a ajudarem.

Ao professor e pesquisador Philip John White que foi orientador no doutorado sanduíche no James Hutton Institute (Scottish Crop Research), bem como um amigo de sábios conselhos e ensinamentos para vida pessoal e carreira profissional.

A todos mencionados ou que por algum lapso não lembrei, presto meus sinceros agradecimentos pela simplicidade e generosidade em ajudar ao próximo. No mais, não encontro palavras que consigam expressar todo sentimento de gratidão, além do muito obrigado!

“Que honremos o fato de ter nascido, e que saibamos desde cedo que não basta rezar um Pai Nosso para quitar as falhas que cometemos diariamente. Essa é uma forma preguiçosa de ser bom. O sagrado está na nossa essência, e se manifesta em nossos atos de boa fé e generosidade, frutos de uma percepção profunda do universo, e não de ocasião. Se não estamos focados no bem, nossa aclamada religiosidade perde o sentido.

Que se perceba que quando estamos dançando, festejando, namorando, brindando, abraçando, sorrindo e fazendo graça, estamos homenageando a vida, e não a maculando. Que sejam muitos esses momentos de comemoração e alegria compartilhados, pois atraem a melhor das energias. Sentir-se alegre não deveria causar desconfiança, o espírito leve só enriquece o ser humano, pois é condição primordial para fazer feliz a quem nos rodeia.

Que estejamos abertos, se não escancaradamente, ao menos de forma a possibilitar uma entrada de luz pelas frestas – que nunca estejamos lacrados para receber o que a vida traz. Novidade não é sinônimo de invasão, deturpação ou violência. Acreditemos que o novo é elemento de reflexão: merece ser avaliado sem preconceito ou censura prévia.”

Martha Medeiros

RESUMO

A biofortificação, aumento dos teores de micronutrientes nos grãos de trigo, pode ser uma boa estratégia para o combate a deficiência de zinco (Zn) em humanos. Atualmente no Brasil, os esforços para o aumento do teor de Zn nos grãos têm sido voltados principalmente ao melhoramento genético convencional, todavia, estudos recentes têm mostrado que a prática da adubação com Zn, às particularidades fisiológicas e nutricionais dos genótipos, contribui para o aumento da concentração de Zn nos grãos. Para melhor entender atuação desses processos na qualidade nutricional dos grãos, o estudo objetivou conhecer os genótipos mais eficientes e responsivos ao Zn, a forma de aplicação de Zn de maior influência no aumento da concentração de Zn nos grãos, bem como, a relação da eficiência de utilização de Zn e o metabolismo de N. Para isso, foram realizados experimentos e divididos em três capítulos com os respectivos objetivos: Capítulo 1: identificar e selecionar genótipos de trigo com potencial para biofortificação com Zn; Capítulo 2: avaliar os efeitos das formas de aplicação de Zn na concentração de micronutrientes nos tecidos vegetais de genótipos de trigo com contrastantes potencial para biofortificação com Zn e Capítulo 3: avaliar os efeitos do fornecimento de N na absorção, translocação e acumulação de Zn em tecidos vegetais de genótipos de trigo com potencial contrastante para biofortificação de Zn no grão. Diversidade genética foi encontrada entre os genótipos de trigo para produtividade e concentração de nutrientes no grão, bem como responderam distintamente para aplicações de micronutrientes. A exploração de recursos genéticos tanto para produtividade quanto para a concentração de micronutrientes em partes comestíveis das culturas pode possibilitar a criação de materiais genéticos mais produtivos e naturalmente ricos em nutrientes. A eficiência agrônômica de uso de Zn (α) pode ser usada para identificar genótipos de trigo com potencial de biofortificação. Os genótipos classificados como eficientes e responsivos (ER): CD 154, IPR 11, IPR 118 e BRS Parrudo podem ser considerados para futuros estudos de biofortificação. Para aplicação de Zn, a ordem de concentração de Zn no grão foi $Zn-S+F \geq Zn-F > Zn-S > Fe-F = \text{controle}$, portanto sendo as aplicações Zn-S+F e Zn-F as melhores quando o objetivo é aumentar as concentrações de Zn no grão. A aplicação de Zn, também aumentou a concentração de N e Fe. A aplicação de N associado ao bom *status* de Zn na planta promoveu melhoras na absorção, translocação e acumulação do Zn dentro das plantas trigo. Permitindo concluir que os genótipos de trigo responderam positivamente a adubação de N e que administração do estado nutricional de N é uma rota promissora para biofortificação de micronutrientes em grãos de cereais. Contudo, é possível selecionar e melhorar genótipos para alta capacidade de concentrar Zn, N e Fe sem reduzir o níveis de produtividade, bem como utilizar manejos, tais como: adubação com Zn e N para potencializar o efeito da biofortificação das culturas comestíveis em geral, em especial os cereais.

Palavras-chave: Saúde humana. Desnutrição. Melhoramento de plantas. Ferro. *Triticum aestivum* L.

ABSTRACT

Biofortification, increased micronutrient content in wheat grains, can be a good strategy to combat zinc deficiency (Zn) in humans. Currently in Brazil, efforts to increase Zn content in grains have been focused mainly on conventional genetic improvement, however, recent studies have shown that the practice of Zn fertilization, physiological and nutritional peculiarities of the genotypes, contributes to the increase of the grain Zn concentration. In order to better understand the performance of these processes in the nutritional quality of the grains, the study aimed to know the most efficient and responsive Zn genotypes, Zn application form to increase grain Zn concentration, as well as the efficiency ratio of Zn utilization and the metabolism of N. For this, experiments were carried out and divided into three chapters with the respective objectives: Chapter 1: identify and select genotypes of wheat with potential for biofortification with Zn; Chapter 2: evaluating the effects of Zn application forms on the concentration of micronutrients in plant tissues of wheat genotypes with potential contrast for Zn biofortification and Chapter 3: evaluating the effects of N supply on Zn uptake, translocation and accumulation in plant tissues of wheat genotypes with contrasting potential for biofortification of Zn in the grain. Genetic diversity was found among wheat genotypes for yield and nutrient concentration in the grain, as well as distinctly responding to micronutrient applications. Exploitation of genetic resources for both productivity and the concentration of micronutrients in edible parts of crops can enable the creation of more productive and naturally rich nutrient-rich genetic materials. The agronomic efficiency of Zn (α) can be used to identify wheat genotypes with biofortification potential. The genotypes classified as efficient and responsive (ER): CD 154, IPR 11, IPR 118 and BRS Parrudo can be considered for future biofortification studies. For Zn application, the order of grain Zn concentration was $Zn-S + F \geq Zn-F > Zn-S > Fe-F = control$, therefore the Zn-S + F and Zn-F applications are best when the objective is to increase the grain Zn concentrations. Zn application also increased the grain N e Fe concentration. Application of N associated with good Zn status in the plant promoted improvements in Zn uptake, translocation and accumulation within wheat plants. It is possible to conclude that wheat genotypes were positively responsible for N fertilization and that N nutritional status administration is a promising route for the biofortification of micronutrients in cereal grains. However, it is possible to select and improve genotypes for high capacity to concentrate Zn, N and Fe without reducing yield levels, as well as to use managements such as fertilization with Zn and N to potentiate the biofortification effect of edible crops in general, in particular of cereals.

Keywords: Human health. Malnutrition. Plant breeding. Iron. *Triticum aestivum* L.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE Zn NOS GRÃOS DOS GENÓTIPOS DE TRIGO CULTIVADOS EM AMBIENTE CONTROLADO E A CAMPO SEM ADUBAÇÃO DE Zn (a) E COM ADUBAÇÃO DE Zn (b). VALORES SÃO MÉDIAS (N=4), TESTE DE TUKEY ($P < 0.05$).....29

FIGURA 2 – CLASSIFICAÇÃO DOS GENÓTIPOS DE TRIGO CRESCIDOS EM AMBIENTE CONTROLADO (a, b) E A CAMPO (c, d) COM BASE NA PRODUTIVIDADE DE GRÃOS (a, c) E NO CONTEÚDO DE Zn NO GRÃO (b, d). AS LINHAS TRACEJADAS REPRESENTAM O VALOR MÉDIO PARA O EIXO. ER = EFICIENTE E RESPONSIVO, ENR = EFICIENTE E NÃO RESPONSIVO, NER = INEFICIENTE E RESPONSIVO, NENR = INEFICIENTE E NÃO RESPONSIVO.....30

FIGURA 3 – CLASSIFICAÇÃO DE 20 GENÓTIPOS DE TRIGO BASEADO NA RELAÇÃO ENTRE CONTEÚDO DE Zn NO GRÃO ($SEM-ZN$ = SEM ADUBAÇÃO COM Zn) E VALOR α PARA CONTEÚDO DE Zn NO GRÃO (FAGERIA E BALIGAR, 2005). AS LINHAS TRACEJADAS REPRESENTAM O VALOR MÉDIO PARA O EIXO. NER = GENÓTIPOS NÃO EFICIENTES E RESPONSIVOS, ER = GENÓTIPOS EFICIENTES E RESPONSIVOS, NENR = GENÓTIPOS NÃO EFICIENTES E NÃO RESPONSIVOS E ENR = GENÓTIPOS EFICIENTES E NÃO RESPONSIVO. VALORES REPRESENTAM MÉDIAS DE QUATRO REPETIÇÕES INDEPENDENTES.....39

FIGURA 4 – PRODUTIVIDADE (a) E CONCENTRAÇÃO DE Zn (b), N (c) E Fe (d) NO GRÃO DE GENÓTIPOS DE TRIGO. VALORES SÃO MÉDIAS DOS TRATAMENTOS COM QUATRO REPETIÇÕES CADA, TUKEY ($P < 0.05$).....44

FIGURA 5 – RESPOSTA DA PRODUTIVIDADE (a) E DA CONCENTRAÇÃO DE Zn (b), N (c) E Fe (d) NO GRÃO DE GENÓTIPOS DE TRIGO EM FUNÇÃO DOS TRATAMENTOS: CONTROLE (SEM ADUBAÇÃO), Zn-S (ADUBAÇÃO DE 10 KG Zn HA⁻¹ NO SOLO), Zn-F (ADUBAÇÃO DE 0,91 KG Zn HA⁻¹ NA FOLHA), Zn-S+F (ADUBAÇÃO DE Zn NO SOLO E NA FOLHA) OU Fe-F (ADUBAÇÃO DE 1,5 KG HA⁻¹

¹ Fe NA FOLHA). VALORES SÃO MÉDIAS DE QUATRO REPETIÇÕES, TUKEY ($P < 0.05$).46

FIGURA 6 – DENDROGRAMA UPGMA COM BASE NA SIMILARIDADE DA PRODUTIVIDADE (a) E CONCENTRAÇÃO DE Zn NO GRÃO (b) DE GENÓTIPOS DE TRIGO.47

FIGURA 7 – PCA BASEADO NO PERFILHAMENTO, PRODUTIVIDADE E CONCENTRAÇÃO DE Zn, N E Fe NO GRÃO DE GENÓTIPOS DE TRIGO. CORRELAÇÃO LINEAR DE PEARSON, NS (NÃO SIGNIFICATIVO), * ($0,01 < P \leq 0,05$), ** ($P < 0,01$) e ^{ns} ($P > 0,05$).49

FIGURA 8 – CLASSIFICAÇÃO DE 22 GENÓTIPOS DE TRIGO DE INVERNO BASEADO NA RELAÇÃO ENTRE CONTEÚDO DE Zn NO GRÃO (SEM-Zn = SEM ADUBAÇÃO COM Zn) E VALOR A PARA CONTEÚDO DE Zn NO GRÃO (FAGERIA E BALIGAR, 2005). AS LINHAS CONTÍNUAS REPRESENTAM O VALOR MÉDIO PARA O EIXO. NER = GENÓTIPOS NÃO EFICIENTES E RESPONSIVOS, ER = GENÓTIPOS EFICIENTES E RESPONSIVOS, NENR = GENÓTIPOS NÃO EFICIENTES E NÃO RESPONSIVOS E ENR = GENÓTIPOS EFICIENTES E NÃO RESPONSIVO. VALORES REPRESENTAM MÉDIAS DE QUATRO REPETIÇÕES INDEPENDENTES.57

FIGURA 9 – PORCENTAGEM DE AUMENTO DA MASSA SECA, CONCENTRAÇÃO E CONTEÚDO DE Zn DE TECIDOS VEGETAIS (RAIZ (ROOT), PARTE AÉREA (STRAW) E GRÃO (GRAIN)) DE DOIS GENÓTIPOS DE TRIGO DE INVERNO (QUARTZO E BRS PARRUDO) SOBRE A SUPLEMENTAÇÃO DE Zn (LOW-ZN: 0.15 MM) E N (LOW-N: 0.4 MM).68

FIGURA 10 – DISTRIBUIÇÃO DA CONCENTRAÇÃO E CONTEÚDO DE Zn NOS TECIDOS VEGETAIS DE DOIS GENÓTIPOS DE TRIGO DE INVERNO (QUARTZO E BRS PARRUDO) CRESCIDOS ATÉ MATURIDADE SOB CONDIÇÕES DE AMBIENTE CONTROLADO.70

FIGURA 11 – RELAÇÃO ENTRE GRAIN YIELD E GRAIN Zn CONCENTRATION E GRAIN YIELD E GRAIN Zn CONTENT DE DOIS GENÓTIPOS DE TRIGO DE INVERNO (QUARTZO E BRS PARRUDO) CRESCIDOS SOB SUPLEMENTAÇÃO DE ZN (LOW-ZN: 0.15 μ M OU HIGH-ZN: 2.25 μ M) E N (LOW-N: 0.4 MM OU HIGH-N: 4.0 MM). * E ** INDICAM VALORES SIGNIFICATIVOS AO NÍVEL DE 1 E 5 % DE PROBABILIDADE, RESPECTIVAMENTE.71

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – DESCRIÇÃO DO ANO DE LANÇAMENTO, LINHAGEM E GENEALOGIA DOS CULTIVARES DE TRIGO.	21
TABELA 2 – CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E TEXTURAS DO SOLO ANTES DO CULTIVO DO TRIGO.	22
TABELA 3 – CARACTERIZAÇÃO CLIMÁTICA REFERENTE AO PERÍODO DE CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS EM PALOTINA, PARANÁ, BRASIL.	23
TABELA 4 – CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E TEXTURAS DA CAMADA ARÁVEL (0-20 CM DE PROFUNDIDADE) DO SOLO DE PALOTINA, ANTES DO CULTIVO DO TRIGO.	23
TABELA 5 – FORMULAS DOS CÁLCULOS UTILIZADOS NO ESTUDO PARA OBTER A EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE USO DE NUTRIENTES (α) DOS GENÓTIPOS DE TRIGO SOB ADUBAÇÃO COM Zn NO SOLO.	24
TABELA 6 – PORCENTAGEM DE CONTRIBUIÇÃO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA), PRODUTIVIDADE (PROD), CONCENTRAÇÃO DE Zn NA MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA (Zn-MSPA) E GRÃO (Zn-GRAO) DE GENÓTIPOS DE TRIGO CULTIVADOS EM AMBIENTE CONTROLADO DE CASA DE VEGETAÇÃO E CAMPO.	25
TABELA 7 – EFEITO DO MATERIAL GENÉTICO (GENÓTIPO) E DA ADUBAÇÃO COM Zn NA MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA), PRODUTIVIDADE (PROD), CONCENTRAÇÃO DE Zn NA MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA (Zn-MSPA) E GRÃO (Zn-GRAO) EM PLANTAS DE TRIGOS CULTIVADOS EM AMBIENTE CONTROLADO DE CASA DE VEGETAÇÃO.	26
TABELA 8 – EFEITO DO MATERIAL GENÉTICO (GENÓTIPO) E DA ADUBAÇÃO COM Zn NA MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA), PRODUTIVIDADE (PROD), CONCENTRAÇÃO DE Zn NA MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA (Zn-	

MSPA) E GRÃO (Zn-GRAO) EM PLANTAS DE TRIGOS CULTIVADOS A CAMPO.
.....28

TABELA 9 – CARACTERIZAÇÃO CLIMÁTICA REFERENTE AO PERÍODO DE
CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS EM PALOTINA, PARANÁ, BRASIL.....40

TABELA 10 – CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E TEXTURAIS DA CAMADA
ARÁVEL (0-20 CM DE PROFUNDIDADE) DO SOLO DE PALOTINA, ANTES DO
CULTIVO DO TRIGO.....40

TABELA 11 – DESCRIÇÃO DAS FORMAS DE APLICAÇÃO DE Zn EM
GENÓTIPOS DE TRIGO.....41

TABELA 12 – PORCENTAGEM DE CONTRIBUIÇÃO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(ANOVA) PARA O NÚMERO DE PERFILHO, PRODUTIVIDADE E
CONCENTRAÇÃO DE Zn, N E Fe NO GRÃO (Zn-GRÃO, N-GRÃO E Fe-GRÃO,
RESPECTIVAMENTE) EM GENÓTIPOS DE TRIGO.....43

TABELA 13 – PORCENTAGEM DE CONTRIBUIÇÃO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(ANOVA) PARA OS EFEITOS DO GENÓTIPO (G), DO SUPRIMENTO DE ZINCO
(Zn), DO SUPRIMENTO DE NITROGÊNIO (N) E DE SUAS RESPECTIVAS
INTERAÇÕES NA MASSA SECA (DESIGNADO: ROOT DW, STRAW DW, GRAIN
YIELD E TOTAL DW), CONCENTRAÇÃO DE Zn (DESIGNADO: ROOT [Zn],
STRAW [Zn], GRAIN [Zn] E TOTAL [Zn]), CONTEÚDO DE Zn (DESIGNADO: ROOT
ZnC, STRAW ZnC, GRAIN ZnC E TOTAL ZnC), ÍNDICE DE COLHEITA DO
RENDIMENTO DE GRÃOS E DO CONTEÚDO DE Zn NO GRÃO (DESIGNADO:
GHI E GZNHI, RESPECTIVAMENTE) E RELAÇÃO ENTRE MASSA SECA DA
PARTE AÉREA E RAIZ (STRAW: ROOT RATIO) DE TRIGO DE INVERNO
CULTIVADO SOB CONDIÇÕES DE ESTUFA.....62

TABELA 14 – EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE Zn (LOW: 0.15 μ M OU HIGH:
2.25 μ M) E N (LOW: 0.4 MM OU HIGH: 4.0 MM) NA PRODUÇÃO DA MASSA SECA
(DESIGNADO: ROOT DW, STRAW DW, GRAIN YIELD E TOTAL DW), RELAÇÃO
ENTRE MASSA SECA DA PARTE AÉREA E RAIZ (STRAW: ROOT RATIO) E

ÍNDICE DE COLHEITA DO RENDIMENTO DE GRÃOS (GHI) DE DOIS GENÓTIPOS DE TRIGO DE INVERNO (QUARTZO E BRS PARRUDO) CULTIVADOS SOB CONDIÇÕES DE ESTUFA.64

TABELA 15 – EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE Zn (LOW: 0.15 μ M OU HIGH: 2.25 μ M) E N (LOW: 0.4 MM OU HIGH: 4.0 MM) NA CONCENTRAÇÃO DE Zn (DESIGNADO: ROOT [Zn], STRAW [Zn], GRAIN [Zn] E TOTAL [Zn]), CONTEÚDO DE Zn (DESIGNADO: ROOT ZnC, STRAW ZnC, GRAIN ZnC E TOTAL ZnC) E ÍNDICE DE COLHEITA DO CONTEÚDO DE Zn NO GRÃO (GZNHI) DE DOIS GENÓTIPOS DE TRIGO DE INVERNO (QUARTZO E BRS PARRUDO) CULTIVADOS SOB CONDIÇÕES DE ESTUFA.66

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	16
2	CAPÍTULO I: SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE TRIGO PARA BIOFORTIFICAÇÃO COM ZINCO	18
2.1	RESUMO	18
2.2	ABSTRACT	18
2.3	INTRODUÇÃO	19
2.4	MATERIAL E MÉTODOS	20
2.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
2.5.1	CASA DE VEGETAÇÃO	25
2.5.2	CAMPO	27
2.5.3	SELEÇÃO DOS GENÓTIPOS	30
2.6	CONCLUSÕES	32
2.7	REFERÊNCIAS	32
3	CAPÍTULO II: GENÓTIPOS COM CONTRASTANTE POTENCIAL DE BIOFORTIFICAÇÃO E SUAS RESPOSTAS A DIFERENTES FORMAS DE APLICAÇÃO DE MICRONUTRIENTES	36
3.1	RESUMO	36
3.2	ABSTRACT	36
3.3	INTRODUÇÃO	37
3.4	MATERIAL E MÉTODOS	38
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
3.6	CONCLUSÕES	49
3.7	REFERÊNCIAS	50
4	CAPÍTULO III: RESPOSTA DOS GENOTIPOS DE TRIGO A BIOFORTIFICAÇÃO AGRÔNOMICA COM ZINCO E NITROGÊNIO	53
4.1	RESUMO	53
4.2	ABSTRACT	53
4.3	INTRODUÇÃO	54
4.4	MATERIAL E MÉTODOS	56
4.5	RESULTADOS	61
4.6	DISCUSSÃO	67
4.7	CONCLUSÕES	73
4.8	REFERÊNCIAS	73
5	CONCLUSÃO GERAL	78
6	REFERÊNCIAS	79

1 INTRODUÇÃO GERAL

A biofortificação, que é a busca por cultivares com maiores teores de micronutrientes no grão, iniciou-se há aproximadamente 15 anos e tem obtido importantes avanços. Todavia, somente nos últimos cinco anos iniciaram-se os estudos complementares visando o entendimento da influência da nutrição mineral, variação genotípica e das práticas de manejo (em especial adubação) com micronutrientes propendendo aumentar a concentração de zinco (Zn), ferro (Fe) e selênio (Se) no grão.

No Brasil, em 2003/2004 a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) deu início aos programas de pesquisas com biofortificação, buscando desenvolver variedades de trigo, arroz, feijão, mandioca, milho e batata-doce com maiores teores Zn, Fe e betacaroteno. Neste contexto, o trigo, é o segundo cereal mais consumido no mundo e que está presente no cardápio de grande parte da população global e, por isso, está entre as culturas alimentares mais estudadas. Até o momento, foram identificados alguns cultivares de trigo promissores, com maiores teores naturais de micronutrientes na parte comestível desta cultura.

Por outro lado, não há ainda estudos buscando compreender os fatores responsáveis pela eficiência desses cultivares na concentração e acumulação de nutrientes, em especial o Zn, na parte comestível da cultura. Acredita-se que o ambiente de produção (solo, clima e etc), a planta (variação do material genético), manejo (em especial a adubação) e a interação entre nutrientes (a exemplo Zn versus nitrogênio (N)) estão entre os principais fatores que regem a eficiência de aproveitamento dos nutrientes pelas plantas. O conhecimento detalhado destes fatores poderá auxiliar a seleção de genótipos naturalmente eficientes na concentração de nutrientes na parte comestível, responsivos a adição de micronutrientes e ao mesmo tempo maior potencial produtivo do material genético. A obtenção de um genótipo de maior qualidade nutricional e potencial produtivo e associado com práticas correta de manejo pode ser uma excelente tática na obtenção de produtos agrícolas alimentares de melhor qualidade nutricional e produtivos.

Dessa forma, o presente estudo foi dividido em três capítulos, cada qual com o objetivo geral: Capítulo 1 - identificar cultivares de trigo mais eficientes e responsivos a aplicação de Zn; Capítulo 2 – avaliar a forma de aplicação de Zn de

maior influência no aumento da concentração de Zn na parte comestível da cultura e Capítulo 3 – avaliar a relação da eficiência de utilização de Zn e o metabolismo de N, que contribuam para o aumento da qualidade nutricional dos grãos. Este estudo é pioneiro no Brasil e os resultados servirão posteriormente como modelo para outras culturas.

2 CAPÍTULO I: SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE TRIGO PARA BIOFORTIFICAÇÃO COM ZINCO

2.1 RESUMO

Um programa de biofortificação bem sucedido procuraria aumentar a produtividade da cultura e o conteúdo de zinco (Zn) no grão, combinando melhoramento da cultura e intervenções agronômicas. Dessa forma, o objetivo do estudo foi identificar e selecionar genótipos de trigo com potencial para biofortificação com Zn. Genótipos de trigo foram crescidos em dois ambientes: casa de vegetação e a campo sob aplicações de Zn no solo. A eficiência agronômica de uso de nutrientes (α) dos genótipos foi calculada como: [(rendimento com alta fertilização - rendimento com baixa adubação) / diferença entre as aplicações de fertilizantes] e os genótipos foram separados em quatro grupos: eficiente e responsivo (ER), eficiente e não responsivo (ENR), não eficiente e responsivo (NER) e não eficiente e não responsivo (NENR). Os genótipos de trigo diferiram em suas respostas à aplicação de Zn. Os valores de α , tanto para a produtividade de grãos quanto para o conteúdo de Zn no grão variaram entre os genótipos. Considerando os valores de α para a produtividade e conteúdo de Zn no grão em conjunto, os genótipos BRS Parrudo, CD 154, IPR 111e IPR 118 foram classificadas como ER. Os genótipos CD 150, BRS 208 e Embrapa 24 foram classificados como ENR. Os genótipos BRS Guamirim, BRS 254, BR 8 e JUP 73 foram classificadas como NER. Finalmente, os genótipos OR 1 e CD 107 foram classificados como NENR. A eficiência agronômica de uso de Zn (α) pode ser usada para identificar genótipos de trigo com potencial de biofortificação. Os genótipos classificados como eficientes e responsivos ao Zn (BRS Parrudo, CD 154, IPR 111e IPR 118) podem ser considerados para futuros estudos de biofortificação.

Palavras-chave: Melhoramento de plantas. Biofortificação. Trigo (*Triticum aestivum* L.). Zinco.

2.2 ABSTRACT

A successful biofortification program would seek to increase crop yield and grain zinc content by combining crop breeding and agronomic interventions. The objective of the study was to identify and select wheat genotypes with potential for Zn biofortification. Wheat genotypes were grown in two environments: greenhouse and field under Zn soil applications. The agronomic efficiency of nutrient use (α) of the genotypes was calculated as: [(yield with high fertilization - yield with low fertilization) / difference between fertilizer applications] and genotypes were separated into four groups: efficient and responsive (ER), efficient and non responsive (ENR), non efficient and responsive (NER) and non efficient and non responsive (NENR). Wheat genotypes differed in their responses to Zn application. The values of α , for both grain yield and for grain Zn content varied between genotypes. Considering values of α for yield and grain Zn content together, the genotypes BRS Parrudo, CD 154, IPR 111 and IPR 118 were classified as ER. The genotypes CD 150, BRS 208 and Embrapa 24 were classified as ENR. The genotypes BRS Guamirim, BRS 254, BR 8

and JUP 73 were classified as NER. Finally, genotypes OR 1 and CD 107 were classified as NENR. The agronomic efficiency of Zn (α) can be used to identify wheat genotypes with biofortification potential. Genotypes classified as efficient and responsive to Zn (BRS Parrudo, CD 154, IPR 111 and IPR 118) can be considered for future biofortification studies.

Keywords: Plant breeding. Biofortification. Wheat (*Triticum aestivum* L.). Zinc.

2.3 INTRODUÇÃO

A desnutrição por micronutrientes é um problema generalizado da saúde humana. Estima-se que mais de 20% da população mundial tenha insuficiente zinco (Zn) em suas dietas (Broadley et al., 2007; FAO, 2015; White, 2016; Cakmak et al., 2017). Isso é em grande parte uma consequência do consumo de alimentos com baixo teor de Zn (White, 2016; White e Broadley, 2009). O que é uma herança dos programas de melhoramento genético, que nos últimos 50 anos concentraram-se principalmente no aumento da produção de grãos e negligenciaram a qualidade nutricional, promovendo alimentos com menos nutrientes e vitaminas nas partes comestíveis das culturas. Quando observa-se o melhoramento genético da cultura do trigo ao longo de 10 décadas (1900 a 2000) nota-se uma linear decrescente na concentração de Zn, ferro (Fe) e selênio (Se) nos grãos do cereal, por outro lado, observa-se o oposto para produtividade de grãos (Garvin et al., 2006; McDonald et al., 2008). Fato que, também ocorre para as demais culturas domesticadas, tais como: soja, milho, cevada e entre outras.

Os cereais, especialmente o trigo, são a principal fonte de calorias na maioria dos países em desenvolvimento (Hotz e Brown, 2004; Cakmak, 2008; Gibson et al., 2008). Atualmente, três cereais, trigo, arroz e milho, fornecem até 60% da ingestão diária de energia para populações humanas (Tilman et al., 2002), e o trigo pão, sozinho, é o alimento básico para 35% da população mundial (Poursarebani et al., 2014). O pão é consumido por cerca de 95% dos brasileiros, que, em 2013, consumiram 145 g de produtos de trigo per capita por dia (FAO, 2017). No entanto, o trigo é inerentemente pobre em nutrientes minerais e tem baixa concentração e biodisponibilidade de Zn em seus grãos (White e Broadley, 2005; Newell-McGloughlin, 2008; Cakmak e Kutman, 2017), sendo um exemplo claro da herança do melhoramento genético voltado somente para ganho em produtividade.

Esta concentração pode ser $<10 \text{ mg Zn kg}^{-1}$ em solos com pouca disponibilidade de Zn (Cakmak e Kutman, 2017; Cakmak e Engels, 1999; Erdal et al., 2002). Embora a ingestão dietética recomendada de Zn para os humanos seja de 12-15 mg Zn d⁻¹ (Welch e Graham, 2004) e a ingestão média de Zn no Brasil é de 19,3 mg per capita por dia (Kumssa et al., 2015), entre 3 e 20% da população brasileira tem risco de deficiência de Zn (Kumssa et al., 2015; Pedraza e Sales, 2017). A produção de grãos de cereais com maiores concentrações de Zn pode aumentar a ingestão de Zn e melhorar o estado nutricional da população brasileira.

Um programa de biofortificação bem sucedido procuraria aumentar a produtividade da cultura e o conteúdo de Zn no grão, combinando intervenções agronômicas e melhoramento da cultura. O fato de existir uma ampla variação genética para a concentração de Zn nos grãos de genótipos de trigo (Hotz e Brown, 2004; Cakmak, 2008), indica a existência de potencial de melhoramento genético. Explorar a variação genética, com o objetivo de aumentar as concentrações de micronutrientes e, ao mesmo tempo, aumentar a produtividade, visto que na literatura estudos sugerem que é possível (Cakmak et al., 2010; Chu et al., 2013), forneceria uma maneira eficaz de melhorar a nutrição da grande maioria da população. Alcançar ambos os objetivos facilitaria a aceitação das novas tecnologias pelos agricultores. Neste estudo, objetivou buscar um critério seguro para identificar e selecionar genótipos de trigo pela sua produtividade e conteúdo de Zn no grão. A eficiência de uso de nutrientes agronômicos (α) dos cultivares foi calculada como: [(rendimento com alta fertilização - rendimento com baixa adubação) / diferença entre as aplicações de fertilizantes] (Fageria e Baligar, 2005). O conceito de α tem sido tradicionalmente aplicado para identificar cultivares produtivas para o cultivo em solos onde o suprimento adicional de nutrientes é economicamente inviável (Fageria e Baligar, 2005), mas aqui o conceito foi usado para caracterizar as respostas tanto da produtividade quanto do conteúdo de Zn no grão de genótipos para a aplicação de fertilizantes com Zn.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

As sementes das cultivares de trigo utilizadas nesse estudo foram obtidas do estoque de sementes da Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola (COODETEC),

situado em Palotina, Paraná, Brasil. As características dos materiais selecionados estão apresentadas na Tabela 1.

TABELA 1 – DESCRIÇÃO DO ANO DE LANÇAMENTO, LINHAGEM E GENEALOGIA DOS CULTIVARES DE TRIGO.

Genótipos	Lançamento	Linhagem	Genealogia
COTIPORÃ	1965	C 3	Veranópolis*2/Egypt NA 101
IAS 59	1972	PEL 13180-65	IAS 31/Norin 36
JUPATECO 13	1978	- - -	II 12300 // Lerma Rojo 64/8156 /3/Norteno 67
BR 8	1983	PF 75171	IAS 20/Toropi // PF 70100
OCEPAR 16	1989	IOC 868	Siskin Sib/Veery Sib
IAPAR 53	1992	LD 8730	Sulino/IA 7929
EMBRAPA 24	1993	PF 87128	Tifton 72-59 /PF 79763 /3*Londrina // B 7908
OR 1	1996	ORL 9128	Embrapa 27 Sib/Bagula Sib
BRS 49	1996	PF 90120	BR 35/PF 83619 // PF 858/PF 8550
BRS 194	2000	PF 92231	CEP 14/BR 23 // CEP 17
BRS 208	2001	WT 96063	CPAC 89110 /3/ BR 23 // CEP 19/PF 85490
CD 107	2002	OC 9811	Cocoraque*2/BR 23 // BR 35
BRS 210	2002	WT 96061	CPAC 89110 /3/ BR 23 // CEP 19/PF 85490
IPR 110	2003	LD 982	OC 852/PG 8852
IPR 118	2004	LD 991	OC 852/PG 8852
BRS Guamirim	2005	PF 990407	Embrapa 27/Buck Nandu//PF 93159
FUNDACEP 50	2005	CEP 99125	CEP 88132/PG 876//BR 34/CRDN
BRS 254	2005	PF 973047	Embrapa 22*3/Anahuac 75
Quartzo	2007	ORL 03248	Ônix/Avante
CD 150	2009	CD 0559	CD 104/CD 108
CD 154	2012	CD 0705	CD 104/CDI 200104
BRS Parrudo	2012	PF 070478	WT 98109/TB 0001

FONTE: Sousa e Caierão (2014).

O experimento foi realizado em ambiente controlado de casa de vegetação, situado na Universidade Federal do Paraná (UFPR), setor de ciências agrárias, Curitiba, Paraná, Brasil. Delineamento inteiramente casualizado com quatro potes de repetição foi utilizado. Cada pote foi preenchido com 4 dm⁻³ de solo de textura arenosa e com baixa concentração de Zn (Tabela 2).

TABELA 2 – CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E TEXTURAS DO SOLO ANTES DO CULTIVO DO TRIGO.

Atributos	Unidade	Valores
pH	--	5,5
Alumínio (Al)	cmolc dm ⁻³	0,0
Hidrogênio + Al (H + Al)	cmolc dm ⁻³	4,0
Cálcio (Ca)	cmolc dm ⁻³	0,6
Magnésio (Mg)	cmolc dm ⁻³	0,5
Potássio (K)	cmolc dm ⁻³	0,07
Fosforo (P)	mg dm ⁻³	6,0
Matéria orgânica (M.O.)	g dm ⁻³	15,0
Enxofre (S-SO ₄)	mg dm ⁻³	9,0
Cobre (Cu)	mg dm ⁻³	1,1
Zinco (Zn)	mg dm ⁻³	0,52
Ferro (Fe)	mg dm ⁻³	129,0
Manganês (Mn)	mg dm ⁻³	1,5
Areia	%	87,8
Silte	%	2,7
Argila	%	9,5

pH (Cloreto de cálcio - CaCl₂); Al (Cloreto de potássio - KCl); H+Al (Solução tampão SMP); Ca, Mg, K e P (Resina 1 mol L⁻¹); S- SO₄²⁻ (Fosfato monocálcico); Cu, Zn, Fe e Mn (Mehlich-1). Análise da textura do solo, método da pipeta conforme descrito em Embrapa (2009).

FONTE: O autor (2017).

Os tratamentos foram obtidos por combinações de 22 cultivares de trigo (Tabela 1) e doses de Zn: 0,0 mg Zn dm⁻³ (controle) e 5,0 mg Zn dm⁻³ (Zn-Solo) na forma de óxido de zinco. Adubação foi realizada na semeadura, juntamente com os outros nutrientes: N (50 mg dm⁻³), P (200 mg dm⁻³), K (50 mg dm⁻³), Ca (200 mg dm⁻³), Mg (100 mg dm⁻³), S (25 mg dm⁻³), B (1 mg dm⁻³), Co (0,1 mg dm⁻³), Cu (1 mg dm⁻³), Cl (5 mg dm⁻³), Mn (5 mg dm⁻³), Mo (0,25 mg dm⁻³) e Ni (0,25 mg dm⁻³). Adicionalmente, aplicou 50 mg N dm⁻³ e 50 mg K dm⁻³ em cobertura e em dose única, no estágio de florescimento (Z60: Zadoks et al., 1974).

Foram semeadas oito sementes por vaso. Desbastes periódicos foram realizados até restar três plantas por vaso. Durante a condução do experimento, periodicamente, realizou irrigação com água deionizada e manteve a umidade em torno de 60% da capacidade de retenção de água do solo.

O experimento foi conduzido na estação experimental da Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola (COODETEC), localizado em Palotina (latitude 24° 17' 02" S e longitude 53° 50' 24" W, altitude de 333 m), Paraná, Brasil. A caracterização climática referente ao período de condução do experimento está apresentada na Tabela 3.

TABELA 3 – CARACTERIZAÇÃO CLIMÁTICA REFERENTE AO PERÍODO DE CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS EM PALOTINA, PARANÁ, BRASIL.

Mês	Temperatura (°C)			Precipitação (mm)
	Mínima	Média	Máxima	
Maio	14.1	19.2	24.2	62.8
Junho	13.3	17.7	22.1	175.5
Julho	12.6	17.7	22.8	49.2
Agosto	15.3	21.7	28.0	3.6
Setembro	15.9	23.2	30.5	34.7
Média	14.2	19.9	25.5	65.2

FONTE: Somar meteorologia (2016).

As plantas cresceram em sistema de plantio direto em solo de textura argilosa e com alta concentração de Zn (Tabela 4). Delineamento em bloco casualizado com quatro parcelas de repetição foi utilizado. Cada parcela, constituiu de 6 fileiras de 5 m, espaçamento entre fileiras de 0,17 m e densidade de 60 sementes viáveis por metro linear. A área útil de cada parcela foi representado por duas fileiras centrais, descartando 0,50 m de bordadura.

TABELA 4 – CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E TEXTURAS DA CAMADA ARÁVEL (0-20 CM DE PROFUNDIDADE) DO SOLO DE PALOTINA, ANTES DO CULTIVO DO TRIGO.

Atributos	Unidade	Solo – Palotina
pH	--	4,83
Alumínio (Al)	cmolc dm ⁻³	0,00
Hidrogênio + Al (H + Al)	cmolc dm ⁻³	5,99
Cálcio (Ca)	cmolc dm ⁻³	4,28
Magnésio (Mg)	cmolc dm ⁻³	1,52
Potássio (K)	cmolc dm ⁻³	0,75
Fosforo (P)	mg dm ⁻³	32,34
Carbono (C)	g dm ⁻³	29,28
Enxofre (S-SO ₄)	mg dm ⁻³	10,57
Cobre (Cu)	mg dm ⁻³	13,18
Zinco (Zn)	mg dm ⁻³	4,84
Ferro (Fe)	mg dm ⁻³	35,31
Manganês (Mn)	mg dm ⁻³	228,41
Areia	%	15,53
Silte	%	12,82
Argila	%	71,65

pH (Cloreto de cálcio - CaCl₂); Al (Cloreto de potássio - KCl); H+Al (Solução tampão SMP); Ca, Mg, K e P (Resina 1 mol L⁻¹); S- SO₄⁻² (Fosfato monocálcico); Cu, Zn, Fe e Mn (Mehlich-1). Análise da textura do solo, método da pipeta conforme descrito em Embrapa (2009).

FONTE: O autor (2017).

Os tratamentos foram obtidos por combinações de 20 cultivares de trigo (Tabela 1) e doses de Zn: 0,0 kg Zn ha⁻¹ (controle) e 10,0 kg Zn ha⁻¹ (Zn-Solo). A adubação foi realizada no sulco de semeadura, com aplicação de 250 kg ha⁻¹ do

formulado N(8)-P₂O₅(30)-K₂O(20) com 4% de Zn (equivalente a 10 kg Zn ha⁻¹) na forma de óxido de zinco. Adicionalmente, aplicou 80 kg N ha⁻¹ na forma de ureia e 60 kg K ha⁻¹ na forma de cloreto de potássio (KCl) em cobertura e em dose única, no estágio de florescimento (Z60: Zadoks et al., 1974). O controle fitossanitário foi realizado seguindo as recomendações técnicas da região de cultivo (Costa e Oliveira, 2001; Oliveira, 2003).

Os experimentos foram colhidos manualmente quando as plantas atingiram o ponto de colheita (Z92: Zadoks et al., 1974). Partes da planta acima do solo foram separadas em parte aérea (caule, folhas e palha) e grão. Cada parte da planta foi seca a 70 °C em uma estufa por 3 dias, e foi determinado o peso seco. O material seco foi moído para um pó fino e submetido a digestão ácida em um sistema fechado de microondas (MarsExpress, CEM.) como descrito por White et al. (2009). Seguindo a digestão, amostras foram diluídas para um volume final de 50 mL com H₂O MilliQ. Concentrações de Zn foram determinadas usando *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry* (ICP-OES) e as mensurações foram autenticadas utilizando amostra de folha certificada (*Vicia fava*, IPE 903) pelo *Wageningen Evaluating Programs for Analytical Laboratories (International Plant-Analytical Exchange)*.

TABELA 5 – FORMULAS DOS CÁLCULOS UTILIZADOS NO ESTUDO PARA OBTER A EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE USO DE NUTRIENTES (α) DOS GENÓTIPOS DE TRIGO SOB ADUBAÇÃO COM Zn NO SOLO.

Variável	Abreviações	Cálculos	Unidades
Produtividade	P	--	kg ha ⁻¹
Concentração Zn grão	C	--	mg kg ⁻¹
Conteúdo Zn grão		(P x C) / 1000	g ha ⁻¹
* α – produtividade	α -P	(P _{com Zn} -P _{sem Zn})/ Δ Zn	kg grão kg ⁻¹ Zn
* α - acumulo Zn grão	α -A	(C _{com Zn} -C _{sem Zn})/ Δ Zn	g Zn grão kg ⁻¹ Zn

*Cálculo de eficiência agronômica de uso de nutrientes (α), foi aplicado para identificar genótipos produtivos e de maior conteúdo de Zn no grão. Formula, [α = rendimento com adubação – rendimento sem adubação] / diferença (Δ) entre as adubações] (Fageria e Baligar, 2005). Os genótipos foram separados em quatro grupos: eficiente e responsivo – ER, eficiente e não responsivo – ENR, não eficiente e responsivo – NER e não eficiente e não responsivo – NENR.

FONTE: O autor (2017).

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) para avaliar a significância dos efeitos dos tratamentos e suas interações sobre as características analisadas. Quando os efeitos foram significativos de acordo com a ANOVA, diferenças significativas entre os valores médios foram determinadas pelo teste de TuKey a 95 % de confiança ($P < 0.05$).

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Genótipos de trigo de inverno foram crescidos sob aplicação de Zn em ambiente controlado e a campo. Conforme a ANOVA revelou significativo efeito do genótipo, adubação de Zn e suas respectivas interações na massa seca da parte aérea (MSPA), produtividade (PROD), concentração de Zn na parte aérea (Zn-MSPA) e concentração de Zn no grão (Zn-GRAO) (Tabela 6). Adicionalmente, todas as variáveis foram significativamente afetadas pelo genótipo ($P < 0.01$) exceto a PROD no ambiente controlado. O que confirma alto contraste entre os materiais genéticos escolhidos para este estudo.

TABELA 6 – PORCENTAGEM DE CONTRIBUIÇÃO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA), PRODUTIVIDADE (PROD), CONCENTRAÇÃO DE Zn NA MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA (Zn-MSPA) E GRÃO (Zn-GRAO) DE GENÓTIPOS DE TRIGO CULTIVADOS EM AMBIENTE CONTROLADO DE CASA DE VEGETAÇÃO E CAMPO.

Fator de variação	GL	MSPA	PROD	Zn-MSPA	Zn-GRAO
-----%-----					
Ambiente controlado					
Genótipo (G)	21	78,34**	74,84ns	13,16**	2,84**
Adubação Zn (Zn)	1	18,8ns	12,04ns	81,74**	95,11**
G*Zn	21	2,9ns	13,12ns	5,10ns	2,06*
CV (%)	--	7,60	4,36	6,62	5,45
Campo					
Genótipo (G)	19	85,40**	92,77**	86,29**	35,78**
Adubação Zn (Zn)	1	10,60ns	0,02ns	12,25*	59,66**
G*Zn	19	4,00ns	7,23**	1,46ns	4,55ns
CV (%)	--	11,38	4,12	8,67	9,88

** , * e ns: significativo a 1%, 5% e não significativo pelo teste de Tukey, respectivamente; GL: Grau de liberdade; CV: Coeficiente de variação.

FONTE: O autor (2017).

2.5.1 CASA DE VEGETAÇÃO

A MSPA, Zn-MSPA e Zn-GRAO foram afetados pelo genótipo ($P < 0,01$) (Tabela 6). A MSPA variou de 5,5 a 7,8 g plant⁻¹, o Zn-MSPA de 16,5 a 31,7 mg kg⁻¹ e o Zn-GRAO de 26,8 a 37,6 mg kg⁻¹ entre os genótipos de trigo (Tabela 7). O Zn-MSPA e Zn-GRAO foram afetados pela aplicação de Zn no solo ($P < 0,01$) (Tabela 6). Corroborando com resultados de Zhang et al. (2012) que observaram significativo aumento da concentração de Zn nos tecidos vegetais de plantas com aplicação de

Zn também. A adubação com Zn no solo aumentou a média de Zn-MSPA de 12,8 para 32,5 mg kg⁻¹ e Zn-GRAO de 14,4 para 49,1 mg kg⁻¹ (Tabela 7). Neste estudo, a adubação com Zn aumentou apenas a concentração de Zn-MSPA e Zn-GRAO e não afetou a produtividade, mas comumente na literatura é encontrado relação positiva entre o aumento das concentrações de nutrientes nos tecidos vegetais e o rendimento (Souza et al., 2014; Cakmak et al., 2010). Interação entre genótipo e adubação com Zn foi encontrada somente para Zn-GRAO (0,01 < P ≤ 0,05) (Tabela 7). Embora, genótipo e adubação com Zn tenham causados efeitos significativos, ambos afetando o Zn-MSPA e Zn-GRAO e somente genótipo afetando a MSPA, a contribuição atribuída a cada um diferiu (Tabela 6). A contribuição do genótipo foi de 2,84% a 78,34% e adubação com Zn de 12,04% a 85,11% (Tabela 6). Ressaltando que o genótipo teve maior contribuição na produção de matéria seca (74,84% a 78,34%), enquanto que a adubação com Zn teve maior contribuição na concentração de Zn nos tecidos vegetais (81,74% a 95,11%) (Tabela 6).

TABELA 7 – EFEITO DO MATERIAL GENÉTICO (GENÓTIPO) E DA ADUBAÇÃO COM Zn NA MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA), PRODUTIVIDADE (PROD), CONCENTRAÇÃO DE Zn NA MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA (Zn-MSPA) E GRÃO (Zn-GRAO) EM PLANTAS DE TRIGOS CULTIVADOS EM AMBIENTE CONTROLADO DE CASA DE VEGETAÇÃO.

Tratamento	MSPA	PROD	Zn-MSPA	Zn-GRÃO
	g plant ⁻¹	g plant ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹
Genótipos				
IAS 59	7,3 abcd ⁽¹⁾	3,7 a	21,6 abc	36,7 ab
BR 8	7,3 abcd	3,8 a	21,4 abc	35,0 abc
BRS Guamirim	6,2 ef	3,9 a	24,7 abc	31,6 abc
Fundacep 50	7,8 a	3,9 a	23,6 abc	33,8 abc
IPR 111	7,6 ab	4,0 a	31,7 a	34,8 abc
Embrapa 24	7,8 a	3,6 a	25,1 abc	34,6 abc
IPR 118	6,1 ef	4,0 a	20,6 bc	28,5 bc
BRS 208	6,8 bcde	4,5 a	16,5 c	30,4 abc
CD 150	5,5 f	3,8 a	21,2 abc	28,1 c
CD 154	6,0 ef	4,0 a	22,2 abc	30,0 abc
OR 1	6,7 cde	4,0 a	18,2 c	28,1 c
OCEPAR 16	6,6 cde	4,2 a	20,8 bc	26,8 c
JUP 73	6,8 bcde	4,1 a	24,5 abc	30,7 abc
IAPAR 53	6,3 ef	3,7 a	24,9 abc	37,6 a
BRS 194	6,5 de	3,6 a	30,4 ab	33,3 abc
BRS 49	6,7 bcde	4,1 a	20,2 bc	29,6 abc
CD 107	6,4 def	4,0 a	17,8 c	29,2 bc
Quartzo	5,9 ef	4,8 a	20,5 bc	24,2 c
BRS 210	6,5 de	7,1 a	23,6 abc	31,8 abc
BRS 254	6,0 ef	3,9 a	16,9 c	34,0 abc
Cotiporã	7,5 abc	3,9 a	27,0 abc	30,5 abc

BRS Parrudo	7,7 ab	4,1 a	25,2 ab	37,7 a
DMS ($P = 0.05$)	0,928	1,025	10,936	8,325
Adubação Zn				
Sem Zn	6,7 a	3,9 a	12,8 b	14,4 b
Com Zn	6,8 a	4,0 a	32,5 a	49,1 a
DMS ($P = 0.05$)	0,160	0,177	1,888	1,437

⁽¹⁾ Valores médios (n=4) seguidos pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

FONTE: O autor (2017).

2.5.2 CAMPO

Todas as variáveis analisadas foram significativamente afetadas pelo genótipo ($P < 0.01$) (Tabela 6). A MSPA variou de 4921,4 a 8385,2 kg ha⁻¹, a PROD de 3773,0 a 4735,9 kg ha⁻¹, o Zn-MSPA de 16,7 a 31,1 mg kg⁻¹ e o Zn-GRAO de 30,7 a 44,1 mg kg⁻¹ entre os genótipos de trigo (Tabela 8). Para Zn-GRAO a variação média, considerando ambos ambientes de cultivo, foi de 42% entre os genótipos (Tabela 7 e 8). Embora seja uma variação baixa, quando comparada as observadas por Graham et al. (1999) e Monasterio et al. (2011) que alcançaram até 200% entre genótipos de trigo, ainda é importante para o melhoramento genético e pode ajudar a obter genótipos com maior capacidade de acumular mais nutrientes naturalmente. O Zn-MSPA ($0,01 < P \leq 0,05$) e Zn-GRAO ($P < 0,01$) foram afetados pela aplicação de Zn no solo (Tabela 6). A adubação com Zn no solo aumentou o Zn-MSPA de 21,05 para 22,05 mg kg⁻¹ e Zn-GRAO de 31,94 para 41,74 mg kg⁻¹ (Tabela 8). Interação entre genótipo e adubação com Zn foi encontrada somente para PROD ($P < 0,01$) (Tabela 8). Embora genótipo e adubação com Zn tenham causado efeitos significativos, ambos afetando o Zn-MSPA e Zn-GRAO e somente genótipo a MSPA e PROD, a contribuição atribuída a cada um diferiu (Tabela 6). A contribuição do genótipo variou de 35,78% a 92,77% e adubação com Zn de 12,25% a 59,66% (Tabela 6). Ressaltando que o genótipo teve maior contribuição na produção de matéria seca e concentração de Zn na parte aérea da planta (86,29% a 92,77%), enquanto que a adubação com Zn no solo teve maior contribuição na concentração de Zn no grão (59,66%) (Tabela 6). Embora as proporções de contribuição tenham sido diferentes entre os ambientes de cultivo, nota-se que os resultados mantêm semelhanças o que consolida as informações.

TABELA 8 – EFEITO DO MATERIAL GENÉTICO (GENÓTIPO) E DA ADUBAÇÃO COM Zn NA MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA), PRODUTIVIDADE (PROD), CONCENTRAÇÃO DE Zn NA MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA (Zn-MSPA) E GRÃO (Zn-GRÃO) EM PLANTAS DE TRIGOS CULTIVADOS A CAMPO.

Tratamento	MSPA	PROD	Zn-MSPA	Zn-GRÃO
	kg ha ⁻¹	kg ha ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹
Genótipo				
IAS 59	7587,5 abcd ⁽¹⁾	3949,4 defg	22,8 bcde	44,1 a
BR 8	7605,7 abcd	3839,6 fg	19,1 ghij	37,0 cdefg
BRS Guamirim	5932,1 ef	3984,7 defg	22,6 bcdef	40,3 abcd
Fundacep 50	8385,2 a	4014,4 cdefg	31,1 a	43,7 ab
IPR 111	8092,0 ab	4429,5 ab	19,7 efghij	33,3 efg
Embrapa 24	8282,4 a	4121,3 bcdef	20,9 cdefghi	42,9 abc
IPR 118	5865,8 ef	4236,5 bcd	16,7 j	36,9 cdefg
BRS 208	6826,7 bcde	4296,1 bc	23,4 bcd	36,6 cdefg
CD 150	4921,4 f	4704,5 a	21,1 bcdefghi	33,9 defg
CD 154	5708,8 ef	4735,9 a	24,4 b	33,6 efg
OR 1	6677,0 cde	3909,4 efg	22,4 bcdefg	33,8 defg
OCEPAR 16	6537,3 cde	4196,2 bcde	22,8 bcde	30,7 g
JUP 73	6857,5 bcde	3773,0 g	21,7 bcdefgh	32,6 fg
IAPAR 53	6126,8 ef	3981,0 defg	24,3 bc	36,8 cdefg
BRS 194	6467,4 de	4069,7 cdefg	19,9 efghij	39,3 abcde
BRS 49	6762,6 bcde	4182,9 bcde	18,3 hij	33,0 efg
CD 107	6268,8 def	3963,1 defg	21,7 bcdefgh	38,2 abcdef
BRS 210	6342,3 de	4159,7 bcde	20,1 defghij	39,5 abcde
BRS 254	5684,6 ef	4151,4 bcde	19,4 fghij	33,3 efg
Cotiporã	7875,3 abc	3943,1 defg	18,3 ij	37,2 bcdefg
DMS (<i>P</i> = 0.05)	1391,708	308,753	3,387	6,602
Adubação Zn				
Sem Zn	6645,59 a	4131,93 a	21,05 b	31,94 b
Com Zn	6835,12 a	4132,20 a	22,05 a	41,74 a
DMS (<i>P</i> = 0.05)	240,209	53,291	0,585	1,140

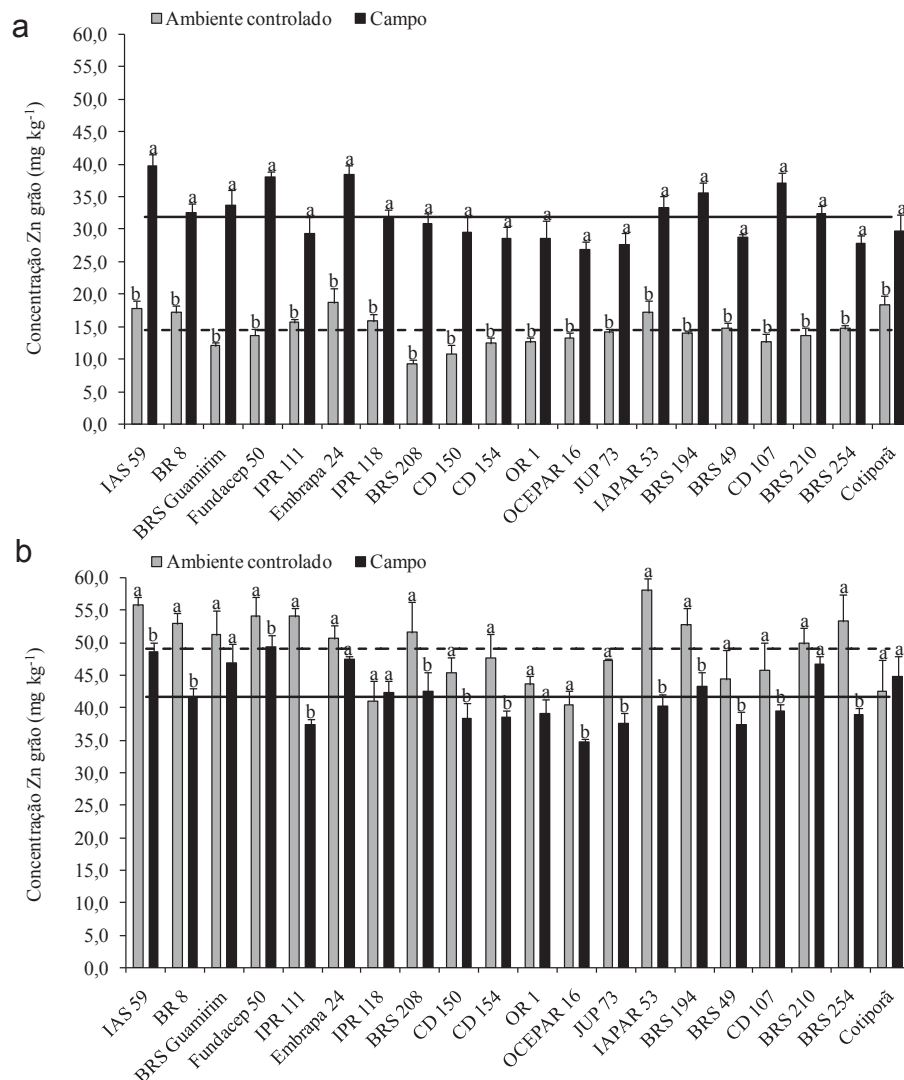
⁽¹⁾Os valores médios (n=4) seguidos pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (*P* < 0,05).

FONTE: O autor (2017).

Comparando os resultados obtidos em cada ambiente de cultivo para a concentração de Zn no grão, nota-se que quando não aplicou o Zn no solo a concentração do nutriente no grão dos genótipos crescidos a campo foi maior do que os genótipos crescidos em ambiente controlado (Figura 1a). Oposto do observado quando o Zn foi aplicado no solo (Figura 1b). O efeito da adubação com Zn na concentração de Zn-MSPA e Zn-GRÃO no campo foi 49,1% e 10,3% menor do que a observada para o ambiente controlado, respectivamente (Tabela 7 e 8). Isso, em partes, pode estar associado com os teores iniciais de Zn no solo, que foram de 4,84 mg dm⁻³ no campo e 0,52 mg dm⁻³ no ambiente controlado (Tabela 2 e 4). Corroborando com resultados obtidos por Souza et al. (2014), que também

atribuiu o comportamento dos dados aos níveis de Zn disponíveis no solo. Nesse contexto, elevados aumentos na concentração de Zn no grão de mais de quatro vezes foram observados em regiões com solo deficiente em Zn após a adubação com elemento (Cakmak et al., 2010, Yilmaz et al., 1997). Assim, solos com elevados teores de Zn respondem menos a adubação com o nutriente, porém o genótipo passa ter maior importância para potencializar a eficiência do aproveitamento do uso do nutriente. Fato que pode ser confirmado quando observa o valor de contribuição da adubação com Zn entre os ambientes de cultivo, logo, tendo que a adubação com Zn em ambiente controlado foi 95,1% e a campo 59,7%, por outro lado, a contribuição do genótipo a campo foi 35,8% e em ambiente controlado de apenas 2,84% (Tabela 6).

FIGURA 1 – COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE Zn NOS GRÃOS DOS GENÓTIPOS DE TRIGO CULTIVADOS EM AMBIENTE CONTROLADO E A CAMPO SEM ADUBAÇÃO DE Zn (a) E COM ADUBAÇÃO DE Zn (b). VALORES SÃO MÉDIAS (N=4), TESTE DE TUKEY ($P < 0.05$).

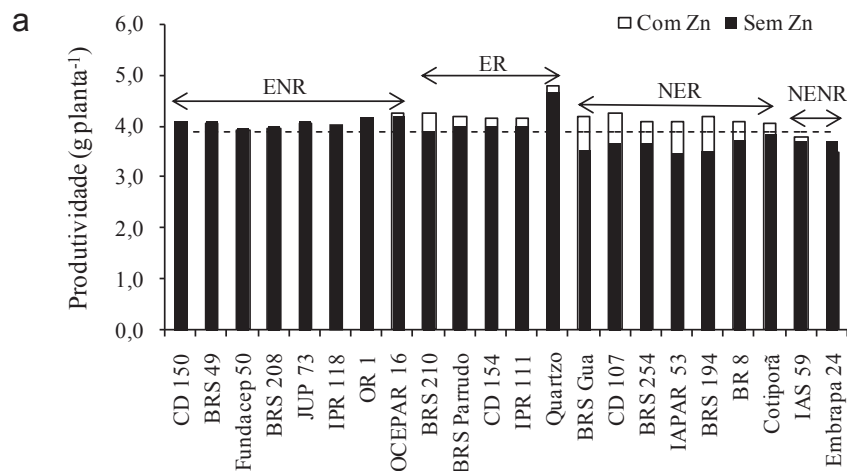


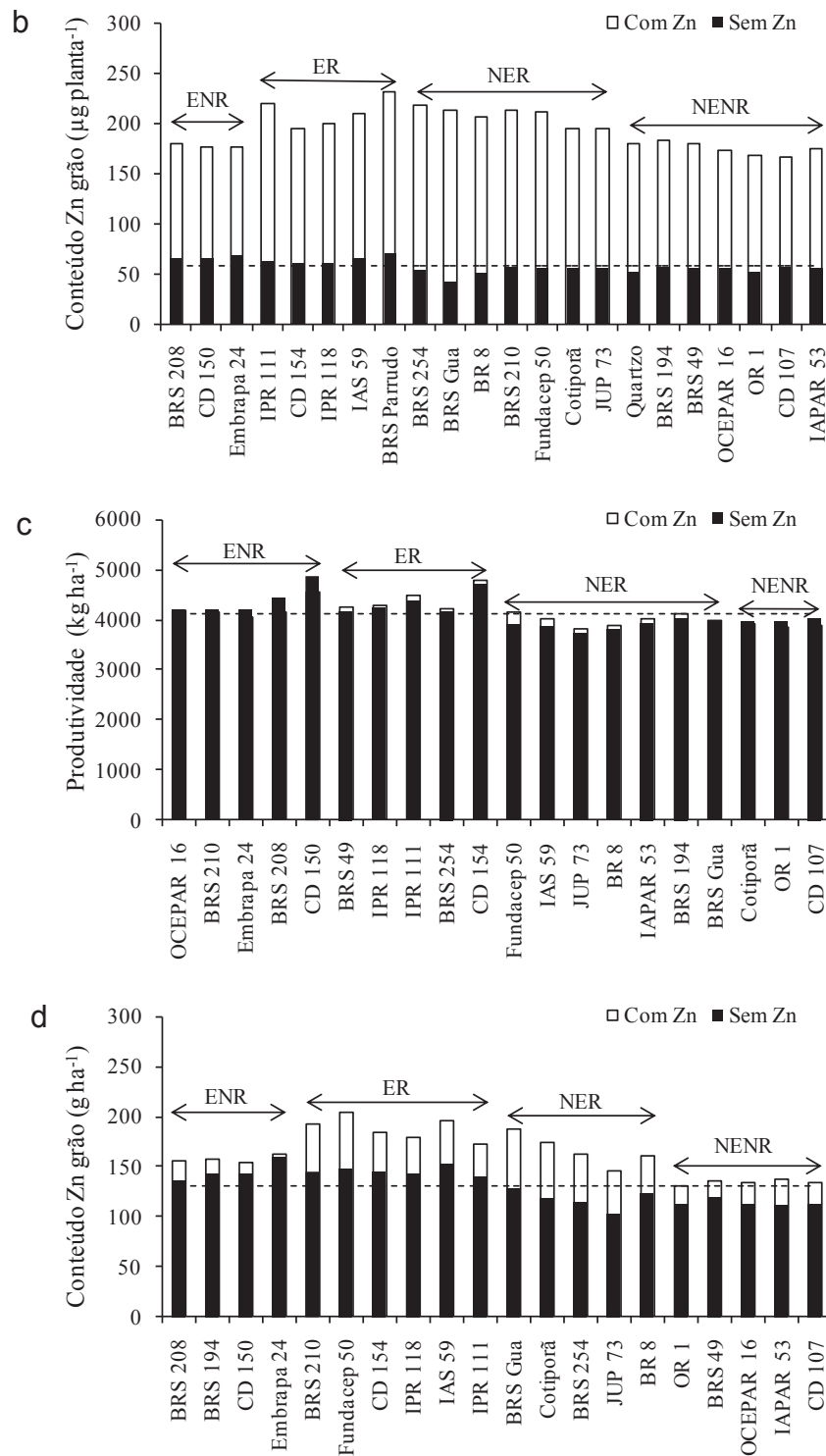
FONTE: O autor (2017).

2.5.3 SELEÇÃO DOS GENÓTIPOS

Considerando os valores de α para a produtividade e conteúdo de Zn no grão em conjunto, os genótipos BRS Parrudo, CD 154 e IPR 111 (Figura 2a e 2b) e CD 154, IPR 111 e IPR 118 (Figura 2c e 2d) foram classificadas como ER. Isso significa que tanto a produtividade quanto a acumulação de Zn no grão desses genótipos estavam acima das respectivas médias dos genótipos cultivados em solos sem a adubação com Zn. Os genótipos CD 150 e BRS 208 (Figura 2a e 2b) e CD 150, BRS 208 e Embrapa 24 (Figura 2c e 2d) foram classificados como ENR, pois estavam acima da média de produtividade e conteúdo de Zn no grão, mas não responderam à aplicação de Zn, isto é, a produtividade de grãos e o conteúdo de Zn no grão foram abaixo da média para as plantas cultivadas em solo adubado com Zn. Os genótipos BRS Guamirim, BRS 254 e BR 8 (Figura 2a e 2b) e BRS Guamirim, BR 8 e JUP 73 (Figura 2c e 2d) foram classificadas como NER, indicando que eles estavam abaixo da média dos genótipos estudados na produtividade de grãos e conteúdo de Zn no grão quando não foi adicionado Zn, mas a produtividade de grãos e o conteúdo de Zn no grão deles aumentaram substancialmente quando realizou adubação com Zn. Finalmente, os genótipos OR 1 e CD 107 (Figura 2c e 2d) foram classificados como NENR, uma vez que a produtividade de grãos e acumulação de Zn no grão estavam abaixo da média tanto com e sem adubação com Zn.

FIGURA 2 – CLASSIFICAÇÃO DOS GENÓTIPOS DE TRIGO CRESCIDOS EM AMBIENTE CONTROLADO (a, b) E A CAMPO (c, d) COM BASE NA PRODUTIVIDADE DE GRÃOS (a, c) E NO CONTEÚDO DE Zn NO GRÃO (b, d). AS LINHAS TRACEJADAS REPRESENTAM O VALOR MÉDIO PARA O EIXO. ER = EFICIENTE E RESPONSIVO, ENR = EFICIENTE E NÃO RESPONSIVO, NER = INEFICIENTE E RESPONSIVO, NENR = INEFICIENTE E NÃO RESPONSIVO.





FONTE: O autor (2017).

Nesse contexto genótipos mais eficientes e responsivos, tais como: CD 154, IPR 11, IPR 118 e BRS Parrudo poderiam proporcionar os melhores resultados de biofortificação. Ortiz-Monasterio et al. (2007) e White e Broadley (2009) relatam que a absorção e a acumulação de elementos nutritivos nas partes comestíveis das plantas são controladas, em partes, pela genética e fisiologia, que podem exercer

seus efeitos em diferentes níveis, de espécies de plantas, genótipos, tecidos e órgãos. Contudo, independentemente do ambiente de cultivo, conciliar material genético com potencial para biofortificação e manejo pode ser a melhor estratégia. Os resultados indicam que a análise da eficiência agrônômica de uso de nutrientes (α), tanto no campo quanto na condição de crescimento controlado, é aplicável para seleção de genótipos voltados a programas de biofortificação agrônômica e que a adubação de Zn é uma maneira efetiva de aumentar os níveis de Zn nos grãos como demonstrado em outros estudos (Cakmak et al., 2008; Phattarakul et al., 2012, Cakmak et al., 2017).

2.6 CONCLUSÕES

Os genótipos de trigo diferiram em suas respostas à aplicação de Zn. Os resultados mostraram diferenças genotípicas tanto na produtividade de grãos como no conteúdo de Zn no grão. A exploração de recursos genéticos tanto para produtividade quanto para a concentração de micronutrientes em partes comestíveis das culturas pode possibilitar a criação de materiais genéticos mais produtivos e naturalmente ricos em nutrientes. A eficiência agrônômica de uso de Zn (α) pode ser usada para identificar genótipos de trigo com potencial de biofortificação. Os genótipos classificados como eficientes e responsivos (ER): CD 154, IPR 11, IPR 118 e BRS Parrudo podem ser considerados para futuros estudos de biofortificação.

2.7 REFERÊNCIAS

BROADLEY, M. R.; WHITE, P. J.; HAMMOND, J. P.; ZELKO, I.; LUX, A. Zinc in plants. **New Phytologist**, v. 173, p. 667–702, 2007.

CAKMAK, I.; ENGELS, C. Role of mineral nutrients in photosynthesis and yield formation. In: RENGEL, Z. (Ed) **Crop nutrition**. The Haworth Press, New York, p. 141–168, 1999.

CAKMAK, I. Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification. **Plant Soil**, v. 302, p. 1–17, 2008.

CAKMAK, I.; KALAYCI, M.; KAYA, Y.; TORUN, A. A.; AYDIN, N.; WANG, Y.; ARISOY, Z.; ERDEM, H.; YZICI, A.; GOKMEN, O.; OZTURK, L.; HORST, W. J. Biofortification and localization of zinc in wheat grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 9092–9102, 2010.

CAKMAK, I.; KUTMAN, U. B. Agronomic biofortification of cereals with zinc: a review. **European Journal of Soil Science**. DOI: 10.1111/ejss.12437, 2017.

CAKMAK, I.; MCLAUGHLIN, M. J.; WHITE, P. Zinc for better crop production and human health. **Plant Soil**, v. 411, p. 1-4, 2017.

CHU, J.; YAO, X.; YUE, Z.; LI, J.; ZHAO, J. The effects of selenium on physiological traits, grain selenium content and yield of winter wheat at different development stages. **Biological Trace Element Research**, v. 151, p. 434–440, 2013.

COSTA, J. M.; OLIVEIRA, E. F. Fertilidade do solo e nutrição de plantas. Cascavel: **Coamo/Coodetec**, p. 93, 2001.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, p. 627, 2009.

ERDAL, I.; YILMAZ, A.; TABAN, S.; EKER, S.; CAKMAK, I. Phytic acid and phosphorus concentrations in seeds of wheat cultivars grown with and without zinc fertilization. **Journal Plant Nutrition**, v. 25, p. 113–127, 2002.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants. **Advances in Agronomy**, v. 88, p. 97–185, 2005.

FAO, IFAD, WFP. **The State of Food Insecurity in the World 2015**. Meeting the 2015 international hunger targets: Taking stock of uneven progress. Rome, FAO, 2015

FAO - Food balance sheets. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/FBS>>. Acesso em: 24 outubro 2017.

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

GIBSON, R. S.; HESS, S. Y.; HOTZ, C.; BROWN, K. H. Indicators of zinc status at the population level: a review of the evidence. **British Journal of Nutrition**, v. 99, p. 14-23, 2008.

GRAHAM, R.; SENADHIRA, D.; BEEBE, S.; IGLESIAS, C.; MONASTERIO, I. Breeding for micronutrient density in edible portions of staple food crops: conventional approaches. **Field Crops Research**, v. 60, p. 57-80, 1999.

HOTZ, C.; BROWN, K. H. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. **Food Nutrition Bulletin**, v. 25, p. 94-204, 2004.

KUMSSA, D. B.; JOY, E. J. M.; ANDER, E. L.; WATTS, M. J.; YOUNG, S. D.; WALKER, S.; BROADLEY, M. R. Dietary calcium and zinc deficiency risks are

decreasing but remain prevalent. **Scientific Reports**, DOI: 10.1038/srep10974, 2015.

MCDONALD, G. K.; GENÇ, Y.; GRAHAM, R. D. A simple method to evaluate genetic variation in grain zinc concentration by correcting for differences in grain yield. **Plant and Soil**, v. 306, p. 49-55, 2008.

MONASTERIO, R. P.; SINGH, T.; PAYNE, A. Variation for grain micronutrients concentration in wheat core-collection accessions of diverse origin. **Asian Journal Crop Science**, v. 3, p. 43-48, 2011.

NEWELL-MCGLOUGHLIN, M. Nutritionally improved agricultural crops. **Plant Physiology**, v. 147, p. 939-953, 2008.

OLIVEIRA, E. L. **Sugestão de adubação e calagem para culturas de interesse econômico no Estado do Paraná**. Londrina: Iapar, p. 30, 2003. (Circular, n° 128).

ORTIZ-MONASTERIO, N.; PALACIOS-ROJAS, E.; MENG, K.; PIXLEY, R.; TRETOWAN, R. J. Enhancing the mineral and vitamin content of wheat and maize through plant breeding. **Journal Cereal Science**, v. 46, p. 293-307, 2007.

PEDRAZA, D. F.; SALES, M. C. Estudos realizados no Brasil sobre a deficiência e a suplementação de zinco: ênfase em crianças. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 17, p. 233-249, 2017.

PHATTARAKUL, N.; RERKASEM, B.; LI, L. J.; WU, L. H.; ZOU, C. Q.; RAM, H.; SOHU, V. S.; KANG, B. S.; SUREK, H.; KALAYCI, M.; YAZICI, A.; ZHANG, F. S.; ÇAKMAK, I. Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries. **Plant and Soil**, v. 361, p. 131-141, 2012.

POURSAREBANI, N.; NUSSBAUMER, T.; SIMKOVA, H.; SAFAR, J.; WITSENBOER, H.; VAN OEVEREN, J.; DOLEZEL, J.; MAYER, K. F.; STEIN, N.; SCHNURBUSCH, T. Whole-genome profiling and shotgun sequencing delivers an anchored, gene-decorated, physical map assembly of bread wheat chromosome 6A. **The Plant Journal**, v. 79, p. 334-347, 2014.

SOMAR METEOROLOGIA. **Clima de Palotina, Paraná**. 2016. Disponível em: <<http://www.somarmeteorologia.com.br/institucional/>>. Acesso em: 24 de outubro de 2017.

SOUSA, C. N. A.; CAIERÃO, R. Cultivares de trigo indicadas para cultivo no Brasil e instituições criadoras 1922 a 2014. 2ª ed, **Embrapa Brasília**, DF, p. 202, 2014.

SOUZA, G. A.; HART, J. J.; CARVALHO, J. G.; RUTZKE, M. A.; ALBRECHT, J. C.; GUILHERME, L. R. G.; KOCHIAN, L. V.; LI, L. Genotypic variation of zinc and selenium concentration in grains of Brazilian wheat lines. **Plant Science**, v. 224, p. 27-35, 2014.

TILMAN, D.; CASSMAN, K. G.; MATSON, P. A.; NAYLOR, R.; POLASKY, S. Review article: agricultural sustainability and intensive production practices. **Nature**, v. 418, p. 671-677, 2002.

WELCH, R. M.; GRAHAM, R. D. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. **Journal Experimental Botany**, v. 55, p. 353–364, 2004.

WHITE, P.J.; BROADLEY, M. R. Biofortifying crops with essential mineral elements. **Trends in Plant Science**, v. 10, p. 586–593, 2005.

WHITE, P. J.; BRADSHAW, J. E.; DALE, M. F. B.; RAMSAY, G.; HAMMOND, J. P.; BROADLEY, M. R. Relationships between yield and mineral concentrations in potato tubers. **HortScience**, v. 44, p. 6-11, 2009.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets – iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. **New Phytologist**, v. 182, p. 49-84, 2009.

WHITE, P. J. Biofortification of edible crops. In: **eLS. John Wiley & Sons**, Chichester, UK, p. 12, 2016.

YILMAZ, A.; EKIZ, H.; TORUN, B.; GULTEKIN, I.; KARANLIK, S.; BAGCI, S. A.; CAKMAK, I. Effect of different zinc application methods on grain yield and zinc concentration in wheat cultivars grown on zinc-deficient calcareous soils. **Journal Plant Nutrition**, v. 20, p. 461-471, 1997.

ZADOKS, J. C.; CHANG, T. T.; KONZAK, C. F. A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research**, v. 14, p. 415-421, 1974.

ZHANG, Y. Q.; SUN, Y. X.; YE, Y. L.; KARIM, M. R.; XUE, Y. F.; YAN, P.; MENG, Q. F.; CUI, Z. L.; CAKMAK, I.; ZHANG, F. S.; ZOU, C. Q. Zinc biofortification of wheat through fertilizer applications in diferente locations of China. **Field Crops Research**, v. 125, p. 1-7, 2012.

3 CAPÍTULO II: GENÓTIPOS COM CONTRASTANTE POTENCIAL DE BIOFORTIFICAÇÃO E SUAS RESPOSTAS A DIFERENTES FORMAS DE APLICAÇÃO DE MICRONUTRIENTES

3.1 RESUMO

O estudo objetivou avaliar os efeitos das formas de aplicação de Zn na concentração de micronutrientes nos tecidos vegetais de genótipos de trigo com contrastante potencial para biofortificação com Zn. Quatro genótipos de trigo foram crescidos a campo sob diferentes formas de aplicação de Zn: no solo (Zn-S), via foliar (Zn-F) e no solo e via foliar (Zn-S+F) e de Fe via foliar (Fe-F). Os genótipos OR 1, CD 154 e CD 150 tiveram maior produtividade do que o genótipo BRS Guamirim. Os genótipos CD 154 e BRS Guamirim concentraram mais Zn, N e Fe no grão do que os genótipos OR 1 e CD 150. As formas de aplicação de Zn e a aplicação de Fe não afetaram a produtividade dos genótipos de trigo. A aplicação de Zn aumentou a concentração de Zn e N no grão dos genótipos CD 154, CD 150 e BRS Guamirim e a concentração de Fe no grão do genótipo BRS Guamirim, enquanto que a aplicação de Fe aumentou apenas a concentração do nutriente no grão do genótipo BRS Guamirim. A ordem de concentração de Zn no grão foi $Zn-S+F \geq Zn-F > Zn-S > Fe-F = \text{controle}$, portanto sendo as aplicações Zn-S+F e Zn-F as melhores quando o objetivo é aumentar as concentrações de Zn no grão. A aplicação de Zn, também aumentou a concentração de N e Fe. Contudo, é possível selecionar e melhorar genótipos para alta capacidade de concentrar Zn, N e Fe sem reduzir o níveis de produtividade, como observado para o genótipo CD 154.

Palavras-chave: Zinco. Nitrogênio. Ferro. Biofortificação. *Triticum aestivum* L.

3.2 ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate the effects of Zn application on the concentration of micronutrients in plant tissues of wheat genotypes with contrasting potential for Zn biofortification. Four wheat genotypes were grown on field under different Zn application methods: in the soil (Zn-S), foliar (Zn-F) and in the soil and foliar (Zn-S + F) and foliar Fe application (Fe-F). The OR 1, CD 154 and CD 150 genotypes had higher productivity than the BRS Guamirim genotype. The CD 154 and BRS Guamirim genotypes higher grain Zn, N and Fe concentration than the OR 1 and CD 150 genotypes. The Zn application forms and Fe application did not affect the productivity of the wheat genotypes. The Zn application increased the grain Zn and N concentration of CD 154, CD 150 and BRS Guamirim genotypes and the grain Fe concentration of BRS Guamirim genotype, whereas the Fe application only increased the grain Fe concentration of BRS Guamirim genotype. The order of grain Zn concentration was $Zn-S + F \geq Zn-F > Zn-S > Fe-F = \text{control}$, therefore the Zn-S + F and Zn-F applications were much better when the objective is to increase grain Zn concentration. The Zn application also increased grain N and Fe concentration. However, it is possible to select and improve genotypes with high capacity of

concentrate Zn, N and Fe without reduce yield levels, as observed for the CD154 genotype.

Keywords: Zinc. Nitrogen. Iron. Biofortification, *Triticum aestivum* L.

3.3 INTRODUÇÃO

O nutriente zinco (Zn) desempenha funções essenciais no metabolismo das plantas, animais e seres humanos. A deficiência de Zn em humanos é responsável por graves complicações da saúde, incluindo prejuízos no sistema imunológico combinada com maior risco de infecções, prejuízo no crescimento físico, retardo na capacidade de aprendizagem, danos no desenvolvimento do DNA e câncer (Demment et al., 2003; Hotz e Brown, 2004; Gibson, 2006; Prasad, 2007) caracterizando então, a necessidade de uma ingestão adequada de Zn pelo organismo humano, senda está de 15 mg de Zn por dia, conforme citado por Elmadfa (2009).

A ingestão deste nutriente ocorre principalmente via alimentação, o que caracteriza a importância de obter alimentos de boa qualidade nutricional, para isso programas de biofortificação tem mostrado ser uma estratégia eficiente e viável na obtenção de alimentos com maiores níveis de nutrientes, vitaminas e proteínas em partes comestíveis das culturas, como Trigo, Milho, Mandioca, Soja etc (Jeong e Guerinot, 2008). Nesse contexto, Zhang et al. (2012) e Zou et al. (2012) complementam que a combinação entre biofortificação genética (práticas de melhoramento convencional de plantas, transgenia e biotecnologia) e biofortificação agrônômica (práticas de adubação) é a estratégia mais sustentável para elevar os níveis de nutrientes nos grãos.

Aumentos significativos de Zn nos grãos já foram obtidos com a prática da biofortificação. Pesquisas apontam que conciliando material genético mais eficiente no acúmulo do nutriente, bem como mais responsivos à adubação tem apresentado maiores concentrações de Zn nos grãos (White e Broadle, 2005; Moraes et al., 2009). Entretanto a forma que é realizada a adubação é um fator determinante na eficiência de aumento da concentração desse nutriente nos grãos. Segundo Cakmak et al. (2010); Zhang et al. (2012); Zou et al. (2012) e Phattarakul et al. (2012) a aplicação de Zn via foliar, conciliada ou não com fornecimento via solo, tem-se

mostrado mais eficientes que a aplicação isolada de Zn no solo. Por exemplo, estudos de Cakmak (2009) e Cakmak et al. (2010) em plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) demonstram que aplicações de Zn via foliar e conciliada com fornecimento via solo podem proporcionar aumento de até três e quatro vezes na concentração desse nutriente nos grãos, respectivamente.

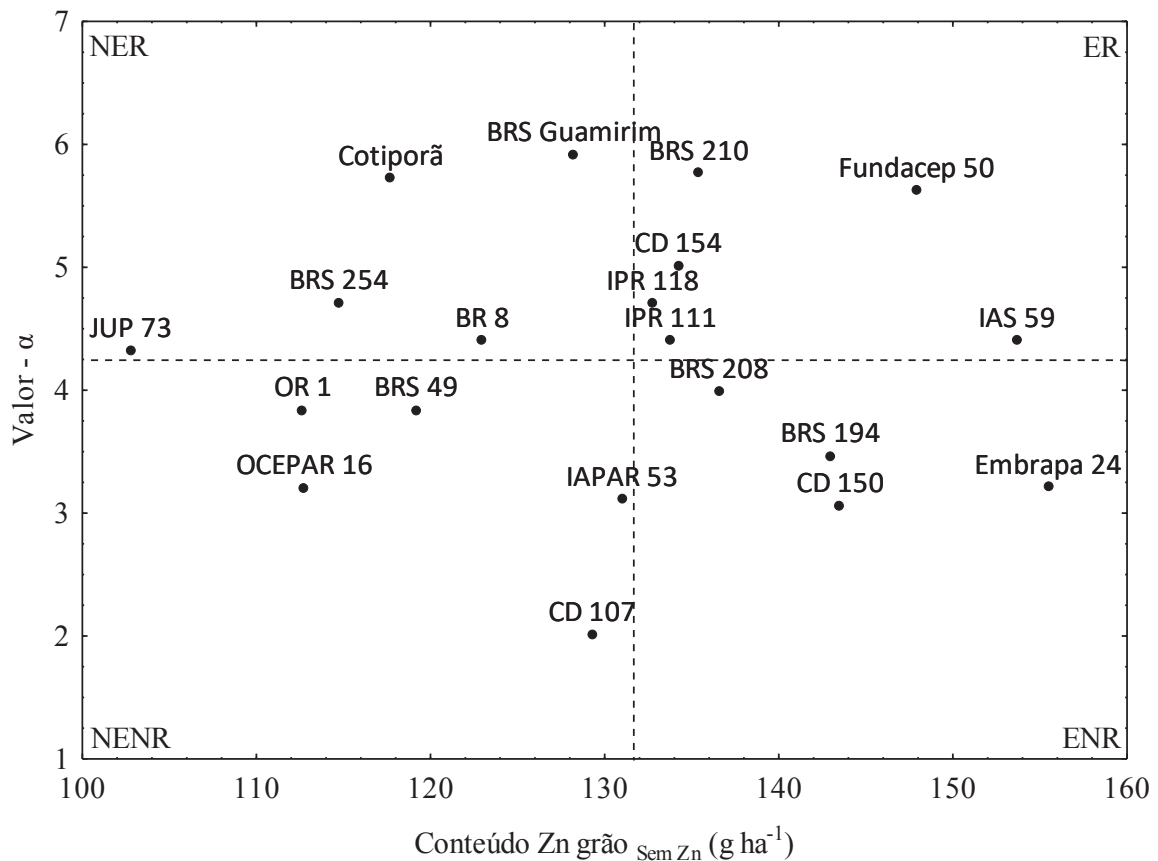
Todavia, é importante destacar que a magnitude dos aumentos das concentrações de Zn nos grãos, embora significativos na maior parte dos casos, variam consideravelmente quando se compara entre distintos estudos (Cakmak et al., 2010; Zhang et al., 2012; Zou et al., 2012). Essa divergência de resposta, em partes, está associada com características referentes ao solo, ao clima, ao genótipo e ao manejo utilizado (Gao et al., 2012). Contudo uma melhor compreensão da influência da adubação com Zn no aumento da concentração do elemento em genótipos com distinto potencial para biofortificação com Zn no grão em condições específicas de solo e clima do Brasil contribuirá para os esforços da biofortificação agrônômica e genética. Possibilitando desenvolver subsídios científicos e tecnológicos que permitam a recomendação segura de genótipos e das práticas de manejo da biofortificação, para dessa forma atender a demanda nacional desse cereal, bem como melhores níveis nutricionais dos mesmos. Assim, o estudo objetivou avaliar os efeitos das formas de aplicação de Zn na concentração de micronutrientes nos tecidos vegetais de genótipos de trigo com contrastante potencial para biofortificação com Zn.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

As sementes dos cultivares de trigo: OR 1, BRS Guamirim, CD 150 e CD 154 foram obtidas a partir do estoque de sementes da Cooperativa Central de Pesquisa Agropecuária (COODETEC, Brasil). A escolha dos genótipos foi baseada em um estudo preliminar do potencial de biofortificação para conteúdo de Zn no grão com 20 genótipos de trigo, que incluiu variedades introduzidas entre 1965 e 2012. As plantas foram cultivadas em condição de campo, sem aplicação de Zn (0 kg ha^{-1}) e com aplicação de Zn (10 kg ha^{-1}) no solo. Os genótipos de trigo foram selecionados quanto o seu conteúdo de Zn no grão. O conceito de eficiência agrônômica de uso de nutrientes (α), tradicionalmente aplicado para identificar cultivares produtivas, mas aqui usado para caracterizar a respostas do conteúdo de

Zn no grão sob aplicação de Zn, foi utilizada e calculada como: $\alpha = [(\text{conteúdo de Zn no grão com adubação} - \text{conteúdo de Zn no grão sem adubação}) / \text{diferença entre as adubações}]$ (Fageria e Baligar, 2005). Os genótipos foram separados em quatro grupos para o conteúdo de Zn no grão: eficiente e responsivo – ER (CD 154), eficiente e não responsivo – ENR (CD 150), não eficiente e responsivo – NER (BRS Guamirim) e não eficiente e não responsivo – NENR (OR 1) (Figura 3).

FIGURA 3 – CLASSIFICAÇÃO DE 20 GENÓTIPOS DE TRIGO BASEADO NA RELAÇÃO ENTRE CONTEÚDO DE Zn NO GRÃO ($_{SEM-ZN}$ = SEM ADUBAÇÃO COM Zn) E VALOR α PARA CONTEÚDO DE Zn NO GRÃO (FAGERIA E BALIGAR, 2005). AS LINHAS TRACEJADAS REPRESENTAM O VALOR MÉDIO PARA O EIXO. NER = GENÓTIPOS NÃO EFICIENTES E RESPONSIVOS, ER = GENÓTIPOS EFICIENTES E RESPONSIVOS, NENR = GENÓTIPOS NÃO EFICIENTES E NÃO RESPONSIVOS E ENR = GENÓTIPOS EFICIENTES E NÃO RESPONSIVO. VALORES REPRESENTAM MÉDIAS DE QUATRO REPETIÇÕES INDEPENDENTES.



FONTE: O autor (2017).

O experimento foi realizado a campo na estação experimental da Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola (COODETEC), localizado em Palotina (latitude 24° 17' 02" S e longitude 53° 50' 24" W, altitude de 333 m), Paraná, Brasil. A caracterização climática referente ao período de condução do experimento está apresentada na Tabela 9.

TABELA 9 – CARACTERIZAÇÃO CLIMÁTICA REFERENTE AO PERÍODO DE CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS EM PALOTINA, PARANÁ, BRASIL.

Mês	Temperatura (°C)			Precipitação (mm)
	Mínima	Média	Máxima	
Maio	14,7	19,4	24,1	234,2
Junho	14,3	18,3	22,2	263,8
Julho	11,7	17,7	23,6	29,7
Agosto	11,4	17,9	24,4	17,0
Setembro	15,0	21,1	27,1	85,3
Média	13,4	18,9	24,3	126,0

FONTE: Somar meteorologia (2016).

As plantas cresceram em sistema de plantio direto em solo de textura argilosa e com alta concentração de Zn (Tabela 10). Delineamento em bloco casualizado com quatro parcelas de repetição foi utilizado. Cada parcela, constituiu de 6 fileiras de 5 m, espaçamento entre fileiras de 0,17 m e densidade de 60 sementes viáveis por metro linear. A área útil de cada parcela foi representada por duas fileiras centrais, descartando 0,50 m de bordadura.

TABELA 10 – CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E TEXTURAS DA CAMADA ARÁVEL (0-20 CM DE PROFUNDIDADE) DO SOLO DE PALOTINA, ANTES DO CULTIVO DO TRIGO.

Atributos	Unidade	Solo – Palotina
pH	--	5,34
Alumínio (Al)	cmolc dm ⁻³	0,00
Hidrogênio + Al (H + Al)	cmolc dm ⁻³	4,35
Cálcio (Ca)	cmolc dm ⁻³	5,85
Magnésio (Mg)	cmolc dm ⁻³	2,25
Potássio (K)	cmolc dm ⁻³	0,64
Fosforo (P)	mg dm ⁻³	39,30
Carbono (C)	g dm ⁻³	15,53
Enxofre (S-SO ₄)	mg dm ⁻³	19,75
Cobre (Cu)	mg dm ⁻³	18,06
Zinco (Zn)	mg dm ⁻³	4,65
Ferro (Fe)	mg dm ⁻³	37,59
Manganês (Mn)	mg dm ⁻³	270,29
Areia	%	15,38
Silte	%	13,52
Argila	%	71,10

pH (Cloreto de cálcio - CaCl₂); Al (Cloreto de potássio - KCl); H+Al (Solução tampão SMP); Ca, Mg, K e P (Resina 1 mol L⁻¹); S- SO₄²⁻ (Fosfato monocálcico); Cu, Zn, Fe e Mn (Mehlich-1). Análise da textura do solo, método da pipeta conforme descrito em Embrapa (2009).

FONTE: O autor (2017).

Os tratamentos foram obtidos por combinações de 4 cultivares de trigo: BRS 49, BRS Guamirim, CD 150 e CD 154 e 5 formas de adubação (Tabela 11). A adubação Zn no solo (Zn-S) foi realizada no sulco de semeadura, com aplicação de 250 kg ha⁻¹ do formulado N(8)-P₂O₅(30)-K₂O(20) com 4% de Zn (equivalente a 10 kg Zn ha⁻¹) na forma de óxido de zinco. Adicionalmente, aplicou 80 kg N ha⁻¹ na forma de ureia e 60 kg K ha⁻¹ na forma de cloreto de potássio (KCl) em cobertura e em dose única, no estágio de florescimento (Z60: Zadoks et al., 1974). O controle fitossanitário foi realizado seguindo as recomendações técnicas da região de cultivo (Costa e Oliveira, 2001; Oliveira, 2003).

TABELA 11 – DESCRIÇÃO DAS FORMAS DE APLICAÇÃO DE Zn EM GENÓTIPOS DE TRIGO

Tratamento	Dose (kg ha ⁻¹)	Local de aplicação	Fonte
Controle	0	Sem aplicação	--
Zn-S ⁽¹⁾	10	Solo	ZnO
Zn-F ⁽²⁾	0,91	Folha	ZnSO ₄ .7H ₂ O
Zn-S+F	10 + 0,91	Solo + Folha	ZnO + ZnSO ₄ .7H ₂ O
Fe-F	1,5	Folha	FeSO ₄

⁽¹⁾ Aplicado juntamente com adubação no sulco de semeadura. ⁽²⁾ Aplicado no início do perfilhamento.

FONTE: O autor (2017).

O experimento foi colhido manualmente quando as plantas atingiram o ponto de colheita (Z92: Zadoks et al., 1974). Partes da planta acima do solo foram separadas em parte aérea (caule, folhas e palha) e grão. Cada parte da planta foi seca a 70 °C em uma estufa por 3 d, e foi determinado o peso seco. O material seco foi moído para um pó fino e submetido a digestão ácida em um sistema fechado de microondas (MarsExpress, CEM.) como descrito por White et al. (2009). Seguindo a digestão, amostras foram diluídas para um volume final de 50 mL com H₂O Milliq. Concentrações de Zn foram determinadas usando *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry* (ICP-OES) e as mensurações foram autenticadas utilizando amostra de folha certificada (*Vicia faba*, IPE 903) pelo *Wageningen Evaluating Programs for Analytical Laboratories (International Plant-Analytical Exchange)*.

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) para avaliar a significância dos efeitos dos tratamentos e suas interações sobre as características analisadas e quando os efeitos foram significativos, as diferenças entre os valores médios das variáveis analisadas foram determinadas pelo teste de Tukey ($P < 0.05$), através do *software* Assistat 7.7. Análise de Cluster (AC) pelo *Unweighted Pair*

Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) foi usada para agrupar os grupos com base na distância euclidiana. A *Principal Component Analysis* (PCA) e a correlação de Pearson foram usados para revelar as inter-relações entre os genótipos com base nas variáveis perfilho, produtividade e concentração de Zn, N e Fe, através do *Software Statistic 7.0*.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Genótipos de trigo foram crescidos a campo sob diferentes formas de aplicação de Zn: no solo (Zn-S), via foliar (Zn-F) e no solo e via foliar (Zn-S+F) e de Fe via foliar (Fe-F). Conforme a ANOVA revelou significativo efeito do genótipo e das aplicações de micronutrientes no número de perfilho, produtividade e concentração de Zn, N e Fe no grão (Tabela 12). Adicionalmente, todas as variáveis foram significativamente afetadas pelo genótipo ($P < 0.01$), exceto a concentração de Fe no grão. O que confirma alto contraste entre os materiais genéticos escolhidos para este estudo, permitindo verificar o comportamento de cada material genético em função de diferentes formas de aplicação de Zn.

TABELA 12 – PORCENTAGEM DE CONTRIBUIÇÃO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA O NÚMERO DE PERFILHO, PRODUTIVIDADE E CONCENTRAÇÃO DE Zn, N E Fe NO GRÃO (Zn-GRÃO, N-GRÃO E Fe-GRÃO, RESPECTIVAMENTE) EM GENÓTIPOS DE TRIGO.

Fator de variação	Perfilho	Produtividade	Zn-Grão	N-Grão	Fe-Grão
	-----%-----				
Genótipo (G)	85,44**	73,84**	44,32**	43,46**	16,98ns
Aplicação Micro (AM)	2,15ns	24,32ns	37,16**	39,10**	55,96**
G*AM	12,40ns	17,43ns	18,52ns	17,35ns	27,05ns
CV (%)	8,99	6,35	7,49	11,56	10,59

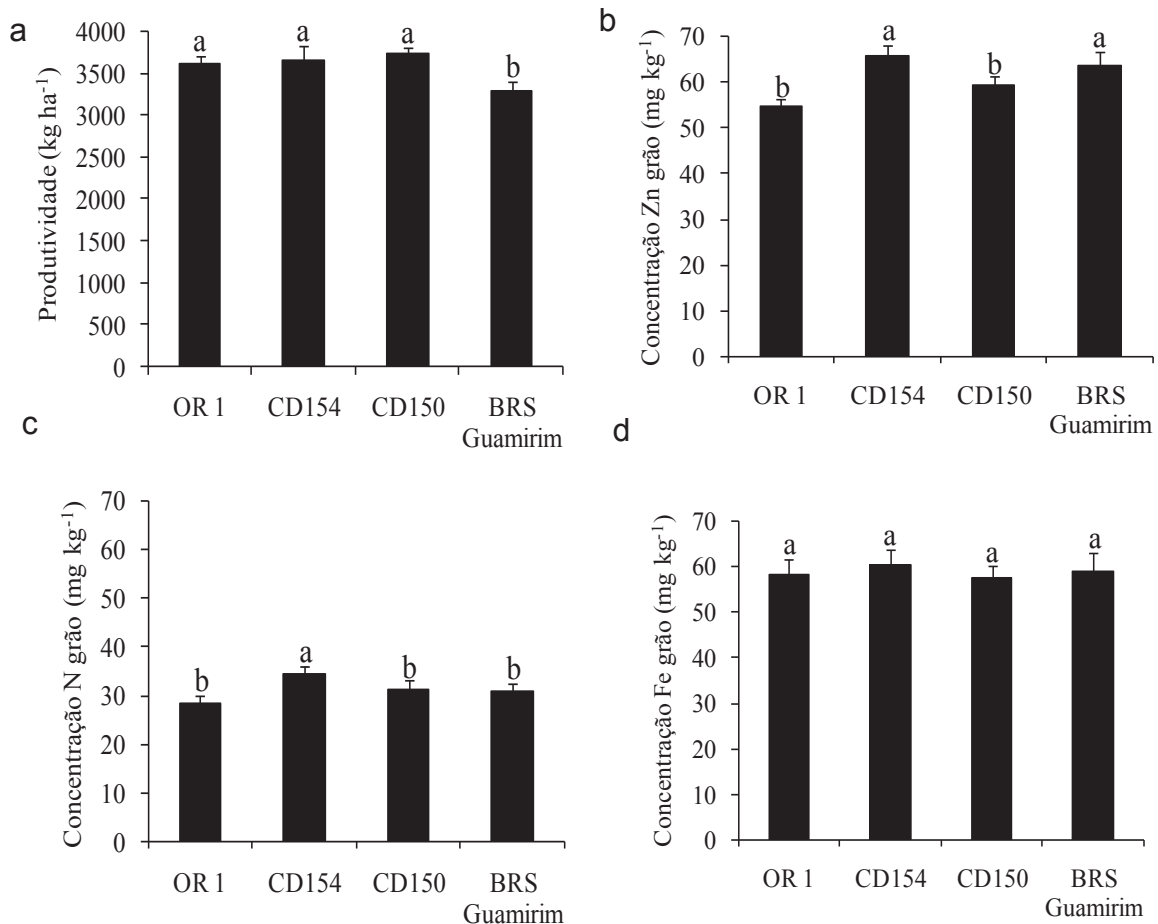
** , * e ns: significativo a 1%, 5% e não significativo pelo teste de Tukey, respectivamente; GL: Grau de liberdade; CV: Coeficiente de variação.

FONTE: O autor (2017).

Os genótipos OR 1, CD 154 e CD 150 produziram mais grãos do que o genótipo BRS Guamirim (Figura 4a). A diferença da produtividade entre os genótipos de trigo está associada, em grande parte, com a diferença genética entre os materiais selecionados para este estudo, pois houve uma contribuição do genótipo na produtividade de 73,8% (Tabela 12). Em partes, corroborando com resultados de Souza et al. (2014) que mostram uma diferença de mais de três vezes na produção de grãos entre genótipos de trigo. Os genótipos CD 154 e BRS Guamirim concentraram mais Zn no grão do que os genótipos OR 1 e CD 150 (Figura 4b). Comportamento semelhante foi observado para a concentração de N e Fe no grão, embora com significância apenas para o genótipo CD 154 com maior concentração de N no grão em relação aos demais genótipos (Figura 4c e 4d). A concentração de Zn e N no grão sofreram influência tanto do genótipo, com contribuição de 44,3% e

43,5% quanto da aplicação de micronutriente, contribuindo na ordem de 37,2% e 39,1%, respectivamente (Tabela 12). Diferente do observado para a concentração de Fe no grão com influência apenas da aplicação de micronutriente, contribuindo com 56,0% (Tabela 12).

FIGURA 4 – PRODUTIVIDADE (a) E CONCENTRAÇÃO DE Zn (b), N (c) E Fe (d) NO GRÃO DE GENÓTIPOS DE TRIGO. VALORES SÃO MÉDIAS DOS TRATAMENTOS COM QUATRO REPETIÇÕES CADA, TUKEY ($P < 0.05$).



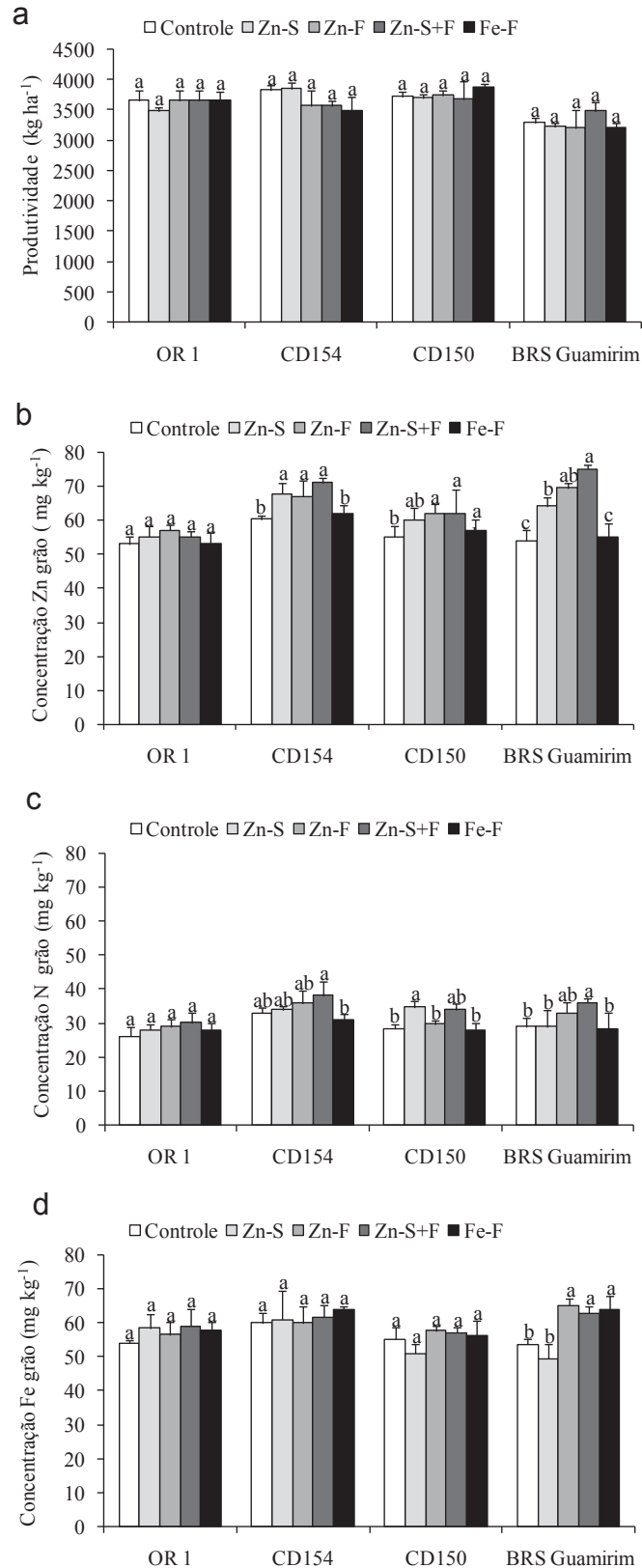
FONTE: O autor (2017).

As formas de aplicação de Zn e a aplicação de Fe não afetaram a produtividade dos genótipos de trigo (Figura 5a). Por outro lado, as formas em que o Zn foi aplicado afetaram a concentração de Zn e N no grão dos genótipos CD 154, CD 150 e BRS Guamirim (Figuras 5b e 5c) e a concentração de Fe no grão do genótipo BRS Guamirim (Figura 5d). Acrescenta ainda, que a concentração de Fe no grão também foi afetada pela aplicação individual de Fe (Figura 5d). De maneira geral, a aplicação de Zn-F e Zn-S+F proporcionaram os maiores aumentos na concentração de Zn no grão (Figura 5b), bem como foram os mesmo que

proporcionaram maior incremento da concentração de N e Fe no grão (Figura 5c e 5d), exceto para concentração de Fe no grão que teve incremento semelhante com aplicação de Fe-F. Tais resultados corroboram com os estudos de Zou et al. (2012), Liu et al. (2014) e Zhao et al. (2014) que verificaram maior eficiência da aplicação de Zn via foliar ou via foliar conciliado com aplicação no solo para o aumento da concentração de Zn no grão de trigo. Neste estudo, a ordem de concentração de Zn no grão seria $Zn-S+F \geq Zn-F > Zn-S > Fe-F = \text{controle}$, portanto evidenciando que os tratamentos Zn-S+F e Zn-F foram melhores quando o objetivo é aumentar as concentrações de Zn no grão. Essa ordem também pode ser adotada para o aumento indireto da concentração de N e Fe no grão, ressalva que para concentração de Fe no grão a aplicação de Fe-F passa a ter maior influência do que Zn-S e o controle.

Em relação a concentração de N e Fe nos grãos observou um aumento das concentrações destes nutrientes em função da aplicação de Zn (Figura 5c e 5d). Evidenciando dessa forma, um efeito indireto da aplicação de Zn na concentração desses nutrientes. Kutman et al. (2010) relatam que quando a nutrição de Zn nas plantas é adequada ocorre aumento dos níveis de N no grão também. Tal comportamento é justificado pelas funções pontuais que o Zn exerce na síntese de proteínas (Cakmak et al., 1989; Obata et al., 1999), confirmando a hipótese da existência de uma interação positiva entre eficiência de utilização de Zn com o metabolismo do N. Quanto ao Fe no grão, Moraes et al. (2009) observaram incremento na concentração de Fe no grão em função da aplicação de Zn. Ainda, Liu et al. (2014) constataram aumentos de 0.3 a 0.6 mg kg⁻¹ de Fe com aumento de 1 mg kg⁻¹ de Zn em grãos de trigo. O aumento da concentração de Fe em decorrência do oferecimento de Zn é de grande importância para biofortificação, uma vez que segundo estudo de Grupta (1991) a adubação com Fe apresentou baixa influência no aumento da concentração do nutriente no grão de trigo. Fato, também observado neste estudo, onde as aplicações Zn-S+F, Zn-F e Fe-F aumentaram em 8%, 8% e 9% a concentração de Fe no grão quando foram comparados com o tratamento controle, respectivamente (Figura 5d), logo, não tendo diferença de incremento na concentração de Fe no grão entre as aplicações de Zn e Fe, comprovando baixa eficiência do oferecimento de Fe no aumento da concentração deste nutriente em partes comestíveis das plantas.

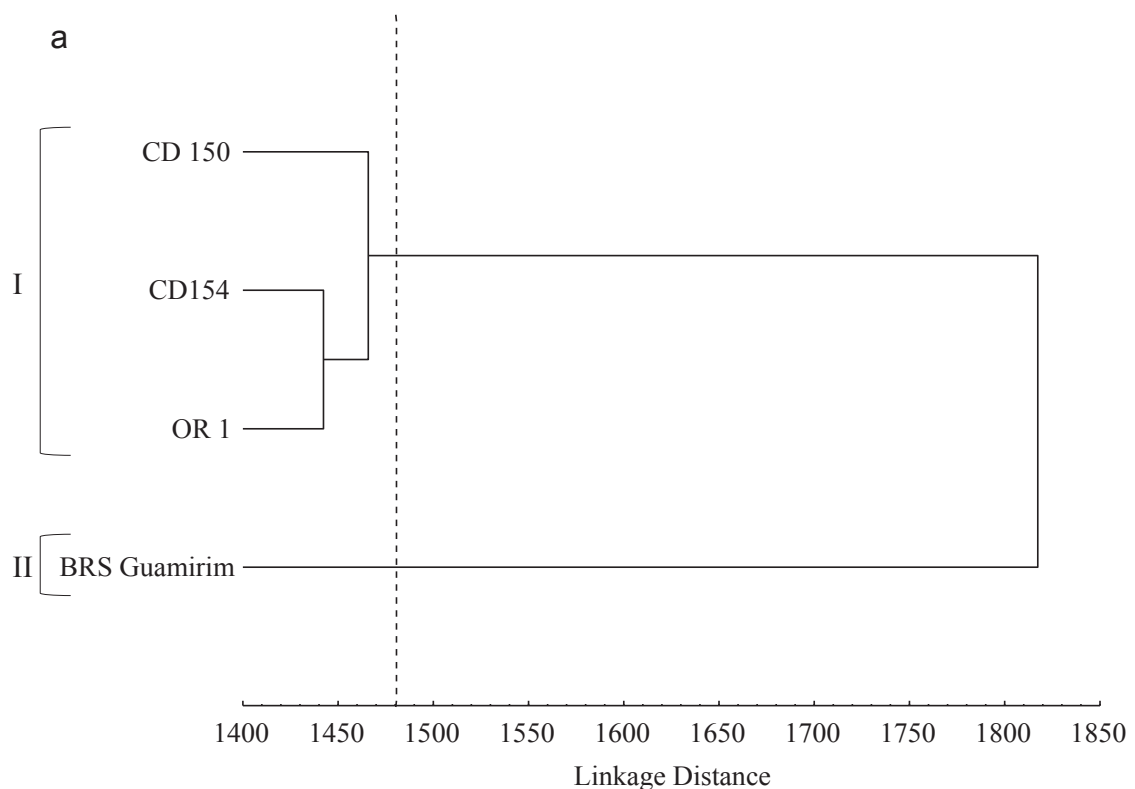
FIGURA 5 – RESPOSTA DA PRODUTIVIDADE (a) E DA CONCENTRAÇÃO DE Zn (b), N (c) E Fe (d) NO GRÃO DE GENÓTIPOS DE TRIGO EM FUNÇÃO DOS TRATAMENTOS: CONTROLE (SEM ADUBAÇÃO), Zn-S (ADUBAÇÃO DE 10 KG Zn HA⁻¹ NO SOLO), Zn-F (ADUBAÇÃO DE 0,91 KG Zn HA⁻¹ NA FOLHA), Zn-S+F (ADUBAÇÃO DE Zn NO SOLO E NA FOLHA) OU Fe-F (ADUBAÇÃO DE 1,5 KG HA⁻¹ Fe NA FOLHA). VALORES SÃO MÉDIAS DE QUATRO REPETIÇÕES, TUKEY ($P < 0.05$).

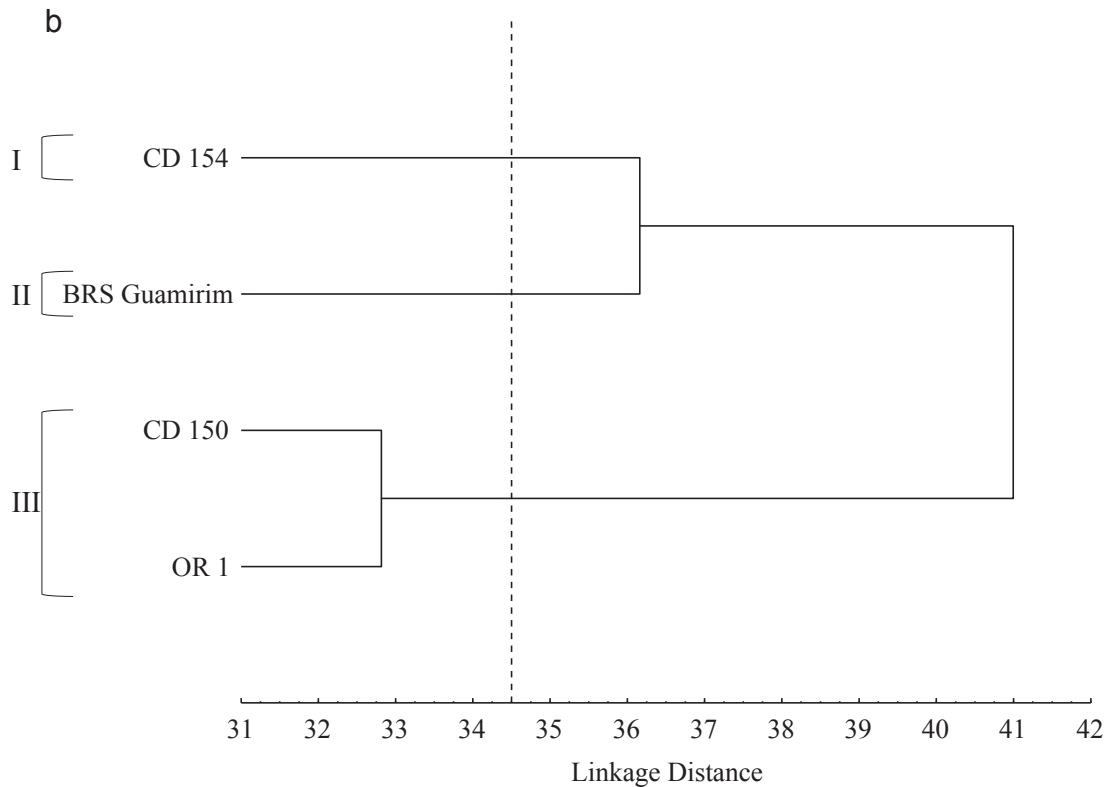


FONTE: O autor (2017).

Em virtude dos contrastantes materiais genéticos selecionados para este estudo, bem como suas variadas respostas para com aplicações de Zn e Fe, foi realizado análise de cluster, onde revelou dois grupos com base na distância euclidiana para o agrupamento baseado na produtividade (Figura 6a) e três grupos para a concentração de Zn no grão (Figura 6b) e nesta análise o grupo I, em ambos os casos, representa genótipos com maior produtividade e concentração de Zn no grão, respectivamente. O agrupamento baseado na produtividade foi, grupo I: CD 150, CD 154 e OR 1 e grupo II: BRS Guamirim (Figura 6a) e para a concentração de Zn no grão foi, grupo I: CD 154, grupo II: BRS Guamirim e grupo III: CD 150 e OR 1 (Figura 6b). Destaque para o genótipo CD 154, que estava presente no grupo I, em ambos os agrupamentos, caracterizando um genótipo mais produtivo e com maior concentração de Zn no grão, logo, sendo um genótipo com alto potencial para biofortificação. Acrescenta, que o genótipo CD 154 é um material classificado como eficiente e responsivo para a aplicação de Zn (Figura 3) o que o torna promissor para biofortificação agronômica com Zn.

FIGURA 6 – DENDROGRAMA UPGMA COM BASE NA SIMILARIDADE DA PRODUTIVIDADE (a) E CONCENTRAÇÃO DE Zn NO GRÃO (b) DE GENÓTIPOS DE TRIGO.



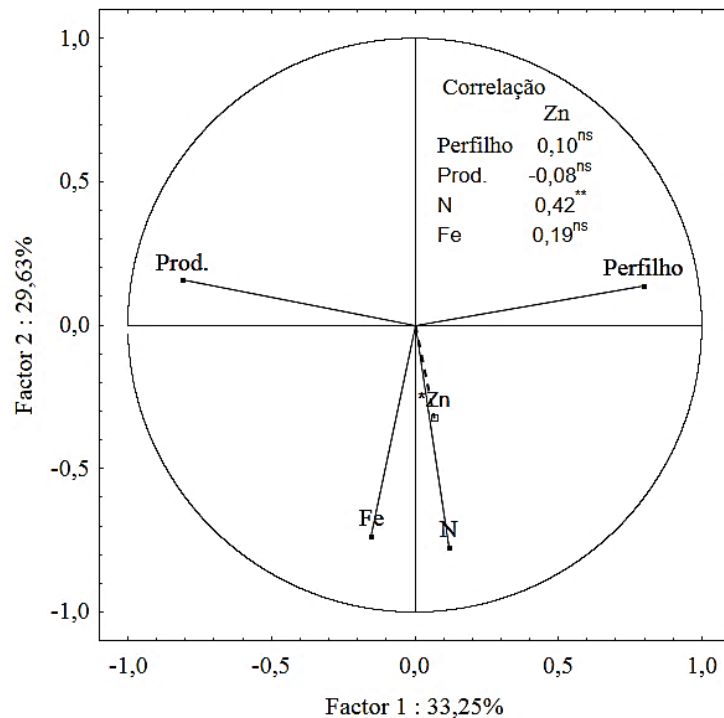


FONTE: O autor (2017).

Os resultados obtidos pela PCA com base na concentração de Zn explicaram 62,9 % dos resultados das inter-relações entre as variáveis estudadas (Figura 7). Houve uma relação positiva entre a concentração Zn e N no grão (0,42, $P < 0,01$), confirmando que a aplicação de Zn proporciona um efeito positivo no aumento da concentração de N e isto, no contexto da biofortificação é de suma importância, pois é possível aumentar tanto o Zn quanto proteína no grão de trigo ao mesmo tempo, uma vez que o N está diretamente associado com a síntese de proteína (Ishimaru et al., 2005; Palmer e Guerinot, 2009; Pedas et al., 2009). Existiu uma relação positiva entre a concentração de Zn e Fe no grão também, embora não tenha sido significativa através da correlação de Pearson (0,19, $P > 0,05$). No entanto, os resultados mostram que a aplicação de Zn causou efeito significativo no aumento da concentração do Fe no grão (Figura 5d) a ponto de não ter diferença entre as aplicações de Zn e de Fe na concentração de Fe no grão. Assim, é possível selecionar e melhorar genótipos para alta capacidade de concentração de Zn, N e Fe sem reduzir o níveis de produtividade, como observado para o genótipo CD 154 (Figuras 4 e 5). Essas informações são de grande relevância, uma vez, que podem redirecionar o foco dos programas de melhoramento vegetal, visando obter genótipos de alto rendimento, entretanto que apresentem melhor qualidade

nutricional nos grãos, fato que viabilizaria à questão social por possibilitar melhoria da saúde da população e além de um sistema produtivo sustentável.

FIGURA 7 – PCA BASEADO NO PERFILAMENTO, PRODUTIVIDADE E CONCENTRAÇÃO DE Zn, N E Fe NO GRÃO DE GENÓTIPOS DE TRIGO. CORRELAÇÃO LINEAR DE PEARSON, NS (NÃO SIGNIFICATIVO), * ($0,01 < P \leq 0,05$), ** ($P < 0,01$) e ^{ns} ($P > 0,05$).



FONTE: O autor (2017).

3.6 CONCLUSÕES

Diversidade genética foi encontrada entre os genótipos de trigo para produtividade e concentração de nutrientes no grão, bem como responderam distintamente para aplicação de Zn e Fe. Os genótipos OR 1, CD 154 e CD 150 tiveram maior produtividade do que o genótipo BRS Guamirim. Os genótipos CD 154 e BRS Guamirim concentraram mais Zn, N e Fe no grão do que os genótipos OR 1 e CD 150. As formas de aplicação de Zn e a aplicação de Fe não afetaram a produtividade dos genótipos de trigo. A aplicação de Zn aumentou a concentração de Zn e N no grão dos genótipos CD 154, CD 150 e BRS Guamirim e a concentração de Fe no grão do genótipo BRS Guamirim, enquanto que a aplicação de Fe aumentou apenas a concentração do nutriente no grão do genótipo BRS Guamirim. A ordem de concentração de Zn no grão foi $Zn-S+F \geq Zn-F > Zn-S > Fe-F = \text{controle}$, portanto sendo as aplicações Zn-S+F e Zn-F as melhores quando o objetivo é aumentar as concentrações de Zn no grão. A aplicação de Zn, também

aumentou a concentração de N e Fe. Contudo, é possível selecionar e melhorar genótipos para alta capacidade de concentrar Zn, N e Fe sem reduzir o níveis de produtividade, como observado para o genótipo CD 154. Assim configurando um material genético com alto potencial para biofortificação.

3.7 REFERÊNCIAS

CAKMAK, I.; MARSCHNER, H.; BANGERTH, F. Effect of zinc nutritional status on growth, protein metabolism and levels of indole-3-acetic acid and other phytohormones in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 40, p. 405-412, 1989.

CAKMAK, I. Enrichment of fertilizers with zinc: an excellent investment for humanity and crop production in India. **Journal of Trace Elements in Medicine Biology**, v. 23, p. 281-289, 2009.

CAKMAK, I.; KALAYCI, M.; KAYA, Y.; TORUN, A. A.; AYDIN, N.; WANG, Y.; ARISOY, Z.; ERDEM, H.; YAZICI, A.; GOKMEN, O.; OZTURK, L.; HORST, W. J. Biofortification and Localization of Zinc in Wheat Grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 9092-9102, 2010.

COSTA, J. M.; OLIVEIRA, E. F. **Fertilidade do solo e nutrição de plantas**. Cascavel: Coamo/Coodetec, p. 93, 2001.

DEMMENT, W. M.; YOUNG, M. M.; SENSENIG, R. L. Providing micronutrients through food-based solutions: a key to human and national development. **The Journal of Nutrition**, v. 133, p. 3879-3885, 2003.

ELMADFA, I. **The European nutrition and health report**. Forum of Nutrition, 400 Vienna, p. 412, 2009.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, p. 627, 2009.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants. **Advances in Agronomy**, v. 88, p. 97-185, 2005.

GAO, X.; LUKOW, O. M.; GRANT, C. A. Grain concentrations of protein, iron and zinc and bread making quality in spring wheat as affected by seeding date and nitrogen fertilizer management. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 121, p. 36-44, 2012.

GIBSON, R. S. Zinc: the missing link in combating micronutrient malnutrition in developing countries. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 65, p. 51-60, 2006.

GRUPTA, U. C. Iron statuses of crops in Prince-Edward-Island and effect of soil-pH on plant iron concentration. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 71, p. 197-202, 1991.

HOTZ, C.; BROWN, K. H. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 25, p. 130-162, 2004.

ISHIMARU, Y.; SUZUKI, M.; KOBAYASHI, T.; TAKAHASHI, M.; NAKANISHI, H.; MORI, S.; NISHIZAWA, N. K. Os ZIP4, a novel zinc-regulated zinc transporter in rice. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, p. 3207-3214, 2005.

JEONG, J.; GUERINOT, M. L. Biofortified and bioavailable: the gold standard for plant-based diets. **PNAS**, v. 6, p. 1777-1778, 2008.

KUTMAN, U. B.; YILDIZ, B.; OZTURK, L.; CAKMAK, I. Biofortification of durum wheat with zinc through soil and foliar applications of nitrogen. **Cereal Chemistry**, v. 87, p. 1-9, 2010.

LIU, H.; WANG, Z. H.; LI, F.; LI, K.; YANG, N.; YANG, Y.; HUANG, D.; LIANG, D.; ZHAO, H.; MAO, H.; LIU, J.; QIU, H. Grain iron and zinc concentrations of wheat and their relationships to yield in major wheat production areas in China. **Field Crops Research**, 156, p. 151-160, 2014.

MORAES, M. F.; NUTTI, M. R.; WATANABE, E.; CARVALHO, J. L. V. Práticas agrônomicas para aumentar o fornecimento de nutrientes e vitaminas nos produtos agrícolas alimentares. In: I SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AGROPECUÁRIA SUSTENTÁVEL, Viçosa, **Agricultura, Pecuária e Cooperativismo**, p. 300-312, 2009.

OBATA, H.; KAWAMURA, S.; SENOO, K.; TANAKA, A. Changes in the level of protein and activity of Cu/Zn-superoxide dismutase in zinc deficient rice plant, *Oryza sativa* L. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 45, p. 891-896, 1999.

OLIVEIRA, E. L. **Sugestão de adubação e calagem para culturas de interesse econômico no Estado do Paraná**. Londrina: Iapar, p. 30, 2003. (Circular, n° 128).

PALMER, C. M.; GUERINOT, M. L. Facing the challenges of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. **Nature Chemical Biology**, v. 5, p. 333-340, 2009.

PEDAS, P.; SCHJOERRING, J. K.; HUSTED, S. Identification and characterization of zinc-starvation-induced ZIP transporters from barley roots. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 377-383, 2009.

PHATTARAKUL, N.; RERKASEM, B.; LI, L. J.; WU, L. H.; ZOU, C. Q.; RAM, H.; SOHU, V. S.; KANG, B. S.; SUREK, H.; KALAYCI, M.; YAZICI, A.; ZHANG, F. S.; CAKMAK, I. Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries. **Plant and Soil**, v. 361, p. 131-141, 2012.

PRASAD, A. S. Zinc: mechanisms of host defense. **The Journal of Nutrition**, v. 137, p. 1345-1349, 2007.

SOMAR METEOROLOGIA. **Clima de Palotina, Paraná**. 2016. Disponível em: <<http://www.somarmeteorologia.com.br/institucional/>>. Acesso em: 24 de outubro de 2017.

SOUZA, G. A.; HART, J. J.; CARVALHO, J. G.; RUTZKE, M. A.; ALBRECHT, J. C.; GUILHERME, L. R. G.; KOCHIAN, L. V.; LI, L. Genotypic variation of zinc and selenium concentration in grains of Brazilian wheat lines. **Plant Science**, v. 224, p. 27-35, 2014.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Biofortifying crops with essential mineral elements. **Trends in Plant Science**, v. 10, p. 586-593, 2005.

WHITE, P. J.; BRADSHAW, J. E.; DALE, M. F. B.; RAMSAY, G.; HAMMOND, J. P.; BROADLEY, M. R. Relationships between yield and mineral concentrations in potato tubers. **HortScience**, v. 44, p. 6-11, 2009.

ZADOKS, J. C.; CHANG, T. T.; KONZAK, C. F. A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research**, v. 14, p. 415-421, 1974.

ZHAO, B.; TIAN, X. Y. Y.; LIU, X.; ATA-UL-KARIM, S. T.; NI, J. CAO, W.; ZHU, Y. New Critical Nitrogen Curve Based on Leaf Area Index for Winter Wheat. **Agronomy Journal**, v. 106, p. 379-389, 2014.

ZHANG, Y. Q.; SUN, Y. X.; YE, Y. L.; KARIM, M. R.; XUE, Y. F.; YAN, P.; MENG, Q. F.; CUI, Z. L.; CAKMAK, I.; ZHANG, F. S.; ZOU, C. Q. Zinc biofortification of wheat through fertilizer applications in different locations of China. **Field Crops Research**, v. 125, p. 1-7, 2012.

ZOU, C. Q.; ZHANG, Y. Q.; RASHID, A.; RAM, H.; SAVASLI, E.; ARISOY, R. Z.; ORTIZ-MONASTERIO, I.; SIMUNJI, S.; WANG, Z. H.; SOHU, V.; HASSAN, M.; KAYA, Y.; ONDER, O.; LUNGU, O.; MUJAHID, Y. M.; JOSHI, A. K.; ZELENSKIY, Y.; ZHANG, F. S.; CAKMAK, I. Biofortification of wheat with zinc through zinc fertilization in seven countries. **Plant and Soil**, v. 361, p. 119-130, 2012.

4 CAPÍTULO III: RESPOSTA DOS GENÓTIPOS DE TRIGO A BIOFORTIFICAÇÃO AGRÔNOMICA COM ZINCO E NITROGÊNIO

4.1 RESUMO

A Aplicação combinada de adubos de nitrogênio (N) e zinco (Zn) é uma estratégia agrônômica promissora para a biofortificação dos grãos de trigo com Zn para nutrição humana. Foi realizado um experimento em estufa para avaliar os efeitos do fornecimento de N na absorção, translocação e acumulação de Zn em tecidos de dois genótipos de trigo (Quartzo e BRS Parrudo) com potencial contrastante para biofortificação de Zn no grão. Os genótipos de trigo de inverno foram cultivados até a maturidade em tubos de 5 cm de diâmetro e 100 cm de comprimento preenchidos com uma mistura de areia, grão e cascalho (40:40:20 v / v / v) sobre uma camada de 0,1 m³ de cascalho e forneceu uma solução nutritiva completa com concentrações baixa de Zn (0,15 µM) ou alta de Zn (2,25 µM) e baixa de N (0,4 mM) ou alta de N (4,0 mM). O alto fornecimento de N aumentou a produção de biomassa, concentração e conteúdo de Zn na matéria seca e grão em ambos os genótipos, Quartzo e BRS Parrudo. O conteúdo de Zn no grão mais do que dobrou quando os suprimentos de Zn e N foram aumentados de baixo para alto em ambos os genótipos. Quartzo apresentou maior produção de grãos do que o BRS Parrudo. BRS Parrudo apresentou maior concentração e conteúdo de Zn no grão do que Quartzo. O maior suprimento de N promoveu melhor absorção, translocação para a parte aérea e acumulação de Zn dentro do grão. Quartzo e BRS Parrudo diferiram em sua partição de biomassa e Zn entre os tecidos. Pode ser possível combinar o maior rendimento de grãos de Quartzo com a maior acumulação de Zn no grão do BRS Parrudo e obter um genótipo melhorado para a segurança alimentar humana.

Palavras-chave: Biofortificação. Nutrição. Nitrogênio. Sementes. Trigo (*Triticum aestivum* L.).

4.2 ABSTRACT

The combined application of nitrogen (N) and zinc (Zn) fertilizers is a promising agronomic strategy for the biofortification of wheat grain with Zn for human nutrition. A glasshouse experiment was carried out to assess the effects of supplying N on the uptake, translocation and accumulation of Zn in tissues of two wheat genotypes (Quartzo and BRS Parrudo) with contrasting potential for grain Zn biofortification. Winter wheat genotypes were grown to maturity in 5 cm diameter, 100 cm length tubes filled with a mixture of sand, grit and gravel (40:40:20 v/v/v) over a layer of 0.1 m³ of gravel, and supplied a full nutrient solution with low Zn (0.15 µM) or high Zn (2.25 µM) and low N (0.4 mM) or high N (4.0 mM) concentrations. High N supply increased biomass production, Zn concentration and Zn content of straw and grain in both Quartzo and BRS Parrudo. Grain Zn content more than doubled when the supplies of Zn and N were both increased from low to high in both genotypes. Quartzo had a greater grain yield than BRS Parrudo. BRS Parrudo had greater grain Zn concentration and Zn content than Quartzo. A greater N supply promoted better

uptake, translocation to the shoot and accumulation of Zn within the grain. Quartzo and BRS Parrudo differed in their partitioning of biomass and Zn between tissues. It might be possible combine the greater grain yield of Quartzo with the greater grain Zn accumulation of BRS Parrudo to deliver a greatly improved genotype for human food security.

Keywords: Biofortification. Nutrition. Nitrogen. Seed. Wheat (*Triticum aestivum* L.).

4.3 INTRODUÇÃO

O zinco (Zn) desempenha funções essenciais no metabolismo das plantas (Marschner, 1993) e da maioria dos organismos, incluindo os seres humanos (Hambidge, 2000). Estima-se que mais de 50 % da população mundial sofra com problemas nutricionais (Tucker, 2003; Welch, 2005) e que aproximadamente um terço da população é afetado pela deficiência de Zn, especialmente nos países em desenvolvimento (Welch & Graham, 2004). A deficiência de Zn é responsável por graves complicações da saúde, incluindo prejuízos no sistema imunológico combinada com maior risco de infecções, prejuízo no crescimento físico, retardo na capacidade de aprendizagem, danos no desenvolvimento do DNA e câncer (Hotz & Brown, 2004; Gibson, 2006; Prasad, 2007; Black et al., 2008). Em decorrência dos malefícios a saúde, a carência de Zn é considerada um problema de saúde global. Em adição, a baixa diversidade alimentar e a insuficiente ingestão dietética têm sido considerado como as principais causas deste problema (Bouis, 2003; White & Broadley, 2009a; Cakmak et al., 2010).

Nesse contexto, os cereais, especialmente o trigo, é a principal fonte de caloria para maioria dos países em desenvolvimento (Hotz & Brown, 2004; Cakmak, 2008; Gibson et al., 2008). Em contrapartida é inerentemente pobre em nutrientes, a exemplo tem-se a baixa concentração e biodisponibilidade de Zn no grão (White & Broadley, 2005; Newell-McGloughlin, 2008), podendo essa concentração ser tão baixa quanto 10 mg kg^{-1} Zn (Cakmak et al., 1999; Erdal et al., 2002), enquanto a ingestão dietética de Zn recomendada para os humanos é de 12-15 mg (Welch & Graham, 2004). Assim, uma dieta baseada principalmente em cereais, como o trigo, pode causar desnutrição e contribuir para elevação do porcentual de doenças nutricionais. Deste modo, a produção de grãos de cereais de melhor qualidade

nutricional passa a ser prioridade no contexto atual (White & Broadley, 2005; Bouis et al., 2009).

Existem várias abordagens para aumentar a concentração de Zn em partes comestíveis das culturas, como os grãos, incluindo programas de suplementação e fortificação de nutrientes (Michaelsen & Friis, 1998; Hurrell, 2002; Davidsson, 2003) e mais recentemente a biofortificação genética (baseada em práticas de melhoramento convencional, engenharia genética e biotecnologia) e a biofortificação agrônômica (fundamentada em práticas culturais, principalmente adubação). Pesquisas apontam que a combinação de ambas, biofortificação genética e agrônômica, está sendo considerada a abordagem mais econômica e sustentável para superar as deficiências de micronutrientes, incluindo a deficiência de Zn (White & Broadley, 2005; Pfeiffer & McClafferty, 2007; Cakmak, 2008; Zhang et al., 2012; Zou et al., 2012). No entanto, para a implementação dessa estratégia a ciência de que a adubação é o ponto central da abordagem agrônômica para promover melhor qualidade das culturas e rendimento, é obrigatória. Uma vez que a forma de aplicação, a fonte utilizada e a interação entre nutrientes representam importantes fatores que colaboram para eficiência da biofortificação.

A interação entre nitrogênio (N) e Zn tem-se mostrado uma promissora estratégia agrônômica para a biofortificação do trigo com Zn. Evidências de que aumentando o suprimento de N melhorou a concentração de Zn no grão de trigo podem ser verificadas nos trabalhos de Shi et al. (2010), Kutman et al. (2011, 2012); e Erenoglu et al. (2011). Os mesmos autores relataram que o N participa de vários processos fisiológicos que mantém a homeostase do Zn na planta, tais como: absorção, translocação e acumulação do elemento. Em adição, em todos esses processos fisiológicos existe a participação de pelo menos uma proteína transportadora, podendo ser da família: *Zinc-Iron Permease* (ZIP), *Heavy Metal ATPases* (HMA), *Metal Tolerance Protein* (MTP), *Yellow Stripe Like* (YSL), *Plant Cadmium Resistance* (PCR) and *Vacuolar Iron Transporter* (VIT), bem como de compostos nitrogenados, designados: nicotianamina, malato, asparaginas, histidina e ácidos orgânicos, que atuam como quelantes metálicos e permitem o transporte de curta e longa distância dos metais dentro da planta (Curie et al., 2009; Palmer & Guerinot, 2009; Trampczynska et al., 2010; Gupta et al., 2016).

De acordo com pressuposto, a nutrição nitrogenada das plantas parece ser um componente crítico para uma biofortificação eficaz das culturas alimentares com

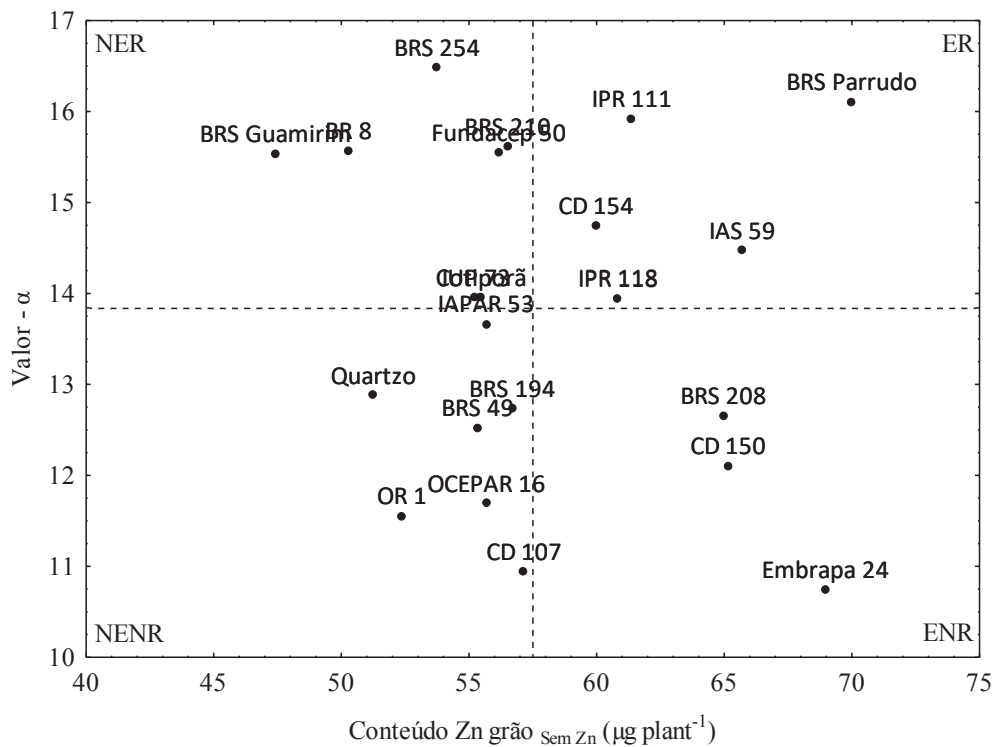
Zn, devido os processos fisiológicos estarem sob a influência do estado nutricional do N na planta. Mas, a acumulação de metais pesados é um complexo processo fisiológico, e que também é regido por diferenças genéticas interespecies e intraespecies. Nesse contexto, para cultura do trigo, uma ampla variação genética para a concentração de Zn no grão ($14 - 190 \text{ mg Zn Kg}^{-1}$) foi encontrada (Gupta et al., 2016). Indicando existir grande potencial para melhoramento genético. Contudo uma melhor compreensão da influência do N no metabolismo do Zn na planta, bem como uma descrição detalhada do comportamento dos genótipos com distinto potencial para biofortificação com Zn no grão contribuirá para os esforços da biofortificação agrônômica e genética. Assim, o estudo objetivou avaliar os efeitos do suprimento de N na absorção, translocação e acumulação de Zn em tecidos vegetais de genótipos de trigo com contrastante potencial para biofortificação de Zn no grão cultivado com suficiente e supra-suficiente suprimento de Zn.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

As sementes dos genótipos de trigo de inverno (designados: Quartzo, CD 150, CD 154, BRS Guamirim e BRS Parrudo) foram obtidas a partir do estoque de sementes da Cooperativa Central de Pesquisa Agropecuária (COODETEC, Brasil). A escolha dos genótipos foi baseada em um estudo preliminar do potencial de biofortificação para conteúdo de Zn no grão com 22 genótipos de trigo de inverno, que incluiu variedades introduzidas entre 1965 e 2012. As plantas foram cultivadas até a maturidade em condição deficiente (0 mg dm^{-3}) e suficiente (5 mg dm^{-3}) de Zn no solo. Os genótipos de trigo de Inverno foram rastreados quanto o seu conteúdo de Zn no grão. O conceito de eficiência agrônômica de uso de nutrientes (α), tradicionalmente aplicado para identificar cultivares produtivas, mas aqui usado para caracterizar a respostas do conteúdo de Zn no grão sob aplicação de Zn, foi utilizada e calculada como: $\alpha = [(\text{conteúdo de Zn no grão com alta fertilização} - \text{conteúdo de Zn no grão com baixa fertilização}) / \text{diferença entre aplicações de fertilizantes}]$ (Fageria & Baligar, 2005). Resultados do conteúdo de Zn no grão ($\mu\text{g planta}^{-1}$) foi usado para calcular o valor α . Os genótipos foram separados em quatro grupos para o conteúdo de Zn no grão: eficiente e responsivo – ER (CD 154 e BRS Parrudo), eficiente e não responsivo – ENR (CD 150), ineficiente e responsivo – NER (BRS Guamirim) e ineficiente e não responsivo – NENR (Quartzo) (Figura 8). Dentre os

cinco genótipos selecionados e utilizados neste estudo, apenas para o Quartzzo e BRS Parrudo foram realizadas as análises nutricionais (descrito no tópico análise mineral).

FIGURA 8 – CLASSIFICAÇÃO DE 22 GENÓTIPOS DE TRIGO DE INVERNO BASEADO NA RELAÇÃO ENTRE CONTEÚDO DE Zn NO GRÃO (SEM-Zn = SEM ADUBAÇÃO COM Zn) E VALOR A PARA CONTEÚDO DE Zn NO GRÃO (FAGERIA E BALIGAR, 2005). AS LINHAS CONTÍNUAS REPRESENTAM O VALOR MÉDIO PARA O EIXO. NER = GENÓTIPOS NÃO EFICIENTES E RESPONSIVOS, ER = GENÓTIPOS EFICIENTES E RESPONSIVOS, NENR = GENÓTIPOS NÃO EFICIENTES E NÃO RESPONSIVOS E ENR = GENÓTIPOS EFICIENTES E NÃO RESPONSIVO. VALORES REPRESENTAM MÉDIAS DE QUATRO REPETIÇÕES INDEPENDENTES.



FONTE: O autor (2017).

As plantas foram cultivadas em tubos de plástico (5 cm de diâmetro e 100 cm de comprimento) revestido com folha de plástico preto resistente, preenchidos com um substrato de cascalho-brita-areia (40:40:20 v/v/v) sobre 0.1 m³ de cascalho para facilitar a drenagem da água. O fundo de cada tubo foi coberto com malha de nylon de tamanho de poro de 5 mm para evitar a perda do substrato. Homogeneidade do substrato foi obtida utilizando um *Misturador Drum Compost* (720 rpm por 10 min). O conteúdo dos tubos foi cuidadosamente humedecido com água para permitir que o substrato se assentasse antes do transplante dos pares de plântulas germinadas para cada tubo. Uma plântula de cada par foi removida após o estabelecimento bem-sucedido das plântulas.

As sementes foram peneiradas (passadas através de uma malha de 3 mm, retida em uma malha de 2.5 mm) para padronizar o tamanho utilizado. As sementes foram embebidas por 3-5 h em água e então foram esterilizadas à superfície por 15 min em hipoclorito de cálcio 2 % (w/v). Sementes esterilizadas foram enxaguadas várias vezes em água destilada e foram colocadas entre camadas de papel úmido de cromatografia de celulose (20 cm de largura e 20 cm de comprimento) em placas de Petri. As placas de Petri foram revestidas com folha de alumínio e incubadas a 15 °C por 5 d, quando as raízes das plântulas atingiram (5 - 10 mm) de comprimento. Plântulas germinadas de cinco dias de idade com desenvolvimento similar de raiz e folha foram transferidas para tubos preenchidos com substrato em 21 de Maio de 2016.

Compartimento do tipo *Cambridge* situado no Instituto James Hutton (Invergowrie, Scotland, UK, latitude 56°27'22.7" N, longitude 03°04'09.9" W) foi utilizado. Temperatura diária e noturna foi mantida em 24 °C e 18 °C respectivamente. Irradiância diária (> 200 W m⁻² por 16 h) foi obtida através de iluminação artificial (MASTER SON-T PIA Green Power, Philips, Guildford, UK). Delineamento ao acaso com oito blocos foi utilizado. Cada bloco continha uma repetição de cada genótipo de cada um dos quatro tratamentos de nutrientes. Os tubos foram dispostos em 40 linhas, quatro colunas e cada cinco linhas constituíram um bloco.

Os tratamentos de nutrientes constituíram de combinações de soluções contendo ZnSO₄ 7H₂O e NH₄NO₃ com concentrações de 0.15 µM (suficiente = Low-Zn) ou 2.25 µM (supra-suficiente = High-Zn) e 0.40 mM (suficiente = Low-N) ou 4.00 mM (supra-suficiente = High-N) respectivamente. Tratamentos foram aplicados semanalmente, utilizando *Multipette*® M4 (Combitip System). Os outros nutrientes foram aplicados utilizando um sistema automatizado de irrigação (Hortimax Growing Solutions Aqua 500 (Irrigation Computer), HortimaX B.V., The Netherlands) ligado a um reservatório de nutrientes através de um *Dosatron* DI 16 (Dosatron International, Bordeaux, France) e entregue a cada planta através de gotejadores inseridos no substrato de cada tubo com uma taxa de administração de 9.0 mL min⁻¹. Reservatório continha solução nutritiva com concentração final de 0.50 mM K₂HPO₄, 0.51 mM K₂SO₄, 0.75 mM MgSO₄ 7H₂O, 10.00 µM H₃BO₃, 1.00 µM MnSO₄ H₂O, 0.25 µM CuSO₄ 5H₂O, 0.25 µM MoO₃, 0.06 µM Na₂SeO₃ 5H₂O, 0.06 µM CoSO₄ 7H₂O, 0.06 µM NiSO₄ 6H₂O e 10.00 µM FeNaEDTA. Fertirrigação com frequência

diária, aplicou 45 mL tubo⁻¹ durante as primeiras quatro semanas após transplante das mudas para os tubos e 72 mL tubo⁻¹ subsequentemente até o final da experiência. Separadamente e com frequência semanal, aplicou 16.5 mL tubo⁻¹ de 1.25 mM de CaCl₂ 2H₂O durante as primeiras quatro semanas e 27.0 mL tubo⁻¹ da mesma solução foi aplicado depois disso. A quantidade de líquido aplicado para todos tubos foi igual e todas as soluções de nutriente foram preparadas utilizando água destilada e tinham pH entre 5.7 e 5.9. Ambos tratamentos de nutrientes e fertirrigação foram realizados até a maturação (Z92: Zadoks, escala de crescimento para cereais) (Zadoks et al., 1974), quando os nutrientes e o suprimento de água foram diminuídos gradativamente para zero na colheita da planta.

Em 10 de Setembro de 2016 foi colhido as plantas. Partes da planta acima do solo foram removidas e separadas em parte aérea (caule, folhas e palha) e grão. As raízes foram removidas deslizando as folhas plásticas pretas pesadas de cada tubo e transferindo o sistema radicular fechado para uma superfície plana. As raízes foram lavadas individualmente com água para separar a raiz do substrato. Cada parte da planta: raiz, parte aérea e grão foram pesadas separadamente e obtiveram o peso fresco (FW), e depois todas as frações das plantas foram secas a 70 °C em um forno por 3 d, e foi determinado o peso seco (DW).

Para a análise do Zn, o material vegetal seco foi moído para um pó fino e submetido a digestão ácida em um sistema fechado de microondas (MarsExpress, CEM., Buckingham, UK) configurado para digerir por 20 min a 180 °C em 3 mL de 15.8 M de HNO₃ (Nitric Acid (69 %), Aristar, VWR International), seguido pelo mesmo ciclo em 1 mL de H₂O₂ (Hydrogen Peroxide (> 30 %), Fisher chemical, Certified ACS). Seguindo a digestão, amostras foram diluídas para um volume final de 50 mL com H₂O Milliq. Concentrações de Zn foram determinadas utilizando *Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry* (ICP-MS). Determinações foram verificadas usando o padrão certificado multi-elemento do *National Institute of Standards and Technology* (Gaithersburg, MD, USA).

Para o cálculo do conteúdo de Zn para uma determinada parte da planta, a concentração do nutriente foi multiplicado pelo peso seco (DW) dessa parte da planta. De modo semelhante para o conteúdo de Zn no grão, onde multiplicou o rendimento de grãos pela concentração do Zn no grão.

O *software* Assistat (versão 7.7 pt) foi utilizado para a análise estatística. Dependendo do número de fatores avaliados, os dados foram submetidos a análise

de variância (ANOVA) de *One-way* ou *Two-way* para avaliar a significância dos efeitos dos tratamentos e suas interações sobre as características analisadas. Quando os efeitos foram significativos de acordo com a ANOVA, diferenças significativas entre os valores médios foram determinadas pelo teste de TuKey a 95 % de confiança ($P < 0.05$).

4.5 RESULTADOS

Neste estudo, onde genótipos de trigo de inverno foram crescidos sob combinações de tratamento entre Zn (Low-Zn: 0.15 μ M ou High-Zn: 2.25 μ M) e N (Low-N: 0.4 mM ou High-N: 4.0 mM) a ANOVA revelou significativo efeito do genótipo, suprimento de Zn e N e suas respectivas interações na massa seca da raiz, parte aérea, rendimento de grãos e total da massa seca da planta (designados: Root DW, Straw DW, Grain yield and Total DW, respectivamente), concentração de Zn (designado: Root [Zn], Straw [Zn], Grain [Zn] and Total [Zn]) conteúdo de Zn (designado: Root ZnC, Straw ZnC, Grain ZnC and Total ZnC), índice de colheita do rendimento de grãos e conteúdo de Zn no grão (designado: GHI and GZnHI, respectivamente) e relação entre massa seca da parte aérea e raiz (Straw:root ratio) (Tabela 13). Adicionalmente, todas avaliações realizadas foram significativamente afetadas pelo genótipo ($P < 0.01$), o que confirma alto contraste entre os materiais genéticos escolhidos para este estudo.

TABELA 13 – PORCENTAGEM DE CONTRIBUIÇÃO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA OS EFEITOS DO GENÓTIPO (G), DO SUPRIMENTO DE ZINCO (Zn), DO SUPRIMENTO DE NITROGÊNIO (N) E DE SUAS RESPECTIVAS INTERAÇÕES NA MASSA SECA (DESIGNADO: ROOT DW, STRAW DW, GRAIN YIELD E TOTAL DW), CONCENTRAÇÃO DE Zn (DESIGNADO: ROOT [Zn], STRAW [Zn], GRAIN [Zn] E TOTAL [Zn]), CONTEÚDO DE Zn (DESIGNADO: ROOT ZnC, STRAW ZnC, GRAIN ZnC E TOTAL ZnC), ÍNDICE DE COLHEITA DO RENDIMENTO DE GRÃOS E DO CONTEÚDO DE Zn NO GRÃO (DESIGNADO: GHI E GZnHI, RESPECTIVAMENTE) E RELAÇÃO ENTRE MASSA SECA DA PARTE AÉREA E RAIZ (STRAW: ROOT RATIO) DE TRIGO DE INVERNO CULTIVADO SOB CONDIÇÕES DE ESTUFA.

Source of variation	Root		Root		Straw		Straw		Grain		Grain		Total DW		Total [Zn]		Total ZnC		Straw: root ratio		Harvest Index	
	DW	[Zn]	ZnC	ZnC	[Zn]	ZnC	yield	[Zn]	ZnC	[Zn]	ZnC	yield	[Zn]	ZnC	DW	[Zn]	ZnC	ZnC	ratio	GHI	GZnHI	
G	81.8**	80.0**	46.0**	46.0**	20.5**	30.9**	54.5**	68.0**	33.9**	27.9**	20.0**	28.9**	60.9**	82.5**	52.0**							
Zn	3.1**	15.4**	43.3**	43.3**	42.3**	25.9**	2.4ns	15.2**	17.2**	5.3**	47.9**	24.4**	0.3ns	0.1ns	1.0ns							
N	1.5**	0.5ns	0.2ns	0.2ns	33.2**	39.2**	44.1**	26.0**	45.2**	48.5**	29.2**	43.3**	37.9**	15.5**	40.1**							
G x Zn	0,1ns	0,9ns	0,4ns	0,4ns	0,2ns	0,4ns	0,0ns	0,0ns	0,0ns	0,1ns	0,0ns	0,1ns	0,0ns	0,0ns	3,2ns							
G x N	0,0ns	0,0ns	0,2ns	0,2ns	0,7ns	2,4*	2,9*	0,4ns	3,2**	5,0**	0,6ns	3,0**	0,0ns	1,1ns	0,1ns							
Zn x N	0,7ns	2,9**	10,0**	10,0**	2,1*	0,7ns	0,1ns	0,2ns	0,0ns	0,1ns	2,5**	0,2ns	0,6ns	0,2ns	2,9ns							
G x Zn x N	0,1ns	0,3ns	0,5ns	0,5ns	0,0ns	0,0ns	0,1ns	0,6ns	0,2ns	0,1ns	0,3ns	0,1ns	0,3ns	0,0ns	1,1ns							
CV (%)	15.87	14.19	15.85	15.85	8.49	11.76	6.43	13.45	14.92	4.41	7.32	9.46	9.51	5.54	9.10							

ns, * e ** são não significativos, significativos em (0.01 ≤ P < 0.05) e (P < 0.01), respectivamente.
 FONTE: O autor (2017).

A produção de Root DW ($P < 0.01$) e Total DW ($P < 0.01$) foram afetados pelo suprimento de Zn e N, enquanto a Straw DW ($P < 0.01$), Grain yield ($P < 0.01$), Straw:root ratio ($P < 0.01$) e GHI ($P < 0.01$) foram afetados somente pelo suprimento de N. Interação entre genótipo e suprimento de N foi encontrada para Grain yield ($0.01 \leq P < 0.05$) e Total DW ($P < 0.01$) (Tabela 13). Embora as fontes de variações, tais como: genótipo e suprimento de Zn e N tenham causado alto efeito sobre a produção da massa seca, as porcentagens de contribuições sobre cada aspecto avaliado foram diferentes entre eles. Adicionalmente a porcentagem de contribuição do genótipo (variou de 27.9 % - 81.8 %) e do suprimento de N (1.5 % - 48.5 %) foram muito maiores quando comparados com a contribuição do suprimento de Zn (3.1 % - 5.3 %) para a produção de massa seca (Tabela 13). Indicando que muito da variação encontrada foi efeito do genótipo e do suprimento de N, exceto para Root DW, o qual a contribuição do suprimento de Zn foi maior do que observado para o suprimento de N.

O suprimento de High-Zn e Low-N resultou na maior produção de Root DW, entretanto quando supriu com High-Zn e High-N não observou incremento da Root DW (Tabela 14). Sugerindo que o efeito positivo do suprimento de Zn na produção da Root DW não foi observado quando associado alto suprimento de N. O suprimento de Low-Zn e High-N ou High-Zn e High-N produziu maior Straw DW e Grain yield, bem como promoveu maiores índices da Straw:root ratio e GHI (Tabela 14). Admitindo que o incremento de Straw DW e Grain yield foi efeito do suprimento de N, independentemente do suprimento de Zn. Fato esse, que pode ser confirmado quando observa a porcentagem de contribuição do suprimento de N (48.5 %) na produção Total DW das plantas de trigo (Tabela 13). O genótipo Quartzo teve maior Grain yield, Straw:root ratio e GHI do que o genótipo BRS Parrudo. O oposto foi observado para Root DW e Straw DW. Adicionalmente o genótipo Quartzo teve uma média de 15 % e 20 % maior Grain yield e GHI do que genótipo BRS Parrudo, respectivamente (Tabela 14).

TABELA 14 – EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE Zn (LOW: 0.15 µM OU HIGH: 2.25 µM) E N (LOW: 0.4 MM OU HIGH: 4.0 MM) NA PRODUÇÃO DA MASSA SECA (DESIGNADO: ROOT DW, STRAW DW, GRAIN YIELD E TOTAL DW), RELAÇÃO ENTRE MASSA SECA DA PARTE AÉREA E RAIZ (STRAW: ROOT RATIO) E ÍNDICE DE COLHEITA DO RENDIMENTO DE GRÃOS (GHI) DE DOIS GENÓTIPOS DE TRIGO DE INVERNO (QUARTZO E BRS PARRUDO) CULTIVADOS SOB CONDIÇÕES DE ESTUFA.

Genotype	Zn supply	N supply	Root DW g plant ⁻¹	Straw DW g plant ⁻¹	Grain yield g plant ⁻¹	Total DW g plant ⁻¹	Straw:Root ratio --	GHI %
Quartzo	Low	Low	1.16b	5.05a	4.43b	10.63b	4.37ab	41.72b
		High	1.13b	5.51a	5.14a	11.78a	4.88ab	43.69ab
	High	Low	1.25a	5.20a	4.60b	11.04b	4.17b	41.63ab
		High	1.13b	5.58a	5.32a	12.02a	4.97a	44.23a
	Mean		1.17B	5.33B	4.87A	11.4B	4.60A	42.82A
BRS Parrudo	Low	Low	1.59b	5.51b	3.63b	10.73b	3.46b	33.82b
		High	1.53c	6.29a	4.67a	12.49a	4.11a	37.38ab
	High	Low	1.68a	5.68b	3.75b	11.12b	3.38b	33.76b
		High	1.57b	6.41a	4.92a	12.90a	4.07a	38.08a
	Mean		1.60A	5.97A	4.24B	11.8A	3.76B	35.76B

Valores são médias de oito repetições independentes. Diferentes letras maiúsculas são significativamente diferentes entre genótipos e diferentes letras minúsculas são significativamente diferentes entre as combinações de suplementação com Zn e N de acordo com ANOVA de One-way e Two-way respectivamente, seguido pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

FONTE: O autor (2017).

A Straw [Zn] ($P < 0.01$), Grain [Zn] ($P < 0.01$) e Total [Zn] ($P < 0.01$) foram afetados pelo suprimento de Zn e N, enquanto a Root [Zn] ($P < 0.01$) foi afetado somente pelo suprimento de Zn. Interação entre suprimento de Zn e N foi encontrada para Root [Zn] ($P < 0.01$), Straw [Zn] ($0.01 \leq P < 0.05$) e Total [Zn] ($P < 0.01$) (Tabela 13). A porcentagem de contribuição do genótipo (20 % - 80 %) e suprimento de Zn (15.2 % - 47.9 %) e N (26 % - 33.2 %) na concentração de Zn no tecido vegetal das plantas foram altas. Indicando que muito da variação encontrada foi efeito dos tratamentos isolados, uma vez que a interação entre o suprimento Zn e N apresentaram baixas contribuições (2.1% - 2.9%) (Tabela 13).

O suprimento de High-Zn e Low-N ou High-Zn e High-N proporcionaram maior Root [Zn], enquanto somente o suprimento de High-Zn e High-N resultou em maior Straw [Zn], Grain [Zn] e Total [Zn] (Tabela 15). O genótipo Quartzo teve maior Root [Zn] do que genótipo BRS Parrudo. O oposto foi notado para Straw [Zn], Grain [Zn] e Total [Zn]. Em adição, o genótipo BRS Parrudo teve uma média de 15.6 %,

84.7 % e 21.5 % maior Straw [Zn], Grain [Zn] e Total [Zn] do que genótipo Quartzo, respectivamente (Tabela 15).

O Straw ZnC ($P < 0.01$), Grain ZnC ($P < 0.01$) e Total ZnC ($P < 0.01$) foram afetados pelo suprimento de Zn e N, enquanto o Root ZnC ($P < 0.01$) e GZnHI ($P < 0.01$) foram afetados somente pelo suprimento de Zn e N respectivamente (Tabela 13). Interação entre genótipo e suprimento de N foi encontrado para Straw ZnC ($0.01 \leq P < 0.05$), Grain ZnC ($P < 0.01$) e Total ZnC ($P < 0.01$), enquanto interação entre suprimento de Zn e N encontrado somente para Root ZnC ($P < 0.01$) (Tabela 13). A porcentagem de contribuição do genótipo (28.9 % - 52 %) e suprimento de Zn (17.2 % - 43.2 %) e N (39.2 % - 45.2 %) no conteúdo de Zn no tecido vegetal foram altas. Sugerindo que muito da variação encontrada foi efeito dos tratamentos isolados, uma vez que as interações entre genótipo e suprimento de N (2.4 % - 3.2 %) e suprimento de Zn e N (10 %) foram baixas (Tabela 13). Comportamento semelhante foi observado para a concentração de Zn nos tecidos vegetais.

O suprimento de High-Zn e Low-N resultou no maior Root ZnC, bem como High-Zn e High-N no maior Straw ZnC, Grain ZnC e Total ZnC. O suprimento de Low-Zn e High-N ou High-Zn e High-N proporcionaram maior GZnHI (Tabela 15). Em adição, de forma geral, não existiu diferença entre o suprimento de Low-Zn e High-N ou High-Zn e Low-N para concentração e conteúdo de Zn na parte aérea da planta e grão (Tabela 15), exceto para Grain ZnC do genótipo BRS Parrudo, onde o suprimento de Low-Zn e High-N foi maior do que High-Zn e Low-N. Indicando que existiu grande efeito do suprimento de N no incremento de Zn nos tecidos vegetais das plantas de trigo. O genótipo Quartzo teve maior Root ZnC do que genótipo BRS Parrudo. O oposto foi notado para Straw ZnC, Grain ZnC, Total ZnC e GZnHI. Adicionalmente, o genótipo BRS Parrudo teve uma média de 29.5 %, 62.0 % e 39.1 % maior Straw ZnC, Grain ZnC e Total ZnC do que genótipo Quartzo, respectivamente (Tabela 15). Quanto ao GZnHI, o genótipo BRS Parrudo apresentou um índice de 20.7 % superior ao observado para genótipo Quartzo (Tabela 15). Os resultados sugerem que existe alta variação entre os genótipos Quartzo e BRS Parrudo para o crescimento da planta, concentração e conteúdo de Zn, indicando potencial para melhoramento genético.

TABELA 15 – EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE Zn (LOW: 0.15 µM OU HIGH: 2.25 µM) E N (LOW: 0.4 MM OU HIGH: 4.0 MM) NA CONCENTRAÇÃO DE Zn (DESIGNADO: ROOT [Zn], STRAW [Zn], GRAIN [Zn] E TOTAL [Zn]), CONTEÚDO DE Zn (DESIGNADO: ROOT ZnC, STRAW ZnC, GRAIN ZnC E TOTAL ZnC) E ÍNDICE DE COLHEITA DO CONTEÚDO DE Zn NO GRÃO (GZnHI) DE DOIS GENÓTIPOS DE TRIGO DE INVERNO (QUARTZO E BRS PARRUDO) CULTIVADOS SOB CONDIÇÕES DE ESTUFA.

Genotype	Zn supply	N supply	Root		Straw		Grain		Total		Root		Straw		Grain		Total		GZnHI		
			[Zn]	µg g ⁻¹ DW	[Zn]	µg g ⁻¹ DW	[Zn]	µg g ⁻¹ DW	[Zn]	µg g ⁻¹ DW	[Zn]	µg g ⁻¹ DW	ZnC	µg	ZnC	µg	ZnC	µg		ZnC	µg
Quartzo	Low	Low	31.75c	31.60c	30.95c	94.31c	36.74c	160.76c	137.31c	334.81c	40.85b										
		High	37.45b	41.86b	43.07b	122.38b	42.35bc	231.09ab	219.57b	493.01b	44.26ab										
	High	Low	46.14a	43.63b	44.40b	134.17b	57.58a	227.04b	204.59b	489.21b	41.63b										
		High	43.04a	49.96a	58.81a	151.81a	48.52b	279.28a	310.41a	638.21a	48.64a										
BRS Parrudo	Low	Mean	39.60A	41.76B	44.31B	125.67B	46.30A	224.54B	217.97B	488.81B	43.85B										
		Low	17.72b	35.68c	61.83c	115.24c	28.26c	196.88c	224.98d	450.13d	49.90b										
	High	High	21.47ab	49.39b	85.46ab	156.32b	32.90bc	310.72b	399.65b	743.28b	54.62a										
		Low	26.14a	50.05b	83.35b	159.54b	44.02a	284.10b	313.09c	641.21c	48.77b										
Mean	High	High	25.06a	58.00a	96.78a	179.84A	39.47ab	371.52a	474.91a	885.90a	54.47a										
		Mean	22.60B	48.28A	81.86A	152.73A	36.17B	290.81A	353.16A	680.13A	52.94A										

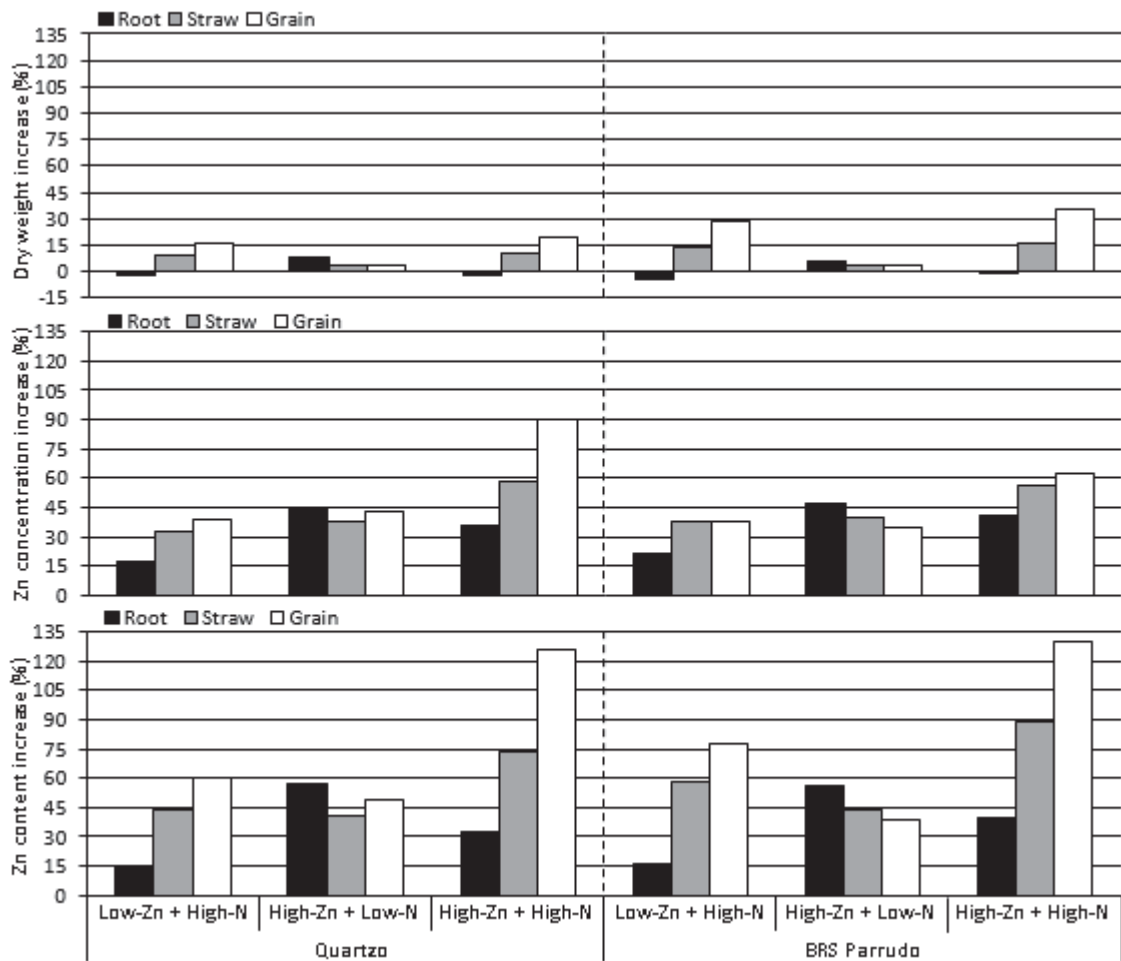
Valores são médias de oito repetições independentes. Diferentes letras maiúsculas são significativamente diferentes entre genótipos e diferentes letras minúsculas são significativamente diferentes entre as combinações de suplementação com Zn e N de acordo com ANOVA de One-way e Two-way respectivamente, seguido pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

FONTE: O autor (2017).

4.6 DISCUSSÃO

O suprimento de N afetou a produção de biomassa das plantas de trigo mais fortemente do que o suprimento de Zn (Tabela 13 e 14). Quando associou o suprimento de High-Zn com Low-N influenciou o aumento Root DW em até 8 % para genótipo Quartzo e 6 % para genótipo BRS Parrudo. Por outro lado, o suprimento com High-N independente do suprimento de Zn aumentou a produção da Straw DW e Grain yield em até 11 % e 20 % para genótipo Quartzo e 16 % e 36 % para genótipo BRS Parrudo respectivamente, e reduziu a Root DW em até 3 % para genótipo Quartzo e 4 % para o genótipo BRS Parrudo (Figura 9). Corroborando com os resultados de Erenoglu et al. (2011), onde obteve aumento da produção da parte aérea e redução da raiz quando o suprimento de N foi de baixo para alto. Enquanto Kutman et al. (2011 e 2012) e Xue et al. (2012) com aumento do suprimento de N obtiveram grandes aumentos da parte aérea e rendimento de grãos. Kutman et al. (2011) destacaram ainda que o suprimento de baixo Zn e alto N resultou em 73 % de aumento do rendimento de grãos, mas quando combinou alto Zn e alto N o aumento foi mais do que 350 %. Neste estudo, o efeito do suprimento de Zn e N na produção de biomassa foi menor do que o observado na literatura. Isto provavelmente está associado a dose de Zn e N utilizado aqui, o qual corresponde a uma dose suficiente (Low-Zn ou Low-N) e supra-suficiente (High-Zn ou High-N) para o crescimento das plantas de trigo. Enquanto para os demais estudos, aqui comparados, a dose de baixo Zn e baixo N representam doses de deficiência, possibilitando maior margem de resposta dos tratamentos. Adicionalmente, o aumento da produção de biomassa em decorrência do suprimento de N era esperado, por tanto, sugere que o suprimento de ambos nutrientes Zn e N não foram limitantes para crescimento das plantas.

FIGURA 9 – PORCENTAGEM DE AUMENTO DA MASSA SECA, CONCENTRAÇÃO E CONTEÚDO DE Zn DE TECIDOS VEGETAIS (RAIZ (ROOT), PARTE AÉREA (STRAW) E GRÃO (GRAIN)) DE DOIS GENÓTIPOS DE TRIGO DE INVERNO (QUARTZO E BRS PARRUDO) SOBRE A SUPLEMENTAÇÃO DE Zn (LOW-ZN: 0.15 MM) E N (LOW-N: 0.4 MM).



FONTE: O autor (2017).

Nesse contexto, embora o genótipo BRS Parrudo tenha apresentado maior magnitude de resposta ao suprimento de N para Grain yield (acréscimo de até 36 %, Figura 9), sua produtividade ainda foi menor do que obtido pelo genótipo Quartzo. Sugerindo que o último genótipo apresenta melhor partição de carbono, direcionando equivalente a 43 % do total de carbono produzido para produção de grãos, enquanto o genótipo BRS Parrudo apenas 36 % (Tabela 14). Confirmando resultados anteriores de que genótipos com alto potencial para biofortificação, como BRS Parrudo, geralmente tem menor produtividade de grãos, por outro lado maior concentração e conteúdo de nutrientes (Garvin et al., 2006; Fan et al. 2008), como foi encontrado neste estudo.

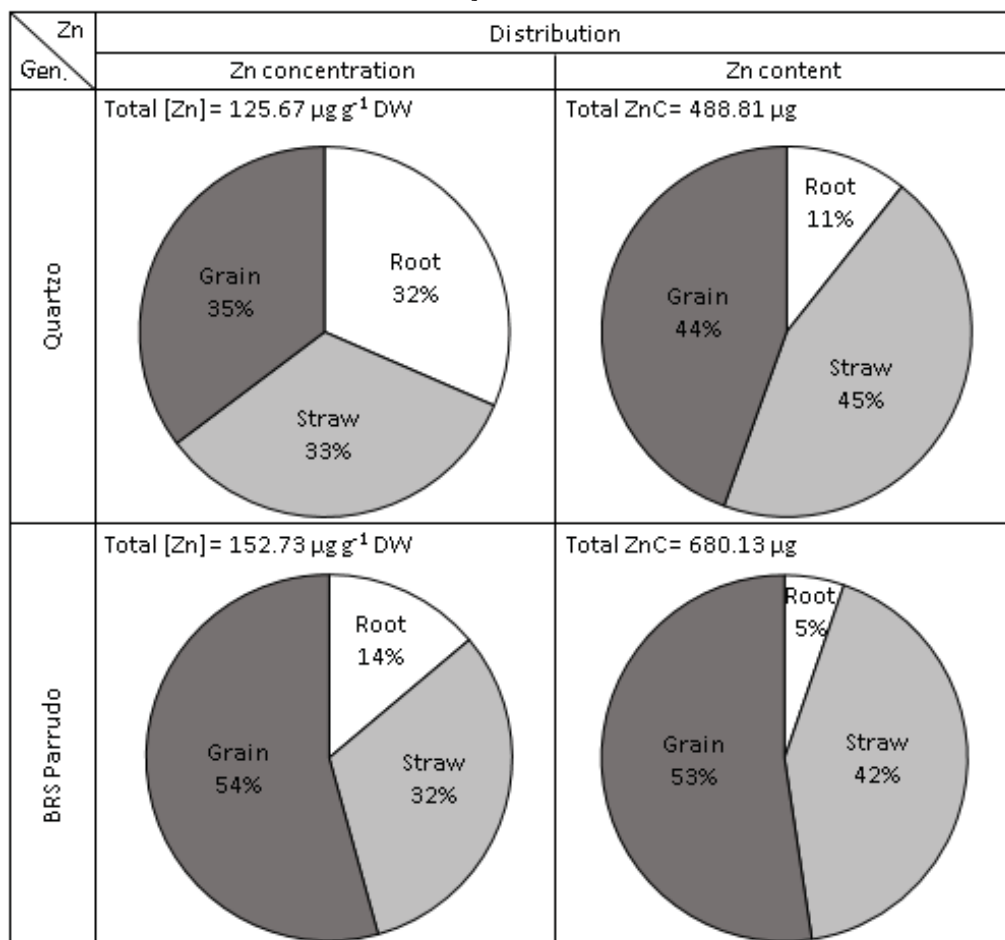
O alto suprimento de Zn e N aumentou a concentração de Zn nos tecidos vegetais. A Root [Zn] foi mais influenciada pelo suprimento de Zn, enquanto a Straw

[Zn] e Grain [Zn] foram influenciados pelo suprimento de ambos os nutrientes Zn e N (Tabela 13 e 15). Aumentos observados na Root [Zn], Straw [Zn] e Grain [Zn] foram de até 45 %, 58 % e 90 % para o genótipo Quartzo e de 47 %, 57 % e 63 % para genótipo BRS Parrudo, respectivamente (Figura 9). Em adição, os maiores aumentos obtidos na Straw [Zn] e Grain [Zn] foram alcançados com aplicação de High-Zn e High-N (Tabela 15 e Figura 9). Sugerindo que oferecimento de High-N para as plantas de trigo melhorou tanto absorção quanto o transporte de Zn da raiz para parte aérea da planta. Em boa concordância com esta sugestão, evidências de Erenoglu et al. (2011), Kutman et al. (2011; 2012) e Barunawati et al. (2013) indicaram que o suprimento de N melhorou significativamente a absorção de Zn pela raiz e mais evidentemente o transporte de Zn da raiz para parte aérea da planta. Provavelmente devido o maior *status* de N na planta ter aumentado a abundância de transportadores de Zn, tais como: ZIP1, ZIP2, ZIP9, IRT1 e IRT3 que estão associados a captação e transporte do Zn para dentro das células das raízes (Grotz et al. 1998; Guerinot 2000; Ishimaru et al., 2005; Palmer & Guerinot, 2009; Pedas et al., 2009). Assim como, melhorado os processos de carregamento, descarregamento e transporte de Zn no xilema, uma vez que proteínas da família HMA e YSL têm sido indiciados na carga e descarga de Zn no xilema, respectivamente; bem como compostos nitrogenados, que atuam como quelantes metálicos e formam compostos estáveis permitindo transporte do Zn da raiz para parte aérea da planta (Curie et al., 2009; Palmer & Guerinot, 2009). Os principais compostos formados são: Zn-asparaginas, Zn-histidina, Zn-ácidos orgânicos e Zn-nicotianamina, sendo o compostos Zn-nicotianamina o mais comum (Gupta et al. 2016).

Existiu uma magnitude de resposta semelhantes entre os genótipos Quartzo e BRS Parrudo sob suprimento de Zn e N (Figura 9). Todavia o genótipo BRS Parrudo apresentou maior Straw [Zn] e Grain [Zn] do que o genótipo Quartzo (Tabela 15). Indicando que o genótipo BRS Parrudo apresenta melhor transporte de Zn da raiz para parte aérea da planta, direcionando 86 % para parte aérea do total de Zn que foi concentrado na planta ($152.73 \text{ ug g}^{-1} \text{ DW}$) e deste total 54 % mobilizado para o grão, enquanto o genótipo Quartzo direcionou 70 % para parte aérea do total de Zn presente na planta ($125.67 \text{ ug g}^{-1} \text{ DW}$) e deste total apenas 35 % do Zn foi mobilizado para o grão (Tabela 15 e Figura 10). Nesse contexto, embora tenha existido diferença para Grain yield e Grain [Zn] entre os tratamentos de

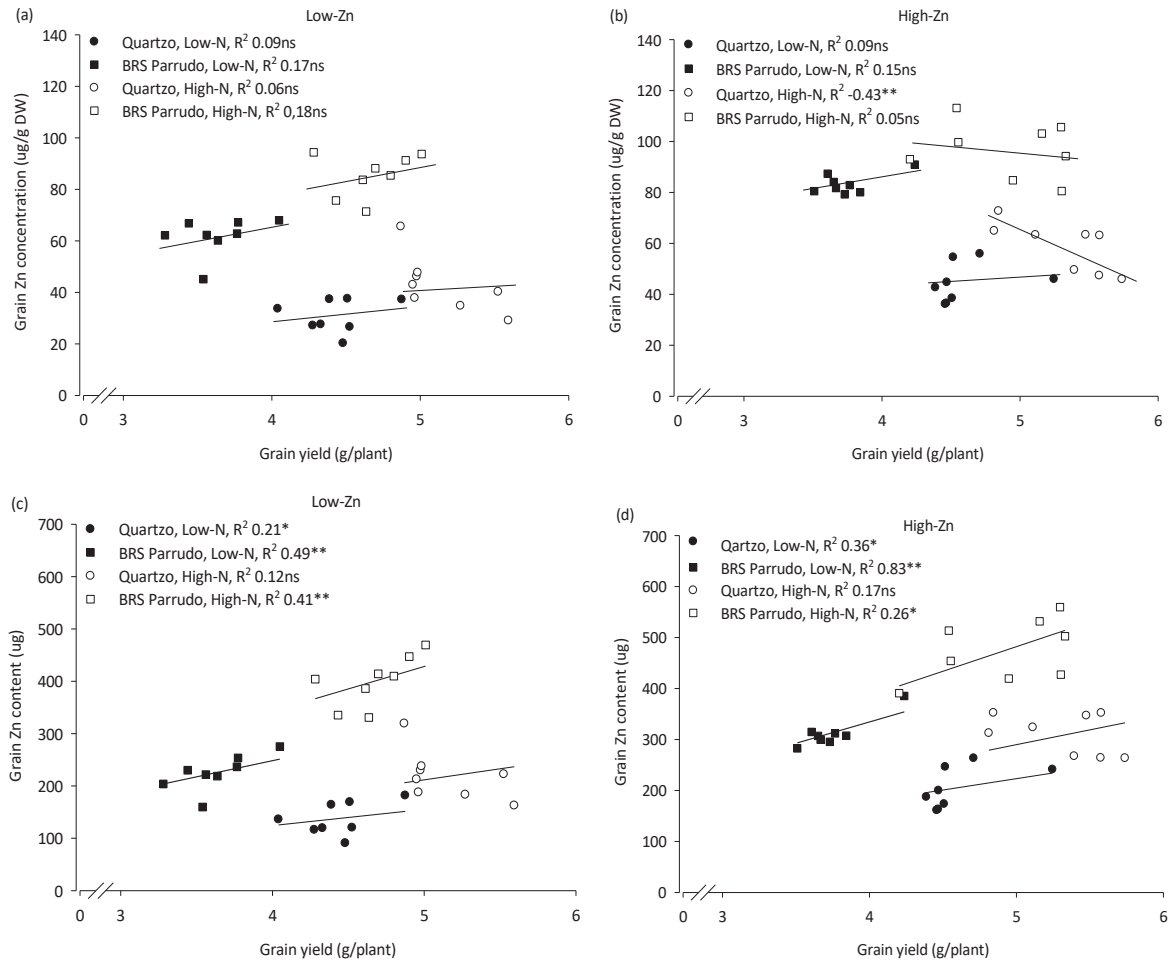
nutrientes e os genótipos (Tabela 14 e 15), não existiu correlação entre essas variáveis respostas, exceto para o genótipo Quartzo no tratamento com High-Zn e High-N ($r^2 = 0.43^*$), onde observou com aumento do rendimento de grãos uma diminuição da concentração de Zn no grão (Figura 11(a) e 11(b)). Sugerindo não ser uma regra geral a ocorrência de diluição de nutrientes em genótipos com alta produtividade de grãos, como foi bem discutido por White et al. (2009) estudando a relação entre produtividade e concentração mineral em tubérculos de batata. White et al. (2009) acrescentaram ainda que a redução nas concentrações minerais na parte comestível da cultura pode ser resolvida através da correta aplicação de fertilizantes minerais, e conseqüentemente pode ser possível obter genótipos mais nutritivos sem comprometer o rendimento. Condizendo com resultados obtidos neste estudo, onde alto suprimento de N associado adequado suprimento de Zn promoveu aumento do rendimento e concentração de Zn no grão de trigo ao mesmo tempo.

FIGURA 10 – DISTRIBUIÇÃO DA CONCENTRAÇÃO E CONTEÚDO DE Zn NOS TECIDOS VEGETAIS DE DOIS GENÓTIPOS DE TRIGO DE INVERNO (QUARTZO E BRS PARRUDO) CRESCIDOS ATÉ MATURIDADE SOB CONDIÇÕES DE AMBIENTE CONTROLADO.



FONTE: O autor (2017).

FIGURA 11 – RELAÇÃO ENTRE GRAIN YIELD E GRAIN Zn CONCENTRATION E GRAIN YIELD E GRAIN Zn CONTENT DE DOIS GENÓTIPOS DE TRIGO DE INVERNO (QUARTZO E BRS PARRUDO) CRESCIDOS SOB SUPLEMENTAÇÃO DE ZN (LOW-ZN: 0.15 μM OU HIGH-ZN: 2.25 μM) E N (LOW-N: 0.4 MM OU HIGH-N: 4.0 MM). * E ** INDICAM VALORES SIGNIFICATIVOS AO NÍVEL DE 1 E 5% DE PROBABILIDADE, RESPECTIVAMENTE.



FONTE: O autor (2017).

O suprimento de Zn e N melhorou o conteúdo de Zn nos órgãos da planta. Foram observados aumentos no Root ZnC, Straw ZnC e Grain ZnC de até 57 %, 74 % e 126 % para o genótipo Quartzo e de 56 %, 89 % e 130 % para o genótipo BRS Parrudo respectivamente (Figura 9). Em adição, o Grain ZnC mais que dobrou quando o oferecimento de Zn e N foram de baixo para alto em ambos os genótipos (Tabela 15 e Figura 9). Estando em perfeita harmonia com resultados obtidos por Kutman et al. (2010), que aumentando o suprimento de N incrementou o conteúdo de Zn no grão quando a oferta de Zn não foi limitada. O aumento do conteúdo de Zn na raiz, parte aérea e grão pela adição de N (Tabela 15 e Figura 9) foram muito maiores do que os respectivos aumentos na matéria seca pela adição N (Tabela 14 e Figura 9). Assumindo que o maior conteúdo de Zn na planta foi devido

principalmente a contínua absorção e translocação de Zn da raiz para parte aérea da planta, devido a maior demanda nutricional da planta em função do ganho de biomassa. Sugerindo, que a absorção de Zn por unidade de biomassa produzida poderá ser maior quanto maior for a relação parte aérea / raiz (Tabela 14 e 15) e que absorção e translocação do Zn é mantida e aumentada pela alta oferta de N. Concordando com essa sugestão a Grain yield correlacionou positivamente com o Grain ZnC e uma única relação explicou a variação entre os suprimentos de Zn e N para ambos genótipos Quartzo e BRS Parrudo (Figura 11(c) e 11(d)). Acrescenta que as correlações entre Grain yield e Grain ZnC foram maiores com a suplementação Low-N do que High-N, porém a suplementação com High-N promoveu maior acúmulo de Zn nos grãos, o que reforça o positivo efeito do N no metabolismo do Zn dentro da planta. Isso pode ser explicado devido a remobilização do Zn ocorrer principalmente via floema como complexos metálicos, formados a partir de compostos nitrogenados (Gupta et al. 2016). Esse processo pode ser melhorado com aumento da abundância de nicotianamina que é precursora da síntese de fitosideróforos envolvidos na quelação de Zn no floema (Suzuki et al., 2008; Curie et al., 2009; Trampczynska et al., 2010), e aumento da atividade da proteína YSL responsável pelo carregamento e descarregamento do Zn-nicotianamina no floema (Waters et al., 2006; Curie et al., 2009). Assim, o fato de que proteínas transportadoras e compostos nitrogenados participam desde a absorção até a remobilização do Zn na planta, permite afirmar que o *status* nutricional de N na planta é fundamental para homeostase do Zn.

Quanto a partição do conteúdo de Zn na planta, o genótipo BRS Parrudo acumulou 97 % do Zn na parte aérea do total de conteúdo de Zn encontrado na planta ($680.13 \text{ ug plant}^{-1}$), sendo que deste total 54 % estava presente no grão, diferente do obtido pelo genótipo Quartzo, o qual acumulou 90 % de Zn na parte aérea do total de Zn encontrado na planta ($488.81 \text{ ug plant}^{-1}$) e deste total apenas 45 % estava presente no grão (Figura 10). Destaca ainda, que a diferença encontrada entre os genótipos Quartzo e BRS Parrudo quanto concentração e conteúdo de Zn no grão, com superioridade observada para o genótipo BRS parrudo (Tabela 15 e Figura 10), poderia estar associado a presença do gene *NAM-B1*, localizado no locus *Gpc-B1* do cromossomo 6B (Uauy et al. 2006). Uma vez que este gene está envolvido na remobilização do N e Zn e contribui para maior partição desses dois nutrientes para o grão (Waters et al., 2009). Assim, o genótipo BRS Parrudo pode ter

em sua constituição genética a presença deste gene, atribuindo a ele maior eficiência na remobilização e partição do Zn na planta em relação ao genótipo Quartzo. Justificando o grande contraste entre estes genótipos para concentração e conteúdo de Zn nos tecidos vegetais. Sendo verdade, a introdução bem-sucedida deste gene no genoma de espécies como trigo com alto rendimento de grãos poderia resultar em materiais genéticos de maior efetividade na partição de minerais para partes comestíveis e mais produtivos ao mesmo tempo. O que seria um avanço para biofortificação nutricional. Entretanto para melhores esclarecimento, estudos de expressão gênica faz-se necessário.

4.7 CONCLUSÕES

O suprimento de N associado ao bom *status* de Zn na planta promoveu melhoras na absorção, translocação e acumulação do Zn dentro da planta. Permitindo concluir que os genótipos de trigo de inverno responderam positivamente a suplementação de N e que administração do estado nutricional de N é uma rota promissora para biofortificação de micronutrientes em grãos de cereais. Embora os resultados deste estudo advenham de experimento conduzido em ambiente controlado, existe estudos a campo que comprovam o mesmo efeito sinérgico do N no metabolismo do Zn em cereais, o que reforça a hipótese para obter biofortificação com Zn mais eficiente é necessário realizar adubação com ambos nutrientes N e Zn. Os genótipos tiveram grande contraste na partição de carbono e Zn entre os órgãos da planta, logo, unindo genes que expressam o maior rendimento de grãos do genótipo Quartzo com genes envolvidos com a maior e melhor partição de Zn do genótipo BRS Parrudo poderia resultar em materiais genéticos de maior rendimento e eficiência de uso do Zn ao mesmo tempo, o que seria um avanço para biofortificação nutricional.

4.8 REFERÊNCIAS

BARUNAWATI, N.; GIEHL, R. F.; BAUER, B.; VON WIRÉN, N. The influence of inorganic nitrogen fertilizer forms on micronutrient retranslocation and accumulation in grains of winter wheat. **Frontiers in Plant Science**, v. 16, p. 4-320, 2013.

BOUIS, H. E. Micronutrient fortification of plants through plant breeding: Can it improve nutrition in man at low cost?. **Proceedings of The Nutrition Society**, v. 62, p. 403-411, 2003.

BLACK, R. E.; ALLEN, L. H.; BHUTTA, Z. A.; CAULFIELD, L. E.; ONNIS, M.; EZZATI, M.; MATHERS, C.; RIVERA, J. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. **The Lancet**, v. 371, p. 243-260, 2008.

CAKMAK, I.; ENGELS, C. Role of mineral nutrients in photosynthesis and yield formation. In: Rengel Z (ed) Crop nutrition. New York, **The Haworth Press**, p. 141-168, 1999.

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

CAKMAK, I.; PFEIFFER, W. H.; MCCLAFFERTY, B. Biofortification of durum wheat with zinc and iron. **Cereal Chemistry**, v. 87, p. 10-20, 2010.

CURIE, C.; CASSIN, G.; COUCH, D.; DIVOL, F.; HIGUCHI, K.; JEAN, M. L.; MISSON, J.; SCHIKORA, A.; CZERNIC, P.; MARI, S. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe like transporters. **Annals of Botany**, v. 103, p. 1-11, 2009.

DAVIDSSON, L. Approaches to improve iron bioavailability from complementary Foods. **Journal of Nutrition**, v. 133, DOI: 1560S-1562S, 2003.

ERDAL, I.; YILMAZ, A.; TABAN, S.; EKER, S.; CAKMAK, I. Phytic acid and phosphorus concentrations in seeds of wheat cultivars grown with and without zinc fertilization. **Journal of Plant Nutrition**, v. 25, p. 113-127, 2002.

ERENOGLU, E. B.; KUTMAN, U. B.; CEYLAN, Y.; YILDIZ, B.; CAKMAK, I. Improved nitrogen nutrition enhances root uptake, root-to-shoot translocation and remobilization of zinc (65Zn) in wheat. **New Phytologist**, v. 189, p. 438-448, 2011.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants. **Advances Agronomy**, v. 88, p. 97-185, 2005.

FAN, M. S.; ZHAO, F. J.; FAIRWEATHER-TAIT, S. J.; POULTON, P. R.; DUNHAM, S. J.; MCGRATH, S. P. Evidence of decreasing mineral density in wheat grain over the last 160 years. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 22, p. 315-324, 2008.

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

GIBSON, R. S.; HESS, S. Y.; HOTZ, C.; BROWN, K. H. Indicators of zinc status at the population level: a review of the evidence. **British Journal of Nutrition**, v. 99, p. 14-23, 2008.

GIBSON, R. S. Zinc: the missing link in combating micronutrient malnutrition in developing countries. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 65, p. 51-60, 2006.

GUPTA, N.; RAM, H.; KUMAR, B. Mechanism of Zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. **Reviews in Environmental Science and Bio/technology**, v. 15, v. 89, 2016.

GROTZ, N.; FOX, T.; CONNOLLY, E.; PARK, W.; GUERINOT, M. L.; EIDE, D. Identification of a family of zinc transporter genes from Arabidopsis that respond to zinc deficiency. **PNAS USA**, v. 95, p. 7220–7224, 1998.

GUERINOT, M. L. The ZIP family of metal transporters. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)**, v. 465, p. 190-198, 2000.

HAMBIDGE, M. Human zinc deficiency. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1344s–1349s, 2000.

HOTZ, C.; BROWN, K. H. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. **Food Nutrition Bulletin**, v. 25, p. 94-204, 2004.

HURRELL, R. F. Fortification: overcoming technical and practical barriers. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 806S-812S, 2002.

ISHIMARU, Y.; SUZUKI, M.; KOBAYASHI, T.; TAKAHASHI, M.; NAKANISHI, H.; MORI, S.; NISHIZAWA, N. K. Os ZIP4, a novel zinc-regulated zinc transporter in rice. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, p. 3207–3214, 2005.

KUTMAN, U. B.; KUTMAN, B. Y.; CEYLAN, Y.; CAKMAK, I. Contributions of root uptake and remobilization to grain zinc accumulation in wheat depending on post-anthesis zinc availability and nitrogen nutrition. **Plant and Soil**, v. 361, p. 177-187, 2012.

KUTMAN, U. B.; YILDIZ, B.; CAKMAK, I. Effect of nitrogen on uptake, remobilization and partitioning of zinc and iron throughout the development of durum wheat. **Plant and Soil**, v. 342, p. 149-164, 2011.

KUTMAN, U. B.; YILDIZ, B.; OZTURK, L.; CAKMAK, I. Biofortification of durum wheat with zinc through soil and foliar applications of nitrogen. **Cereal Chemistry**, v. 87, p. 1-9, 2010.

MARSCHNER, H. Zinc uptake from soils. In: ROBSON, A. D. (ed) **Zinc in soils and plants**. Kluwer, Dordrecht, p. 59-77, 1993.

MICHAELSEN, K. F.; FRIIS, H. Complementary feeding: a global perspective. **Journal of Nutrition**, v. 14, p. 763-766, 1998.

NEWELL-MCGLOUGHLIN, M. Nutritionally improved agricultural crops. **Plant Physiology**, v. 147, p. 939-953, 2008.

PALMER, C. M.; GUERINOT, M. L. Facing the challenges of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. **Nature Chemical Biology**, v. 5, p. 333-340, 2009.

PEDAS, P.; SCHJOERRING, J. K.; HUSTED, S. Identification and characterization of zinc-starvation-induced ZIP transporters from barley roots. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 377-383, 2009.

PFEIFFE, W. H.; MCCLAFFERTY, B. Biofortification: breeding micronutrient dense crops. In: KANG, M. S.; PRIYADARSHAN, P. M. (eds). **Breeding major food staples**. New York: Black well Science, p. 61-61, 2007.

PRASAD, A. S. Zinc: mechanisms of host defense. **The Journal of Nutrition**, v. 137, p. 1345-1349, 2007.

SUZUKI, M.; TSUKAMATO, T.; INOUE, H.; WATANABE, S.; MATSUHASHI, S.; TAKAHASHI, M.; NAKANISHI, H.; MORI, S.; NISHIZAWA, N. K. Deoxymugineic acid increases Zn translocation in Zn-deficient rice plants. **Plant Molecular Biology**, v. 66, p. 609-617, 2008.

SHI, R. L.; ZHANG, Y. Q.; CHEN, X. P.; SUN, Q. P.; ZHANG, F. S.; RÖMHELD, V. Influence of long-term nitrogen fertilization on micronutrient density in grain of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). **Journal of Cereal Science**, v. 51, p. 165-170, 2010.

TRAMPCZYNSKA, A.; KUPPER, H.; MEYER-KLAUCKE, M.; SCHMIDT, H.; CLEMENS, S. Nicotianamine forms complexes with Zn (II) in vivo. **Metallomics**, v. 2, p. 57-66, 2010.

TUCKER, G. Nutritional enhancement of plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v.14, p. 221-225, 2003.

UAUY, C.; DISTELFELD, A.; FAHIMA, T.; BLECHL, A.; DUBCOVSKY, J. A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. **Science**, v. 314, p. 1298–1301, 2006.

WATERS, B. M.; CHU, H. H.; DIDONATO, R. J.; ROBERTS, L. A.; EISLEY, R. B.; LAHNER, B.; SALT, D. E.; WALKER, E. L. Mutations in Arabidopsis yellow stripe-like1 and yellow stripe-like3 reveal their roles in metal ion homeostasis and loading of metal ions in seeds. **Plant Physiology**, v. 141, p. 1446–1458, 2006.

WATERS, B. M.; UAUY, C.; DUBCOVSKY, J.; GRUSAK, M. A. Wheat (*Triticum aestivum*) NAM proteins regulate the translocation of iron, zinc, and nitrogen compounds from vegetative tissues to grain. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 4263–4274, 2009.

WELCH, R. M. Biotechnology, biofortification, and global health. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 26, p. 419-421, 2005.

WELCH, R. M.; GRAHAM, R. D. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 353-364, 2004.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets – iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. **New Phytologist**, v. 182, p. 49-84, 2009.

WHITE, P. J.; BRADSHAW, J. E.; DALE, M. F. B.; RAMSAY, G.; HAMMOND, J. P.; BROADLEY, M. R. Relationships between yield and mineral concentrations in potato tubers. **HortScience**, v. 44, p. 6-11, 2009.

WHITE, P.J.; BROADLEY, M. R. Biofortifying crops with essential mineral elements. **Trends in Plant Science**, v. 10, p. 586–593, 2005.

XUE, Y. F.; YUE, S. C.; ZHANG, Y. Q.; CUI, Z. L.; CHEN, X. P.; YANG, F. C. Grain and shoot zinc accumulation in winter wheat affected by nitrogen management. **Plant and Soil**, v. 361, p. 153-163, 2012.

ZADOKS, J. C.; CHANG, T. T.; KONZAK, C. F. A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research**, v. 14, p. 415-421, 1974.

ZHANG, Y. Q.; SUN, Y. X.; YE, Y. L.; KARIM, M. R.; XUE, Y. F.; YAN, P.; MENG, Q. F.; CUI, Z. L.; CAKMAK, I.; ZHANG, F. S.; ZOU, C. Q. Zinc biofortification of wheat through fertilizer applications in different locations of China. **Field Crops Research**, v. 125, p. 1-7, 2012.

ZOU, C. Q.; ZHANG, Y. Q.; RASHID, A.; RAM, H.; SAVASLI, E.; ARISOY, R. Z.; ORTIZ-MONASTERIO, I.; SIMUNJI, S.; WANG, Z. H.; SOHU, V.; HASSAN, M.; KAYA, Y.; ONDER, O.; LUNGU, O.; MUJAHID, Y. M.; JOSHI, A. K.; ZELENSKIY, Y.; ZHANG, F. S.; CAKMAK, I. Biofortification of wheat with zinc through zinc fertilization in seven countries. **Plant and Soil**, v. 361, p. 119-130, 2012.

5 CONCLUSÃO GERAL

Diversidade genética foi encontrada entre os genótipos de trigo para produtividade e concentração de nutrientes no grão, bem como responderam distintamente para aplicações de micronutrientes. A exploração de recursos genéticos tanto para produtividade quanto para a concentração de micronutrientes em partes comestíveis das culturas pode possibilitar a criação de materiais genéticos mais produtivos e naturalmente ricos em nutrientes. A eficiência agrônômica de uso de Zn (α) pode ser usada para identificar genótipos de trigo com potencial de biofortificação. Os genótipos classificados como eficientes e responsivos (ER): CD 154, IPR 11, IPR 118 e BRS Parrudo podem ser considerados para futuros estudos de biofortificação. Para aplicação de Zn, a ordem de concentração de Zn no grão foi $Zn-S+F \geq Zn-F > Zn-S > Fe-F = \text{controle}$, portanto sendo as aplicações Zn-S+F e Zn-F as melhores quando o objetivo é aumentar as concentrações de Zn no grão. A aplicação de Zn, também aumentou a concentração de N e Fe. A aplicação de N associado ao bom *status* de Zn na planta promoveu melhoras na absorção, translocação e acumulação do Zn dentro das plantas trigo. Permitindo concluir que os genótipos de trigo responderam positivamente a adubação de N e que administração do estado nutricional de N é uma rota promissora para biofortificação de micronutrientes em grãos de cereais. Contudo, é possível selecionar e melhorar genótipos para alta capacidade de concentrar Zn, N e Fe sem reduzir o níveis de produtividade, bem como utilizar manejos, tais como: adubação com Zn e N para potencializar o efeito da biofortificação das culturas comestíveis em geral, em especial os cereais.

6 REFERÊNCIAS

BARUNAWATI, N.; GIEHL, R. F.; BAUER, B.; VON WIRÉN, N. The influence of inorganic nitrogen fertilizer forms on micronutrient retranslocation and accumulation in grains of winter wheat. **Frontiers in Plant Science**, v. 16, p. 4-320, 2013.

BOUIS, H. E. Micronutrient fortification of plants through plant breeding: Can it improve nutrition in man at low cost?. **Proceedings of The Nutrition Society**, v. 62, p. 403-411, 2003.

BLACK, R. E.; ALLEN, L. H.; BHUTTA, Z. A.; CAULFIELD, L. E.; ONNIS, M.; EZZATI, M.; MATHERS, C.; RIVERA, J. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. **The Lancet**, v. 371, p. 243-260, 2008.

BROADLEY, M. R.; WHITE, P. J.; HAMMOND, J. P.; ZELKO, I.; LUX, A. Zinc in plants. **New Phytologist**, v. 173, p. 667–702, 2007.

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

CAKMAK, I. Enrichment of fertilizers with zinc: an excellent investment for humanity and crop production in India. **Journal of Trace Elements in Medicine Biology**, v. 23, p. 281-289, 2009.

CAKMAK, I.; ENGELS, C. Role of mineral nutrients in photosynthesis and yield formation. In: Rengel Z (ed) Crop nutrition. New York, **The Haworth Press**, p. 141-168, 1999.

CAKMAK, I.; KALAYCI, M.; KAYA, Y.; TORUN, A. A.; AYDIN, N.; WANG, Y.; ARISOY, Z.; ERDEM, H.; YAZICI, A.; GOKMEN, O.; OZTURK, L.; HORST, W. J. Biofortification and Localization of Zinc in Wheat Grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 9092-9102, 2010.

CAKMAK, I.; KUTMAN, U. B. Agronomic biofortification of cereals with zinc: a review. **European Journal of Soil Science**. DOI: 10.1111/ejss.12437, 2017.

CAKMAK, I.; MARSCHNER, H.; BANGERTH, F. Effect of zinc nutritional status on growth, protein metabolism and levels of indole-3-acetic acid and other phytohormones in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Experimental Botany**, v.40, p. 405-412, 1989.

CAKMAK, I.; MCLAUGHLIN, M. J.; WHITE, P. Zinc for better crop production and human health. **Plant Soil**, v. 411, p. 1-4, 2017.

CAKMAK, I.; PFEIFFER, W. H.; MCCLAFFERTY, B. Biofortification of durum wheat with zinc and iron. **Cereal Chemistry**, v. 87, p. 10-20, 2010.

CHU, J.; YAO, X.; YUE, Z.; LI, J.; ZHAO, J. The effects of selenium on physiological traits, grain selenium content and yield of winter wheat at different development stages. **Biological Trace Element Research**, v. 151, p. 434–440, 2013.

COSTA, J. M.; OLIVEIRA, E. F. **Fertilidade do solo e nutrição de plantas**. Cascavel: Coamo/Coodetec, p. 93, 2001.

CURIE, C.; CASSIN, G.; COUCH, D.; DIVOL, F.; HIGUCHI, K.; JEAN, M. L.; MISSON, J.; SCHIKORA, A.; CZERNIC, P.; MARI, S. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe like transporters. **Annals of Botany**, v. 103, p. 1-11, 2009.

DAVIDSSON, L. Approaches to improve iron bioavailability from complementary Foods. **Journal of Nutrition**, v. 133, DOI: 1560S-1562S, 2003.

DEMMENT, W. M.; YOUNG, M. M.; SENSENIG, R. L. Providing micronutrients through food-based solutions: a key to human and national development. **The Journal of Nutrition**, v. 133, p. 3879-3885, 2003.

ELMADFA, I. **The European nutrition and health report**. Forum of Nutrition, 400 Vienna, p. 412, 2009.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, p. 627, 2009.

ERDAL, I.; YILMAZ, A.; TABAN, S.; EKER, S.; CAKMAK, I. Phytic acid and phosphorus concentrations in seeds of wheat cultivars grown with and without zinc fertilization. **Journal of Plant Nutrition**, v. 25, p. 113-127, 2002.

ERENOGLU, E. B.; KUTMAN, U. B.; CEYLAN, Y.; YILDIZ, B.; CAKMAK, I. Improved nitrogen nutrition enhances root uptake, root-to-shoot translocation and remobilization of zinc (65Zn) in wheat. **New Phytologist**, v. 189, p. 438-448, 2011.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants. **Advances Agronomy**, v. 88, p. 97-185, 2005.

FAN, M. S.; ZHAO, F. J.; FAIRWEATHER-TAIT, S. J.; POULTON, P. R.; DUNHAM, S. J.; MCGRATH, S. P. Evidence of decreasing mineral density in wheat grain over the last 160 years. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 22, p. 315-324, 2008.

FAO, IFAD, WFP. **The State of Food Insecurity in the World 2015**. Meeting the 2015 international hunger targets: Taking stock of uneven progress. Rome, FAO, 2015

FAO - Food balance sheets. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/FBS>>. Acesso em: 24 outubro 2017.

GAO, X.; LUKOW, O. M.; GRANT, C. A. Grain concentrations of protein, iron and zinc and bread making quality in spring wheat as affected by seeding date and nitrogen fertilizer management. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 121, p. 36-44, 2012.

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

GIBSON, R. S. Zinc: the missing link in combating micronutrient malnutrition in developing countries. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 65, p. 51-60, 2006.

GIBSON, R. S.; HESS, S. Y.; HOTZ, C.; BROWN, K. H. Indicators of zinc status at the population level: a review of the evidence. **British Journal of Nutrition**, v. 99, p. 14-23, 2008.

GRAHAM, R.; SENADHIRA, D.; BEEBE, S.; IGLESIAS, C.; MONASTERIO, I. Breeding for micronutrient density in edible portions of staple food crops: conventional approaches. **Field Crops Research**, v. 60, p. 57-80, 1999.

GUPTA, N.; RAM, H.; KUMAR, B. Mechanism of Zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. **Reviews in Environmental Science and Bio/technology**, v. 15, v. 89, 2016.

GROTZ, N.; FOX, T.; CONNOLLY, E.; PARK, W.; GUERINOT, M. L.; EIDE, D. Identification of a family of zinc transporter genes from Arabidopsis that respond to zinc deficiency. **PNAS USA**, v. 95, p. 7220–7224, 1998.

GRUPTA, U. C. Iron statues of crops in Prince-Edward-Island and effect of soil-pH on plant iron concentration. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 71, p. 197-202, 1991.

GUERINOT, M. L. The ZIP family of metal transporters. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)**, v. 465, p. 190-198, 2000.

HAMBIDGE, M. Human zinc deficiency. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1344s–1349s, 2000.

HOTZ, C.; BROWN, K. H. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. **Food Nutrition Bulletin**, v. 25, p. 94-204, 2004.

HURRELL, R. F. Fortification: overcoming technical and practical barriers. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 806S-812S, 2002.

ISHIMARU, Y.; SUZUKI, M.; KOBAYASHI, T.; TAKAHASHI, M.; NAKANISHI, H.; MORI, S.; NISHIZAWA, N. K. Os ZIP4, a novel zinc-regulated zinc transporter in rice. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, p. 3207–3214, 2005.

JEONG, J.; GUERINOT, M. L. Biofortified and bioavailable: the gold standard for plant-based diets. **PNAS**, v. 6, p. 1777-1778, 2008.

KUMSSA, D. B.; JOY, E. J. M.; ANDER, E. L.; WATTS, M. J.; YOUNG, S. D.; WALKER, S.; BROADLEY, M. R. Dietary calcium and zinc deficiency risks are decreasing but remain prevalent. **Scientific Reports**, DOI: 10.1038/srep10974, 2015.

KUTMAN, U. B.; KUTMAN, B. Y.; CEYLAN, Y.; CAKMAK, I. Contributions of root uptake and remobilization to grain zinc accumulation in wheat depending on post-anthesis zinc availability and nitrogen nutrition. **Plant and Soil**, v. 361, p. 177-187, 2012.

KUTMAN, U. B.; YILDIZ, B.; CAKMAK, I. Effect of nitrogen on uptake, remobilization and partitioning of zinc and iron throughout the development of durum wheat. **Plant and Soil**, v. 342, p. 149-164, 2011.

KUTMAN, U. B.; YILDIZ, B.; OZTURK, L.; CAKMAK, I. Biofortification of durum wheat with zinc through soil and foliar applications of nitrogen. **Cereal Chemistry**, v. 87, p. 1-9, 2010.

LIU, H.; WANG, Z. H.; LI, F.; LI, K.; YANG, N.; YANG, Y.; HUANG, D.; LIANG, D.; ZHAO, H.; MAO, H.; LIU, J.; QIU, H. Grain iron and zinc concentrations of wheat and their relationships to yield in major wheat production areas in China. **Field Crops Research**, 156, p. 151-160, 2014.

MARSCHNER, H. Zinc uptake from soils. In: ROBSON, A. D. (ed) **Zinc in soils and plants**. Kluwer, Dordrecht, p. 59-77, 1993.

MCDONALD, G. K.; GENÇ, Y.; GRAHAM, R. D. A simple method to evaluate genetic variation in grain zinc concentration by correcting for differences in grain yield. **Plant Soil**, v. 306, p. 49-55, 2008.

MICHAELSEN, K. F.; FRIIS, H. Complementary feeding: a global perspective. **Journal of Nutrition**, v. 14, p. 763-766, 1998.

MONASTERIO, R. P.; SINGH, T.; PAYNE, A. Variation for grain micronutrients concentration in wheat core-collection accessions of diverse origin. **Asian Journal Crop Science**, v. 3, p. 43-48, 2011.

MORAES, M. F.; NUTTI, M. R.; WATANABE, E.; CARVALHO, J. L. V. Práticas agronômicas para aumentar o fornecimento de nutrientes e vitaminas nos produtos agrícolas alimentares. In: I SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AGROPECUÁRIA SUSTENTÁVEL, Viçosa, **Agricultura, Pecuária e Cooperativismo**, p. 300-312, 2009.

NEWELL-MCGLOUGHLIN, M. Nutritionally improved agricultural crops. **Plant Physiology**, v. 147, p. 939-953, 2008.

OBATA, H.; KAWAMURA, S.; SENOO, K.; TANAKA, A. Changes in the level of protein and activity of Cu/Zn-superoxide dismutase in zinc deficient rice plant, *Oryza sativa* L. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 45, p. 891-896, 1999.

OLIVEIRA, E. L. **Sugestão de adubação e calagem para culturas de interesse econômico no Estado do Paraná**. Londrina: Iapar, p. 30, 2003. (Circular, nº 128).

ORTIZ-MONASTERIO, N.; PALACIOS-ROJAS, E.; MENG, K.; PIXLEY, R.; TRETOWAN, R. J. Enhancing the mineral and vitamin content of wheat and maize through plant breeding. **Journal Cereal Science**, v. 46, p. 293-307, 2007.

PALMER, C. M.; GUERINOT, M. L. Facing the challenges of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. **Nature Chemical Biology**, v. 5, p. 333-340, 2009.

PEDAS, P.; SCHJOERRING, J. K.; HUSTED, S. Identification and characterization of zinc-starvation-induced ZIP transporters from barley roots. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 377-383, 2009.

PEDRAZA, D. F.; SALES, M. C. Estudos realizados no Brasil sobre a deficiência e a suplementação de zinco: ênfase em crianças. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 17, p. 233-249, 2017.

PFEIFFE, W. H.; MCCLAFFERTY, B. Biofortification: breeding micronutrient dense crops. In: KANG, M. S.; PRIYADARSHAN, P. M. (eds). **Breeding major food staples**. New York: Black well Science, p. 61-61, 2007.

PHATTARAKUL, N.; RERKASEM, B.; LI, L. J.; WU, L. H.; ZOU, C. Q.; RAM, H.; SOHU, V. S.; KANG, B. S.; SUREK, H.; KALAYCI, M.; YAZICI, A.; ZHANG, F. S.; CAKMAK, I. Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries. **Plant and Soil**, v. 361, p. 131-141, 2012.

POURSAREBANI, N.; NUSSBAUMER, T.; SIMKOVA, H.; SAFAR, J.; WITSENBOER, H.; VAN OEVEREN, J.; DOLEZEL, J.; MAYER, K. F.; STEIN, N.; SCHNURBUSCH, T. Whole-genome profiling and shotgun sequencing delivers an anchored, gene-decorated, physical map assembly of bread wheat chromosome 6A. **The Plant Journal**, v. 79, p. 334-347, 2014.

PRASAD, A. S. Zinc: mechanisms of host defense. **The Journal of Nutrition**, n. 137, p. 1345-1349, 2007.

SUZUKI, M.; TSUKAMATO, T.; INOUE, H.; WATANABE, S.; MATSUHASHI, S.; TAKAHASHI, M.; NAKANISHI, H.; MORI, S.; NISHIZAWA, N. K. Deoxymugineic acid increases Zn translocation in Zn-deficient rice plants. **Plant Molecular Biology**, v. 66, p. 609-617, 2008.

SHI, R. L.; ZHANG, Y. Q.; CHEN, X. P.; SUN, Q. P.; ZHANG, F. S.; RÖMHELD, V. Influence of long-term nitrogen fertilization on micronutrient density in grain of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). **Journal of Cereal Science**, v. 51, p. 165-170, 2010.

SOUSA, C. N. A.; CAIERÃO, R. Cultivares de trigo indicadas para cultivo no Brasil e instituições criadoras 1922 a 2014. 2ª ed, **Embrapa Brasília**, DF, p. 202, 2014.

SOUZA, G. A.; HART, J. J.; CARVALHO, J. G.; RUTZKE, M. A.; ALBRECHT, J. C.; GUILHERME, L. R. G.; KOCHIAN, L. V.; LI, L. Genotypic variation of zinc and selenium concentration in grains of Brazilian wheat lines. **Plant Science**, v. 224, p. 27-35, 2014.

TILMAN, D.; CASSMAN, K. G.; MATSON, P. A.; NAYLOR, R.; POLASKY, S. Review article: agricultural sustainability and intensive production practices. **Nature**, v. 418, p. 671-677, 2002.

TRAMPCZYNSKA, A.; KUPPER, H.; MEYER-KLAUCKE, M.; SCHMIDT, H.; CLEMENS, S. Nicotianamine forms complexes with Zn (II) in vivo. **Metallomics**, v. 2, p. 57-66, 2010.

TUCKER, G. Nutritional enhancement of plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v.14, p. 221-225, 2003.

UAUY, C.; DISTELFELD, A.; FAHIMA, T.; BLECHL, A.; DUBCOVSKY, J. A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. **Science**, v. 314, p. 1298–1301, 2006.

WATERS, B. M.; CHU, H. H.; DIDONATO, R. J.; ROBERTS, L. A.; EISLEY, R. B.; LAHNER, B.; SALT, D. E.; WALKER, E. L. Mutations in Arabidopsis yellow stripe-like1 and yellow stripe-like3 reveal their roles in metal ion homeostasis and loading of metal ions in seeds. *Plant Physiology*, v. 141, p. 1446–1458, 2006.

WATERS, B. M.; UAUY, C.; DUBCOVSKY, J.; GRUSAK, M. A. Wheat (*Triticum aestivum*) NAM proteins regulate the translocation of iron, zinc, and nitrogen compounds from vegetative tissues to grain. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 4263–4274, 2009.

WELCH, R. M. Biotechnology, biofortification, and global health. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 26, p. 419-421, 2005.

WELCH, R. M.; GRAHAM, R. D. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 353-364, 2004.

WHITE, P. J. Biofortification of edible crops. In: **eLS. John Wiley & Sons**, Chichester, UK, p. 12, 2016.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets – iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. **New Phytologist**, v. 182, p. 49-84, 2009.

WHITE, P. J.; BRADSHAW, J. E.; DALE, M. F. B.; RAMSAY, G.; HAMMOND, J. P.; BROADLEY, M. R. Relationships between yield and mineral concentrations in potato tubers. **HortScience**, v. 44, p. 6-11, 2009.

WHITE, P.J.; BROADLEY, M. R. Biofortifying crops with essential mineral elements. **Trends in Plant Science**, v. 10, p. 586–593, 2005.

YILMAZ, A.; EKIZ, H.; TORUN, B.; GULTEKIN, I.; KARANLIK, S.; BAGCI, S. A.; CAKMAK, I. Effect of different zinc application methods on grain yield and zinc concentration in wheat cultivars grown on zinc-deficient calcareous soils. **Journal Plant Nutrition**, v. 20, p. 461-471, 1997.

XUE, Y. F.; YUE, S. C.; ZHANG, Y. Q.; CUI, Z. L.; CHEN, X. P.; YANG, F. C. Grain and shoot zinc accumulation in winter wheat affected by nitrogen management. *Plant and Soil*, v. 361, p. 153-163, 2012.

ZADOKS, J. C.; CHANG, T. T.; KONZAK, C. F. A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research**, v. 14, p. 415-421, 1974.

ZHAO, B.; TIAN, X. Y. Y.; LIU, X.; ATA-UL-KARIM, S. T.; NI, J. CAO, W.; ZHU, Y. New Critical Nitrogen Curve Based on Leaf Area Index for Winter Wheat. **Agronomy Journal**, v. 106, p. 379-389, 2014.

ZHANG, Y. Q.; SUN, Y. X.; YE, Y. L.; KARIM, M. R.; XUE, Y. F.; YAN, P.; MENG, Q. F.; CUI, Z. L.; CAKMAK, I.; ZHANG, F. S.; ZOU, C. Q. Zinc biofortification of wheat through fertilizer applications in different locations of China. **Field Crops Research**, v. 125, p. 1-7, 2012.

ZOU, C. Q.; ZHANG, Y. Q.; RASHID, A.; RAM, H.; SAVASLI, E.; ARISOY, R. Z.; ORTIZ-MONASTERIO, I.; SIMUNJI, S.; WANG, Z. H.; SOHU, V.; HASSAN, M.; KAYA, Y.; ONDER, O.; LUNGU, O.; MUJAHID, Y. M.; JOSHI, A. K.; ZELENSKIY, Y.; ZHANG, F. S.; CAKMAK, I. Biofortification of wheat with zinc through zinc fertilization in seven countries. **Plant and Soil**, v. 361, p. 119-130, 2012.