

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JANA DAISY HONORATO BORGÓ

EFICIÊNCIA DE USO DE NITROGÊNIO EM TRIGO PARA PRODUTIVIDADE E
BIOFORTIFICAÇÃO

CURITIBA

2017

JANA DAISY HONORATO BORGÓ

EFICIÊNCIA DE USO DE NITROGÊNIO EM TRIGO PARA PRODUTIVIDADE E
BIOFORTIFICAÇÃO

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 de Moraes

Coorientador: Prof. Dr. Volnei Pauletti

CURITIBA

2017

Borgo, Jana Daisy Honorato

Eficiência de uso de nitrogênio em trigo para produtividade e biofortificação. / Jana Daisy Honorato Borgo. - Curitiba, 2017.

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

Orientador: Milton Ferreira de Moraes.

Coorientador: Volnei Pauletti.

1. Micronutrientes. 2. Trigo - Nutrição. 3. Fertilizantes nitrogenados. 4. Alimentos - Conteúdo de proteína. I. Moraes, Milton Ferreira de. II. Pauletti, Volnei. III. Título. IV. Universidade Federal do Paraná.



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 **Jana Daisy Honorato Borgo** intitulada: "**Eficiência de uso de nitrogênio em trigo para produtividade e biofortificação**", 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, 20 e fevereiro de 2017.


Prof. Dr. Milton Ferreira de Moraes, Presidente


Dr. Adilson de Oliveira Junior, Iº. Examinador


Prof. Dr. Marcos Antonio Dolinski, IIº. Examinador


Prof. Dr. Danilo Eduardo Rozane, IIIº. Examinador


Prof. Dr. Volnei Pauletti, IVº. Examinador

À Ivone e ao Antônio, meus pais, por todo amor e cuidado, carinho e dedicação, orações e força nos momentos difíceis, incentivo e ajuda nas decisões, apoio incondicional em todos os momentos da minha vida e por caminhar e sonhar comigo. Ao Daniel, meu noivo, pelo incentivo, carinho, atenção e ajuda dedicadas a mim. Ao Juan, meu irmão por sua ajuda e compreensão. Aos meus familiares e amigos pela atenção, amizade e por torcerem por mim.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Jesus Cristo, meu Rei, Salvador e amigo, que me conduziu nos mínimos detalhes, porque me concedeu paz e sabedoria durante todo o percurso deste trabalho, que exigiu muita dedicação, renúncia e sobretudo, muita concentração e foco! Aos meus pais, Ivone Honorato Borgo e Antônio Zacarias Borgo, pelo suporte financeiro e afetivo incalculáveis, força e incentivo, sem o qual eu não poderia ter chegado até aqui, de nenhum modo. Ao meu irmão Juan Diego Honorato Borgo simplesmente por ser tão especial em minha vida! Ao meu noivo Daniel Pontoni por todo o apoio, amor e amizade, por suas contribuições e companheirismo em todas as etapas deste trabalho como em viagens para coletas no campo, trabalhos em laboratório, realização de estatísticas, correções e nas definições de metas. A minha família em Curitiba a célula 3 da igreja IPI Maanaim e a todos os amigos em Cristo que ganhei. Ao meu orientador, Prof^o Dr Milton Ferreira de Moraes por sua orientação e amizade, por seu apoio em projetos de pesquisa que financiaram todas as análises, por seu apoio intelectual que conduziram os objetivos e métodos da pesquisa, e por compartilhar seus ensinamentos que muito contribuíram na minha formação profissional e pessoal, bem como na realização deste trabalho. Aos professores do Programa com os quais tive o privilégio de aprender e poder desenvolver todo o andamento deste trabalho, principalmente ao professor Dr Volnei Pauletti, que foi meu co-orientador. Ao Dr Guilherme Chaer e ao Marcelo Fontes pela sua contribuição e orientação quanto as coletas, armazenamento e análises das enzimas do solo rizosférico. Aos estagiários Joice Reis Angelo, Flaviane Taborda e Rubens que ajudaram na árdua rotina de laboratório, mas também me proporcionaram momentos alegres em suas companhias. Aos funcionários dos laboratórios de nutrição de plantas e biogeoquímica, em especial à Maria, Hilbert e Fabiana. Ao Gabriel Barth da Fundação ABC e ao Franco da COODETEC por contribuírem no estabelecimento e condução dos experimentos à campo. À Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de realizar este trabalho e à CAPES, pela concessão da bolsa de estudos. Ao programa de Biofortificação da Embrapa HarvestPlus pelo apoio financeiro parcial à pesquisa e fornecimento de sementes. Ao Cnpq pelo apoio financeiro parcial ao projeto de pesquisa. E a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para sua conclusão, Muito Obrigada!

“Portanto, quem ouve estas minhas palavras e as pratica é como um homem prudente que construiu a sua casa sobre a rocha. Caiu a chuva, transbordaram os rios, sopraram os ventos e deram contra aquela casa, e ela não caiu, porque tinha seus alicerces na rocha. Mas quem ouve estas minhas palavras e não as pratica é como um insensato que construiu a sua casa sobre a areia. Caiu a chuva, transbordaram os rios, sopraram os ventos e deram contra aquela casa, e ela caiu. E foi grande a sua queda”.

Mateus 7:24-27

RESUMO

O presente trabalho objetiva avaliar a aplicação de doses de N na eficiência de uso de N por genótipos de trigo nos componentes agronômicos, de rendimento e qualidade dos grãos, especialmente quanto aos teores de Zn, Fe e proteínas. A metodologia foi dividida em três etapas: (1) casa de vegetação para avaliar a influência da adubação nitrogenada (12, 20, 27, 35, 42, 50, 75 mg dm⁻³ de N) e a variação genotípica de duas cultivares com potencial para biofortificação (Quartzo e BRS Parrudo) no teor de Zn, Fe e proteínas em grãos e componentes agronômicos e rendimento; (2) experimento fatorial 3 x 10 x 2, em campo, sendo três ambientes (Palotina, Cascavel e Ponta Grossa), 10 genótipos de trigo e duas doses de N, em que foram avaliadas a eficiência e responsividade ao uso de N para biofortificação e produtividade em função da interação genótipo x ambiente x dose e; (3) segunda parte do experimento de campo, em que foram avaliados a influência de atividade enzimática do solo e do uso eficiente do N sobre o acúmulo de proteína, Zn e Fe nos grãos das cultivares Quartzo, BRS Parrudo, CD 1440 e CD 150. No primeiro capítulo a cultivar BRS Parrudo apresentou maior potencial para biofortificação, maior afilhamento, conteúdo de clorofila no enchimento de grãos enquanto menor produtividade de grãos, atividade enzimática da nitrato redutase, urease e menor nº de grãos por espiga. O aumento da aplicação de N contribuiu com a diminuição da concentração de proteína, Zn e Fe e com o aumento da produtividade de grãos, afilhos e atividade enzimática. No segundo capítulo o fator ambiental em interação com o genótipo foi significativo em todas as variáveis. A maior concentração de nutrientes ocorreu no ambiente com menor produtividade de grãos, e a aplicação de N influenciou no aumento de proteínas, Zn e Fe nos grãos. As cultivares mais eficientes na menor dose de N e que apresentaram as maiores produtividades de grãos foram a BRS Parrudo e a CD 1440 e são as mais promissoras para a biofortificação em função de seu maior potencial para alocação de nutrientes nos grãos. No terceiro capítulo, as cultivares CD 1440 e BRS Parrudo acumularam mais proteína, Zn e Fe nos grãos, possivelmente, devido à maior atividade enzimática da protease a qual proporcionou maior eficiência de absorção do N (EAN). Assim, as conclusões para casa de vegetação foram que a cultivar BRS Parrudo alocou mais Zn e Fe nos grãos, enquanto a Quartzo maior produtividade de grãos e maior concentração de proteína. Em campo, as maiores concentrações de proteína, Zn e Fe estão relacionadas a interação genótipo x ambiente. No terceiro capítulo, a atividade enzimática da protease e β -glicosidade foram boas indicadoras de uso eficiente de N e cultivares com maior acúmulo de proteínas, Zn e Fe nos grãos. A EUN foi a que melhor apontou o acúmulo de proteína e N e se mostrou melhor metodologia para identificação de cultivares eficientes no uso de N e acúmulo de proteína no grão.

Palavras-chave: Acúmulo de Zinco. Ferro. Micronutrientes. Qualidade de grão. Massa de mil grãos.

ABSTRACT

The present work aims to evaluate the application of N rates on the efficiency of N use by wheat genotypes in agronomic, yield and grain quality components, especially regarding Zn, Fe and protein contents. The methodology was divided into three stages: (1) greenhouse to evaluate the influence of nitrogen fertilization (12, 20, 27, 35, 42, 50, 75 mg dm⁻³ of N) and genotypic variation of two cultivars with potential for biofortification (Quartz and BRS Parrudo) on Zn, Fe content and protein in grains and agronomic components and yield; (2) field factorial experiment 3 x 10 x 2, with three environments (Palotina, Cascavel and Ponta Grossa), 10 wheat genotypes and two N rates, in which the efficiency and responsiveness of N for biofortification were evaluated. and productivity as a function of genotype x environment x dose interaction e; (3) second part of the field experiment, in which the influence of soil enzymatic activity and the efficient use of N on protein, Zn and Fe accumulation in Quartzo, BRS Parrudo, CD 1440 and CD 150 cultivars were evaluated. In the first chapter the cultivar BRS Parrudo presented higher potential for biofortification, greater tillering, chlorophyll content in grain filling while lower grain yield, nitrate reductase enzymatic activity, urease and lower number of grains per ear. The increase of N application contributed to the decrease of protein, Zn and Fe concentration and to the increase of grain yield, tiller and enzymatic activity. In the second chapter the environmental factor in interaction with the genotype was significant in all variables. The highest concentration of nutrients occurred in the environment with lower grain yield, and the application of N influenced the increase of proteins, Zn and Fe in the grains. The most efficient cultivars with the lowest N dose and the highest grain yields were BRS Parrudo and CD 1440 and are the most promising for biofortification due to their higher potential for nutrient allocation in grains. In the third chapter, the cultivars CD 1440 and BRS Parrudo accumulated more protein, Zn and Fe in the grains, possibly due to the higher protease enzymatic activity which provided higher N uptake efficiency (EAN). Thus, the conclusions for the greenhouse were that the cultivar BRS Parrudo allocated more Zn and Fe in the grains, while Quartz had higher grain yield and higher protein concentration. In the field, the highest protein, Zn and Fe concentrations are related to genotype x environment interaction. In the third chapter, the protease enzymatic activity and α -glucosidase were good indicators of efficient use of N and cultivars with higher protein accumulation, Zn and Fe in the grains. The EUN showed the best protein and N accumulation and showed the best methodology for identification of efficient N cultivars and protein accumulation in the grain.

Keywords: Zinc accumulation. Iron. micronutrients. Grain quality. Mass of a thousand grains.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	iv
GENERAL ABSTRACT	v
1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 CAPÍTULO 1: COMPONENTES DE RENDIMENTO vs BIOFORTIFICAÇÃO: ESTUDO SOB APLICAÇÃO DE DOSES DE N EM DUAS CULTIVARES DE TRIGO	3
2.1 RESUMO	3
2.3 INTRODUÇÃO	5
2.4 MATERIAL E MÉTODOS	8
2.4.1 Tratamentos, delineamento e condução experimental	8
2.4.2 Caracterização, instalação e condução do experimento em casa de vegetação	8
2.4.3 Variáveis resposta avaliadas	9
2.4.4 Representação esquemática da concentração de Zn e proteína	10
2.4.5 Eficiência de uso de N para biofortificação	11
2.4.6 Análises estatísticas	11
2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
2.5.1 Produtividade de grãos	13
2.5.2 Concentração de Zn, Fe e proteína nos grãos	14
2.5.2.1 Concentração de Zn, Fe e proteína nos grãos particionados	16
2.5.2.2 Correlação entre proteína, Zn e Fe nos grãos	18
2.5.3 Concentração de Zn, Fe e proteína na folha bandeira	20
2.5.4 Concentração de Zn, Fe e proteína na biomassa aérea	21
2.5.5 Atividade enzimática	23
2.5.6 Teor de clorofila na folha bandeira e abaixo da bandeira	26
2.5.7 Componentes de rendimento	28
2.5.8 Análise de Componentes Principais	34
2.5.9 Eficiência de uso de N	36

2.6 CONCLUSÕES	39
2.7 REFERÊNCIAS.....	39
3 CAPÍTULO II: EFICIÊNCIA DE USO DE NITROGÊNIO PARA BIOFORTIFICAÇÃO EM TRIGO	46
3.1 RESUMO.....	46
3.3 INTRODUÇÃO	50
3.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	53
3.4.1 Caracterização inicial, instalação e condução dos experimentos de campo	53
3.4.2 Tratamentos e delineamento experimental dos experimentos de campo	55
3.4.3 Variáveis resposta dos experimentos de campo	55
3.4.4 Produção da biomassa da parte aérea.....	55
3.4.5 Produtividade, massa de mil grãos, número de grãos por espiga, peso de hectolitro ..	56
3.4.6 Qualidade nutricional dos grãos	56
3.4.7 Eficiência de uso de N para biofortificação	56
3.4.8 Análises estatísticas.....	57
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
3.5.1 Produtividade de grãos.....	58
3.5.2 Concentração de proteína, zinco e ferro no grão	61
3.5.3 Concentração de proteína, Fe e Zn na folha bandeira.....	72
3.5.4 Concentração de proteína e Zn na biomassa aérea	75
3.5.5 Componentes de rendimento	76
3.5.6 Análise de componentes principais.....	79
3.5.7 Eficiência de uso de nitrogênio.....	83
3.6 CONCLUSÕES	86
3.7 REFERÊNCIAS.....	86
4. CAPÍTULO III. INFLUÊNCIA DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DO SOLO RIZOSFÉRICO NO USO EFICIENTE DE N PARA BIFORTIFICAÇÃO	92
4.1 RESUMO.....	92

4.2 ABSTRACT.....	93
4.3 INTRODUÇÃO	94
4.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	96
4.4.1 Instalação dos experimentos de campo.....	96
4.4.2 Caracterização inicial, instalação e condução do experimento de campo	96
4.4.3 Tratamentos e delineamento experimental dos experimentos de campo	97
4.4.4 Concentração de N e acúmulo nutricional dos grãos.....	97
4.4.5 Componentes de eficiência de uso de N	98
4.4.6 Eficiência de uso de N para biofortificação (acúmulo de nitrogênio e proteínas).....	98
4.4.7 Solo rizosférico	99
4.4.8 Atividade enzimática e C da biomassa microbiana	100
4.4.9 Análises estatísticas.....	100
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	101
4.5.1 Acúmulo de proteína, Zn e Fe nos grãos.....	101
4.5.2 Atividade enzimática da β -glicosidase, protease, FDA e carbono da biomassa microbiana	103
4.5.3 Análise de componentes principais	108
4.5.4 Índices de eficiência de uso de N.....	109
4.6 CONCLUSÕES	115
4.7 REFERÊNCIAS.....	115
5. CONCLUSÃO GERAL	121
6. REFERÊNCIAS	122

1 INTRODUÇÃO GERAL

Aproximadamente 2 bilhões de pessoas são afetadas pela deficiência em Zinco (Zn) e se atribui em até 800 mil mortes anuais em função de deficiência em Ferro (Fe) no mundo (Cakmak et al., 2010). Além disso, nos seres humanos as deficiências de Zn e Fe levam ao lento crescimento físico, baixo desenvolvimento mental e baixa capacidade de aprendizado, e a deficiência em Zn ainda destrói o sistema imunológico (Alloway, 2008).

Dessa forma, a biofortificação dos cereais, maiores fontes de minerais e proteínas nos países em desenvolvimento (Cakmak et al., 2008), é a alternativa mais promissora para amenizar os impactos de um melhoramento genético, a décadas, voltado para produtividade de grãos (Cakmak, 2002; Welch et al., 2008), negligenciando as necessidades humanas pela introdução de produtos de menor qualidade nutricional. Portanto, a biofortificação é um processo de aumento natural da concentração de nutrientes biodisponíveis nas partes comestíveis das plantas (Palmgren et al., 2008) que pode ser realizado por meio da biofortificação genética, quando da prospecção de cultivares com potencial a biofortificação ou agrônômica, podendo ser de modo associado a estas cultivares técnicas de adubação, plantio e manejo, como a adubação nitrogenada (Moraes et al., 2012).

No mundo, o trigo encontra-se na segunda posição de consumo (Alloway, 2008) e no Brasil o cenário é de importação de 50% do trigo consumido. O que coloca esta cultura em uma alta demanda por produtividade de grãos. Porém, esta corrida produtiva coloca o trigo em duas direções opostas: aumento de demanda para produção de alimentos (Cakmak, 2002) e a tendência de redução da qualidade nutricional dos grãos de trigo em micronutrientes e proteína, correlacionado com a deficiência dos elementos nos solos, e conseqüentemente em humanos.

O Nitrogênio (N) é o nutriente que responde em pesquisas de biofortificação com Zn, e que comumente limita componentes de rendimento e qualidade nutricional. Uma de suas funções na formação dos grãos está relacionada à concentração de proteínas (Gao et al., 2012; Gauer et al., 1992) e está em sinergismo com Zn e Fe (Kutman et al., 2011b; Aciksoz et al., 2011), com potencial para maximização da biofortificação.

As possíveis explicações para esta correlação entre proteína, Zn e Fe é extensivamente discutida e apontam para: (i) presença de genes de alta acumulação

(Cakmak et al., 2010; Uauy et al., 2006); (ii) sinergismo promovido pelas adubações nitrogenadas com o Zn promovendo maior absorção pelas raízes, aumentando as proteínas transportadoras e acúmulo nos grãos (Kutman et al., 2011a; Kutman et al., 2011b); (iii) menor tamanho de grão (Tiwari et al., 2009; Uauy et al., 2006); (vi) co-localização do Zn e Fe nos corpos de proteína do aleuroma e do embrião (Ozturk et al., 2006; Kutman et al., 2011b); (v) participação do Zn na ativação enzimática para síntese de proteína, particularmente, durante o estágio de grão leitoso no trigo e (vi) estrutura e funções da membrana; expressão de genes e tolerância ao stresse oxidativo (Alloway et al., 2008).

Entretanto, são escassos estudos que contemplem avaliações de desempenho agrônomico relacionando conjuntamente a escolha de cultivares mais eficientes na absorção e acúmulo de proteína, N, Zn e Fe nos grãos e produtividade de grãos, de modo a apontar características que unam potencial para biofortificação e rendimento de grãos. Além disso, não há estudos que apontem as cultivares com maior potencial para biofortificação utilizando-se índices de eficiência de uso de N e componentes agrônomicos destas plantas para o melhoramento genético.

Os resultados deste estudo estão apresentados e discutidos em três capítulos, visando os seguintes objetivos específicos:

1) Avaliar a eficiência da aplicação de N em duas cultivares quanto aos componentes agrônomicos, de rendimento e qualidade dos grãos, especialmente quanto a concentração de proteína, Zn e Fe;

2) a) Identificar cultivares de trigo contrastantes quanto a eficiência de uso de N para biofortificação; b) avaliar a relação e associação entre proteína, Zn e Fe com componentes agrônomicos das cultivares, no intuito de apontar as características voltadas ao potencial de biofortificação; c) propor um novo conceito de eficiência de uso de N, considerando tanto a produtividade quanto a qualidade de grãos pela alocação de proteínas, Zn e Fe nos grãos, os componentes de rendimento e a economia em N;

3) Avaliar a influência da atividade enzimática na absorção e uso eficiente de N para o acúmulo de proteína, Zn e Fe voltados a biofortificação de grãos e avaliar índices de uso eficiente de N que apontem as cultivares mais eficientes à biofortificação.

2 CAPÍTULO 1: COMPONENTES DE RENDIMENTO vs BIOFORTIFICAÇÃO: ESTUDO SOB APLICAÇÃO DE DOSES DE N EM DUAS CULTIVARES DE TRIGO

2.1 RESUMO

O emprego de cultivares de trigo com maior capacidade de alocação de proteínas, Fe e Zn nos grãos é uma alternativa para amenizar as deficiências nutricionais em humanos. Este trabalho objetivou avaliar a aplicação de doses de N em duas cultivares quanto a alocação de proteína, Zn e Fe nos grãos, rendimento de grãos e sua relação com os componentes agronômicos. O arranjo fatorial de 2x7 foi instalado em casa de vegetação, combinando duas cultivares Quartzo e BRS Parrudo com aplicação de 12, 20, 27, 35, 42, 50, 75 mg dm⁻³ de N. Durante o desenvolvimento da cultura foram avaliados a clorofila, a atividade enzimática, a concentração de proteína, Zn e Fe na folha bandeira, componentes agronômicos como altura de plantas, nº de perfilhos/planta e, na maturidade fisiológica, o rendimento de grãos, a concentração de proteína, Fe e Zn nos grãos e na biomassa aérea, o nº grãos/espiga, o nº de espigas/planta, a massa de mil grãos e a biomassa aérea. A cultivar Quartzo apresentou superior potencial produtivo de grãos, nº grãos/espiga, índice de colheita (IC), nº espigas/planta e atividade enzimática, enquanto a BRS Parrudo se destacou pela maior concentração de proteína, Zn, Fe nos grãos, maior afilhamento, produtividade de biomassa e conteúdo de clorofila no momento do enchimento de grãos. O aumento do fornecimento do N contribuiu para a diminuição da concentração de proteína, Zn e Fe nos grãos e com o aumento de produtividade de grãos, afilhos, aumento da atividade enzimática da nitrato redutase (NR) e da urease (UR). O efeito da cultivar é preponderante quanto ao uso eficiente do N na alocação de reserva de proteínas nos grãos ou produtividade de grãos. Ao final concluiu-se que a cultivar Quartzo foi mais eficiente em produção de grãos e acúmulo de proteína, enquanto a BRS Parrudo foi mais eficiente para acúmulo de Zn e Fe. A atividade enzimática de NR e o componente agronômico nº de grãos/espiga foram melhores indicadores de produtividade enquanto para biofortificação foram o perfilhamento e teor de clorofila.

Palavras-chave: Zinco. Qualidade de grão. Afilhamento. Nitrato redutase. Clorofila.

2.2 ABSTRACT

The use of wheat cultivars with higher capacity for protein, Fe and Zn allocation in grains is an alternative to attenuate nutritional deficiencies in humans. The objective of this work was to evaluate the application of N doses in two cultivars regarding the allocation of protein, Zn and Fe in the grains, grain yield and its relation with the agronomic components. The 2x7 factorial arrangement was installed in a greenhouse, combining two cultivars Quartz and BRS Parrudo with application of 12, 20, 27, 35, 42, 50, 75 mg dm⁻³ of N. During the development of the crop were evaluated the Chlorophyll, enzymatic activity, protein concentration, Zn and Fe in flag leaf, agronomic components such as plant height, number of tillers / plant and, at physiological maturity, grain yield, protein concentration, Fe and Zn in the Grains and aerial biomass, number of grains / ear, number of ears / plant, mass of a thousand grains and aerial biomass. The cultivar Quartzo presented higher grain yield potential, number of grains / ear, harvest index (CI), number of ears / plant and enzymatic activity, while BRS Parrudo was distinguished by the higher concentration of protein, Zn, Fe in the grains, higher tillering, Biomass productivity and chlorophyll content at the time of grain filling. The increase of the N supply contributed to the reduction of the protein concentration, Zn and Fe in the grains and the increase of grain yield, times, increase in the enzymatic activity of nitrate reductase (NR) and urease (UR). The effect of the cultivar is preponderant regarding the efficient use of N in the reserve allocation of proteins in the grains or grain yield. It was concluded that the cultivar Quartzo was more efficient in grain production and protein accumulation, whereas BRS Parrudo was more efficient for accumulation of Zn and Fe. NR enzyme activity and grain / ear agronomic component were Productivity indicators while for biofortification were tillering and chlorophyll content.

Keywords: Zinc. Grain quality. Afilhamento. Nitrate reductase. Chlorophyll.

2.3 INTRODUÇÃO

O trigo é o cereal que está entre os mais cultivados no mundo ocupando a segunda posição em produção de grãos a nível mundial (Alloway, 2008). É o alimento básico de 35% da população mundial e trata-se do alimento mais promissor como fornecedor de proteínas de reserva e calorias do que qualquer outra cultura, em função de seu alto consumo. O status do trigo como alimento básico está somente atrás do arroz e será necessário o aumento da produção em todo o mundo, portanto, estima-se que haverá aumento da demanda (Alloway, 2008).

No Brasil, o cenário é de concentração de 90% da produção de trigo na Região Sul (CONAB, 2007), o que representa menos de 50% do consumo interno do cereal, e que coloca o Brasil como um dos principais importadores de trigo do mundo (Valério et al., 2008).

Por outro lado, o trigo encontra-se em um panorama global com duas direções opostas: aumento de demanda para produção de alimentos (Cakmak, 2002), e a tendência de redução da qualidade nutricional dos grãos de trigo em micronutrientes e proteína, correlacionado com a deficiência dos elementos nos solos, e conseqüentemente em humanos. Destaca-se ainda que o melhoramento genético está voltado somente para ganhos em produtividade (Cakmak, 2002; Welch et al., 2008) e qualidade de farinha para pão (Kutman et al., 2011b).

Diante da falta de inter-relação destes fatores, a união das características para biofortificação e produtividade de grãos do trigo deveria ser uma premissa, pois a disponibilização de cultivares no mercado visando apenas alta produtividade de grãos com baixa qualidade de nutrientes (Cakmak, 2002), não tem atendido as necessidades humanas.

Além disso, a maximização da produtividade de grãos deveria ser acompanhada da otimização do manejo de N, que influencia de maneira direta no aumento de proteína nos grãos e conseqüentemente na proporção de Zn e Fe (Aciksoz et al., 2011).

A assimilação de N para formação de proteínas nos grãos está ligada a eficiência de uso interno de N na planta para o acúmulo no grão, e conseqüentemente ao aumento da concentração de Fe e Zn ligados às proteínas. Isto porque, o Zn participa da ativação enzimática para a síntese de proteínas, além do aumento da atividade enzimática dentro na planta, influencia no aumento de proteínas, pois, a maioria das enzimas são

proteínas. Assim, uma estratégia para o aumento de Zn no grão é o aumento da concentração de proteína do grão (Alloway, 2008; Cakmak et al., 2000).

O sinergismo entre o aumento de N associado ao aumento de Zn nas plantas, ocorre em função do aumento das proteínas transportadoras que o N proporciona e consequentemente no aumento da absorção pelas raízes e transporte para os grãos (Kutman et al., 2010; Kutman et al., 2011a).

A farinha *Triticum aestivum* tem em média 70 a 83 % da massa em carboidratos, e entre 10 e 18% em proteínas. A pequena parcela que sobra dessa farinha é de 2% de gordura, fosfolipídios e ácidos graxos poli-insaturados e 11% de água. Desta proporção de carboidratos, o amido encontra-se em 79 % no endosperma e a proteína em todos os tecidos da semente com maior proporção no embrião e na camada de aleurona (Carvalho & Nakagawa, 2012), em função de uma co-localização do Zn e Fe nos corpos de proteína do aleurona e do embrião (Ozturk et al., 2006; Kutman et al., 2011b).

Na literatura são discutidos componentes agronômicos voltados para o maior potencial de produtividade de grãos como, índice de colheita, nº grãos/espiga, massa de mil grãos, peso hectolítrico, entre outros. Há também estudos que contabilizam a concentração de proteína, Fe e Zn de grãos entre cultivares (Cakmak et al., 2000; Zhao et al., 2009; Tiwari et al., 2009; Silva et al., 2014), em interação do genótipo com o ambiente (Gomez-Becerra et al., 2010), fracionado entre diversas partes das plantas e diferentes fases do desenvolvimento (Kutman et al., 2010), sob diferentes combinações de N com Zn (Kutman et al., 2010; Kutman et al., 2011a), e sobre a localização dos nutrientes (Ozturk et al., 2006; Kutman et al., 2011b; Uauy et al., 2006).

Entretanto, não há estudos que contemplem avaliações de desempenho agronômico e enzimático relacionados ao maior potencial genético para biofortificação (visando a relação com o aumento de proteína, Zn e Fe) e produtividade de grãos, de modo a apontar características voltadas ao melhoramento genético. Além disso, dada a complexidade das maiores proporções de carboidratos do que proteínas no trigo, o desafio é escolher cultivares através de estudos de seleção e prospecção de cultivares quanto ao acúmulo de nutrientes, alta produtividade e eficiência de utilização de N.

A presença de genes de alta acumulação (Cakmak et al., 2010; Cakmak et al., 2000; Uauy et al., 2006) deve ser alvo de pesquisas para sanar as deficiências nutricionais humanas pelo trigo.

As hipóteses formuladas para este trabalho foram de que a aplicação de doses nitrogenadas aumentam a concentração de proteínas nos grãos, e indiretamente, também

o faz com os teores de Fe e Zn em grãos de trigo com potencial para biofortificação, apresentando influência sobre os componentes de rendimento; As cultivares com maior potencial para biofortificação apresentam características agronômicas distinguíveis; Uma fração da espiga de trigo (grãos da parte inferior, médio ou superior) aloca mais nutrientes.

Desta forma, os objetivos do trabalho foram: 1) caracterizar diferenças genótípicas de duas cultivares de trigo quanto a eficiência de uso de N nos componentes agronômicos, de rendimento, qualidade nutricional de grãos, e especialmente quanto aos teores de Zn, Fe e proteínas e a alocação dos nutrientes entre as frações da espiga de trigo e; 2) determinar o efeito da dose de adubação nitrogenada na produtividade, componentes agronômicos e qualidade nutricional de grãos de trigo.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

2.4.1 Tratamentos, delineamento e condução experimental

O delineamento experimental utilizado foi em bloco ao acaso (DBC) com três repetições em esquema fatorial 2x7, sendo 2 doses de N combinadas com 7 cultivares (genótipos), totalizando 14 tratamentos. Foram aplicadas as doses 12, 20, 27, 35, 42, 50 e 75 mg dm⁻³ de N (correspondentes às doses 25, 40, 55, 70, 85, 100 e 150 kg ha⁻¹) aplicadas imediatamente antes da semeadura, na forma de ureia, misturando-se uniformemente a todo o solo do vaso. As doses de N, foram definidas considerando-se as doses abaixo de 42 mg dm⁻³ doses de subnutrição, e as doses 50 e 75 mg dm⁻³ como adequadas.

2.4.2 Caracterização, instalação e condução do experimento em casa de vegetação

O experimento foi instalado em casa de vegetação no Departamento de Solos, da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em Curitiba-PR-BR, entre outubro de 2014 a fevereiro de 2015. Foram selecionadas as cultivares de trigo (*Triticum aestivum*) Quartzo e BRS Parrudo de elevado desempenho produtivo (Silva et al., 2014), e com qualidades tecnológicas de potencial para biofortificação em Fe e Zn (dados não publicados).

As unidades experimentais consistiram de vasos de 3 dm³ preenchidos com Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico, de textura média, coletado na camada de 0 – 20 cm de profundidade. Após a coleta o solo foi seco ao ar, peneirado em peneira 4 mm e posteriormente realizada correção da acidez e adubação, exceto N. As características químicas anteriores a correção e adubação do solo utilizado foram: pH em CaCl₂ de 4,1; 4,8 cmol_c dm⁻³ de H+Al (em SMP); 0,82 cmol_c dm⁻³ de Al³⁺ (em KCl); 0,6 cmol_c dm⁻³ de Ca²⁺; 0,5 cmol_c dm⁻³ de Mg²⁺; <0,07 cmol_c dm⁻³ de K⁺; 6 mg dm⁻³ de P (em resina); 15 g dm⁻³ de matéria orgânica; saturação por bases de 20%.

A correção da acidez foi realizada com a aplicação de carbonato de cálcio e carbonato de magnésio na proporção de 3:1 com (750 g de CaCO₃ + 250 g de MgCO₃), tendo-se buscado um valor de saturação por bases de 60% (SBCS/CQFS, 2004). A adubação foi feita por vaso, dois meses após a calagem, imediatamente antes da

semeadura, nas doses de 200 mg dm^{-3} de P ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$); 150 mg dm^{-3} de K (KH_2PO_4); 50 mg dm^{-3} de S (K_2SO_4) e 1 mg dm^{-3} de B (H_3BO_3); $0,1 \text{ mg dm}^{-3}$ de Co ($\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$); 1 mg dm^{-3} para Cu ($\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$); 5 mg dm^{-3} de Cl (KCl); 5 mg dm^{-3} de Mn ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$); 5 mg dm^{-3} de Zn ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$); $0,1 \text{ mg dm}^{-3}$ de Se (NaSeO_4); $0,25 \text{ mg dm}^{-3}$ de Mo ($\text{NH}_4\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) e $0,25 \text{ mg dm}^{-3}$ de Ni ($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), conforme recomendação de adubação para vaso. Todos os nutrientes foram aplicados na forma de solução incorporando-se ao solo.

Após a preparação do solo, foram semeadas 10 sementes por vaso e no dia 22 de outubro de 2014 e 25 dias após a emergência (DAE) realizou-se o raleio permanecendo quatro plantas por vaso. As regas ocorreram diariamente com água deionizada. Conforme o desenvolvimento, as plantas foram tutoradas, avaliadas e posteriormente colhidas secas e armazenadas para análises.

2.4.3 Variáveis resposta avaliadas

Foram determinados no perfilhamento aos 35 DAE e na maturidade fisiológica o afilamento com a contagem do nº de perfilhos por planta e a altura de plantas, medindo-se com régua graduada a distância da superfície do solo até a superfície apical da planta. O conteúdo de clorofila também foi determinado em dois momentos, sendo na antese (início do florescimento) e no enchimento de grãos, com o emprego de medidor eletrônico portátil de intensidade de cor verde de plantas Chlorophyll Meter SPAD-502 (MINOLTA CAMERA CO. 1989). A leitura foi efetuada em todas as sextas folhas ou folhas bandeira e nas quintas folhas ou folhas abaixo da bandeira das plantas e depois foi efetuada a média.

Durante a antese foi avaliada a atividade da nitrato redutase na primeira folha abaixo da folha bandeira. Para a determinação da nitrato redutase foi utilizada 0,2 g de massa fresca vegetal em fatias de 1 mm de largura e seguida a metodologia de Hewitt & Smith (1975) e Mulder et al. (1959). A atividade da enzima urease foi quantificada no início da maturação dos grãos, nas folhas coletadas abaixo da folha bandeira, conforme metodologia de McCullough (1967) e Hogan et al. (1983). Para avaliar o estado nutricional das plantas, na antese foram coletadas as folhas bandeiras (Malavolta et al., 1997).

Na maturação fisiológica, aos 87 DAE para a Quartzo e aos 102 DAE para a BRS Parrudo também foi avaliado o nº de espigas por planta; o nº de grãos por espiga; a massa de grãos por espiga; a biomassa aérea das plantas, o índice de colheita (massa de grãos em relação a biomassa aérea da planta), e a massa de mil grãos.

Para as avaliações de massa e de grãos, as espigas foram separadas em três partes iguais (proximal, médio e distal) que conferem as partes inferior, média e superior da espiga. Com a contagem, pesagem e determinação da qualidade nutricional, individualmente por fração. Posteriormente os valores individuais por fração foram somados para a obtenção dos valores de produtividade de grãos, da massa de mil grãos e o nº de grãos por espiga.

Para avaliar a produção de matéria seca da biomassa aérea foi coletado todo o material das 4 plantas de cada vaso e o material foi seco em estufa de circulação forçada a 60 °C até massa constante com posterior pesagem.

A determinação da qualidade nutricional dos grãos, do estado nutricional da folha bandeira e dos nutrientes na biomassa aérea das plantas foi realizada após a secagem das amostras a 60°C até massa constante, em seguida, moídas em liquidificador e digeridas por solução nítrico-peróxido em microondas, conforme metodologia proposta pela Embrapa (2009). Foram determinados os teores de Zn e Fe por meio de Espectroscopia de Emissão Óptica com plasma induzido (ICP-OES). O teor total de nitrogênio (N) foi determinado por combustão via seca por meio do aparelho VARIO EL III - Elementar®. O N% obtido foi multiplicado por 6,25 para obtenção da proteína e transformado para g kg⁻¹. Para garantir a confiabilidade dos resultados foi analisado uma amostra de material certificado do laboratório de nutrição de plantas da UFPR. Para o Zn a análise da amostra certificada recuperou 103% da média dos valores fornecidos pelo laboratório.

2.4.4 Representação esquemática da concentração de Zn e proteína

Para a produção da representação esquemática foi utilizado as características das cultivares para o desenho. Os dados de proteína e Zn apresentados foram escolhidos entre as 7 doses de N do experimento. As doses escolhidas para serem apresentadas foram uma (dose baixa) 12, uma (dose média) 35 e uma dose alta 75 mg dm⁻³.

2.4.5 Eficiência de uso de N para biofortificação

Para o cálculo de eficiência para biofortificação foram utilizados os dados de produtividade de grãos e o acúmulo de proteínas, Fe e Zn nos grãos. O acúmulo de nutrientes foi obtido pela multiplicação da concentração do nutriente pela produtividade de grãos, descontando-se a umidade. Em seguida, se determinou os valores de eficiência com base em Fageria & Barbosa Filho (1981).

As cultivares foram separadas em eficiente e não eficiente com os seguintes cálculos, exemplo:

Alfa= (acúmulo de N na maior dose) - (acúmulo de N na menor dose) (kg ha⁻¹)/ menor dose (kg ha⁻¹).

A cultivar com valores Alfa acima da média dos valores alfa das cultivares foi considerada responsiva (R) e a com valor abaixo, não responsiva (NR).

Para a obtenção dos valores eficientes (E) e não eficientes (NE), foi considerado que valores a esquerda da média da menor dose são eficientes e valores a direita da média são NE.

Com isso, as cultivares foram classificadas em eficientes e responsivas (ER) que são aquelas que obtiveram as maiores produtividades de grãos ou acúmulo de nutrientes na menor dose de N, e foram responsivas com o maior fornecimento de N no solo; as eficientes e não-responsivas (ENR) são aquelas cultivares que apresentam altas produtividades a baixas doses de N, mas com o aumento do N não respondem; as não-eficientes e responsivas (NER), são aquelas cultivares que apenas mantiveram a produção com o aumento do fornecimento do N no solo, ou seja, para estas não adianta diminuir a dose de N; e as não-eficientes e não-responsivas (NENR) são aquelas cultivares que não são eficientes a baixas doses de N e, também, não aumentam a produção com o aumento da adubação. Os genótipos que obtiverem a mesma classificação (baseada nos valores de eficiência foram calculados a produtividade de grãos e acúmulo de proteínas, Zn e Fe) foram selecionados para compor os referidos grupos.

2.4.6 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste F (ANOVA). Na sequência foram realizados teste de comparação de médias (Scott Knott, 5%), análise de

regressão, quando o resultado estatístico apresentava interação, análise de correlação de Pearson e análise multivariada para avaliar a correlação entre as variáveis respostas. Os dados foram analisados por meio do software Assistat[®] e pelo software Canoco[®] versão 4.5 (Ter Braak & Smilauer, 2002). Os gráficos foram feitos utilizando os programas Sigma Plot[®] e Excel[®].

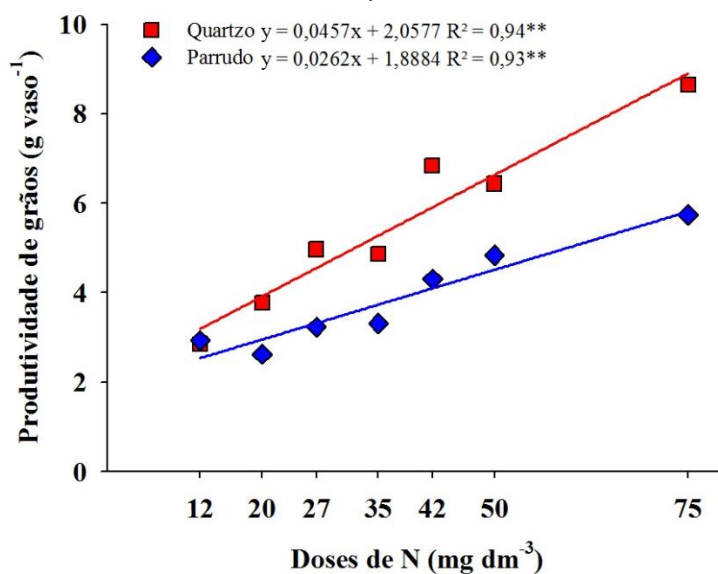
2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.5.1 Produtividade de grãos

A produtividade de grãos foi significativamente afetada pelas cultivares e pelas doses de N (FIGURA 1.1). Houve interação significativa entre genótipo (G) e dose (D) (G x D), resultando em dependência da cultivar com as doses para expressar aumento de produtividade (TABELA 1.1). A significância do efeito genotípico indica a presença da variabilidade genética das cultivares.

Tanto a cultivar Quartzo quanto a BRS Parrudo aumentaram linearmente a produtividade de grãos com o aumento da dose de N aplicada, porém na Quartzo o ganho em kg de N aplicado foi maior, o que resultou numa produtividade de grãos maior.

FIGURA 1.1 – PRODUTIVIDADE DE GRÃOS DAS CULTIVARES DE TRIGO QUARTZO E BRS PARRUDO SOB APLICAÇÃO DE DOSES DE NITROGÊNIO



FONTE: O autor (2017).

Esta produtividade de grãos foi alta quando comparada ao verificado por Kutman et al. (2011), no qual cultivaram trigo da cultivar Balcali2000, no tratamento sob alta aplicação de Zn combinado com adubação nitrogenada na dose 100 kg ha⁻¹ de N. Neste tratamento, foi constatado que a média da produtividade de grãos foi de 1,59 g vaso⁻¹, para 4 plantas por vaso (4 pl⁻¹). Bem abaixo do obtido no presente estudo (FIGURA 1.1). Entretanto, quando comparado com outra pesquisa que usou a cultivar

Quartzo, em casa de vegetação, a produtividade de grãos assemelhou-se, pois obteve produtividade média de 3,52 g 4 pl⁻¹ na dose 60 kg ha⁻¹ de N e de 7,52 g 4 pl⁻¹ na dose 120 kg ha⁻¹ de N (Beche et al., 2014).

A ausência de uma dose que encontrasse a produtividade relativa máxima é um indicativo de alta capacidade produtiva das duas cultivares trabalhadas, tendo em vista que estão entre as mais expressivas em área semeada na Região Sul do Brasil (Silva et al., 2014; Todeschini et al., 2016). É possível que a dose máxima aplicada não tenha encontrado a produtividade relativa em função de estresses bióticos e abióticos que afetam o metabolismo secundário das plantas e utilizam nutrientes que seriam utilizados para o crescimento para adaptar-se aos estresses (Taiz & Zeiger, 2004).

2.5.2 Concentração de Zn, Fe e proteína nos grãos

Houve resposta para proteína, Zn e Fe nos grãos para genótipos, doses de N e interação entre G x D (TABELA 1.1).

As médias da concentração de proteína, Zn e Fe nos grãos foram de 260,7 g kg⁻¹, 46,4 e 50,7 mg kg⁻¹, respectivamente (TABELA 1.1), e estão adequados nas cultivares e em todas as doses de N adicionadas, cujos valores estão de acordo conforme literatura (TABELA 1.2).

A BRS Parrudo apresentou maior concentração de Zn, Fe e proteína no grão em relação a Quartzo (FIGURA 1.2 A, B e C). No entanto, a mesma apresentou a menor produtividade de grãos (FIGURA 1.1). Este fato provavelmente deve-se ao efeito de concentração relatado por Gomez-Becerra et al. (2010), Zhao et al. (2009), e Tiwari et al. (2009).

Para Zn, as concentrações diminuíram com o aumento do fornecimento de N (FIGURA 1.2 A), variando de 50 para 29,6 mg kg⁻¹ nas cultivares Quartzo e de 70,1 para 55,1 mg kg⁻¹ na BRS Parrudo.

As concentrações de Fe, a exemplo do observado para o Zn nos grãos, diminuíram com o aumento da aplicação das doses de N (FIGURA 1.2 B), variando de 54,5 para 38,8 mg kg⁻¹ na cultivar Quartzo e de 76,4 para 46,4 mg kg⁻¹ na BRS Parrudo.

TABELA 1.1 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA E NUTRIENTES NOS GRÃOS DE DOIS GENÓTIPOS (G) DE TRIGO CULTIVADAS EM CASA DE VEGETAÇÃO, SUBMETIDAS A DOSES CRESCENTES DE NITROGÊNIO (D), AVALIADOS EM TRÊS PARTES DA ESPIGA (P)

Nutriente	Fontes de variação e quadrados médios								Erro (GL = 84)	Média	CV (%)
	Genótipo (G) (GL = 1)	Dose (D) (GL = 6)	Parte (P) (GL = 2)	G x D (GL = 6)	G x P (GL = 2)	D x P (GL = 12)	G x D x P (GL = 12)				
Proteína (g kg ⁻¹)	4.861,88 **	49,33 ns	200,43 ns	753,99 **	43,95 **	53,05 **	115,54 **	106,60	260,68	3,96	
Ca (g kg ⁻¹)	0,02 **	0,57 **	0,00 ns	0,06 **	0,00 *	0,02 **	0,01 **	0,00	0,39	8,89	
Mg (g kg ⁻¹)	1,00 **	0,98 **	0,18 *	0,43 **	0,34 **	0,33 **	0,27 **	0,04	1,68	12,22	
P (g kg ⁻¹)	110,31 **	0,53 *	0,03 ns	0,32 ns	0,11 ns	0,22 ns	0,24 ns	0,19	4,60	9,58	
Fe (mg kg ⁻¹)	6.344,35 **	1.258,34 **	293,05 **	335,02 **	15,97 ns	366,90 **	326,77 **	16,97	50,66	8,13	
Zn (mg kg ⁻¹)	7.602,15 **	863,68 **	63,91 **	284,65 **	191,76 **	258,18 **	289,19 **	11,19	46,36	7,22	
Cu (mg kg ⁻¹)	199,74 **	9,14 **	3,41 **	8,32 **	2,48 *	3,08 **	3,11 **	0,58	6,88	11,11	
Mn (mg kg ⁻¹)	71,23 **	580,69 **	66,72 **	540,67 **	274,98 **	223,24 **	198,96 **	8,84	41,39	7,18	
Mo (mg kg ⁻¹)	34,22 **	6,66 **	0,44 *	2,84 **	1,49 **	2,17 **	2,08 **	0,11	2,98	11,28	
B (mg kg ⁻¹)	412,16 **	211,57 **	23,08 **	160,01 **	15,77 **	31,03 **	30,92 **	0,01	3,69	2,77	
Ni (mg kg ⁻¹)	1,23 **	0,26 **	0,03 *	0,13 **	0,02 ns	0,01 *	0,03 **	0,01	0,46	17,20	
Co (mg kg ⁻¹)	0,02 **	0,02 **	0,06 **	0,01 **	0,02 **	0,01 **	0,01 **	0,00	0,09	16,29	
Se (mg kg ⁻¹)	1,18 **	1,36 **	0,70 **	0,76 **	1,58 **	0,59 **	0,99 **	0,01	0,56	14,35	
Si (mg kg ⁻¹)	1.296,52 **	3.995,52 **	1.272,72 **	2.883,77 **	203,01 **	1.191,30 **	878,42 **	1,67	37,36	3,46	

LEGENDA: ** e * são valores de significância a 1 % (p<0,01) e 5 % (0,01p<0,05) de nível de probabilidade pelo teste F; ns: não significativo (p>0,05); GL: grau de liberdade; CV: coeficiente de variação. FONTE: O autor (2017).

TABELA 1.2 – VARIÂÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES ESSENCIAIS NOS GRÃOS DE TRIGO, CONFORME LITERATURA

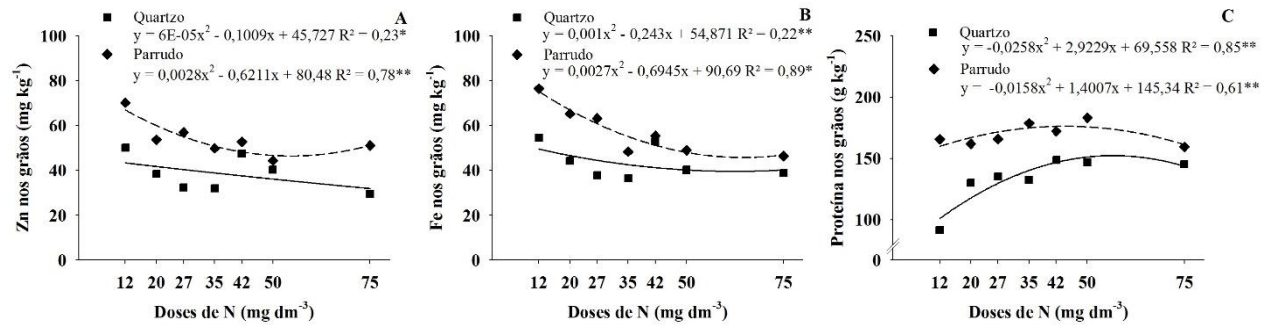
Literatura	Proteína	Ca	Mg	P	Fe	Zn	Cu	Mn	Se
	g kg ⁻¹					mg kg ⁻¹			
Gomez-Becerra et al. (2010)		0,21 - 0,88	0,9 - 2,3	3,5 - 10,9			3- 13,2	11 - 65	
Zhao et al. (2009) ²				3 - 4,75 ¹	31, - 55,5	20,13 - 34,5			0,033 - 2,3
Zhao et al. (2009) ³									1,7 - 4,4
Kutman et al. (2012)	136 - 208								
Zhang et al. (2012)	133								
CITADA Garvin et al. (2006)			0,80-1,39		26-45	14-20			

LEGENDA: ¹ valores aproximados; ²Concentração de nutrientes obtidos em diferentes genótipos em campo; ³Concentração de nutrientes de outra espécie de grão de trigo *Einkorn*. FONTE: O autor (2017).

A diminuição de Zn e Fe com o aumento do fornecimento de N está relacionado ao aumento da produtividade de grãos (Kutman et al., 2011), e da proporção de carboidratos dos grãos provenientes do aumento da atividade fotossintética da planta (Souza et al., 2013), que resulta no efeito de diluição destes micronutrientes (FIGURA 1.2 A e B).

O aumento das doses de nitrogênio não influenciou na concentração da proteína nos grãos de trigo (TABELA 1.1). Porém, houve interação entre genótipo e doses de N. O que indica que as cultivares para apresentarem um comportamento dependem da dose aplicada (TABELA 1.1 e FIGURA 1.2C).

FIGURA 1.2 – CONCENTRAÇÃO DE Zn (A), Fe (B) E PROTEÍNA (C) EM GRÃOS DAS CULTIVARES DE TRIGO QUARTZO E BRS PARRUDO CULTIVADAS SOB DOSES DE NITROGÊNIO. MÉDIAS DAS PARTES PROXIMAL, MÉDIA E DISTAL DA ESPIGA



FONTE: O autor (2017).

2.5.2.1 Concentração de Zn, Fe e proteína nos grãos particionados

O aumento das concentrações de Zn e Fe nos grãos variaram conforme as cultivares, o particionamento na espiga e as doses de N adicionadas (TABELA 1.1). A proteína somente apresentou resposta para genótipo. Houve interação tripla entre genótipo (G) x dose (D) x particionamento (P) (G x D x P) para Zn, Fe e proteína do grão (TABELA 1.1).

Quanto ao particionamento da espiga, a concentração de Zn e Fe foram significativamente aumentadas nos grãos da parte proximal a média da espiga, e menor na parte distal (TABELA 1.3). Embora haja divergências quanto a mobilidade do Zn na planta (Dechen & Nachtigall, 2006), e o Zn apresentar de alta a intermediária mobilidade (Souza & Fernandes, 2006; Marschner, 1995), este apresentou maior deposição na região mais próximo ao colmo da planta.

A proteína não apresentou resposta quanto à parte de grãos analisadas na espiga (TABELA 1.3).

A formação dos grãos na espiga inicialmente na parte proximal e seguido da formação da parte média, e posteriormente na parte distal explica o fato de haver maior concentração de Zn e Fe na parte proximal, que se formou primeiro.

TABELA 1.3 – CONCENTRAÇÃO DE Zn, Fe E PROTEÍNA NO GRÃO DE GENÓTIPOS QUARTZO E BRS PARRUDO SOB APLICAÇÃO DE DOSES DE 12, 20, 27, 35, 42, 50 E 75 mg dm⁻³ DE N

Dose de N (mg dm ⁻³)	Quartzo			Parrudo		
	Inferior	Médio	Superior	Inferior	Médio	Superior
Concentração de Zn na espiga (mg kg ⁻¹)						
12	51,1 bA	48,0 cA	51,0 cA	57,4 aB	62,2 aB	91,0 aA
20	41,7 cA	46,0 cA	27,5 fB	48,7 bB	56,6 bA	55,7 cA
27	24,7 dC	40,2 dA	32,2 eB	52,3 bB	58,2 bA	60,3 bA
35	29,7 dA	33,5 eA	32,7 eA	60,9 aA	46,1 cB	42,5 dB
42	52,9 bA	55,2 bA	34,0 eB	55,8 aA	47,1 cB	55,4 cA
50	37,1 cB	47,2 cA	36,7 eB	62,0 aA	41,2 dB	29,9 fC
75	36,0 cA	19,0 fB	33,8 eA	52,9 bA	53,5 bA	47,0 dB
Concentração de Fe na espiga (mg kg ⁻¹)						
12	55,9 cA	60,3 bA	47,3 dB	65,5 bB	81,9 aA	82,0 aA
20	37,9 eB	52,1 cA	42,7 dB	49,4 dC	86,6 aA	60,0 cB
27	36,3 eA	41,0 dA	36,0 eA	66,1 bA	65,0 bA	58,6 cB
35	41,1 eA	34,8 eB	33,4 eB	55,1 cA	45,2 dB	44,7 dB
42	56,1 cA	61,0 bA	41,7 dB	55,0 cB	44,4 dC	67,0 bA
50	41,3 eA	41,9 dA	37,3 eA	75,1 aA	40,3 dB	31,7 eC
75	45,2 bB	29,0 aA	42,2 dA	51,3 dA	46,2 dB	41,8 dB
Concentração de Proteína na espiga (g kg ⁻¹)						
12	71 aB	102 aB	101 aB	174 aA	153 aA	171 aA
20	126 aA	133 aA	131 aA	159 aA	160 aA	167 aA
27	137 aA	137 aA	132 aA	169 aA	161 aA	167 aA
35	141 aA	129 aA	127 aA	172 aA	179 aA	185 aA
42	153 aA	150 aA	143 aA	175 aA	178 aA	163 aA
50	146 aA	148 aA	146 aA	181 aA	192 aA	177 aA
75	164 aA	143 aA	130 aA	157 aA	165 aA	156 aA

LEGENDA: letras minúsculas diferença entre colunas (partes); letras maiúsculas letras grandes diferença entre linhas (doses). FONTE: O autor (2017).

Para a cultivar BRS Parrudo a correlação entre produtividade de grãos e qualidade nutricional foram expressivas. Houve uma moderada negativa correlação da produtividade de grãos com a concentração de Fe e Zn da parte média da espiga ($r = -0,67^{**}$; $-0,50^*$, respectivamente), e com o Fe e Zn da parte distal da espiga ($r = -0,52^*$; $-0,46^*$). Correlações negativas entre produtividade de grãos e conteúdo de nutrientes são encontrados de ($r = -0,43^{***}$) com Zn conforme Zhao et al. (2009) e de ($r = -0,41^*$) com Fe, conforme Mougounov et al. (2007).

Ao contrário, a maior concentração de nutrientes permite inferir o efeito concentração nas menores doses de N aplicadas, como resultado no tamanho reduzido das sementes ou peso reduzido (Gomes-Bezerra et al., 2010).

2.5.2.2 Correlação entre proteína, Zn e Fe nos grãos

Na cultivar BRS Parrudo a concentração da proteína influenciou no aumento da qualidade nutricional do grão na parte proximal e médio da espiga, sendo observado correlação positiva moderada de proteína da parte proximal com o Fe e o Zn da mesma parte ($r = 0,46^*$; $0,60^{**}$, respectivamente); e na parte média correlação moderada negativa da proteína com o Fe e o Zn da mesma parte ($r = -0,44^*$; $-0,49^*$, respectivamente). A correlação positiva na parte proximal da espiga se deve a um aumento do Zn e Fe provavelmente proporcionado pelo aumento da proteína nesta parte. Enquanto, a correlação negativa na parte média da espiga pode ter ocorrido em função do aumento de Zn e Fe nesta parte e ausência de resposta da proteína.

Na cultivar Quartzo, a concentração de proteína nos grãos da parte proximal não correlacionou com o Zn e Fe desta parte, como ocorreu na BRS Parrudo. A proteína da parte proximal correlacionou-se negativamente com o Zn da parte média ($r = -48^*$), e positivamente com o Fe da parte distal ($r = 0,45^*$). A proteína da parte média correlacionou-se positivamente apenas com o Zn da parte distal ($r = 0,46^*$).

Correlações fortes de proteína são encontrados na literatura em torno de ($r = 0,59^{***}$) e ($r = 0,32^{***}$) com Zn conforme Gomes-Becerra et al. (2010) e Zhao et al. (2009), respectivamente, e com Fe e P ($r = 0,41^{***}$; $0,50^{***}$), respectivamente, Zhao et al. (2009).

As correlações entre proteína, Zn e Fe podem ser encontradas em função de vários fatores como: a presença de genes provavelmente ligados a genes primitivos para o acúmulo de Zn e Fe nos grãos (Cakmak et al., 2000; Cakmak et al., 2010), a presença de genes que codificam para

acumulação da concentração de proteína, Zn e Fe, como a presença do alelo *GPC-B1* (conteúdo proteína do grão B1) com o código (NAM-B1), este gene acelera a senescência e a remobilização de nutrientes como (N, Zn e Fe) das folhas para os grãos (Uauy et al., 2006).

Além do recurso genético, há também o fator enzimático, o crescimento da planta depende da síntese de proteínas e da transcrição de RNA, o que só ocorre na presença adequada do Zn (Cakmak et al., 2000). O Zn também participa da estrutura e funções da membrana, fornecendo a integridade da membrana e reduzindo a Superóxido Dismutase e Catalase, e está ligado estritamente a corpos proteicos de aminos como, imadazole e cisteína (Alloway, 2008).

Desta forma, pesquisas demonstram a co-localização do Zn e Fe nos corpos de proteínas do aleurona e do embrião (Ozturk et al., 2006; Kutman et al., 2011b). No embrião, a co-localização é devido a sua necessidade para germinação de sementes onde é necessária uma grande quantidade metabólica para ativação da diferenciação das células e para ativar o crescimento das células meristemáticas (Cakmak et al., 2000; Ozturk et al., 2006).

A adubação nitrogenada, dessa forma, é uma estratégia que, utiliza o princípio do efeito sinérgico do N com o Zn e pode ser utilizada para aumentar as proteínas transportadoras das células das raízes das plantas, que absorvem e transportam Zn, Fe e proteínas para os órgãos de acúmulo (Kutman et al., 2010; Kutman et al., 2011).

Pesquisas recentes apontam para o aumento da mobilidade de Zn e Fe dentro da planta quando a quantidade de N e Zn fornecidas são adequadas (Kutman et al., 2012), ressalvadas na literatura em função da influência do N no solo sobre a exsudação de proteínas específicas das raízes, os fitosideróforos (Cakmak et al., 2010). O uso combinado de recursos genéticos de elevada eficiência à deficiência de Zn com alta produção de fitosideróforos pelas raízes (Cakmak et al., 2010), alta acumulação de Zn nos grãos (Cakmak et al., 2000; Cakmak et al., 2010) e eficiência de uso do N são a indicação de cultivares promissoras voltados a sanar as deficiências humanas por Zn e Fe.

A cultivar BRS Parrudo foi a que apresentou a maior concentração de Zn com média de 54,1 mg kg⁻¹ de Zn (FIGURA 1.2 A). A proteína e o Fe apresentaram os melhores resultados também nesta cultivar com (266,8 g kg⁻¹ de proteína e 57,7 mg kg⁻¹ de Fe). O alto teor de Zn na semente contribui tanto para o vigor de sementes e conseqüentemente, a maior produção de população de plantas (Ozturk et al., 2006; Cakmak et al., 2008). Este resultado indica a

viabilidade de adoção de cultivares com maior eficiência de alocação de proteína, Fe e Zn no grão, como BRS Parrudo, que apresenta maior qualidade nutricional e proteica.

A possibilidade de indicação de cultivares que apresentam maior capacidade de absorver e alocar Fe e Zn nos grãos, com o uso eficiente do N no solo para biofortificação é a resposta para a viabilidade da biofortificação agrônômica de grãos com o uso de cultivares mais eficientes.

2.5.3 Concentração de Zn, Fe e proteína na folha bandeira

O comportamento do Fe e proteína na folha bandeira foi significativamente alterado entre as cultivares e os níveis de N (TABELA 1.3). O Zn não apresentou diferença entre as cultivares, mas apresentou resposta quanto às doses de N aplicadas. Somente o Fe apresentou interação entre genótipo x dose.

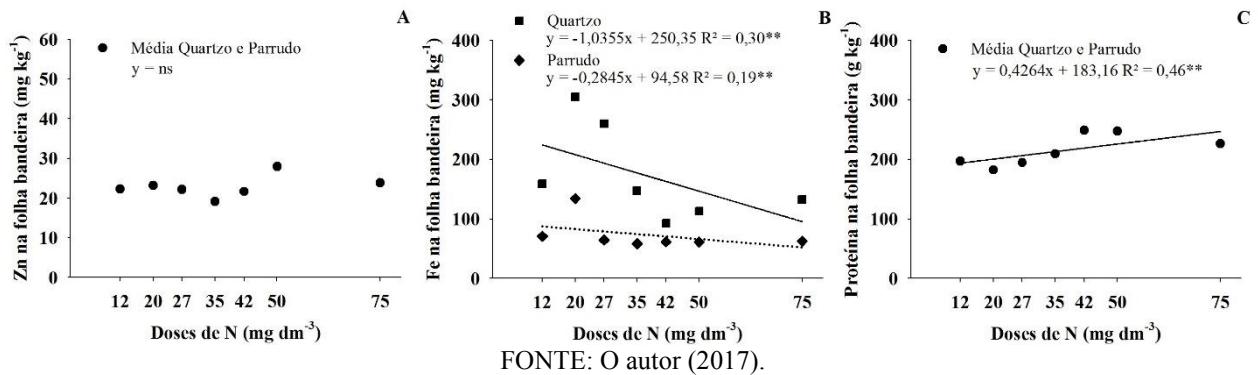
A diagnose da folha bandeira, na antese, apresentou um valor médio de 230,6 g kg⁻¹ para proteína, 22,9 mg kg⁻¹ para Zn, 122,9 mg kg⁻¹ para Fe, de 4,74 mg kg⁻¹ para Cu, de 17,56 mg kg⁻¹ para P, de 5,08 mg kg⁻¹, para Ca e de 3,42 mg kg⁻¹ para Mg. Essas concentrações foram semelhantes às obtidas por Xue et al. (2012), Cakmak et al. (2010) e Pascoalino (2014).

Entre as cultivares, a Quartzo apresentou a maior concentração endógena de proteínas e Fe em relação a BRS Parrudo (FIGURA 1.3). Entretanto, esses dados não se traduziram em maior concentração destes elementos nos grãos.

O maior fornecimento de N no solo promoveu uma maior concentração de proteína no momento da antese, para Quartzo e BRS Parrudo. Contudo, o aumento foi crescente 180,3 a 242,2 g kg⁻¹ de proteína para a BRS Parrudo enquanto para Quartzo foi maior até a dose 85 kg ha⁻¹, não apresentando um comportamento de tendência ao aumento (FIGURA 1.3C).

A concentração de Fe foi aumentada com o incremento de N no solo (FIGURA 1.3B). Porém, o efeito da folha bandeira foi contrário ao que ocorreu nos grãos (FIGURA 1.2). Isso ocorreu em função da imobilidade do Fe na planta bem como, da possibilidade de interação negativa com elevadas quantidades de P, Mn e baixa intensidade luminosa (Dechen & Nachtigall, 2006).

FIGURA 1.3 – CONCENTRAÇÃO DE Zn (A), Fe (B) E PROTEÍNA (C) NA FOLHA BANDEIRA DE CULTIVARES QUARTZO E BRS PARRUDO SOB APLICAÇÃO DOSES NITROGÊNIO



2.5.4 Concentração de Zn, Fe e proteína na biomassa aérea

O aumento da concentração de Zn, Fe e proteína na biomassa variou conforme cultivar e dose de N aplicadas. Houve interação entre genótipo x dose para Zn, Fe e proteína (TABELA 1.4).

Os resultados obtidos para Zn, Fe e proteína apresentaram valores médios conforme a (TABELA 1.4). A proteína está de acordo com os valores obtidos por Xue et al. (2012) que encontraram valores entre 25 a 43,7 g kg⁻¹ para a dose 100 kg de N por ha⁻¹. O Zn na biomassa aérea da BRS Parrudo foi maior do que na Quartz (FIGURA 1.4A).

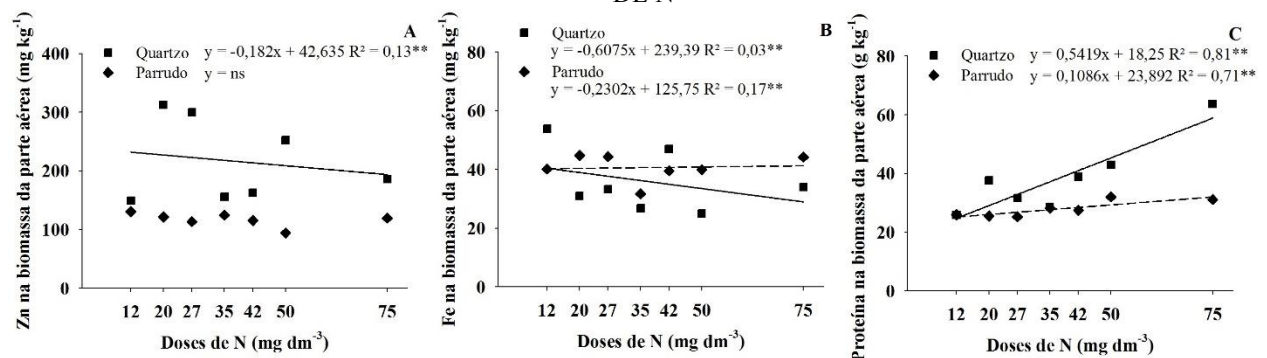
TABELA 1.4 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA E NUTRIENTES NA FOLHA BANDEIRA E NA PARTE AÉREA DE DOIS GENÓTIPOS DE TRIGO CULTIVADOS EM CASA DE VEGETAÇÃO, SUBMETIDAS A DOSES CRESCENTES DE N

Nutrientes	Fontes de variação e quadrados médios				Média	CV (%)
	Genótipo (G) (GL = 1)	Dose (D) (GL = 6)	G x D (GL = 6)	Erro (GL = 84)		
Folha bandeira						
Proteína (g kg ⁻¹)	6.686,12 **	4.784,62 **	1.607,64 ns	748,06	230,62	11,86
Zn (mg kg ⁻¹)	4,77 ns	43,54 ns	46,75 ns	19,82	22,91	19,44
Fe (mg kg ⁻¹)	103.844,69 **	15.410,59 **	5.583,01 **	384,21	122,97	15,94
Biomassa aérea						
Proteína (g kg ⁻¹)	1.160,54 **	322,46 **	181,07 **	25,08	33,20	15,08
Zn (mg kg ⁻¹)	246,17 **	217,47 **	185,85 **	16,89	38,27	10,74
Fe (mg kg ⁻¹)	104.089,08 **	6.535,31 **	8.601,73 **	498,36	166,95	13,37

LEGENDA: ** e * são valores de significância a 1 % (p<0,01) e 5 % (0,01p<0,05) de nível de probabilidade pelo teste F; ns: não significativo (p>0,05); GL: grau de liberdade; CV: coeficiente de variação. FONTE: O autor (2017).

A maior concentração de proteína e o Fe ocorreram na Quartzo do que na BRS Parrudo (FIGURA 1.4C e B). A maior concentração de proteína na biomassa aérea (FIGURA 1.4C), associado a maior concentração de proteína da folha bandeira (FIGURA 1.3C), no momento da antese, indicam a alta absorção de N pela Quartzo do que a BRS Parrudo, e posterior menor eficiência de transporte de proteína para o grão (FIGURA 1.2C).

FIGURA 1.4 – CONCENTRAÇÃO DE Zn (A), Fe (B) E PROTEÍNA (C) NA BIOMASSA AÉREA DE CULTIVARES QUARTZO E BRS PARRUDO SOB APLICAÇÃO DOSES DAS 12, 20, 27, 35, 42, 50 E 75 mg dm⁻³ DE N



FONTE: O autor (2017).

Esta variação da concentração da antese até a maturação é resultado do comportamento diferente dos genótipos quanto a esta eficiência de absorção. Em plantas com elevada eficiência de absorção quando em deficiência de Zn, a produção de fitosideróforos pelas raízes é maior, aumentando a absorção, enquanto naquelas que suportam menos a deficiência de Zn a produção de fitosideróforos é menor (Cakmak et al., 2010).

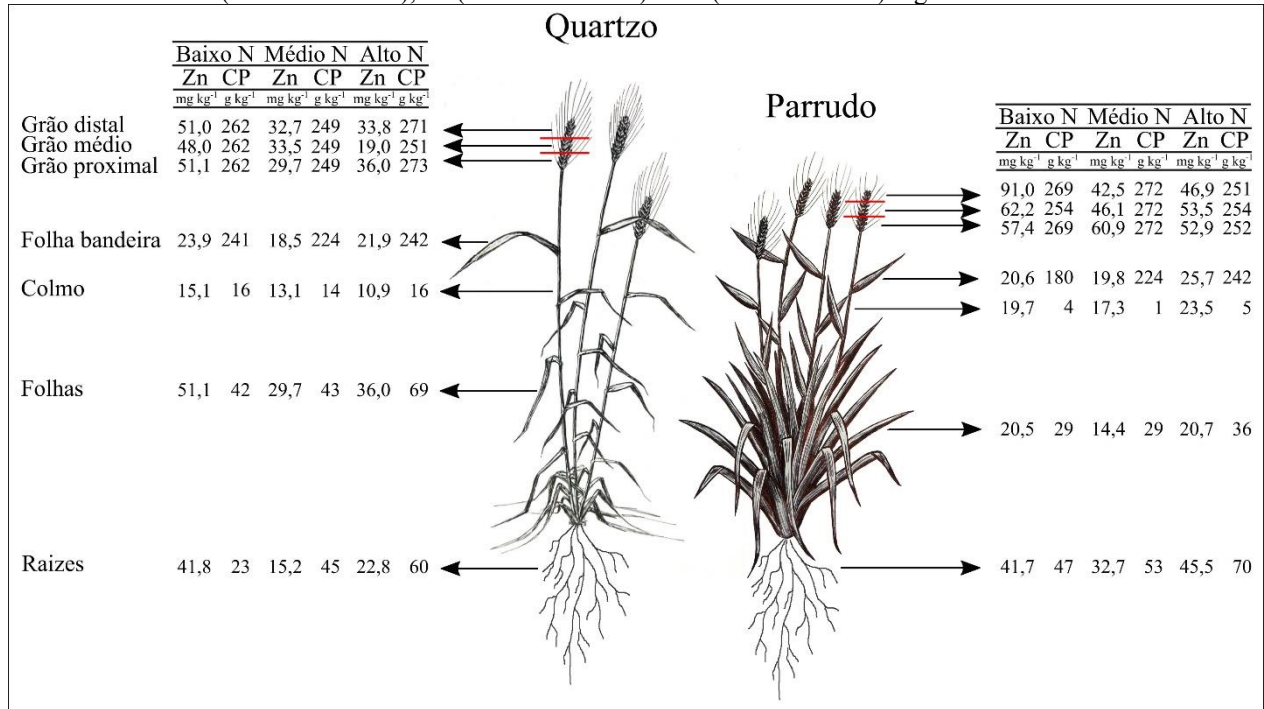
O aumento do fornecimento do N proporcionou maior concentração de proteína da biomassa nas duas cultivares. O aumento da Quartzo foi mais expressivo (FIGURA 1.4C). Para o Fe e o Zn os resultados estatísticos não apresentaram tendência de aumento ou diminuição com o aumento das doses de N (FIGURA 1.2A e B).

A concentração de Zn na biomassa aérea e nos grãos da BRS Parrudo foi maior que a Quartzo, dada a maior eficiência por esta cultivar de alocar mais Zn absorvido nos grãos, do que a cultivar Quartzo. Ou seja, o teor de Zn no grão, depende da cultivar utilizada, conforme resultado da interação entre G X D para Zn tanto na biomassa aérea quanto nos grãos (TABELA 1.4).

A distribuição de proteína, Zn e Fe para as doses 25, 70 e 150 kg ha⁻¹ de N pode ser vista

sintetizada na figura esquemática (FIGURA 1.5).

FIGURA 1.5 – DEMONSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA CONCENTRAÇÃO DE Zn E PROTEÍNA (CP) NOS GRÃOS PARTICIONADOS, NA FOLHA BANDEIRA NO MOMENTO DA ANTESE, NO COLMO, NAS FOLHAS E RAÍZES NAS CULTIVARES QUARTZO E BRS PARRUDO SOB APLICAÇÃO DOSES DAS 12 (NÍVEL BAIXO), 35 (NÍVEL MÉDIO) E 75 (NÍVEL ALTO) mg dm^{-3} DE N



FONTE: O autor (2017).

2.5.5 Atividade enzimática

A atividade enzimática da nitrato redutase (NR) e da urease (UR) foram significativamente afetadas pelos genótipos, pelas doses de N e pela interação entre G x D (TABELA 1.1).

Entre cultivares, houve diferença estatística para as enzimas NR e a UR o que indica que estas enzimas apresentam comportamento diferente dependendo do genótipo (TABELA 1.4).

A atividade enzimática da UR foi maior na Quartzo com média de $3,09 \mu\text{mol de N-NH}_4^+ \text{ g MF}^{-1} \text{ h}^{-1}$, e menor na BRS Parrudo com média de $2,28 \mu\text{mol de N-NH}_4^+ \text{ g MF}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (FIGURA 1.6A).

A atividade enzimática da NR, também foi maior na cultivar Quartzo com média de $0,17 \mu\text{mol de N-NO}_2^- \text{ g MF}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Na cultivar BRS Parrudo os menores valores apresentaram média de

0,14 μmol de $\text{N-NO}_2^- \text{ g MF}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (FIGURA 1.6B). A atividade enzimática encontrada neste trabalho está de acordo com os dados obtidos na literatura sobre teores de NR em trigo, pois de acordo com Rodak et al. (2015) valores variaram entre 0,21 e 0,27 μmol de $\text{NO}_2^- \text{ g MF}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e Viana et al. (2007) entre 0,07 a 0,13 μmol de $\text{NO}_2^- \text{ g MF}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

A maior atividade enzimática da proteína NR na cultivar Quartzo, que obteve a maior produtividade de grãos, ocorre em função da maior assimilação de nitrato (Bredemeier & Mundstock, 2000). Além disso, a maior concentração de proteína na folha bandeira e na biomassa aérea e menor nos grãos da Quartzo, em relação a BRS Parrudo, indicam alta absorção de N, e baixa alocação para os grãos nesta cultivar (FIGURA 1.2).

Uma maior eficiência da cultivar BRS Parrudo em transportar a proteína para o grão, deixando menos na biomassa aérea, é observada (FIGURA 1.2 e 1.4). Na literatura autores Bredemeier & Mundstock (2000) apontam para outras enzimas a incorporação do amônio a aminoácidos, como as enzimas glutamato, aspartato e asparagina para as enzimas que incorporam o N às proteínas nas plantas.

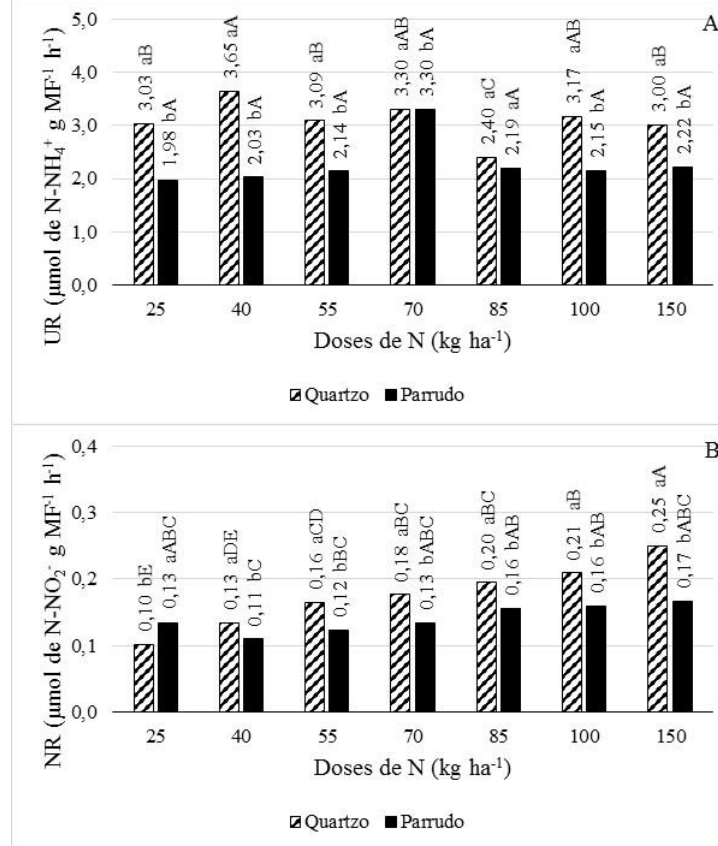
O maior fornecimento de N influenciou no aumento da atividade enzimática da NR nas duas cultivares indicando aumento de absorção e posterior assimilação de nitrato pelas plantas com o aumento das doses. Para a UR os resultados foram mais homogêneos entre as doses, o que resultou em resposta significativa alta para a maioria das doses avaliadas, exceto para a dose 85 kg ha^{-1} , que foi a menor (FIGURA 1.6A).

A atividade da enzima UR nas plantas é variável conforme o estágio fenológico, porém é medido no período compreendido ao enchimento de grãos, fase que apresenta maior atividade, concomitantemente com a diminuição da fotossíntese da planta. A metaloenzima urease desdobra a ureia ($\text{CO}[\text{NH}_2]_2$) em duas moléculas de amônia (2NH_3) e (CO_2) no tecido vegetal, pela amida arginina sob ação da enzima arginase (Eskew et al., 1984; Wood et al., 2004) fornecendo amônia a planta nesta fase.

Outra possível explicação para menor eficiência de conversão do N absorvido, a N assimilado em proteína para o grão na cultivar Quartzo, pode estar relacionado ao local de assimilação do nitrato. O N uma vez absorvido, pode ser assimilado dentro das raízes ou após transportados para as folhas. Quando o nitrogênio é assimilado nas raízes há o maior gasto energético, há o consumo de carboidratos das folhas e dos esqueletos de carbono para o processo

de incorporação de nitrogênio em aminoácidos (Oaks, 1994; Turpin et al., 1991), com menor retorno para os grãos.

FIGURA 1.6 – ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA UREASE (A) E NITRATO REDUTASE (B) DE GENÓTIPOS QUARTZO E BRS PARRUDO SOB APLICAÇÃO DOSES DE 12, 20, 27, 35, 42, 50 E 75 mg dm⁻³ DE N. AS LETRAS MINÚSCULAS INDICAM AS DIFERENÇAS ENTRE AS DOSES DE N E AS LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM A DIFERENÇA ENTRE CULTIVARES



FONTE: O autor (2017).

A enzima NR na BRS Parrudo apresentou correlação negativa com proteína dos grãos ($r = -0,68^{**}$), e positiva com a proteína da bandeira ($r = 0,51^*$) e da biomassa ($r = 0,48^*$). Na Quartzo, também houve correlação negativa com a proteína dos grãos ($r = -0,43^*$), da bandeira ($r = -0,50^*$) e positiva com a proteína da biomassa aérea ($r = 0,74^{**}$). A UR correlacionou negativamente com a proteína da folha bandeira ($r = -0,66^{**}$) somente na Quartzo. Somente a NR correlacionou-se positivamente com produtividade de grãos ($r = 0,58^{**}$; $0,93^{**}$) nas cultivares BRS Parrudo e Quartzo, respectivamente. Em função das correlações negativas das enzimas com a concentração de proteína e positiva com a produtividade de grãos, esta variável é maior indicadora para produtividade de grãos, do que para acúmulo de proteína.

2.5.6 Teor de clorofila na folha bandeira e abaixo da bandeira

A clorofila da folha bandeira e abaixo da bandeira apresentou resposta significativa quanto às épocas avaliadas e doses de N aplicadas, com resultados semelhantes quanto a clorofila medida entre cultivares nas duas posições avaliadas. O conteúdo apresentou interação tripla significativa (TABELA 1.6).

O conteúdo de clorofila apresentou uma média de 24,8 mg cm⁻², na folha bandeira e menor na folha abaixo da bandeira com 17,2 mg cm⁻² de clorofila.

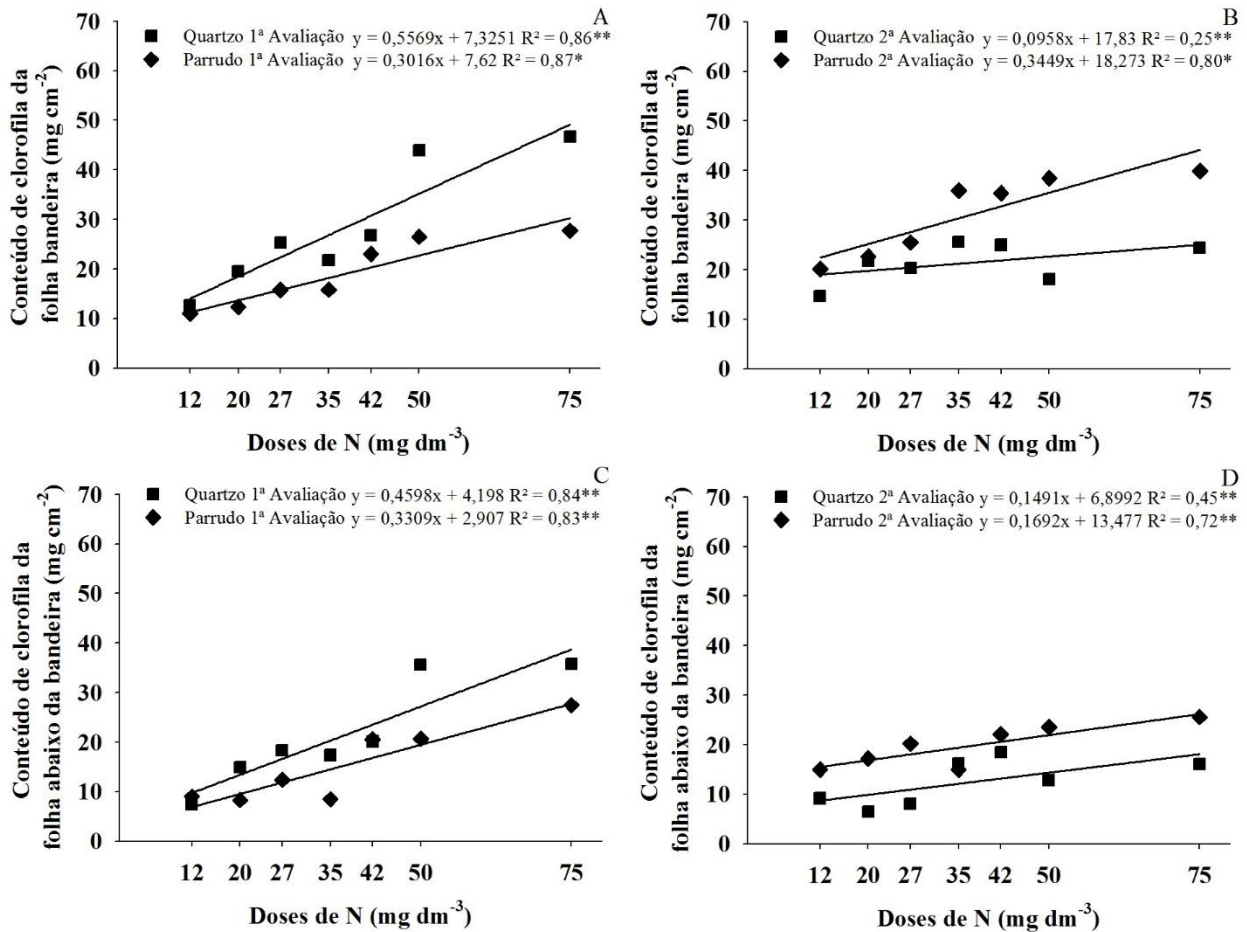
Na primeira avaliação dos pigmentos de clorofila, na folha bandeira, que compreendeu à avaliação durante a antese, a Quartzo expressou maiores valores (FIGURA 1.7A). Porém, na segunda avaliação durante o enchimento de grãos, na pós-antese, foi a BRS Parrudo que apresentou maior conteúdo cloroplástico. Na folha que posicionava-se abaixo da folha bandeira (FIGURA 1.7B), o comportamento foi o mesmo, porém as substâncias cloroplásticas foram sempre menores na folha posicionada neste local da planta. Este maior conteúdo encontrada no período pós-antese, também foi encontrada por Beche et al. (2013).

O aumento das doses de N influenciou no aumento do conteúdo destes pigmentos em ambos os genótipos. Isso se deve ao fato de que, nas plantas C₃, mais de 75% do N celular total esta localizado nos cloroplastos (Peoples & Dalling, 1988).

As clorofilas são substâncias cloroplásticas, compostas por substâncias como a Rubisco e o complexo coletor de luz do Fotossistema II (Matile et al., 1997). Durante a senescência, enzimas degradam as clorofilas, que são tóxicas para as plantas e então, são liberados N na forma de NH₄⁺, que posteriormente precisam ser reassimilados e convertidos em amidas glutamina e asparagina para serem translocados durante o início da senescência para os órgãos de crescimento (Souza & Fernandes, 2006; Nakasathien et al., 2000).

A clorofila tem sido avaliada com o propósito de identificar genótipos promissores ao rendimento de grãos (Beche et al., 2013). Embora, no presente estudo não houve diferença estatística da clorofila entre as cultivares, para as duas avaliações, houve interação, o que indica que cada cultivar comportou-se de maneira diferente em cada estágio avaliado (TABELA 1.6).

FIGURA 1.7 – CLOROFILA DA FOLHA BANDEIRA NA PRIMEIRA AVALIAÇÃO (ANTESE) (A) CLOROFILA DA FOLHA BANDEIRA NA SEGUNDA AVALIAÇÃO (ENCHIMENTO DE GRÃOS) (B), CLOROFILA DA FOLHA ABAIXO DA BANDEIRA NA PRIMEIRA AVALIAÇÃO (C), CLOROFILA DA FOLHA BANDEIRA ABAIXO DA BANDEIRA NA SEGUNDA AVALIAÇÃO (D) DE CULTIVARES QUARTZO E BRS PARRUDO SOB APLICAÇÃO DAS DOSES DE 12, 20, 27, 35, 42, 50 E 75 mg dm⁻³ DE N



FONTE: O autor (2017).

A clorofila da folha bandeira, da primeira avaliação, na BRS Parrudo, correlacionou-se positivamente com a proteína da bandeira ($r = 0,44^*$) e da biomassa ($r = 0,46^*$), mas, negativamente com Zn dos grãos da parte média ($r = -0,64^{**}$) e da superior ($r = -0,60^{**}$). Na Quartzo correlacionou-se negativamente com Zn da biomassa ($r = -0,50^*$), Fe e Zn ($r = 0,59^{**}$; $-0,44^*$) dos grãos na parte média, respectivamente. Entretanto, a correlação forte com produtividade de grãos ($r = 0,81^{**}$) em ambas as cultivares, mostra que esta componente apresenta uma correlação mais forte com rendimento de grãos.

2.5.7 Componentes de rendimento

Houve diferença significativa das cultivares e dose de N testadas para produtividade de grãos, nº de grãos/espiga, biomassa aérea, produção de espigas (g), massa de espigas por planta (TABELA 1.5). Para IC houve resposta somente para cultivar. Massa de 1000 grãos não apresentou resposta (TABELA 1.5).

No entanto, as componentes de rendimento mostraram dependência da cultivar para expressar resultado, pois houve interação (G x D) para massa de 1000 grãos e IC. A Produtividade de grãos, o nº de grãos/espiga, a produção de espigas em (g), o nº de espigas e a biomassa aérea de plantas também apresentaram interação (TABELA 1.5).

O Número de perfilhos/planta, a altura de plantas, o comprimento de colmo e a clorofila da folha bandeira e da folha abaixo da bandeira foram avaliados em dois momentos, e apresentaram diferenças estatísticas entre as épocas avaliadas e as doses de N adicionadas (TABELA 1.6). No entanto, somente no perfilho/planta e a altura de planta expressaram diferença entre as cultivares. As variáveis altura de plantas, clorofila da folha bandeira e clorofila abaixo da folha bandeira apresentaram tripla interação época x genótipo x dose (E x G x D), indicando que estas variáveis apresentam interdependência para apresentar estes resultados conforme estes três fatores.

Em relação as épocas avaliadas, o perfilhamento por planta foi maior na primeira avaliação, aos 35 (DAE) do que na maturidade fisiológica. Isso indica que houve uma quantidade significativa de perfilhos não-férteis na cultivar Quartzo que não produziram espigas, enquanto na BRS Parrudo isso não ocorreu (FIGURA 1.8A).

A cultivar BRS Parrudo apresentou maior nº de perfilhos/planta. Além disso, esta cultivar apresentou maior potencial para produção de biomassa aérea (FIGURA 1.8B). No entanto, apresentou comportamento inversamente proporcional para produtividade de grãos, onde a Quartzo foi mais produtiva que a BRS Parrudo em todas as doses de N aplicadas (FIGURA 1.1).

TABELA 1.5 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA ANÁLISE ENZIMÁTICA E DE COMPONENTES DE AGRONÔMICOS DE DOIS GENÓTIPOS DE TRIGO, CULTIVADAS EM CASA DE VEGETAÇÃO, SUBMETIDAS A DOSES CRESCENTES DE N

Variável	Fontes de variação e quadrados médios					
	Genótipo (G) (GL = 1)	Dose (D) (GL = 6)	G x D (GL = 6)	Erro (GL = 84)	Média	CV (%)
Análise enzimática						
NR ($\mu\text{mol de N-NO}_2^- \text{ g MF}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	28,03 **	13,74 **	3,83 **	0,42	0,16	8,89
UR ($\mu\text{mol de N-NH}_4^+ \text{ g MF}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	3.254,76 **	55,20 **	88,93 **	11,56	2,69	7,24
Componentes de rendimento						
PRODG (kg ha^{-1})	27,93 **	14,14 **	1,41 *	0,54	4,67	15,72
P1000 (g)	22,31 ns	25,21 ns	60,22 **	15,45	27,67	14,21
IC	0,40 **	0,00 ns	0,00 ns	0,00	0,44	10,73
GRÃO/ESP	1.543,49 **	50,90 **	49,55 **	5,48	23,91	9,79
ESP (g)	21,65 **	0,60 **	1,54 **	0,05	1,45	16,16
ESP (Núm)	51,34 **	33,72 **	3,29 *	1,18	7,04	15,45
ESP/PL	0,04 ns	4,22 **	0,12 ns	0,28	2,12	24,78
BIOMASSA (kg ha^{-1})	131,16 **	25,52 **	2,67 *	0,76	7,17	12,16

LEGENDA: ** e * são valores de significância a 1 % ($p < 0,01$) e 5 % ($0,01 < p < 0,05$) de nível de probabilidade pelo teste F; ns: não significativo ($p > 0,05$); GL: grau de liberdade; CV: coeficiente de variação; NR: enzima nitrato redutase; UR: enzima urease; PRODG: produtividade de grãos; P1000: peso de mil grãos; IC: índice de colheita; NGRÃOS: número de grãos; G/ESP: grãos por espiga; ESP (g): massa de espigas; ESP (Núm): número de espigas; ESP/VS: número de espigas por vaso; ESP/PL: número de espigas por planta; BIOMASSA: biomassa da planta. FONTE: O autor (2017).

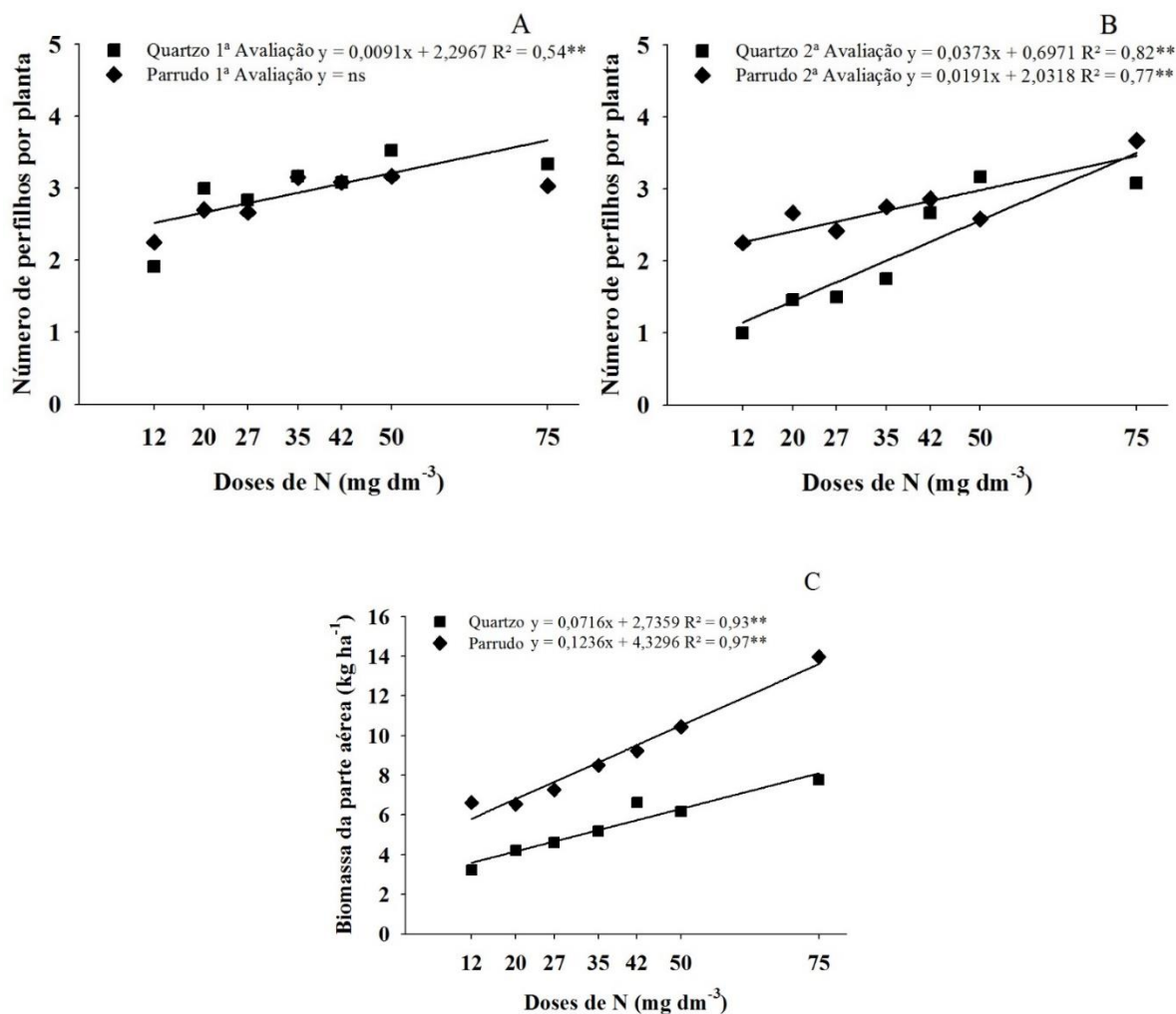
TABELA 1.6 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE COMPONENTES DE RENDIMENTO E CLOROFILA AVALIADOS EM DOIS ESTÁDIOS DE DESENVOLVIMENTO DE DOIS GENÓTIPOS DE TRIGO CULTIVADAS EM CASA DE VEGETAÇÃO, SUBMETIDAS A DOSES CRESCENTES DE N

Variável	Fontes de variação e quadrados médios								Erro (GL = 56)	Média	CV (%)
	Avaliação (A) (GL = 1)	Genótipo (G) (GL = 1)	Dose (D) (GL = 6)	A x G (GL = 1)	A x D (GL = 6)	G x D (GL = 6)	A x G x D (GL = 6)				
PERF/PL	5,39 **	1,51 *	2,88 **	3,10 **	0,42 ns	0,48 ns	0,26 ns	0,25	2,67	18,71	
ALTPL	5.278,21 **	2.197,10 **	39,85 *	553,58 **	37,21 *	26,31 ns	75,47 **	13,71	45,47	8,14	
COMPCOLMO (cm)	19.177,01 **	5.007,81 **	11,09 ns	0,48 ns	13,64 ns	68,18 **	76,75 **	20,58	31,44	14,43	
CLOROFILA_B (mg cm^2)	164,04 **	1,37 ns	599,03 **	1.884,85 **	133,66 **	19,68 ns	112,82 **	13,17	24,87	14,59	
CLOROFILA_AB (mg cm^2)	98,85 **	7,96 ns	442,63 **	946,27 **	102,76 **	29,53 *	53,28 **	10,71	17,21	19,02	

LEGENDA: ** e * são valores de significância a 1 % ($p < 0,01$) e 5 % ($0,01 < p < 0,05$) de nível de probabilidade pelo teste F; ns: não significativo ($p > 0,05$); GL: grau de liberdade; CV: coeficiente de variação; PERF/PL: número de perfilhos por planta; ALTPL: altura de planta; CLOROFILA_B: teor de clorofila na folha bandeira, a primeira folha abaixo do ápice; CLOROFILA_AB: teor de clorofila na folha abaixo da bandeira, a segunda folha abaixo do ápice. FONTE: O autor (2017).

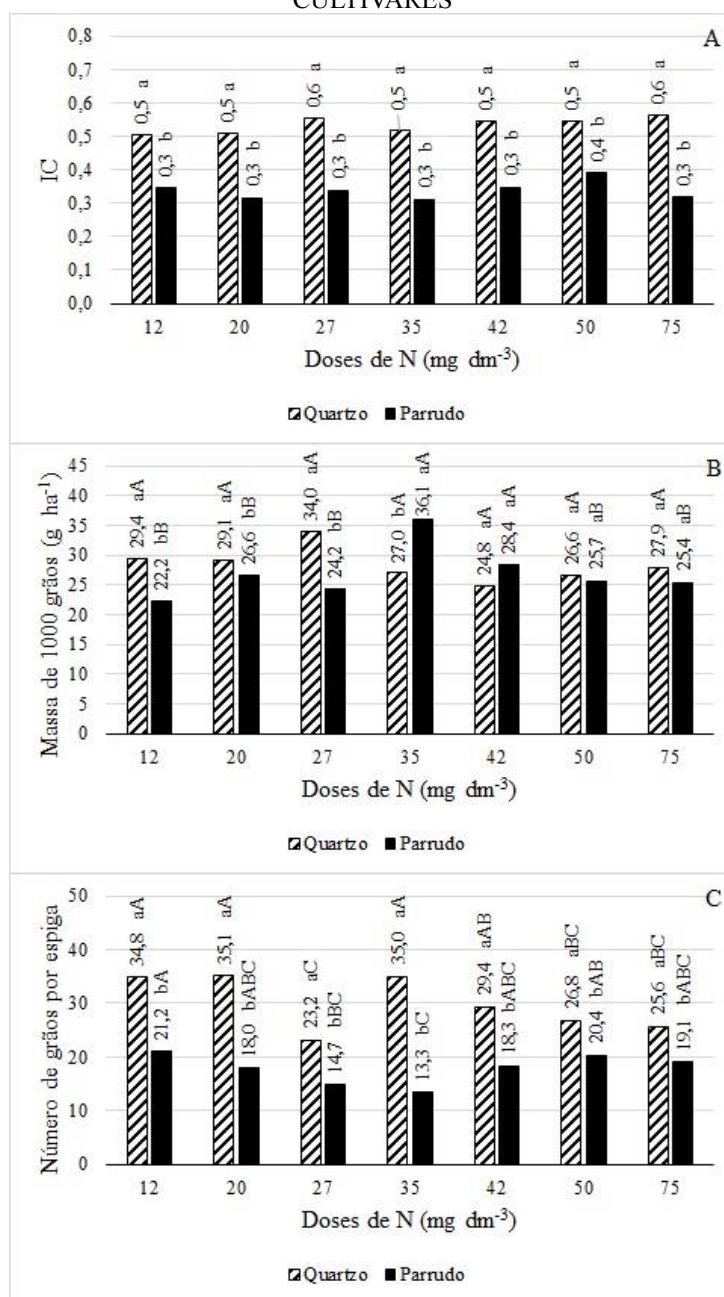
A diferença de comportamento para maior produtividade de grãos em uma cultivar e maior produção de biomassa aérea e perfilhamento em outra, tem relação com as diferenças genéticas dessas cultivares em destinar o gasto energético para mais produção de grãos ou mais produção de biomassa aérea (Silva et al., 2014). O IC também foi maior na Quartzo (FIGURA 1.9 A) em função da maior produtividade de grãos em relação a produção de biomassa aérea desta cultivar. No entanto, a produção de grãos em trigo é representada em grande parte pela produção de afilhos, mas é necessário que as plantas estejam suficientemente espaçadas entre si, em condições climáticas e de manejo adequadas (Valério, 2008).

FIGURA 1.8 – NÚMERO DE PERFILHO/ PLANTA NA PRIMEIRA AVALIAÇÃO (A), Nº DE PERFILHO/ PLANTA NA SEGUNDA AVALIAÇÃO (B) E BIOMASSA DA PARTE AÉREA (C) DE GENÓTIPOS QUARTZO E BRS PARRUDO SOB APLICAÇÃO DOSES DE 12, 20, 27, 35, 42, 50 E 75 mg dm^{-3} DE N



FONTE: O autor (2017).

FIGURA 1.9 – COMPONENTES AGRONÔMICOS IC (A), MASSA DE MIL GRÃOS (B) E Nº DE GRÃOS POR ESPIGA (C) DE GENÓTIPOS QUARTZO E BRS PARRUDO SOB APLICAÇÃO DOSES DE 12, 20, 27, 35, 42, 50 E 75 mg dm⁻³ DE N. AS LETRAS MINÚSCULAS INDICAM AS DIFERENÇAS ENTRE AS DOSES E AS LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM A DIFERENÇA ENTRE CULTIVARES



FONTE: O autor (2017).

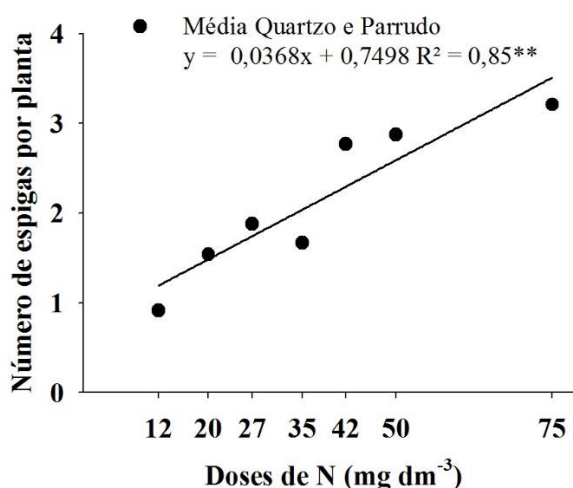
A produção de biomassa correlacionou-se moderada e positivamente com a proteína da biomassa ($r = 0,68^{**}$) na BRS Parrudo e ($r = 0,68^{**}$) na Quartz, e negativamente com a concentração de nutrientes dos grãos ($r = -0,46^{*}$) com o Fe da Quartz, e com Fe ($r = -0,65^{**}$), proteína ($r = -0,47^{*}$) e Zn ($r = -0,53^{*}$). A correlação positiva da produção de biomassa aérea com a concentração de proteína deste componente indica que com o aumento da produção de biomassa, promovido pelo N,

houve o aumento da absorção de nitrogênio.

O aumento das doses N resultou no aumento progressivo do perfilhamento, bem como no nº de espigas/planta (FIGURA 1.9C) para as cultivares. A Quartzo mesmo com a diminuição de perfilhos férteis, apresentou aumento do perfilhamento com o aumento do N (FIGURA 1.8A). É possível afirmar que maiores doses de N promovem o maior vigor vegetativo resultando em um atraso na senescência que favorece um tempo mais longo para o enchimento de grãos e maior absorção de nutrientes (Kutman et al., 2012).

O número de espiga por planta aumentou com o aumento das doses de N e apresentou o mesmo comportamento da produtividade de grãos, entretanto, não houve interação G x D (FIGURA 1.10).

FIGURA 1.10 – COMPONENTE AGRONÔMICO NÚMERO DE ESPIGAS POR PLANTA DE GENÓTIPOS QUARTZO E BRS PARRUDO SOB APLICAÇÃO DAS DOSES DE 12, 20, 27, 35, 42, 50 E 75 mg dm⁻³ DE N



FONTE: O autor (2017).

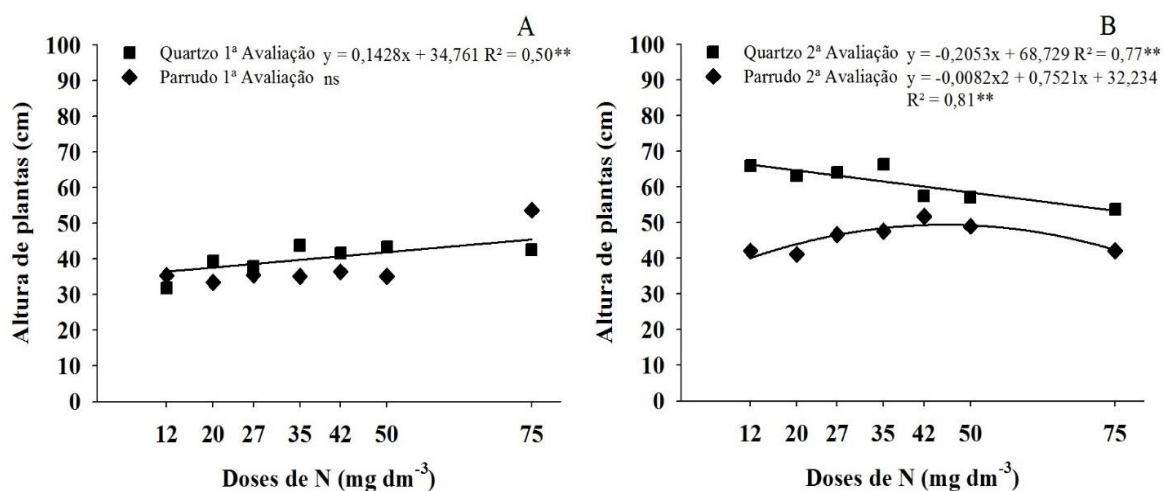
O maior perfilhamento da cultivar BRS Parrudo, esteve associado à maior concentração de proteínas, Fe e Zn nos grãos e com o maior conteúdo de clorofila. Além do maior potencial de perfilhamento, esta cultivar apresenta não apenas maior área foliar em função do maior perfilhamento, mas também um período vegetativo maior, com ciclo maior para a maturação em relação à Quartzo. Isso favorece o maior vigor vegetativo e proporciona um tempo maior para absorção de nitrogênio, Zn e Fe. A cultivar Quartzo, concluiu o seu ciclo 15 dias antes do que a BRS Parrudo.

Outrossim, a cultivar de maior perfilhamento obteve maior biomassa da parte aérea, maior área foliar, que relacionado ao maior conteúdo de clorofila, pode ter

colaborado para a maior taxa fotossintética, com consequente aumento de esqueletos carbônicos, aumentando, assim, a demanda nutricional da planta pela absorção de N, Zn e Fe.

A Quartzo apresentou maior altura de planta que a BRS Parrudo nos dois tempos avaliados (FIGURA 1.11). A Quartzo é uma planta de porte médio podendo chegar a 85 cm enquanto a BRS Parrudo é uma planta de baixo porte, em torno de 78 cm. Neste estudo de casa de vegetação a altura máxima na Quartzo e BRS Parrudo foi de 65,8 e 51,6 cm, respectivamente. A maior altura das plantas junto a maior altura de colmo serve para disponibilizar a maior quantidade de fotoassimilados para o crescimento vegetativo e para o enchimento das espigas (Souza et al., 2013).

FIGURA 1.11 – ALTURA DE PLANTAS DE CULTIVARES QUARTZO E BRS PARRUDO AVALIADA EM DUAS ÉPOCAS: ANTESE (1ª AVALIAÇÃO) (A) E ENCHIMENTO DE GRÃOS (2ª AVALIAÇÃO) (B), SOB APLICAÇÃO DOSES DE NITROGÊNIO



FONTE: O autor (2017).

O nº de grãos/espiga foi maior na Quartzo, cultivar que apresentou a maior produtividade de grãos (FIGURA 1.10). Porém, houve correlação negativa entre nº de grãos/espiga com produtividade de grãos na Quartzo ($r = -0,57^{**}$), mas não apresentou correlação com a BRS Parrudo, também não houve correlação entre nº de grãos/espiga e concentração de nutrientes. A correlação negativa entre nº de grãos/espiga e produtividade de grãos, pode indicar que não é o maior nº de grãos/ espiga que proporciona a maior produção de grãos, mas o menor nº de grãos/espiga e provavelmente com maior peso ou maior tamanho. O maior tamanho de grão ou massa por consequência pode promover uma menor relação aleurona+embrião/endosperma e por isto uma menor densidade de nutrientes por carboidratos. Ou seja, na BRS Parrudo,

ao contrário da Quartzo, possivelmente houve uma maior relação aleurona+embrião/endosperma devido a uma provável produção de grãos de tamanho menores, e por isso uma maior densidade de nutrientes.

As componentes agronômicas perfilhamento, nº de espigas/planta e conteúdo de clorofila avaliada no enchimento de grãos foram maiores na cultivar BRS Parrudo, que apresentou maior concentração de proteína, Zn e Fe nos grãos.

2.5.8 Análise de Componentes Principais

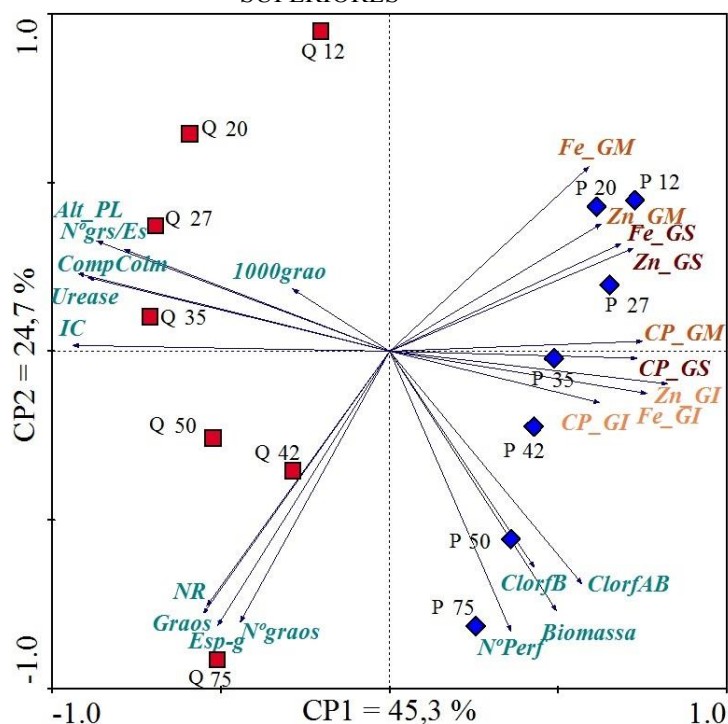
A análise de componentes principais (ACP) com os componentes de rendimento e concentração de Zn, Fe e proteína nos grãos particionados demonstrou que os dois primeiros componentes principais explicaram 45,3 e 24,7 % da variabilidade dos dados na CP1 e CP2, respectivamente (FIGURAS 1.12).

Houve um agrupamento das amostras da cultivar BRS Parrudo (destaques em azul) e as amostras da cultivar Quartzo nos quadrantes com (destaques em vermelho).

Com base na ACP, a cultivar Quartzo relacionou-se com maiores produtividades de grãos e atividade enzimática da NR nas maiores doses e UR nas doses intermediárias. Isto é justificado pela provável maior absorção de nitrato e posterior assimilação à amônio pela NR no florescimento e pela UR, durante a fase de enchimento de grãos. Esses dados foram confirmados com o teste de Tukey que apresentou esta cultivar como a de maior atividade enzimática, produtividade de grãos, concentração de proteína na biomassa aérea e da folha bandeira no momento da antese (FIGURA 1.1; 1.3; 1.4 e 1.6).

A ACP mostrou que a BRS Parrudo apresentou maior correlação com a reserva de nutrientes Zn, Fe e proteína fracionados nos grãos. Mesmo não sendo a cultivar que apresentou a melhor atividade enzimática para assimilação de N (FIGURA 1.6), é a cultivar que apresenta maior correlação com acúmulo de proteína (FIGURA 1.12). Fato explicado em função do uso eficiente do N para a conversão em proteína para o grão nesta cultivar.

FIGURA 1.12 – ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (ACP) USANDO COMO VARIÁVEIS DE RESPOSTA (DEPENDENTES) OS DADOS DE COMPONENTES DE RENDIMENTO E CONCENTRAÇÃO DE Zn, Fe E PROTEÍNA NOS GRÃOS PARTICIONADOS. CP: COMPONENTE PRINCIPAL; 12, 20, 27, 35, 42, 50 E 75 mg dm⁻³ = DOSES DE N; Q = CULTIVAR QUARTZO; P = CULTIVAR BRS PARRUDO. Alt_PL = Altura De Plantas; N°grs/Es = N° De Grãos/Espiga; CompColm = COMPRIMENTO DE COLMO; IC= ÍNDICE DE COLHEITA; NR = NITRATO REDUTASE; 1000grao = MASSA DE MIL GRÃOS; Esp-g = ESPIGAS (g); N° grãos = N° De Grãos/ Vaso; N° Perf = N° De Perfilhos; ClorfB = Clorofila Da Folha Bandeira; ClorfAB = CLOROFILA DA FOLHA ABAIXO DA BANDEIRA; GI= GRÃOS INFERIORES; GM= GRÃOS DA PARTE MÉDIO; GS= GRÃOS SUPERIORES



FONTE: O autor (2017).

O comportamento antagonico entre produtividade de grãos e a concentração de nutrientes se deve ao ganho de carboidratos na biomassa dos grãos. Isso demonstra como a seleção de genótipos utilizados atualmente está voltada para cultivares que apresentam altas produtividade, porém baixo fornecimento de nutrientes aos humanos (Gomes-Becerra et al., 2010; Zhao et al., 2009; Tiwari et al., 2009).

Com base na análise multivariada (ACP), a cultivar Quartzo correlacionou-se com maiores produtividades de grãos, nas maiores doses de N, enquanto os componentes que mais se correlacionaram com a cultivar BRS Parrudo foram n° de perfilhos por planta, produção de biomassa e conteúdo de clorofila. Estes dados confirmam os resultados anteriores do teste de Tukey (TABELAS 1.3 e 1.4).

A clorofila correlacionou-se com a cultivar BRS Parrudo (FIGURA 1.12), fato ocorrido em função desta ter apresentado o maior conteúdo de clorofila durante o

enchimento de grãos (FIGURA 1.7).

Componentes agronômicos têm sido avaliados com o propósito de identificar genótipos promissores ao rendimento de grãos (Beche et al., 2013). Mas, ainda é necessária uma avaliação mais criteriosa dos componentes agronômicos, fisiológicos e enzimáticos que se enquadram como indicadores para a escolha de plantas com maior potencial para biofortificação.

Os componentes de rendimento se agruparam de maneira oposta na ACP, onde os que mais se correlacionaram com produtividade de grãos foram, a altura de plantas, o nº de grãos/ espigas, o comprimento do colmo, o IC, as enzimas NR, e UR, a produtividade de grãos, a massa de espigas e o nº de grãos. Por outro lado, os componentes de rendimento que demonstraram potencial para biofortificação no acúmulo de proteína, Fe e Zn nos grãos de acordo com a ACP foram, o afilhamento, a produção de biomassa aérea, o conteúdo de clorofila, as menores doses de N aplicadas, sendo a cultivar BRS Parrudo a cultivar mais promissora para biofortificação dentre as duas avaliadas.

2.5.9 Eficiência de uso de N

A eficiência de uso de nitrogênio apresentada por Fageria & Barbosa Filho (1981) separa as cultivares por comportamento em cada quadrante em relação à eficiência do uso interno do N para conversão em produção de grãos, ou acúmulo de nutrientes como, proteína, Fe e Zn.

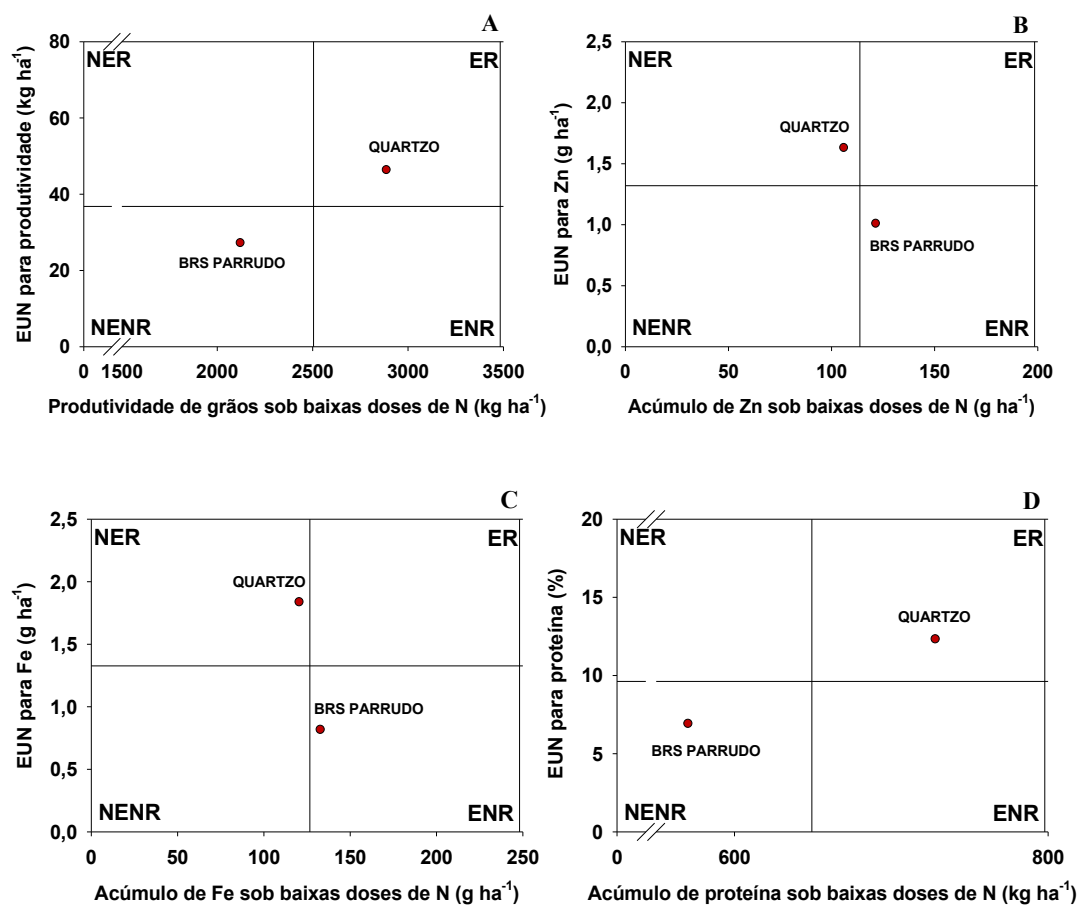
A cultivar Quartzo foi mais eficiente em produção de grãos e para o acúmulo de proteína, com a menor média de aplicação de N (ER), o que significa que esta cultivar é eficiente para converter N em produção de grãos e proteína na baixa aplicação de N e se aumentar a dose os acúmulos aumentam (FIGURA 1.13A e C). Porém, a Quartzo não apresentou potencial para acúmulo de Zn e Fe e posicionou-se no quadrante (NER) (FIGURA 1.13B e C).

A BRS Parrudo foi eficiente em converter baixas doses de N em maior acúmulo de Fe e Zn. Porém com o aumento das doses de N não respondeu em aumento do acúmulo dos mesmos, em função de esta cultivar ter se posicionado no quadrante (ENR) (FIGURA 1.13B e C).

A alocação das cultivares nos dois quadrantes de eficiência mostrou que a BRS Parrudo é uma cultivar promissora voltada para a biofortificação e consequente nutrição humana. No entanto, em condições de casa de vegetação esta apresentou menor potencial produtivo.

A seleção de cultivares que apenas apresentam aumento da concentração de Zn e Fe, sem contribuir para a maior capacidade de produção de grãos não representa maior acúmulo destes nutrientes (Cakmak et al., 2010). Porém a cultivar BRS Parrudo é muito produtiva, apenas não se destacou em relação a Quartzo, mas demonstrou maior capacidade de acúmulo de Zn e Fe, mesmo não apresentando a maior produção de grãos. A seleção da cultivar adequada ao ambiente e a dose de N mostra a possibilidade de desenvolvimento de cultivares de trigo através da melhoria da absorção ou da eficiência de uso interno do N na planta (Sattelmacher et al., 1994).

FIGURA 1.13 – EFICIÊNCIA DE USO DE NITROGÊNIO PARA PRODUTIVIDADE DE GRÃOS (A), ACÚMULO DE Zn (B), ACÚMULO DE Fe (C) E ACÚMULO DE PROTEÍNA (D) DAS CULTIVARES QUARTZO E BRS PARRUDO SOB MÉDIAS DAS DOSES BAIXAS E ALTAS DE N. MÉDIAS DAS DOSES BAIXAS (12, 20, 27 E 35 kg ha⁻¹) E MÉDIA DAS DOSES ALTAS (42, 50 e 75 kg ha⁻¹)



FONTE: O autor (2017).

2.6 CONCLUSÕES

A BRS Parrudo teve maior potencial para biofortificação em função da maior concentração de proteína, Zn e Fe nos grãos e apresentou características como maior afilhamento, produção de biomassa e conteúdo de clorofila. Enquanto a cultivar Quartzo apresentou maior potencial para produção de grãos, maior atividade enzimática e maior nº grãos/ espiga, massa de espigas e IC.

As maiores doses de N aplicadas contribuíram para redução da qualidade nutricional dos grãos de trigo, reduzindo a concentração de Zn, Fe e proteína no grão, mas proporcionaram aumento de produtividade de grãos, afilhos, atividade enzimática, pigmentos de clorofila, produção de espigas e menor nº grãos/espigas nas duas cultivares.

A cultivar BRS Parrudo foi eficiente para acúmulo de Zn e Fe.

A concentração de proteína, Zn e Fe variou de acordo com o local na espiga avaliado, com maior concentração nas partes proximal e média em relação a distal.

2.7 REFERÊNCIAS

ACIKSOZ, S.B.; YAZICI, A.; OZTURK, L.; CAKMAK, I. Biofortification of wheat with iron through soil and foliar application of nitrogen and iron fertilizers. *Plant Soil*, 2011.

ALLOWAY, B.J. Zinc in soils and crop nutrition. International Zinc Association Communications. IZA and IFA Brussels, 2.ed., 2008. 139p.

ASSISTAT 7.5 beta 2010. Disponível em: <<http://www.assistat.com/index.html>>. Acesso em 09 mar. 2015.

BECHE, E.; BENIN, G.; BORNHOFEN, E.; DALLO, S. C.; SASSI, L. H. S.; OLIVEIRA, R. de. Eficiência de uso de nitrogênio em cultivares de trigo pioneiras e modernas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 49: 948-957, 2014.

BECHE, E. Caracteres agronômicos e fisiológicos associados ao progresso do melhoramento genético de trigo no brasil. Dissertação mestrado, UTFPR, Pato Branco,

2013.

BREDEMEIER, C.; MOUNDSTOCK, C.M. Regulação e absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. *Ciência Rural*, Santa Maria, 30:365-372, 2000.

CAKMAK, I. Plant nutrition research: Priorities to meet human needs for food in sustainable ways. *Plant Soil*, 247:3-24, 2002.

CAKMAK, I.; OZKAN, H.; BRAUN, H.J.; WELCH, R. M.; ROMHELD, V. Zinc and iron concentrations in seeds of wild primitive and modern wheats. *Food Nutr. Bull*, 21:401-403, 2000.

CAKMAK, I.; PFEIFFER, W.H.; McCLAFFERTY, B. Biofortification of Durum wheat with zinc iron. *Cereal Chemistry*, 87, 2010.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. Sementes: Ciência, tecnologia e produção. 5 ed, 2012, 590p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Observatório agrícola, Acompanhamento da safra de grãos. Monitoramento agrícola – cultivos de inverno (safra 2015) e de verão (safra 2015/16). 3:4, 2016.

DENCHEN, A.R.; NACHTIGALL, G.R. Micronutrientes. In: *Nutrição Mineral de Plantas* Ed: Manlio Silvestre. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 327-354, 2006.

EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Ed: Fábio Cesar da Silva. - 2. ed. rev. ampl. Brasília- DF, 2009.

ESKEW, D.L.; WELCH, R.M.; NORVELL, W.A. Nickel in higher plants: further evidence for an essential role. *Plant Physiology*, 76(3):691-693, 1984.

FAGERIA, N.K.; BARBOSA FILHO, M.P. Avaliação de cultivares de arroz para maior eficiência na absorção de fósforo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 16:777-782, 1981.

GOMEZ-BECERRA, H.F.; ERDEM, H.; YAZICI, A.; TUTUS, Y.; TORUM, B.; OZTURK, L.; CAKMAK, I. Grain concentrations of protein and mineral nutrients in a large collection of spelt wheat grown under different environments. *Journal of Cereal Science*, 52: 342-349, 2010.

HEWITT, E. J.; SMITH, T. A. *Plant Mineral Nutrition*. The English Universities Press. Londres, 1975, 298p.

HOGAN, M.E.; SWIFT, I.E.; DONE, J. Urease assay and ammonia release from leaf tissues. *Phytochemistry*, 22:3, 663-667, 1983

KUTMAN, U. B.; KUTMAN, B. Y.; CEYLAN, Y.; OVA, E. A. CAKMAK, I. Contributions of root uptake and remobilization to grain zinc accumulation in wheat depending on post-anthesis zinc availability and nitrogen nutrition. *Plant Soil*, 361, 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 Soil*, 342:149-164, 2011a.

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

PASCOALINO, J.A.L. Estratégias de adubação com zinco para biofortificação agrônômica de trigo. *Dissertação de mestrado em Ciência do Solo*, 2014.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e perspectivas*. 2 ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 201p.

MARSCHNER, P. Mineral Nutrition of higher plants. Third edition, 2012, 643p.

MATILE, P.; SHELLENBERG, M.; VICENTINI, F. Localization of chorophyllase in the chloroplast envelope. *Planta*, 201:96-99, 1997.

McCULLOUGH, H. Determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clinica Chimica Acta*, 17:2, 297-304, 1967.

MOUGONOUV, A.; GOMEZ-BECERRA, H.F.; ABUGALIEVA, A.; DZHUNUSOVA, M.; YESSIMBEKOVA, M.; MUMINJANOV, H.; ZELENSKIY, Y.; OZTURK, L.; CAKMAK, I. Iron and zinc grain density in common wheat grown in Central Asia. *Euphytica*, 155:193-203, 2007.

MULDER, E. G.; BOXMA, R.; VEEN, W. L. V. The effect of molybdenum and nitrogen deficiencies on nitrate reduction in plant tissues. *Plant and Soil*, 10:335-355, 1959.

NAKASATHIEN, S.; ISRAEL, D.W.; WILSON, R.F.; KWANYUEN, P. Regulation of seed protein concentration in soybean by supra-optimal nitrogen supply. *Crop Science*, 40:1277-1284, 2000).

OAKS, A. Efficiency of nitrogen utilization in C₃ e C₄ cereals. *Plant Physiology*, Lancaster 106:407-414, 1994.

OZTURK, L.; YAZICI, M. A.; YUCEL, C.; TORUN, A.; CEKIC, C.; BAGCI, A.; OZKAN, H.; BRAUN, H. J.; SAYERS, Z.; CAKMAK, I. Concentration and localization of zinc during seed development and germinations in wheat. *Physiologia Plantarum*, 128: 144-152, 2006.

PEOPLES, M.B.; DALLING, M.J. The interplay between proteolysis and amino acid metabolism during senescence and nitrogen reallocation. In: NOODEN, L.D & LEOPOLD, A.C, eds. *Senescence and aging in plants*. San Diego, Academic Press, 181-217, 1988.

RODAK, B.W.; MORAES, M. F de.; PASCOALINO, J.; JUNIOR, A. de O.; CASTRO, C de.; PAULETTI, V. Methods to quatify nickel in soils and plant tissues. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 39: 788-793, 2015.

SHIVAY, Y. S.; PRASAD, R.; RAHAL, A. Relative efficiency of zinc oxide and zinc sulfate- enriched urea for spring wheat. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 82:259-264, 2008.

SILVA, C. L.; BENIN, G.; BORNHOFEN, E.; TODESCHINI, M. H.; DALLO, S. C.; SASSI, L.H.S. Characterization of brazilian wheat cultivars in termas of nitrogen use efficiency. *Bragantia*, 73:87-96, 2014.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO/ COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO, SBCS/CQFS, 2004. Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. 10 ed. Porto Alegre, 400p.

SOUZA, V.Q., NARDINO, M.; BONATO, G. O.; BAHRY, C. A.; CARON, B. O.; ZIMMER, P. D.; SHMIDT, D. Desfolha em diferentes estádios fenológicos sobre características agronômicas em trigo. *Bioscience Journal Uberlândia*, 29: 1905-1911, 2013.

SOUZA, S.R.; FERNANDES, M.S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M.S., ed. *Nutrição mineral de plantas*. Viçosa: SBCS, 2006. p.215-252.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TER BRAAK, C.J.F.; SMILAUER, P. *CANOCO Reference manual and CanoDraw for Windows user's guide: Software for Canonical Commnity Orgination (version 4.5)* Ithaca, Microcomputer Power, 2002, 500p.

TIWARI, V. K.; RAWAT, N.; CHUUNEJA, P.; NEELAM, K.; AGGARWAL, R.; RANDHAWA, S.; DHALIWAL, H. S.; KELLER, B.; SINGH, K. Mapping of

quantitative trait loci for grain iron and zinc concentration in diploid a genome wheat. *Journal of Heredity*, 100: 771-776, 2009.

TODESCHINI, M. H.; MILIOLI, A. S.; TREVIZAN, D.M.; BORNHOLEN, E.; FINATTO, T.; STORCK, L.; BENIN, G. Eficiência de uso de Nitrogênio em cultivares modernas de trigo. *Bragantia*, Campinas, 75:351-361, 2016.

TURPIN, D. H.; VANLERBERGHE, G.C.; AMORY, A. M. The inorganic carbon requirements for nitrogen assimilation. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, 69:1139-1145, 1991.

UAUY, C.; BREVIS, J. C.; DUBCOVSKY, J. The high grain protein content gene *Gpc-B1* accelerates senescence and has pleiotropic effects on protein content in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 57; 2785-2794, 2006.

VALÉRIO, I. P.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; MACHADO, A. A.; BENIN, G.; SCHEEREN, P.L.; SOUZA, V. Q.; HARTWING, I. Desenvolvimento de afilhos e componentes de rendimento de trigo sob diferentes densidades de semeadura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília, v. 43, n. 3, p. 319-326, 2008.

VIANA, E.M. Interação de Nitrogênio e Potássio na nutrição, no teor de clorofila e na atividade reductase do nitrato em plantas de trigo. *Dissertação de mestrado em Solos e Nutrição de plantas*. Piracicaba, 2007.

WELCH, R.M. Linkages Between Trace Elements in Food Crops and Human Health. IN: Alloway (ed.), *Micronutrient Deficiencies in Global Crop Production*, 287, Springer Science + Business Media B.V. 2008.

WOOD, B.W.; REILLY, C.C.; NYCZEPIR, A.P. Mouse-ear of pecan: I. Symptomatology and occurrence. *HortScience*, 39(1):87-94, 2004a.

XUE, Y. F.; YUE, S. C.; ZHANG, Y. Q.; CUI, Z.L.; CHEN, X.P.; YANG, F.C.; CAKMAK, I.; McGRATH, S. P.; ZHANG, F. S.; ZOU, C-Q. Grain and shoot zinc

accumulation in winter wheat affected by nitrogen management. *Plant Soil*, 361:153-163, 2012.

ZHAO, F.J.; SU, Y.H.; DUNHAM, S.J.; RAKSZEGI, M.; BEDO, Z.; McGRATH, S.P.; SHEWRY, P.R. Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin. *Journal of Cereal Science*, 49: 290-295, 2009.

3 CAPÍTULO II: EFICIÊNCIA DE USO DE NITROGÊNIO PARA BIOFORTIFICAÇÃO EM TRIGO

3.1 RESUMO

O emprego de cultivares de trigo com maior capacidade de alocação de proteínas, Fe e Zn nos grãos é uma alternativa para sanar as deficiências nutricionais humanas. Este trabalho objetiva a) identificar cultivares de trigo eficientes no uso de N para biofortificação e identificar cultivares que apresentam interação com o ambiente; b) identificar características de rendimento agrônomo relacionadas a qualidade de grãos; e c) propor um novo conceito de eficiência de uso de N, considerando produtividade e qualidade de grãos quanto ao acúmulo de proteínas, Zn e Fe nos grãos, componentes de rendimento e economia em N. Foram selecionados 10 genótipos com características de potencial para biofortificação e alta produtividade de grãos, submetidas a duas doses de N (50 e 100 kg ha⁻¹) em três experimentos a campo no Paraná (Palotina, Cascavel e Ponta Grossa). Foram avaliados a diagnose nutricional no início da antese, a concentração de nutrientes na maturidade fisiológica no grão e na parte aérea e componentes agrônômicos e de rendimento de grãos. Todas as variáveis apresentaram interação ambiente x genótipo. A produtividade de grãos foi maior em Cascavel e menor em Palotina. As cultivares BRS Parrudo, Quartzo, CD 150, CD 1440 e CD 1104 foram as mais produtivas em todos os ambientes. O aumento da dose de N não influenciou na produtividade de grãos. A concentração de nutrientes nos grãos foi maior em Palotina em função de efeito de concentração. Os genótipos IPR Catuara e BRS Parrudo apresentaram maior concentração de proteína e Zn, e a aplicação de N apenas influenciou no aumento da proteína nos grãos. A concentração de nutrientes foi maior na biomassa aérea do trigo cultivado em Palotina. As cultivares que apresentaram maior produção de biomassa aérea foram a BRS Parrudo e Quartzo. A BRS Parrudo também apresentou alto potencial para perfilhamento e concentração de nutrientes nos grãos. Houve clara interação negativa entre produtividade de grãos e concentração de nutrientes. As cultivares BRS Parrudo e CD 1440 são as mais promissoras para a biofortificação em função de seu maior potencial para acúmulo de nutrientes. Conclui-se que as maiores concentrações de proteína, Zn e Fe estão relacionadas a interação genótipo x ambiente, sendo que maiores produtividades de grãos resultaram na redução

da concentração de nutrientes. O n° de grãos por espiga foi a componente agrônômica que mais indicou aumento da concentração de nutrientes. A BRS Parrudo foi a cultivar que apresentou maior perfilhamento, concentração de nutrientes e posicionou-se entre as de maior produtividade de grãos. O aumento da dose de nitrogênio não foi eficiente em aumentar a produtividade grãos, mas aumentou a concentração de proteína, Zn e Fe nos grãos do trigo, e é possível adotar cultivares mais eficientes no acúmulo destes nutrientes e de proteína, obtendo maiores rendimentos de grãos e economizando em 50% a adubação nitrogenada.

Palavras-chave: Qualidade de grãos. Interação genótipo-ambiente.

3.2 ABSTRACT

The use of wheat cultivars with higher protein, Fe and Zn allocation in grains is an alternative to remedy human nutritional deficiencies. This work aims to: a) identify efficient wheat cultivars in the use of N for biofortification and identify cultivars that interact with the environment; B) to identify characteristics of agronomic yield related to grain quality; And c) to propose a new concept of efficiency of use of N, considering productivity and quality of grains for the accumulation of proteins, Zn and Fe in the grains, components of yield and economy in N. Ten genotypes with potential characteristics were selected for biofortification and (50 and 100 kg ha⁻¹) in three field experiments in Paraná (Palotina, Cascavel and Ponta Grossa). The nutritional diagnosis at the beginning of the anthesis, nutrient concentration at the physiological maturity of the grain and shoot, and agronomic and grain yield components were evaluated. All variables showed interaction x genotype environment. Grain productivity was higher in Cascavel and lower in Palotina. The cultivars BRS Parrudo, Quartzo, CD 150, CD 1440 and CD 1104 were the most productive in all environments. Increasing the N dose did not influence grain yield. The concentration of nutrients in the grains was higher in Palotina as a function of concentration effect. The IPR genotypes Catuara and BRS Parrudo showed higher concentration of protein and Zn, and the application of N only influenced the increase of the protein in the grains. The concentration of nutrients was higher in the aerial biomass of wheat grown in Palotina. The cultivars that presented the highest aerial biomass production were BRS Parrudo and Quartzo. BRS Parrudo also presented high potential for tillering and nutrient concentration in the grains. There was a clear negative interaction between grain yield and nutrient concentration. The cultivars BRS Parrudo and CD 1440 are the most promising for biofortification because of their greater potential for nutrient accumulation. It was concluded that the highest concentrations of protein, Zn and Fe are related to genotype x environment interaction, and higher grain yields resulted in reduced nutrient concentration. The number of grains per spike was the agronomic component that indicated an increase in nutrient concentration. The BRS Parrudo was the cultivar that presented greater tillering, concentration of nutrients and was positioned among the ones of greater productivity of grains. The increase of the nitrogen dose was not efficient in increasing grain yield, but increased the concentration of protein, Zn and Fe in the wheat grains, and it is possible

to adopt more efficient cultivars in the accumulation of these nutrients and protein, obtaining higher yields of grains. And saving nitrogen fertilization by 50%.

Keywords: Grain quality. Genotype-environment interaction.

3.3 INTRODUÇÃO

O trigo é o cereal que ocupa a segunda posição em produção no mundo e encontra-se em um cenário global com duas frentes divergentes: aumento de demanda para produção de alimentos (Cakmak, 2002), e a tendência de redução da qualidade nutricional dos grãos em micronutrientes, correlacionado com a deficiência dos elementos nos solos e melhoramento genético voltado para ganhos em produtividade (Sanghvi, 1996; Cakmak, 2002; Welch et al., 2008).

Em resposta da necessidade de suprimento do aumento de alimentos, o melhoramento genético tem focado no aumento do rendimento dos grãos em detrimento à concentração de nutrientes nos grãos (Cakmak, 2002). Isso gera uma problemática secundária, que é a disponibilização de cultivares no mercado que proporcionem alta produtividade, mas, mantendo a qualidade em nutrientes nos grãos.

O N é o nutriente que comumente limita componentes de rendimentos e doses relativamente elevadas são utilizadas nas adubações (Haile et al., 2012; Silva et al., 2014), visando elevadas produtividade de grãos. O N está relacionado à concentração de proteínas (Gauer et al., 1992; Gao et al., 2012), e tem sinergismo com Zn e Fe (Aciksoz et al., 2011; Kutman et al., 2011), com potencial para maximização da biofortificação.

Desta forma o manejo do N em genótipos de trigo com maior eficiência no uso deste nutriente é uma alternativa de suprir a necessidade por micronutrientes (Aciksoz et al., 2011), principalmente em países com alimentação baseada em cereais. Isto porque a eficiência de utilização interna de N na planta está diretamente ligada ao aumento da assimilação de N para a formação de proteínas e, conseqüentemente, ao aumento da concentração de Fe e Zn ligados às proteínas. Nas plantas, o Zn está ligado às proteínas porque além de cofator enzimático de mais de 300 enzimas, algumas delas exigem o Zn para a atividade. Desta forma, uma estratégia para o aumento de Zn no grão é o aumento da concentração de proteína do grão (Alloway, 2008).

As possíveis explicações para esta correlação entre proteína, Zn e Fe são extensivamente discutidas e apontam para a presença de genes de alta acumulação (Cakmak et al., 2000; Uauy et al., 2006; Cakmak et al., 2010); o sinergismo promovido pelas adubações nitrogenadas e o Zn acarretando em maior absorção pelas raízes, aumentando as proteínas transportadoras e acúmulo nos grãos (Kutman et al., 2010; Kutman et al., 2011); bem como, o menor tamanho de grão (Tiwari et al., 2009; Uauy et al., 2006); a co-localização do Zn e Fe nos corpos de proteína do aleurona e do embrião

(Ozturk et al., 2006; Kutman et al., 2011b); a participação do Zn na ativação enzimática para síntese de proteína, particularmente, durante o estágio de grão leitoso no trigo; estrutura e funções da membrana; expressão de genes e tolerância ao stresse oxidativo (Cakmak et al., 2000; Alloway et al., 2008).

O N é um elemento que apresenta grande capacidade de transformações e perdas no ambiente, tornando-se necessário o seu manejo eficiente (Freitas et al., 2008; Nouredin et al., 2013). Por isso, a otimização da eficiência de utilização de nutrientes é uma maneira de identificar novas necessidades de aplicação que possam unir maior suprimento de proteínas, Fe e Zn nos grãos aos humanos e selecionar genótipos que mantenham também altos rendimentos de grãos e, conseqüentemente, o melhor aproveitamento do N no sistema.

Em relação à saúde pública, as maiores conseqüências da deficiência em Zn e Fe em humanos são retardamento do crescimento, anemia e diminuição intelectual (Welch & Graham, 1999). A identificação e cultivo de cultivares mais eficientes no acúmulo destes nutrientes nos grãos (White & Broadley, 2009), pode ser uma estratégia eficiente para atender as necessidades diárias da população humana.

A integração entre adubação e melhoramento de plantas convencional, pode aumentar a eficiência de uso do N (Cakmak, 2002; Noureldin et al., 2013; Silva et al., 2014). Há evidências de que a prática de adubação com N no trigo baseando-se na necessidade produtiva das culturas, pode estar gerando excesso de adubo no sistema (Freitas et al., 2008). Portanto, são necessários estudos que visem a escolha de cultivares mais eficientes na absorção e acúmulo nos grãos, o que pode ser uma alternativa para o manejo mais racional das adubações nitrogenadas (Silva et al., 2014).

Entretanto, são escassos estudos que contemplem avaliações de desempenho agrônômico relacionados ao maior potencial genético para biofortificação (visando o aumento de proteína, Zn e Fe) e produtividade de grãos, conjuntamente. Além disso, não há estudos que apontem as cultivares com maior potencial para biofortificação utilizando-se índices de eficiência de uso de N e componentes agrônômicos.

As hipóteses formuladas para este trabalho foram de que: maiores teores de Fe e Zn nos grãos estão relacionados a interação genótipo-ambiente; haverá características agrônômicas que se correlacionam com a maior concentração de nutrientes nos grãos; a aplicação de doses de N visando a subnutrição permitirá a identificação de genótipos de trigo com maior eficiência na utilização de N; a aplicação nitrogenada aumenta a

concentração de proteínas nos grãos, e indiretamente, também o faz com os teores de Fe e Zn em grãos de trigo com potencial para biofortificação.

Desta forma, os objetivos deste trabalho são: a) identificar cultivares de trigo contrastantes quanto a eficiência de utilização de N e avaliar a sua interação ambiental; b) avaliar a relação/associação entre características de rendimento agrônomico e qualidade de grãos de trigo, com ênfase nos teores de proteína, Zn e Fe; c) propor um novo conceito de eficiência de uso de N, considerando produtividade e qualidade de grãos quanto ao acúmulo de proteínas, Zn e Fe nos grãos, componentes de rendimento e uso eficiente de N.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1 Caracterização inicial, instalação e condução dos experimentos de campo

Foram instalados três experimentos a campo nas localidades de Cascavel e Palotina nas áreas experimentais da Coodetec e em Ponta Grossa na estação experimental da Fundação ABC, todas no estado do Paraná. As análises de solo dos locais dos experimentos, antes da sua instalação, constam na TABELA 2.1. As variações de temperatura e precipitação pluviométrica durante a condução dos experimentos são apresentadas na FIGURA 2.1.

A semeadura em Palotina ocorreu em 15 de abril, em Cascavel em 08 de maio e em Ponta Grossa em 29 de junho de 2015. A densidade de semeadura foi de 360 sementes por m² (60 sementes por metro linear). A semeadura ocorreu com o uso de semeadoras, com sementes tratadas com o uso de triadimensol (1/2 dose) e imidacloprid. A adubação de semeadura foi de 300 kg ha⁻¹ do fertilizante 8-30-20 em todos os locais. A adubação de cobertura foi realizada aos 35 dias após a emergência (DAE) onde foram aplicadas as duas doses de N (50 e 100 kg ha⁻¹ de N), aplicados na forma de ureia, nos dias 26/05/2015 em Palotina - PR, 08/05/2015 em Cascavel - PR e 24/06/2015 em Ponta Grossa - PR.

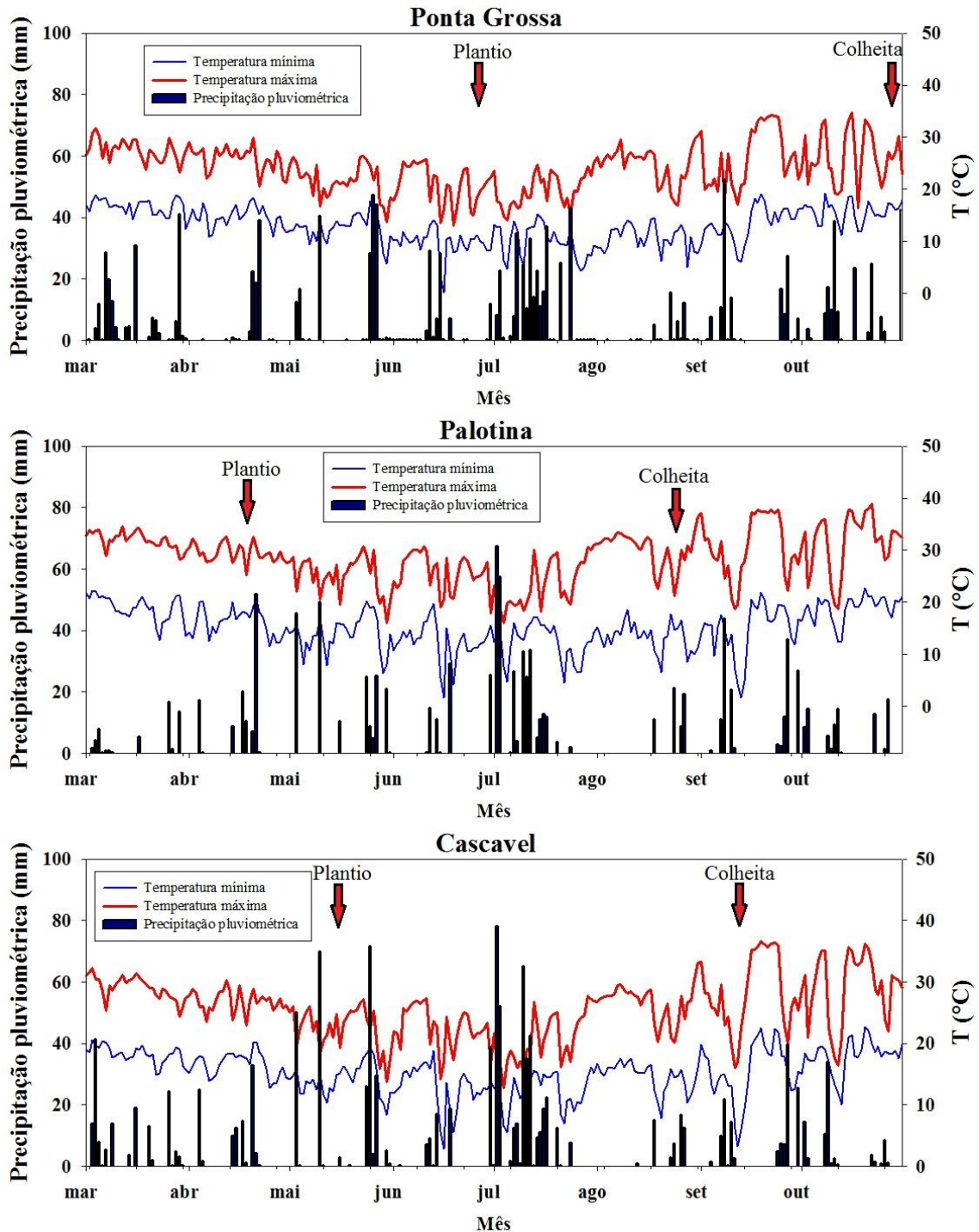
A área útil da parcela consistiu em 5 m², sendo 6 linhas de 5 m de comprimento e espaçamento de 17 cm. A bordadura compreendeu a 0,5 m.

TABELA 2.1 – CARACTERIZAÇÃO INICIAL DOS SOLOS DO EXPERIMENTO DE PONTA GROSSA, PALOTINA E CASCAVEL – PR

PONTA GROSSA												
Profundidade de	pH	Al	H+Al	Ca	Mg	K	P	M.O	Zn	Cu	Mn	V%
cm	CaCl ₂											
0- 20	5,15	0,065	3,05	2,15	0,9	0,28	64,5	17,5	-	-	-	52,19
	Médio	Baixo		Alto	Médio	Alto	Muito Alto	Baixo				Alto
PALOTINA												
0- 20	4,2	1,06	9	2,68	0,62	0,47	41,06	12,46	2,72	10,9	169,4	28,68
	Muito baixo	Alto		Médio		Muito Alto	Muito Alto	Baixo		Alto		Baixo
CASCAVEL												
0- 20	5,4	0,06	3,42	4,22	2,34	0,33	14,3	36,32	2,64	4,91	31,44	64,54
	Médio	Baixo		Alto		Muito Alto	Muito Alto	Baixo		Alto		Alto

LEGENDA: O P, K, Cu, Zn, Fe e Mn foram determinados por Mehlich I. FONTE: Pavan et al., (1992).

FIGURA 2.1 – PRECIPITAÇÃO PLUVIOMÉTRICA E TEMPERATURA MÉDIA MENSAL, DURANTE O CULTIVO DO TRIGO SEMEADO a) EM 29/06/2016 A 10/11/2016 EM PONTA GROSSA, b) 15/04/2015 A 24/08/2016 EM PALOTINA E c) EM 08/05/2015 A 08/09/2016 EM CASCAVEL- PR



FONTE: O autor (2017).

3.4.2 Tratamentos e delineamento experimental dos experimentos de campo

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso em esquema fatorial combinando 10 cultivares e duas doses de N, com 4 repetições. Os genótipos foram o CD 1104, CD 1440, CD 154, BRS Guamirim, CD 150, BRS Parrudo, Mirante, CD 122, IPR Catuara e Quartzo, considerados os mais contrastantes quanto à eficiência no uso de N para produtividade e biofortificação em Fe, Zn e proteínas nos grãos (Pascoalino, 2014; e dados não publicados). As doses de N foram definidas considerando uma dose de 50 kg ha⁻¹ de N considerada de subnutrição com este nutriente e a dose de 100 kg ha⁻¹ de N considerada adequada (CBSC/CQFS, 2004).

3.4.3 Variáveis resposta dos experimentos de campo

As plantas de trigo foram cultivadas até a maturidade fisiológica de grãos e após este período foram colhidas. Ao longo do desenvolvimento da cultura, foram determinados o afilhamento com a contagem do número de afilhos por planta e a altura de plantas após a antese. Na maturação fisiológica foram determinados o número de espigas por planta através de contagem manual, o comprimento de espigas com o uso de régua graduada, número de grãos por espiga através da contagem, a massa dos grãos da espiga, massa de mil grãos, através da massa de grãos por espiga, obtida em função da contagem de grãos por espiga. Também foram coletadas folhas bandeiras no início da antese da cultura conforme indicação de Malavolta et al. (1997), para diagnose foliar.

3.4.4 Produção da biomassa da parte aérea

Para avaliar a produção de matéria seca da biomassa aérea foi coletado a parte aérea das plantas, a partir de 0,5 cm do solo, em meio metro linear de 2 linhas por parcela ao final do ciclo da cultura. Após secagem em estufa a 60 °C até peso constante o material foi pesado e os dados extrapolados para kg ha⁻¹, obtendo-se a matéria seca total da parte aérea (biomassa aérea).

3.4.5 Produtividade, massa de mil grãos, número de grãos por espiga, peso de hectolitro

A produtividade de grãos foi obtida após a colheita, na área de 4,25 m², e excluindo-se 0,5 m de bordadura de cada extremidade. Realizou-se a determinação da umidade, peso dos grãos correção da umidade para 130 g kg⁻¹ com posterior extrapolação dos valores para kg ha⁻¹. Foram determinadas a produtividade de grãos e a massa de mil grãos, e peso de hectolitro em kg hl⁻¹.

3.4.6 Qualidade nutricional dos grãos

As amostras de grãos de trigo foram secas até peso constante, em seguida, moídas em liquidificador e digeridas por solução nítrico-peróxido conforme metodologia proposta por Embrapa (2009). Foram determinados os teores de macro e micronutrientes no grão e parte aérea da planta e folha diagnose por meio de Espectroscopia de Emissão Óptica com plasma induzido (ICP-OES). O teor total de N foi obtido por combustão via-seca, por meio do aparelho VARIO EL III - Elementar®. A proteína foi obtida através da multiplicação do teor de N% obtido no aparelho por 6,25 para transformação em proteína, e posterior transformação em g kg⁻¹.

3.4.7 Eficiência de uso de N para biofortificação

As variáveis avaliadas para o cálculo de eficiência para biofortificação foram a produtividade de grãos e o acúmulo de proteínas, Fe e Zn nos grãos. O acúmulo de nutrientes foi obtido pela multiplicação entre a concentração do nutriente pela produtividade de grãos, descontando-se a umidade.

Em seguida, se determinou os valores de eficiência com base na metodologia de Fageria & Barbosa Filho (1981):

Se estabeleceu uma separação das cultivares eficientes das não-eficientes com a seguinte fórmula, utilizando a eficiência em Zn como exemplo:

Alfa= (Acúmulo de Zn na maior dose) - (Acúmulo de Zn na menor dose) (kg ha⁻¹) / menor dose (kg ha⁻¹);

Para a obtenção dos valores responsivos (R) e não responsivos (NR), obteve-se o valor alfa de todas as cultivares, e com a média dos valores de alfa estabeleceu-se o

ponto para traçar uma reta, que foi a linha divisória na horizontal do gráfico do eixo y produzido no sigma plot. As cultivares posicionadas abaixo da linha da divisória foram consideradas NR, as cultivares posicionadas acima são as R.

Para classificação das cultivares em eficientes (E) e não eficientes (NE), obteve-se a média do acúmulo do nutriente da menor dose de N (kg ha^{-1}), que foi o ponto para traçar a linha vertical no eixo x. As cultivares com os valores posicionados a esquerda da linha foram consideradas E e as cultivares posicionadas a direita são as NE.

Os grupos classificatórios foram definidos em: cultivares eficientes e responsivas: (ER) são aquelas que obtiveram as maiores produtividades de grãos ou acúmulo de nutrientes na menor dose de N, e foram responsivas com o maior fornecimento de N no solo; as eficientes e não responsivas: (ENR) são aquelas cultivares que apresentam altas produtividades a baixas doses de N, mas com o aumento do N não respondem; as não eficientes e responsivas: (NER), são aquelas cultivares que apenas mantiveram a produção com o aumento do fornecimento do N no solo, ou seja, para estas não adianta diminuir a dose de N; e as não eficientes e não-responsivas: (NENR), que são aquelas cultivares que não são eficientes a baixas doses de N e, também, não aumentam a produção com o aumento da adubação. Os genótipos que obtiverem a mesma classificação (baseada nos valores de eficiência calculados para produtividade de grãos e acúmulo de proteínas, Zn e Fe) foram selecionados para compor os referidos grupos.

3.4.8 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste F (ANOVA). Na sequência foi realizado teste de comparação de médias (Scott Knott 5%), análise de correlação de Pearson e análise multivariada para avaliar a correlação entre as variáveis respostas. Os dados foram analisados por meio do software Assistat e pelo software Canoco versão 4.5 (Ter Braak & Smilauer, 2002).

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

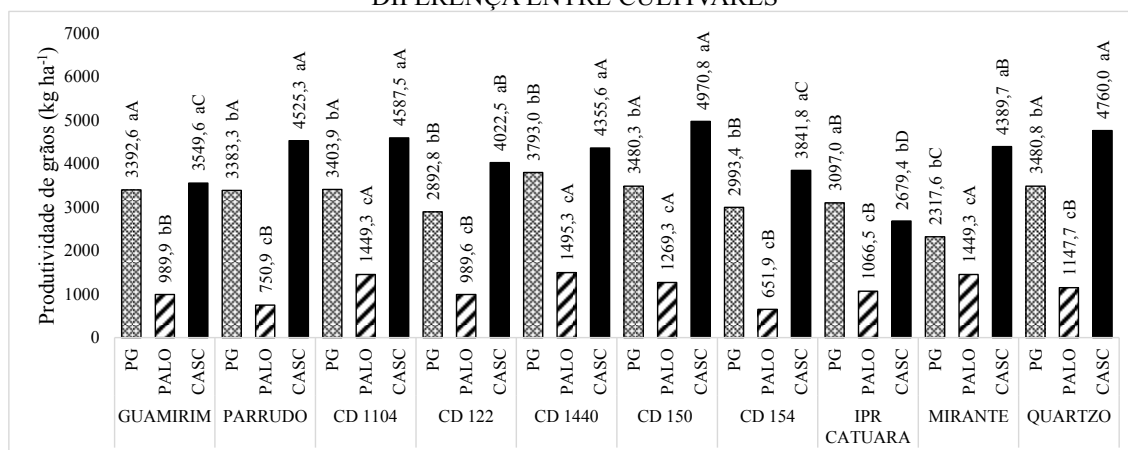
3.5.1 Produtividade de grãos

A produtividade de grãos foi afetada pelo ambiente de cultivo e pelas diferentes cultivares, mas não foi alterada pelo incremento da dose de N. Entretanto, não houve interação entre os três fatores ambiente x genótipo x dose (A x G x D) (TABELA 2.2).

A produtividade de grãos foi maior em Cascavel com média de 4168 kg ha⁻¹, seguida de Ponta Grossa com 3223 kg ha⁻¹ e de Palotina com 1126 kg ha⁻¹ (FIGURA 2.2). As produtividades de grãos obtidas em Cascavel e Ponta Grossa foram superiores a média nacional brasileira de 2.183 kg ha⁻¹ para a mesma safra (CONAB, 2015).

A significância do efeito genotípico indica a presença de variabilidade genética entre as cultivares. Houve interação entre ambiente x genótipo, de modo que, em Ponta Grossa as cultivares BRS Guamirim, BRS Parrudo, CD 1104, CD 1440, CD 150 e Quartzo foram as com maiores produtividades de grãos (FIGURA 2.2); em Palotina, destacaram-se BRS Guamirim, CD 1104, CD 122, CD 1440, CD 150, IPR Catuara, Mirante e Quartzo; e em Cascavel as cultivares que se destacaram foi BRS Parrudo, CD 1104, CD 1440, CD 150, Mirante e Quartzo (FIGURA 2.2).

FIGURA 2.2 – MÉDIA DA PRODUTIVIDADE DE GRÃOS DE 10 GENÓTIPOS CULTIVADAS SOB DUAS DOSES DE N EM TRÊS AMBIENTES REPRESENTATIVOS DO SUL DO BRASIL (PG=PONTA GROSSA; PALO= PALOTINA; CASC= CASCAVEL). AS LETRAS MINÚSCULAS INDICAM AS DIFERENÇAS ENTRE OS AMBIENTES E AS LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM A DIFERENÇA ENTRE CULTIVARES



FONTE: O autor (2017).

Também houve interação entre ambiente x dose, ou seja, isso indica que o aumento da dose só apresentou efeito de aumento da produtividade dependendo do

ambiente. Isso pode ser observado em Ponta Grossa onde o aumento de produtividade média de grãos de 3.093 kg de grãos ha⁻¹ para 3.336 kg de grãos por ha⁻¹, com o aumento da adubação nitrogenada de 50 kg para 100 kg de N ha⁻¹, respectivamente (FIGURA 2.2). Embora em todos os experimentos o plantio tenha sido realizado em sistema de plantio direto, em Ponta Grossa a cultura anterior ao trigo foi o milho, provavelmente influenciando na resposta neste local ao N, já que o milho como cultura antecessora não fornece tanto N ao solo quanto a Soja em Palotina e Cascavel. No entanto, em Palotina e Cascavel o maior fornecimento de N não resultou em aumento na produtividade de grãos e indicou que a aplicação de 50 kg ha⁻¹ de N garantiu a mesma produtividade que o dobro da dose – 100 kg ha⁻¹. Dessa maneira, é possível afirmar que não há uma dose adequada para todos os ambientes.

É comum cultivares alcançarem as maiores produtividades de grãos em mais de um ambiente, como verificado no presente estudo para CD 150, CD 1440, CD 1104 e, Quartzo e BRS Parrudo em todos os locais. Silva et al. (2014) que avaliaram trigo, com aplicação de 74 kg ha⁻¹ de N, em Coxilha-RS e em Pato Branco-PR, verificaram que dentre as 18 cultivares avaliadas a Mirante e a Quartzo obtiveram as maiores produtividades em ambos os locais.

Entretanto, também ocorrem cultivares que são influenciadas diretamente pelo ambiente, como o caso das cultivares BRS Guamirim, que apresentou resposta significativa superior em Ponta Grossa e Palotina; a CD 122 e a IPR Catuara, que foram superiores somente em Palotina; e a cultivar Mirante destacou-se apenas em Cascavel e Palotina (FIGURA 2.2).

A fertilidade do solo, antes do plantio foi semelhante em todos os experimentos quanto ao baixo teor de matéria orgânica (MO), alto teor de Zn e Fe e muito alto teor de P, exceto para o alto teor de Al e baixo V% do solo de Palotina de acordo com SBCS/CQFS (2004) (TABELA 2.1). As condições de acidez potencial no solo de Palotina provavelmente influenciaram no menor rendimento de produtividade de grãos em relação aos demais ambientes.

TABELA 2.2 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES NOS GRÃOS, E FOLHA BANDEIRA E COMPONENTES DE RENDIMENTO AGRONÔMICO DE 10 GENÓTIPOS DE TRIGO CULTIVADAS EM PONTA GROSSA, PALOTINA E CASCAVEL

Variável	Fontes de variação e quadrados médios								Média	CV (%)
	Ambiente (A) (GL = 2)	Genótipo (G) (GL = 9)	Dose (D) (GL = 1)	G x A (GL = 18)	A x D (GL = 2)	G x D (GL = 9)	A x G x D (GL = 18)	Erro (GL = 177)		
PTNG (g kg ⁻¹)	11.252,72 **	3.487,53 *	659,87 **	790,75 **	866,67 **	324,27 **	255,06 **	122,96	188,47	5,88
FeG (mg kg ⁻¹)	4.891,46 **	677,04 **	303,69 *	185,95 **	166,10 ns	46,35 ns	46,35 ns	70,68	41,93	20,05
ZnG (mg kg ⁻¹)	7.627,11 **	270,65 **	106,98 **	91,71 **	40,33 *	2,05 *	7,97 ns	9,26	30,48	9,98
PTNBAND (g kg ⁻¹)	71.026,94 **	3.864,42 **	4.246,80 *	2.160,36 **	983,47 ns	715,55 ns	1.222,46 ns	974,54	263,30	11,86
FeBAND (mg kg ⁻¹)	72.431,38 **	598,48 *	85,79 ns	1.203,87 **	59,54 ns	123,55 ns	234,69 ns	286,66	110,85	15,27
ZnBAND (mg kg ⁻¹)	756,95 **	48,02 **	0,09 ns	66,05 **	11,30 ns	7,82 ns	12,39 ns	9,66	18,69	16,63
PTNPA (g kg ⁻¹)	37.828,41 **	518,99 **	111,65 ns	510,07 **	526,18 **	61,31 ns	64,64 ns	76,12	50,75	17,19
ZnPA (mg kg ⁻¹)	583,86 **	18,17 **	22,83 *	25,11 **	5,15 ns	3,84 ns	9,41 **	3,55	8,54	22,06
G/ESP	5.750,58 **	705,29 **	296,72 *	255,73 **	87,41 ns	197,03 **	225,52 **	50,26	38,21	18,55
BIOMTOT (kg ha ⁻¹)	549.972.729,08 **	22.388.045,89 **	2.983.706,33 ns	13.648.863,81 **	1.717.255,63 ns	11.134.443,28 **	6.074.891,78 **	1.547.072,91	5.982,08	20,79
MESP (g)	83.438,88 **	9.902,30 **	708,01 ns	9.160,49 **	1.070,03 ns	3.526,81 **	2.475,15 **	783,73	132,33	21,16
PERF	280.493,84 **	17.489,10 **	1.721,65 ns	7.502,90 **	537,55 ns	10.307,03 **	6.156,44 **	1.076,96	159,74	20,54
POPPL	141,83 ns	1.206,10 **	1.097,64 **	297,11 **	112,60 ns	771,40 **	209,45 **	51,05	45,31	15,77
ESP (Núm)	255.287,56 **	12.139,26 **	45,65 ns	6.819,50 **	517,27 ns	7.539,58 **	5.914,45 **	1.040,60	149,05	21,64
PERF/PL	78,21 **	5,98 **	2,36 *	4,16 **	0,36 ns	2,26 **	2,63 **	0,27	3,54	21,39
ESP/PL	64,67 **	7,84 **	6,91 **	4,62 **	0,08 ns	3,21 **	3,32 **	0,54	3,34	21,97
COMPESP	32,82 **	6,13 **	0,40 ns	3,61 **	0,88 ns	1,12 ns	1,88 **	0,93	7,19	13,39
ALTPL	6.771,67 **	440,79 **	103,04 *	56,08 **	4,13 ns	39,17 ns	32,68 ns	20,97	68,52	6,68
PRODG (kg ha ⁻¹)	193.961.797,04 **	2.684.773,19 **	909,49 ns	1.512.595,76 **	940.704,13 **	133.329,18 ns	133.446,13 ns	161.228,45	2.839,21	14,14
P1000 (g)	5.560,93 **	164,32 **	6,46 ns	79,79 **	1,53 ns	1,70 ns	1,55 ns	2,74	73,42	2,26
PHECTO (kg hl ⁻¹)	3.601,94 **	173,70 **	3,80 ns	36,68 **	3,14 ns	1,36 ns	1,86 ns	1,70	30,57	4,27
IC	0,07 **	0,03 **	0,01 ns	0,05 **	0,01 ns	0,01 **	0,01 ns	0,01	0,47	16,10

LEGENDA: ** e * são valores de significância a 1 % (p<0,01) e 5 % (0,01p<0,05) de nível de probabilidade pelo teste F; ns: não significativo (p>0,05); GL: grau de liberdade; CV: coeficiente de variação; PTNG: proteína nos grãos; FeG: concentração de ferro nos grãos; ZnG: concentração de zinco nos grãos; PTNBAND: proteína na folha bandeira; FeBAND: concentração de ferro na folha bandeira; ZnBAND: concentração de zinco na folha bandeira; PTNPA: proteína na parte aérea; ZnPA: concentração de zinco na parte aérea; G/ESP: grãos por espiga; BIOMTOT: biomassa total da planta; MESP: massa de espigas; PERF: número de perfilhos; POPPL: população de plantas; ESP: número de espigas; PERF/PL: número de perfilhos por planta; ESP/PL: número de espigas por planta; COMPESP: comprimento de espigas; ALTPL: altura de planta; PRODG: produtividade de grãos; P1000: peso de mil grãos; PHECTO: peso hectolitro de grãos; IC: índice de colheita. FONTE: O autor (2017).

3.5.2 Concentração de proteína, zinco e ferro no grão

O aumento da concentração de proteína, Zn e Fe nos grãos variou conforme o ambiente, as cultivares e as doses de N adicionadas (TABELA 2.2). Houve interação tripla entre ambiente x genótipo x dose (A x G x D) apenas para concentração de proteína no grão.

A concentração de proteína, Zn e Fe nos grãos foram de 188 g kg⁻¹, 30,5 e 41,9 mg kg⁻¹, respectivamente (FIGURA 2.3A, 2.3B e 2.3C), e estão adequados para todas as cultivares, nas duas doses de N aplicadas e em todos os ambientes. Valores considerados adequados para Zn variam de 13,5 mg kg⁻¹ a 145 mg kg⁻¹ (Gomez-Becerra et al., 2010; Zhao et al., 2009) para Fe entre 26 e 45 mg kg⁻¹ (Garvin et al., 2006), e de 93,7 g kg⁻¹ e 132 g kg⁻¹ para proteína, respectivamente (Barraclough et al., 2010 e Haile et al., 2012).

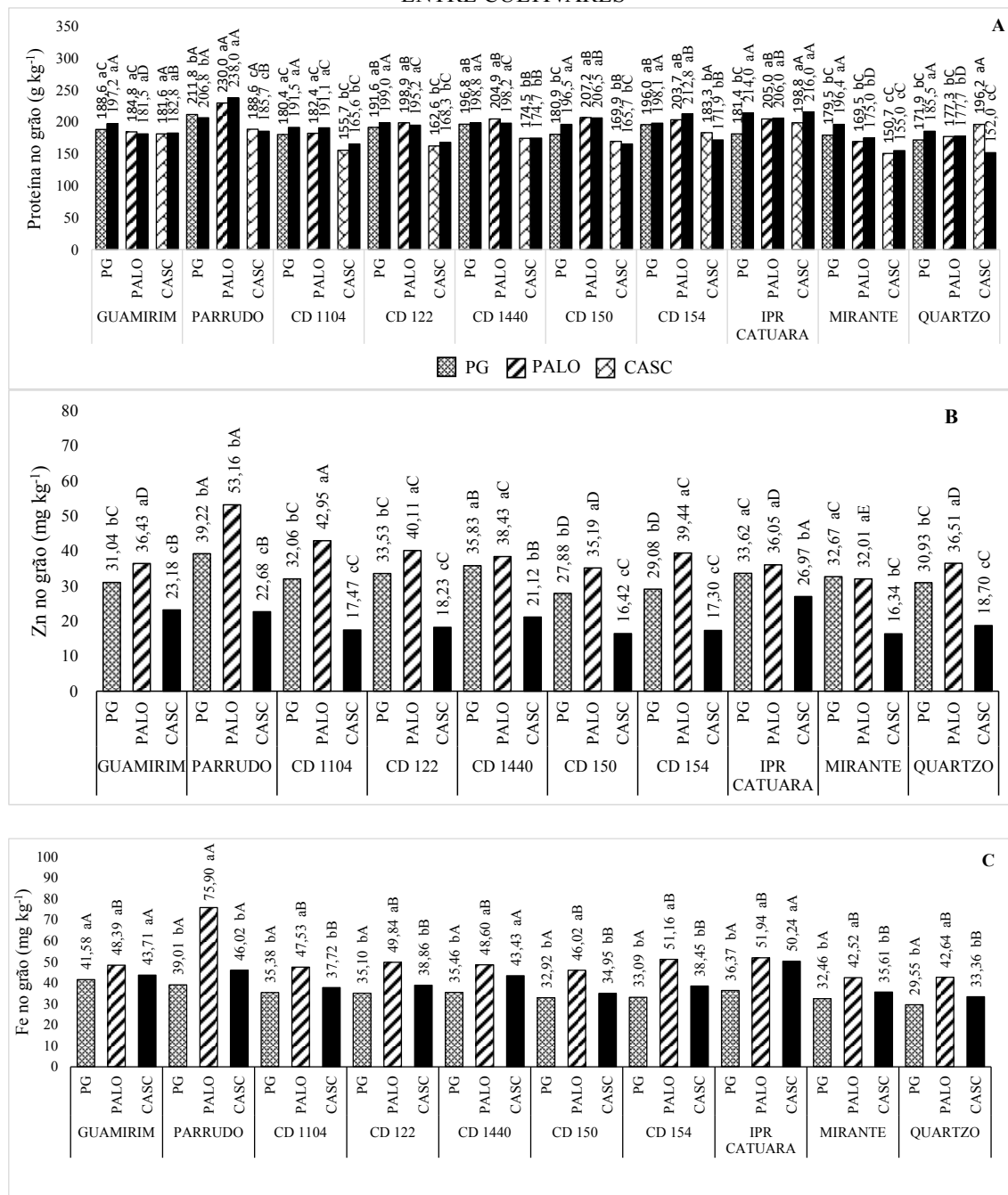
Este fato indica que a menor dose de adubação nitrogenada manteve a produtividade semelhante em todos os ambientes e adequadas concentrações de proteína, Zn e Fe nos grãos e, portanto, pode ser uma alternativa de manejo de adubação visando a máxima eficiência do uso de N.

A concentração de proteína e dos micronutrientes Zn e Fe foram maiores nos grãos em Palotina, em relação aos demais ambientes, com média da concentração de 197,28 g kg⁻¹, 39,02 e 50,45 mg kg⁻¹, respectivamente, (FIGURA 2.3A, B e C), acompanhando a menor produtividade de grãos em relação às demais localidades. Este fato se deve, possivelmente em função de um efeito de concentração descrito por Gomez-Becerra et al. (2010), Zhao et al. (2009) e Tiwari et al. (2009). Ao contrário, em Cascavel onde se obteve a maior produtividade de grãos ocorreu a menor concentração de proteína, Zn e Fe, em função de um efeito de diluição.

O efeito ambiental é o que melhor explica o maior teor de nutrientes em Palotina que obteve menor produtividade de grãos, e é reportado na literatura (Silva et al., 2014). Isto porque neste estudo o excedente de chuvas de quase 300 mm em Palotina no momento do enchimento de grãos (FIGURA 2.1), possivelmente influenciou na maior absorção de nutrientes que são absorvidos pela água, via gradiente de concentração, por difusão, como o P, K, Fe e Zn (Ernani et al., 1994). Para os demais ambientes, a precipitação pluviométrica observada no período compreendido pelo enchimento de grãos foi a metade do valor observado em Palotina, entretanto, em quantidade adequada para este estágio fenológico (FIGURA 2.1). A maior precipitação pluviométrica em

Palotina, poderia ter favorecido para uma maior produtividade de grãos, não fosse o fato do solo apresentar elevada acidez potencial e baixo V%.

FIGURA 2.3 – COMPARAÇÃO DE MÉDIAS DA PROTEÍNA (A), Zn (B) E Fe DO GRÃO (C) AVALIADA EM 10 GENÓTIPOS CULTIVADAS SOB DUAS DOSES DE N EM TRÊS AMBIENTES REPRESENTATIVOS DO SUL DO BRASIL. AS LETRAS MINÚSCULAS INDICAM AS DIFERENÇAS ENTRE OS AMBIENTES E AS LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM A DIFERENÇA ENTRE CULTIVARES



FONTE: O autor (2017).

A variação da proteína no grão está estritamente ligada à sua interação com ambiente, com a cultivar utilizada e com a dose aplicada.

Em Palotina e Cascavel as correlações negativas entre produtividade de grãos e qualidade nutricional foram expressivas, não ocorrendo o mesmo em Ponta Grossa. Em Palotina, uma moderada correlação da produtividade de grãos com a concentração de proteína, P, Cu e Zn do grão ($r = -0,55^{**}$, $-0,53^{**}$, $-0,66^{***}$ e $-0,43^*$, respectivamente) foi obtida (TABELA 2.4). Em Cascavel as correlações negativas foram de moderadas a fortes entre produtividade de grãos com a proteína, P, Cu, Fe e Zn do grão ($r = -0,53^{**}$, $-0,72^{***}$, $-0,77^{***}$, $-0,65^{**}$ e $-0,69^{***}$, respectivamente) (TABELA 2.5). Já em Ponta Grossa não houve correlação entre produtividade de grãos e demais fatores avaliados (TABELA 2.3).

Na literatura são observadas diversas correlações negativas entre produtividade de grãos e a concentração de nutrientes nos grãos de ($r = -0,43^{***}$) com Zn, conforme Zhao et al. (2009) e de ($r = -0,41^*$) com Fe, conforme Mougonouv et al. (2007).

O maior fornecimento de N resultou em incremento de proteína, Zn e Fe nos grãos em ambos os ambientes analisados, com concentração média encontrada para a dose de 100 kg de N ha⁻¹ aplicada de 190,12 g kg⁻¹, 31,15 e 43,05 mg kg⁻¹, respectivamente nos grãos, e na menor dose de N aplicada (50 kg ha⁻¹) concentração média de 186,81 g kg⁻¹, 29,81 e 40,80 mg kg⁻¹, respectivamente (TABELA 2.3A, B e C). Este resultado indica que o aumento da concentração de proteína no grão viabiliza o aumento da qualidade nutricional do mesmo.

Os incrementos da concentração de proteína influenciaram no aumento da qualidade nutricional do grão em todos os ambientes avaliados, sendo observado em Palotina correlação positiva moderada de proteína com P ($r = 0,58^{**}$); e fortes com micronutrientes como Cu, Fe e Zn ($r = 0,75^{**}$, $0,80^{***}$ e $0,70^{***}$, respectivamente) (TABELA 2.4). Em Cascavel a proteína do grão se correlacionou fortemente com P, Cu, Fe e Zn ($r = 0,73^{**}$, $0,74^{***}$, $0,68^{***}$, $0,79^{***}$) (TABELA 2.5) e em Ponta Grossa a proteína do grão correlacionou-se moderadamente com P ($r = 0,47^*$); e com Zn ($r = 0,68^{**}$) (TABELA 2.3). Correlações entre teor de proteína são encontrados na literatura em torno de ($r = 0,59^{***}$) e ($r = 0,32^{***}$) com Zn conforme Gomes-Becerra et al. (2010) e Zhao et al. (2009), respectivamente, e com Fe e P ($r = 0,41^{***}$; $0,50^{***}$), respectivamente, Zhao et al. (2009).

As possíveis explicações para esta correlação entre proteína, Zn e Fe é extensivamente discutida. Segundo Cakmak et al. (2010), Cakmak et al. (2000) e Uauy et al. (2006), uma delas é a co-localização no loci do mesmo cromossomo com a presença de genes que codificam para alta concentração de proteína, Zn e Fe, e com a

presença do alelo *GPC-B1* (proteína do grão conteúdo B1) com o código (NAM-B1) que acelera a senescência e o aumento da remobilização de nutrientes como (N, Zn e Fe) das folhas em desenvolvimento para os grãos, além disso, a presença de genes provavelmente ligados a genes primitivos do *Triticum dicocoides*, que é o mais promissor recurso genético para a melhoria do acúmulo de Zn e Fe nos grãos.

Ocorre também explicações mais baseadas no efeito sinérgico encontrado por adequadas adubações com N e Zn fornecidas às plantas proporcionando a maior absorção pelas raízes, e posterior aumento dos transportadores de proteínas das células das raízes das plantas, que absorvem e transportam Zn e Fe para os órgãos de acúmulo (Kutman et al., 2010; Kutman et al., 2011).

O aumento do Zn e Fe no grão está estritamente relacionado a co-localização do Zn e Fe nos corpos de proteína do aleurona e do embrião (Ozturk et al., 2006; Kutman et al., 2011b). Isto porque o Zn participa na ativação enzimática para síntese de proteína, particularmente, durante o estágio de grão leitoso no trigo (Cakmak et al., 2000). O Zn não só participa da estrutura e funções da membrana, como fornece a integridade da membrana reduzindo a superóxido dismutase e catalase (Alloway et al., 2008).

O crescimento da planta depende da síntese de proteína, e da transcrição de RNA. A síntese de proteínas depende do Zn, sem o qual não ocorre a formação dos ácidos nucleicos. Nas enzimas o Zn está ligado através da imadozole e cisteína, que são corpos proteicos formados de aminas (Alloway et al., 2008).

As pesquisas com bases genéticas trouxeram outra correlação significativa com acúmulo de proteína, Zn e Fe que é o tamanho de grão. Foi observado que as cultivares primitivas apresentavam menor tamanho de grão, e com isso maior densidade de nutrientes na camada de aleurona e embrião por carboidratos no endosperma (Tiwari et al., 2009; Uauy et al., 2006).

TABELA 2.3 – ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE COMPONENTES DE RENDIMENTO E CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES NOS GRÃOS EM FUNÇÃO DE DOSES DE N EM DEZ GENÓTIPOS CULTIVADAS EM PONTA GROSSA, PARANÁ

	PTN_G	P_Grão	Cu_Grão	Fe_Grão	Se_Grão	Zn_Grão	N°grãos/esp	Perf/pl	N°esp/pl	Comp_esp	Altura_pl	Grãos	1000_grãos	PH	BMS_T
PTN_G	1														
P_Grão	0,47 *	1													
Cu_Grão	0,54 ^{ns}	0,84 ^{ns}	1												
Fe_Grão	0,40 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,32 ^{ns}	1											
Se_Grão	-0,20 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	1										
Zn_Grão	0,68 **	0,63 ^{ns}	0,72 **	0,39 ^{ns}	0,05 ^{ns}	1									
N°grãos/esp	0,11 ^{ns}	-0,23 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,14 ^{ns}	1								
Perf/pl	0,03 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,22 ^{ns}	1							
N°esp/pl	0,00 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,95 ***	1						
comp_esp	0,14 ^{ns}	0,30 ^{ns}	0,41 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,2 ^{ns}	1					
Altura_pl	-0,21 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,32 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,39 ^{ns}	-0,22 **	-0,11 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	0,26 ^{ns}	1				
Grãos	0,19 ^{ns}	-0,25 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,16 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	0,20 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	-0,25 ^{ns}	-0,26 ^{ns}	-0,24 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	1			
1000_grãos	-0,01 ^{ns}	0,30 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,00 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,38 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,43 ^{ns}	-0,34 ^{ns}	1		
PH	-0,30 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,27 ^{ns}	-0,25 ^{ns}	-0,50 **	-0,01 ^{ns}	0,18 ^{ns}	-0,25 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,36 ^{ns}	-0,012 ^{ns}	1	
BMS_T	-0,23 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,45 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,40 ^{ns}	0,28 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,46 *	0,12 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,0 ^{ns}	1

LEGENDA: ** e * são valores de significância a 1 % ($p < 0,01$) e 5 % ($0,01 < p < 0,05$) de nível de probabilidade pelo teste F; ns: não significativo ($p > 0,05$); PTN_G: proteína nos grãos; P_G: concentração de fósforo nos grãos; Cu_G: concentração de cobre nos grãos; Fe_G: concentração de ferro nos grãos; Se_G: concentração de selênio nos grãos; Zn_G: concentração de zinco nos grãos; N°grãos/esp: grãos por espiga; Perf/pl: número de perfilhos por planta; N°esp/pl: número de espigas por planta; Comp_esp: comprimento de espigas; Altura_pl: altura de planta; Grãos: produtividade de grãos; 1000_grãos: peso de mil grãos; PH: peso hectolitro de grãos; BMS_T: biomassa total da planta. FONTE: O autor (2017).

TABELA 2.4 – ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE COMPONENTES DE RENDIMENTO E CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES NOS GRÃOS EM FUNÇÃO DE DOSES DE N EM DEZ GENÓTIPOS CULTIVADAS EM PALOTINA, PARANÁ

	PTN_G	P_Grão	Cu_Grão	Fe_Grão	Se_Grão	Zn_Grão	N°grãos/esp	Perf/pl	N°esp/pl	comp_esp	Altura_pl	Grãos	1000_grãos	PH	BMS-T
PTN_G	1														
P_Grão	0,58 **	1													
Cu_Grão	0,75 ***	0,78 ***	1												
Fe_Grão	0,80 ***	0,45 *	0,64 ***	1											
Se_Grão	-0,13 ns	0,16 ns	-0,06 ns	0,0 ns	1										
Zn_Grão	0,70 ***	0,47 *	0,61 **	0,85 ***	0,04 ns	1									
N°grãos/esp	0,45 *	0,50 *	0,36 ns	0,43 *	0,43 *	0,47 *	1								
Perf/pl	0,11 ns	-0,11 ns	-0,09 ns	0,30 ns	0,14 ns	0,50 *	0,16 ns	1							
N°esp/pl	-0,12 ns	-0,16 ns	-0,22 ns	0,08 ns	0,24 ns	0,30 ns	0,06 ns	0,94 ***	1						
comp_esp	-0,35 ns	0,15 ns	-0,11 ns	-0,41 ns	0,22 ns	-0,38 ns	0,19 ns	-0,32 ns	-0,23 ns	1					
Altura_pl	-0,43 ns	-0,24 ns	-0,24 ns	-0,30 ns	0,30 ns	-0,10 ns	-0,14 ns	-0,03 ns	0,01 ns	0,42 ns	1				
Grãos	-0,55 **	-0,53 **	-0,66 ***	-0,52 **	0,29 ns	-0,43 ns	-0,33 ns	-0,09 ns	0,05 ns	-0,01 ns	0,57 ns	1			
1000_grãos	-0,14 ns	-0,34 ns	-0,42 ns	0,15 ns	0,21 ns	0,13 ns	0,15 ns	0,40 ns	0,30 ns	-0,01 ns	0,52 ns	0,39 ns	1		
PH	-0,32 ns	-0,35 ns	-0,60 **	-0,07 ns	0,14 ns	0,08 ns	-0,13 ns	0,31 ns	0,33 ns	-0,16 ns	0,47 ns	0,68 ***	0,73 ***	1	
BMS_T	0,17 ns	-0,14 ns	0,07 ns	0,17 ns	-0,02 ns	0,32 ns	0,21 ns	0,65 **	0,57 **	-0,03 ns	0,00 ns	-0,34 ns	0,19 ns	-0,14 ns	1

LEGENDA: ** e * são valores de significância a 1 % ($p < 0,01$) e 5 % ($0,01 < p < 0,05$) de nível de probabilidade pelo teste F; ns: não significativo ($p > 0,05$); PTN_G: proteína nos grãos; P_G: concentração de fósforo nos grãos; Cu_G: concentração de cobre nos grãos; Fe_G: concentração de ferro nos grãos; Se_G: concentração de selênio nos grãos; Zn_G: concentração de zinco nos grãos; N°grãos/esp: grãos por espiga; Perf/plL: número de perfilhos por planta; N°esp/pl: número de espigas por planta; Comp_esp: comprimento de espigas; Altura_pl: altura de planta; Grãos: produtividade de grãos; 1000_grãos: peso de mil grãos; PH: peso hectolitro de grãos; BMS_T: biomassa total da planta. FONTE: O autor (2017).

TABELA 2.5 – ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE COMPONENTES DE RENDIMENTO E CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES NOS GRÃOS EM FUNÇÃO DE DOSES DE N EM DEZ GENÓTIPOS CULTIVADAS EM CASCAVEL, PARANÁ

	PTN_G	P_Grão	Cu_Grão	Fe_Grão	Se_Grão	Zn_Grão	grãos/esp	Perf/pl	N°esp/pl	comp_esp	Altura_pl	Grãos	1000_grãos	PH	BMS_T
PTN_G	1														
P_Grão	0,73 ***	1													
Cu_Grão	0,74 ***	0,86 ***	1												
Fe_Grão	0,68 ***	0,91 ***	0,88 ***	1											
Se_Grão	0,28 ns	0,40 ns	0,25 ns	0,3 ns	1										
Zn_Grão	0,79 ***	0,90 ***	0,88 ***	0,89 ***	0,31 ns	1									
grãos/esp	-0,45 *	-0,77 ***	-0,67 ***	-0,66 ***	-0,33 ns	-0,68 ***	1								
Perf/pl	-0,45 *	-0,29 ns	-0,34 ns	-0,31 ns	-0,35 ns	-0,37 ns	-0,03 ns	1							
N°esp/pl	-0,43 *	-0,29 ns	-0,32 ns	-0,31 ns	-0,24 ns	-0,35 ns	-0,02 ns	0,96 ***	1						
comp_esp	-0,22 ns	-0,36 ns	-0,46 *	-0,20 ns	-0,07 ns	-0,28 ns	0,42 ns	-0,02 ns	-0,05 ns	1					
Altura_pl	-0,03 ns	0,05 ns	-0,15 ns	0,00 ns	-0,02 ns	0,10 ns	0,06 ns	-0,37 ns	-0,36 ns	0,41 ns	1				
Grãos	-0,53 **	-0,72 ***	-0,77 ***	-0,65 **	-0,42 ns	-0,69 ***	0,77 ns	0,25 ns	0,19 ns	0,53 **	0,22 ns	1			
1000_grãos	0,61 **	0,49 *	0,40 ns	0,45 *	0,49 **	0,47 **	-0,31 ns	-0,64 **	-0,57 **	0,07 ns	0,26 ns	-0,59 **	1		
PH	-0,74 ***	-0,57 **	-0,73 ***	-0,69 ***	-0,38 ns	-0,75 ***	0,23 ns	0,63 **	0,52 **	0,16 ns	0,01 ns	0,57 **	-0,60 **	1	
BMS_T	-0,13 ns	-0,08 ns	-0,21 ns	-0,06 ns	-0,29 ns	-0,06 ns	0,27 ns	0,18 ns	0,17 ns	0,29 ns	0,41 ns	0,59 **	-0,48 *	0,27 ns	1

LEGENDA: ** e * são valores de significância a 1 % ($p < 0,01$) e 5 % ($0,01 < p < 0,05$) de nível de probabilidade pelo teste F; ns: não significativo ($p > 0,05$); PTN_G: proteína nos grãos; P_G: concentração de fósforo nos grãos; Cu_G: concentração de cobre nos grãos; Fe_G: concentração de ferro nos grãos; Se_G: concentração de selênio nos grãos; Zn_G: concentração de zinco nos grãos; N°grãos/esp: grãos por espiga; Perf/pl: número de perfilhos por planta; N°esp/pl: número de espigas por planta; Comp_esp: comprimento de espigas; Altura_pl: altura de planta; Grãos: produtividade de grãos; 1000_grãos: peso de mil grãos; PH: peso hectolitro de grãos; BMS_T: biomassa total da planta. FONTE: O autor (2017).

A possível razão da maior concentração de Zn no embrião é devido a sua necessidade para a germinação de sementes, onde é necessária uma grande quantidade metabólica para ativação da diferenciação das células e para ativar o crescimento das células meristemáticas (Cakmak et al., 2000; Ozturk et al., 2006).

O incremento de N no solo influenciando no aumento de proteína, Fe e Zn nos grãos se deve a maior mobilidade que o N fornece ao Zn e ao Fe do solo, aumentando sua absorção, isto porque o aumento do N no solo, aumenta a exsudação de proteínas específicas das raízes, os fitosideróforos (Cakmak et al., 2010; Kutman et al., 2012; Alloway, 2008). Em plantas com elevada resistência à deficiência de Zn a produção de fitosideróforos pelas raízes é maior (Cakmak et al., 2010).

A cultivar BRS Parrudo foi a que apresentou a maior concentração de Zn nos ambientes analisados com média de $38,35 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn e a Mirante a menor concentração com média de 27 mg kg^{-1} de Zn. A proteína e o Fe apresentaram os melhores resultados nas cultivares BRS Parrudo ($210,15 \text{ g kg}^{-1}$ de proteína e $53,64 \text{ mg kg}^{-1}$ de Fe) e IPR Catuara ($203,5 \text{ g kg}^{-1}$ de proteína e $46,86 \text{ mg kg}^{-1}$ de Fe) (FIGURA 3A, B e C). O alto teor de Zn na semente contribui para o vigor de sementes e conseqüentemente, a maior produção de população de plantas (Cakmak et al., 2008; Ozturk et al., 2006). Este resultado indica a viabilidade de adoção de cultivares com maior eficiência de alocação de proteína, Fe e Zn no grão, como BRS Parrudo e IPR Catuara, as quais apresentaram maior qualidade nutricional e proteica. A cultivar BRS Parrudo além de apresentar a maior qualidade nutricional e proteica, ainda apresentou produtividade superior em todos os ambientes. A IPR Catuara embora tenha apresentado maior qualidade nutricional somente apresentou superior produção de grãos em Palotina.

Dessa forma, a indicação de cultivares que apresentam maior capacidade de absorver e alocar Fe e Zn nos grãos é a alternativa mais promissora para o uso eficiente do N no solo para biofortificação e produtividade de grãos, tanto pela absorção mais eficiente que influencia no transporte destes micronutrientes dentro das células, quanto da necessidade de aplicações em menores doses de N no solo. Além disso, as cultivares com alta alocação de proteína, Zn e Fe nos grãos também permaneceram entre as de maior produtividade de grãos, viabilizando economicamente a biofortificação de grãos com o uso de cultivares de altas produtividades.

3.5.3 Concentração de proteína, Fe e Zn na folha bandeira

O teor de proteína na folha bandeira foi alterado quando comparado nos ambientes, cultivares e níveis de N (TABELA 2.2). Entre os ambientes, em Ponta Grossa ocorreu a maior concentração endógena de proteínas na bandeira no momento da antese em relação aos demais (FIGURA 2.4). Além disso, 8 das 10 cultivares apresentaram resposta superiores de concentração proteica, exceto Mirante e Quartzo que apresentaram as menores concentrações.

As concentrações de nutrientes da folha bandeira, na antese, para Ponta Grossa apresentaram um valores médios de 296 g kg⁻¹ para proteína, 22,18 mg kg⁻¹ para Zn, 91,7 mg kg⁻¹ para Fe, média de 6,64 mg kg⁻¹ para Cu, de 2,27 g kg⁻¹ para P, de 3,62 g kg⁻¹ para Ca e de 1,63 g kg⁻¹ para Mg (FIGURA 2.4A).

Em Palotina a diagnose foliar apresentou valores médios de 238 g kg⁻¹ para proteína, 17,52 mg kg⁻¹ para Zn, 95,2 mg kg⁻¹ para Fe, média de 9,75 mg kg⁻¹ para Cu, de 1,95 g kg⁻¹ para P, de 3,61 g kg⁻¹ para Ca e de 1,39 g kg⁻¹ para Mg (FIGURA 2.4B).

TABELA 2.6 – CONCENTRAÇÃO DE NITROGÊNIO NA FOLHA DIAGNOSE DE 10 GENÓTIPOS DE TRIGO CULTIVADAS EM PONTA GROSSA, PALOTINA E CASCAVEL

Genótipos	Ponta Grossa	Palotina	Cascavel
	Dose de N (mg dm ⁻³)	Dose de N (mg dm ⁻³)	Dose de N (mg dm ⁻³)
	Média 50 e 100	Média 50 e 100	Média 50 e 100
Concentração de N na folha diagnose			
Guamirim	45,8 aA	35,9 bA	40,1 bA
Parrudo	42,3 aB	35,5 bA	40,5 aA
CD 1104	39,7 aB	37,5 aA	37,0 aB
CD 122	48,2 aA	36,1 bA	37,5 bB
CD 1440	43,6 aB	36,0 bA	42,4 aA
CD 150	47,1 aA	36,0 bA	37,1 bB
CD 154	48,2 aA	36,5 bA	37,6 bB
PR Catuar	45,9 aA	34,9 bA	42,8 aA
Mirante	40,8 aB	31,8 bA	35,0 bB
Quartzo	40,6 aB	35,2 bA	33,5 bB

LEGENDA: Letras minúsculas indicam a diferença entre linhas (cultivares) e maiúsculas entre colunas (ambiente). FONTE: O autor (2017).

Em Cascavel o teor médio na folha bandeira na antese foi de 255 g kg⁻¹ para proteína, 16,36 mg kg⁻¹ para Zn, 145,5 mg kg⁻¹ para Fe, média de 6,77 mg kg⁻¹ para Cu, de 2,19 g kg⁻¹ para P, de 3,61 g kg⁻¹ para Ca e de 1,39 g kg⁻¹ para Mg (FIGURA 2.4C). Essas concentrações foram semelhantes aos obtidos por Xue et al. (2012), Cakmak et al. (2010) e Pascoalino

(2014). A concentração de N na folha diagnose no momento da antese revelou a concentração adequada para as cultivares (TABELA 2.6).

O maior fornecimento de N no solo promoveu a maior concentração de proteína, com média de 267,5 g kg⁻¹ na maior dose e 259,09 g kg⁻¹ na menor dose. No entanto, não houve interação entre ambiente x genótipo x dose, indicando comportamento independente destes fatores na folha diagnose.

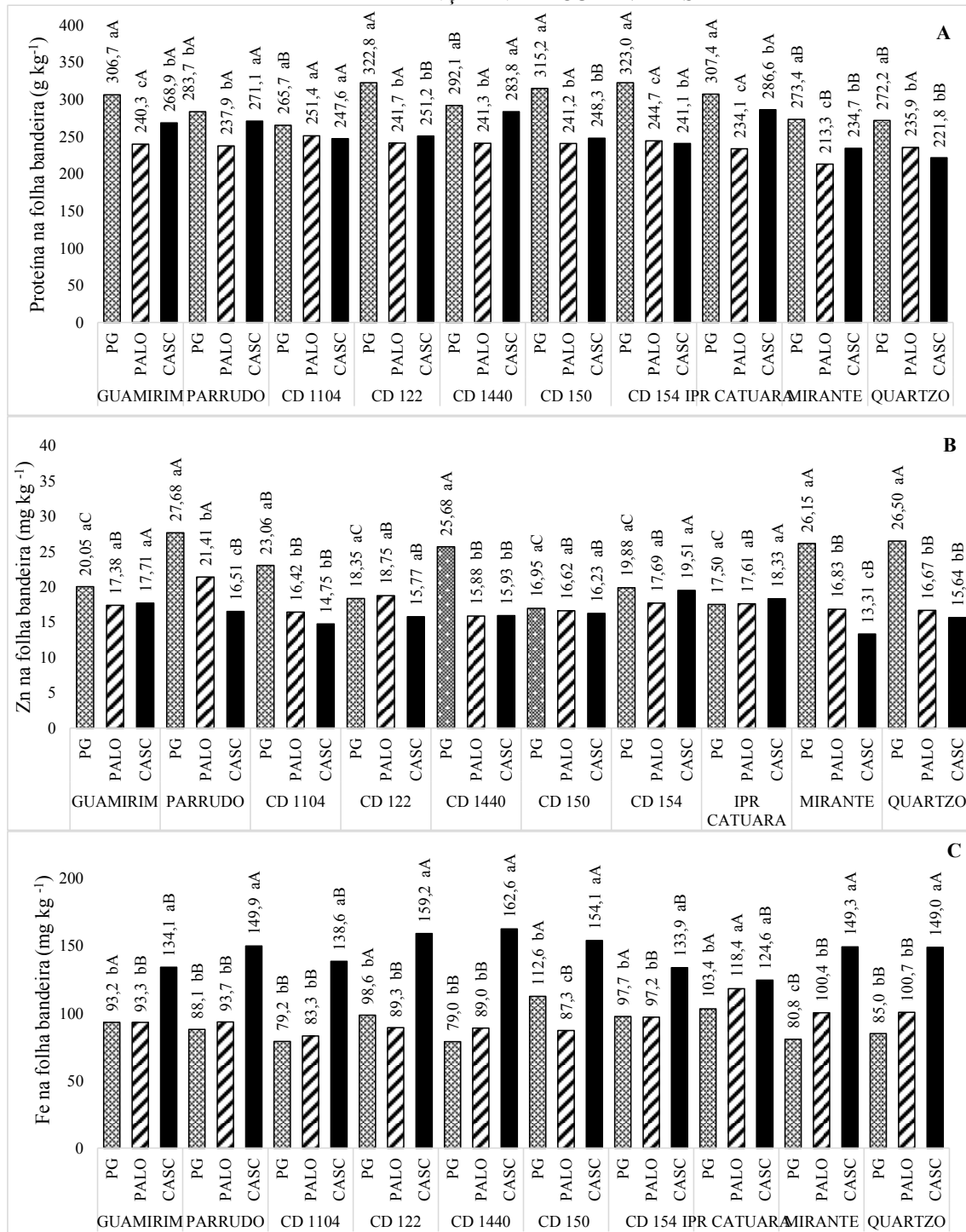
As concentrações de Zn e Fe na folha bandeira não foram alteradas com o incremento de N no solo (TABELA 2.4A, B e C). Porém, como nos grãos houve o aumento de Zn e Fe com o aumento do N no solo, isso indica que após a antese houve o aumento da absorção de Zn e Fe e posterior alocação destes para os grãos. Logo, isso comprova que o suprimento de Zn e Fe não decorre apenas da translocação destes nutrientes da folha diagnose, mas também de uma absorção continua do florescimento até fase de enchimento dos grãos (Kutman et al., 2012; Shivay et al., 2008).

A concentração de Zn e Fe na folha diagnose variou somente entre diferentes ambientes e entre diferentes genótipos, com interação somente entre estes dois fatores (TABELA 2.2). As concentrações do Zn, assim como a proteína na folha bandeira também estavam maiores em Ponta Grossa. No entanto, isso não se traduziu no melhor resultado destes elementos no grão, quando postos em comparação aos demais locais de estudo.

O fato da concentração de proteína e Zn nos grãos em Palotina serem maiores em relação aos demais ambientes, e isto não condizer com a maior concentração na folha bandeira no momento da análise diagnóstica, remete ao fato reportado por Kutman et al. (2012). Segundo estes autores solos com favorável disponibilidade de Zn e N favorecem a maior contribuição de absorção de Zn pela raiz e transporte deste nutriente direto para o enchimento dos grãos, como possivelmente verificado em Palotina. Porém, neste caso o Zn remobilizado das folhas não é o maior contribuinte para o enchimento dos grãos. Isto porque após a antese a planta continua absorvendo nutrientes pelas raízes (Kutman et al., 2011), dependendo se os teores de N, Zn e umidade do solo (Cakmak et al., 2010); Kutman et al., 2011 e Kutman et al., 2012), estiverem adequados.

O solo sob o qual encontrava-se o experimento de Palotina, apresenta solos derivados de rocha basáltica, com elevadas concentrações de Zn, além do solo deste local apresentar no momento do cultivo elevada acidez potencial. Conseqüentemente, o Zn e demais micronutrientes tornaram-se mais disponíveis.

FIGURA 2.4 – COMPARAÇÃO DE MÉDIAS DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA (A), Zn (B) E Fe NA FOLHA BANDEIRA (C) AVALIADA EM 10 GENÓTIPOS CULTIVADAS SOB DUAS DOSES DE N EM TRÊS AMBIENTES REPRESENTATIVOS DO SUL DO BRASIL. AS LETRAS MINÚSCULAS SOBRE OS VALORES DAS MÉDIAS INDICAM OS AMBIENTES E AS LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM A DIFERENÇA ENTRE CULTIVARES



FONTE: O autor (2017).

3.5.4 Concentração de proteína e Zn na biomassa aérea

O aumento da concentração de proteína e Zn na biomassa aérea variou conforme o ambiente e os genótipos. Apenas Zn apresentou interação tripla ambiente x genótipo x dose (TABELA 2.2).

Os valores obtidos na biomassa aérea variaram em média de 6,9 a 11,4 mg kg⁻¹ para Zn, e de 35,03 a 75,56 g kg⁻¹ para proteína, conforme (TABELA 2.7).

TABELA 2.7 – CONCENTRAÇÃO DE ZN E PROTEÍNA NA BIOMASSA DA PARTE AÉREA DE 10 GENÓTIPOS DE TRIGO CULTIVADAS EM PONTA GROSSA, PALOTINA E CASCAVEL

Genótipos	Ponta Grossa		Palotina		Cascavel	
	Dose de N (mg dm ⁻³)		Dose de N (mg dm ⁻³)		Dose de N (mg dm ⁻³)	
	50	100	50	100	50	100
Concentração de Zn na Biomassa aérea						
Guamirim	9,03 cA	5,67 cB	13,48 bA	19,24 aA	6,83 cA	6,52 cB
Parrudo	8,46 aA	11,10 aA	10,27 aB	11,10 aB	5,36 bA	5,03 Bb
CD 1104	7,87 cA	12,42 aA	9,43 bB	7,52 cC	5,97 cA	4,82 cB
CD 122	8,03 bA	9,99 aA	12,06 aA	11,57 aB	5,85 bA	6,16 bB
CD 1440	5,31 bB	7,60 aB	7,86 aB	9,62 aC	5,05 bA	6,18 bB
CD 150	8,54 bA	6,29 cB	12,63 aA	11,69 aB	5,55 cA	5,20 cB
CD 154	7,29 bA	8,00 Bb	13,53 aA	12,64 aB	6,02 bA	7,28 bA
IPR Catuara	4,95 Cb	7,24 bB	11,91 aA	13,18 aB	8,87 bA	9,19 bA
Mirante	8,85 aA	9,07 aB	8,36 aB	11,44 aB	5,54 bA	5,53 bB
Quartzo	7,46 bA	8,44 aB	10,90 aA	10,46 aB	5,72 bA	5,28 bB
Concentração de proteína na Biomassa aérea						
	Média 50 e 100		Média 50 e 100		Média 50 e 100	
Guamirim	42,2 bA		84,5 aA		35,7 Bb	
Parrudo	42,3 bA		63,4 a C		33,3 Cb	
CD 1104	47,0 bA		61,5 a C		28,0 cB	
CD 122	43,9 bA		81,6 aA		35,6 bB	
CD 1440	40,0 bA		66,9 Ac		29,7 cB	
CD 150	34,9 bA		88,0 aA		32,4 bB	
CD 154	42,8 bA		87,1 aA		33,9 cB	
IPR Catuara	38,9 cA		78,4 aA		60,4 bA	
Mirante	44,1 bA		71,0 aB		32,4 cB	
Quartzo	40,1 bA		73,2 aB		29,0 cB	

LEGENDA: Letras minúsculas indicam a diferença entre linhas (cultivares) e maiúsculas entre colunas (ambiente). FONTE: O autor (2017).

A maior concentração de proteína e Zn na biomassa aérea das plantas em Palotina e menor em Cascavel, acompanhou o mesmo comportamento que a proteína e o Zn no grão em Palotina e Cascavel. As cultivares que apresentaram a maior concentração de proteína e Zn na

biomassa aérea foram as cultivares BRS Guamirim, BRS Parrudo, CD 1104, CD 154 e IPR Catuara.

A concentração de proteína e Zn na biomassa aérea da planta demonstrou ser um bom indicador de acúmulo de Zn e proteína no grão em Palotina e Cascavel. Após a antese, os grãos são o principal dreno de N e nutrientes da biomassa aérea da planta, em cereais como trigo, 90% das proteínas cloroplásticas são remobilizadas para os grãos na senescência (Gregerson et al., 2008).

As concentrações de Zn na biomassa aérea foram semelhantes aos observados por Xue et al. (2012) que trabalharam com trigo *Triticum aestivum* em experimento de campo por dois anos consecutivos, e encontraram concentrações variando entre os anos e entre doses de N aplicadas de 4,1 e 10,4 mg kg⁻¹ de Zn na dose de 100 kg de N ha⁻¹. E por Kutman et al. (2012) que trabalharam com trigo *Triticum Durum* em solução nutritiva e encontraram a concentração de Zn na biomassa aérea, na maturidade fisiológica, diminuindo de 20,3 para 9,4 mg kg⁻¹ de Zn com aplicação de Zn continuamente com o aumento do fornecimento do N e, quando cessou a aplicação de Zn após antese na solução nutritiva, a concentração de Zn foi menor e diminuiu de 9,5 para 4,9 mg kg⁻¹ de Zn com o aumento da dose de N. Esta menor concentração na parte aérea com a interrupção da aplicação de Zn após a antese se deve a remobilização. Assim, em ambientes com maior oferta de Zn e N, a planta utiliza menos de suas reservas vegetativas para o enchimento dos grãos (Masclaux et al., 2000).

A concentração de proteína da biomassa área variou entre 35,03 a 75,56 g kg⁻¹ e está de acordo com os valores obtidos por Xue et al. (2012) que encontraram valores entre 25 a 43,7 g kg⁻¹ para a dose de 100 kg ha⁻¹ de N. Mas, está abaixo dos valores obtidos por Silva et al. (2014) que encontraram uma variação de 128 a 193 g kg⁻¹.

3.5.5 Componentes de rendimento

Uma significativa tripla interação entre ambiente x genótipo x dose foi observada para n° de grãos por espigas (n° grãos/espiga), produção de biomassa de parte aérea (BMS), biomassa de espigas (BES), produção de perfilhos (Perfilhos), população de plantas (PL) n° de espigas (n° espigas), perfilhos por planta (Perfilho/planta), espigas por planta (Espiga/planta) e comprimento de espigas (Comprimento espiga) (TABELA 2.2). Esta interação indica que estas variáveis apresentaram interdependência, e podem variar de acordo com os três fatores.

Não houve interação tripla para o peso de hectolitro (PH), peso de 1000 grãos (1000G) e altura de plantas (Altura-PL), que variaram conforme a interação entre ambiente e genótipo (TABELA 2.2), indicando comportamento distinto de cada cultivar em cada ambiente, sem influência da dose de N.

TABELA 2.8 – PESO DE 1000 GRÃOS E PESO DE HECTOLITRO AVALIADO EM 10 GENÓTIPOS CULTIVADAS SOB DUAS DOSES DE N EM TRÊS AMBIENTES REPRESENTATIVOS DO SUL DO BRASIL

Genótipos	Ponta Grossa	Palotina	Cascavel
	Dose de N (mg dm^{-3})	Dose de N (mg dm^{-3})	Dose de N (mg dm^{-3})
	Média 50 e 100	Média 50 e 100	Média 50 e 100
Peso de 1000 grãos (g)			
Guamirim	33,6 aD	21,3 bC	33,4 aC
Parrudo	34,5 bC	26,4 cA	36,3 aB
CD 1104	32,7 aD	24,5 bB	31,9 aD
CD 122	31,0 aE	20,1 bD	31,3 aD
CD 1440	30,6 aE	22,4 bC	31,5 aD
CD 150	33,6 aD	20,4 bD	32,3 aD
CD 154	32,6 bD	16,8 cE	37,9 aB
IPR Catuarã	40,2 bA	25,4 cB	42,0 aA
Mirante	37,4 aB	26,9 bA	37,0 aB
Quartzo	35,1 aC	24,4 bB	34,2 aC
Peso hectolitro de grãos (kg hl^{-1})			
Guamirim	71,8 bB	65,9 cD	82,1 aB
Parrudo	65,0 cE	67,6 bC	81,2 aB
CD 1104	72,9 bA	74,3 bA	85,4 aA
CD 122	70,3 bC	68,6 cC	83,5 aA
CD 1440	73,9 bA	69,9 cB	82,7 aB
CD 150	71,5 bB	63,6 cE	83,7 aA
CD 154	67,3 bD	53,5 cF	82,0 aB
IPR Catuarã	73,8 bA	68,0 cC	80,9 aB
Mirante	68,2 cD	69,9 bB	84,0 aA
Quartzo	70,0 bC	68,0 cC	82,8 aB

LEGENDA: Letras minúsculas indicam a diferença entre linhas (cultivares) e maiúsculas entre colunas (ambiente). FONTE: O autor (2017).

As médias da produção de BMS, número de perfilhos e nº espigas, perfilho/planta, espiga/planta, comprimento espiga foram significativos em Palotina (TABELA 2.8 e 2.9).

A produção de BMS variou de 3280 a 13,279 kg ha^{-1} , com média de 5982,0 kg ha^{-1} e foi maior em Palotina. Dentre as cultivares de maior produção de BMS destacam-se a BRS Parrudo e a Quartzo (TABELA 2.6).

TABELA 2.9 – NÚMERO DE PERFILHO POR PLANTA E NÚMERO DE ESPIGAS POR PLANTA AVALIADO EM 10 GENÓTIPOS CULTIVADAS SOB DUAS DOSES DE N EM TRÊS AMBIENTES REPRESENTATIVOS DO SUL DO BRASIL

Genótipos	Ponta Grossa		Palotina		Cascavel	
	Dose de N (mg dm ⁻³)		Dose de N (mg dm ⁻³)		Dose de N (mg dm ⁻³)	
	50	100	50	100	50	100
Número de perfilhos por planta (ud)						
Guamirim	1,96 bA	3,57 aA	4,80 aA	5,04 aA	3,99 aA	3,51 aC
Parrudo	2,24 bA	2,30 bA	4,47 aA	3,67 aA	2,85 bB	2,81 bC
CD 1104	3,82 aA	2,69 aA	4,11 aA	4,01 aA	4,82 aA	4,28 aB
CD 122	2,77 cA	2,77 cA	3,84 cA	5,06 bA	3,50 cA	6,66 aA
CD 1440	2,81 aA	2,63 aA	3,33 aA	4,31 aA	3,96 aA	2,62 aC
CD 150	1,85 bA	3,39 aA	4,26 aA	3,61 aA	4,54 aA	3,63 aC
CD 154	2,13 aA	2,38 aA	3,33 aA	3,31 aA	2,09 aB	2,46 aC
IPR Catuara	2,19 bA	2,20 bA	4,00 aA	3,48 aA	2,30 bB	1,89 bC
Mirante	3,61 bA	3,38 bA	4,90 aA	4,18 aA	2,66 bB	4,56 aB
Quartzo	2,48 bA	2,02 bA	4,55 aA	4,54 aA	3,16 bB	2,38 bC
Número de espigas por planta (ud)						
Guamirim	1,80 cB	3,62 bA	4,62 aA	4,78 aA	3,22 bA	3,17 bC
Parrudo	1,69 aB	2,25 aA	3,65 aB	3,00 aB	1,87 aB	2,61 aC
CD 1104	3,53 aA	2,99 aA	5,09 aA	3,92 aA	4,01 aA	3,70 aB
CD 122	2,74 bA	2,55 bA	3,67 bB	4,96 aA	3,34 bA	6,28 aA
CD 1440	2,88 aA	2,75 aA	3,11 aB	3,96 aA	2,72 aB	2,38 aC
CD 150	1,76 bB	3,44 aA	3,94 aB	4,14 aA	3,78 aA	2,71 bC
CD 154	2,13 bB	2,27 bA	3,15 aB	3,35 aB	1,79 bB	1,50 bC
IPR Catuara	2,33 aB	2,36 aA	3,57 aB	2,50 aB	1,82 aB	1,37 aC
Mirante	3,70 aA	3,58 aA	4,78 aA	4,09 aA	2,60 aB	4,30 aB
Quartzo	2,13 bB	1,86 bA	4,62 aA	4,72 aA	2,83 bB	2,27 bC

LEGENDA: Letras minúsculas indicam a diferença entre linhas (cultivares) e maiúsculas entre colunas (ambiente). FONTE: O autor (2017).

A produção de BMS correlacionou-se positivamente com a altura da planta ($r = 0,46^*$) em Ponta Grossa (TABELA 2.3), com perfilho/planta e espigas/planta ($r = 0,65^{**}$ e $0,57^{**}$), respectivamente), em Palotina (TABELA 2.4) e com peso de 1000 grãos ($r = 0,59^{**}$) em Cascavel (TABELA 2.5). Indicando um comportamento muito variável desta componente agrônômica.

O nº de grãos/espiga correlacionou-se com PH ($r = -0,50^{**}$) em Ponta Grossa (TABELA 2.3); positivamente com proteína, P, Fe, Se e Zn nos grãos ($r = 0,45^*$; $0,50^*$; $0,43^*$; $0,43^*$; $0,47^*$) em Palotina (TABELA 2.4) e negativamente com proteína, P, Cu, Fe, e Zn do grão com correlação de ($r = -0,45^*$, $-0,77^{***}$, $-0,67^{***}$, $-0,66^{***}$ e $-0,68^{***}$), respectivamente em Cascavel (TABELA 2.5). Mostrando que a menor concentração de nutrientes em Cascavel deve-se ao efeito de diluição em função do aumento do nº de grãos por espiga, enquanto em Palotina a um efeito de concentração e menor nº de grãos por espiga.

Esta componente agrônômica mostrou-se importante para a seleção de genótipos voltados a biofortificação.

3.5.6 Análise de componentes principais

A análise de componentes principais (ACP) com os componentes de rendimento e nutrientes do grão e da folha bandeira em Ponta Grossa, Palotina e Cascavel demonstrou que os dois primeiros componentes principais explicaram 37,4%, 49,3% e 59,3% da variabilidade dos dados, respectivamente (FIGURAS 2.5, 2.6 e 2.7).

Com base na análise multivariada (ACP), houve similaridade da correlação entre a concentração de proteína no grão com a concentração de Zn, Fe entre outros nutrientes como P, K e Mg nos grãos nos três locais avaliados.

Quanto ao comportamento das cultivares, a cultivar BRS Parrudo (P- 50 e P-100) apresentou a maior correlação com a concentração de Zn, Fe e proteína nos grãos nos três ambientes (FIGURAS 2.5, 2.6 e 2.7).

As variáveis agrônômicas se correlacionaram em maior quantidade com o acúmulo nutricional em Ponta Grossa. Foram relacionadas a este, o nº de perfilhos/ planta, o nº de espigas/planta, o peso de 1000 grãos, o comprimento de espigas e o nº de grãos/espiga (FIGURA 2.5). Em menor extensão, das variáveis agrônômicas avaliadas as que mais se relacionaram com conteúdo de nutrientes em Palotina foram nº de grãos/espiga e massa de espigas (FIGURA 2.6) e em Cascavel o peso de 1000 grãos (FIGURA 2.7).

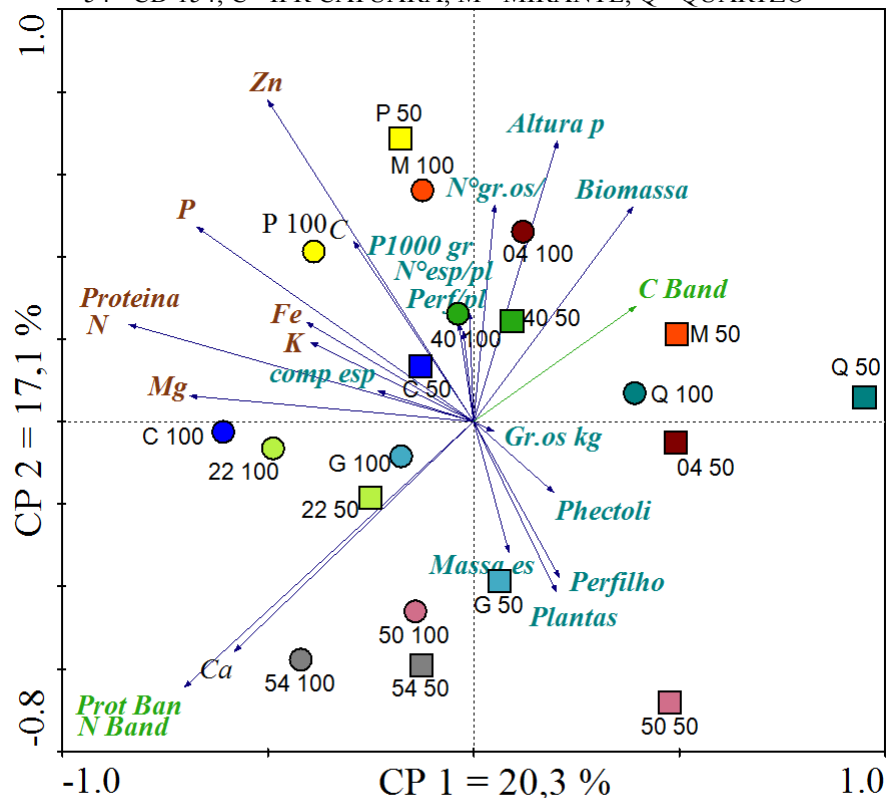
Houve comportamento antagônico entre produtividade de grãos e concentração de nutrientes (FIGURA 2.5, 2.6 e 2.7). O que indica a ocorrência de um efeito de diluição dos nutrientes devido ao ganho de carboidratos na biomassa dos grãos, o que faz com que seja disponibilizada à sociedade genótipos que apresentam altas produtividades e baixo fornecimento de nutrientes aos humanos (Gomes-Becerra et al., 2010; Zhao et al., 2009; Tiwari et al., 2009).

Houve também comportamento diferente quanto a produtividade de grãos e número de afilhos por planta nos três locais. Em Ponta Grossa e Cascavel a produtividade de grãos foi inversamente proporcional, o que indica relação com as diferenças genéticas dessas cultivares em destinar o gasto energético mais para produção de grãos ou mais para produção de biomassa aérea (Silva et al., 2014). Contudo, não era esperado que em Palotina o nº de perfilhos/planta estivesse estritamente relacionado a produtividade de grãos.

Ainda com relação a maior quantidade de afilhos por planta, a maior correlação com conteúdo de proteína, Zn e Fe do grão somente em Ponta Grossa não era esperado. Por outro lado, a cultivar BRS Parrudo que apresenta perfilhamento entre 2,6 a 6,2 nos três ambientes, tem alto potencial de perfilhamento (TABELA 2.8), e foi a que apresentou maior correlação ao aumento nutricional de proteína, Zn e Fe. Esses dados estão consistentes com o teste de Tukey que apresentou esta cultivar como a de maior produtividade de biomassa aérea, bem como, a maior concentração de proteína, Zn e Fe (TABELA 2.2).

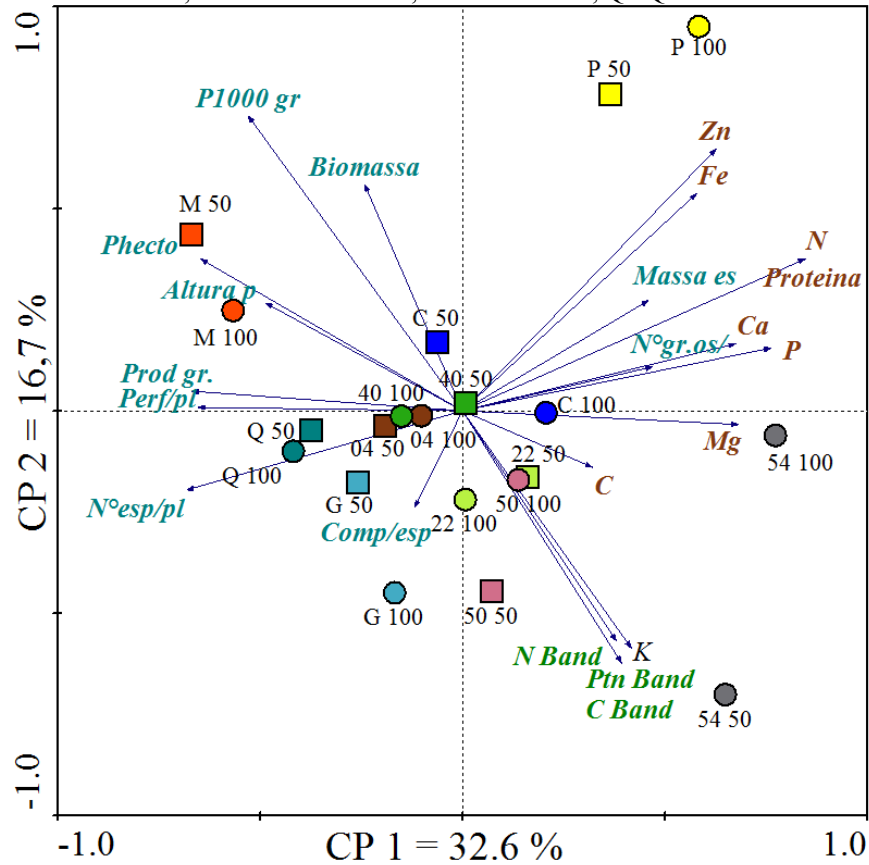
A escolha da cultivar através da avaliação dos componentes agronômicos pode ser indicativo de plantas com maior potencial produtivo para grãos, ou ainda, onde a escolha de plantas com potencial para afilhamento pode apresentar estrita relação com o maior potencial para biofortificação.

FIGURA 2.5 – ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (ACP) USANDO COMO VARIÁVEIS DE RESPOSTA (DEPENDENTES) OS DADOS DE NUTRIENTES DOS GRÃOS E DA FOLHA BANDEIRA, COMPONENTES AGRONÔMICOS DOS GENÓTIPOS E DE RENDIMENTO DE GRÃOS EM PONTA GROSSA-PR. CP: COMPONENTE PRINCIPAL; 50 = DOSE DE 50 kg ha⁻¹ DE N; 100 = DOSE DE 100 kg ha⁻¹ DE N; G 50=BRS GUAMIRIM; P= BRS PARRUDO; 04= CD 1104; 22 =CD 122; 40= CD 1440; 50= CD 150; 54= CD 154; C= IPR CATUARA; M= MIRANTE; Q= QUARTZO



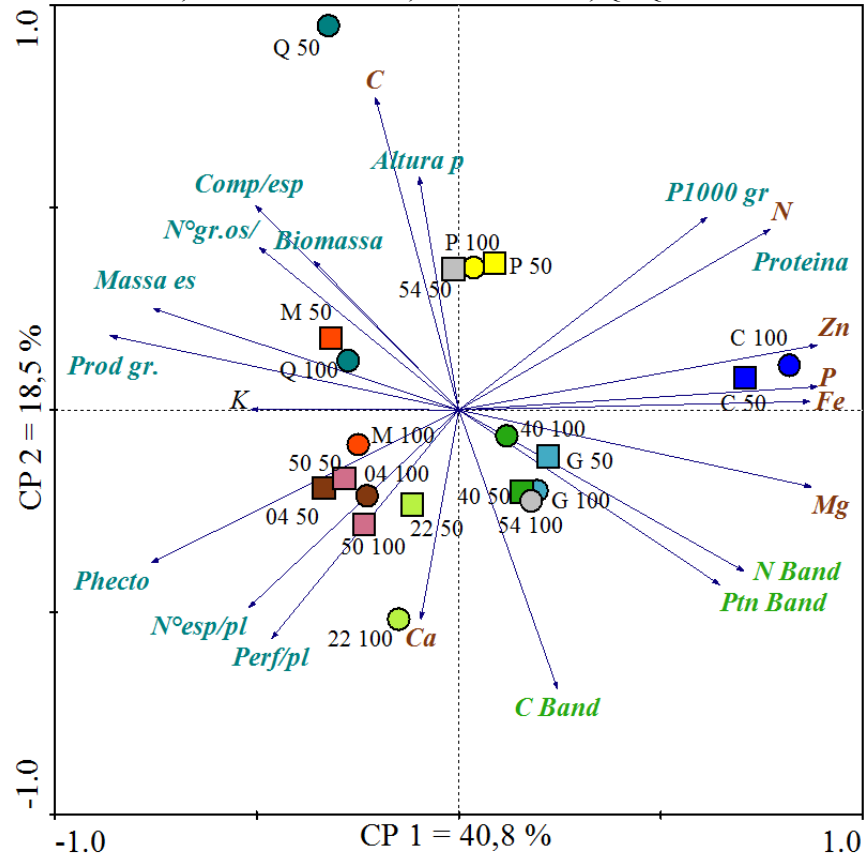
FONTE: O autor (2017).

FIGURA 2.6 – ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (ACP) USANDO COMO VARIÁVEIS DE RESPOSTA (DEPENDENTES) OS DADOS DE NUTRIENTES DOS GRÃOS E DA FOLHA BANDEIRA, COMPONENTES AGRONÔMICOS DOS GENÓTIPOS E DE RENDIMENTO DE GRÃOS EM PALOTINA-PR. CP: COMPONENTE PRINCIPAL; 50 = DOSE DE 50 kg ha⁻¹ DE N; 100 = DOSE DE 100 kg ha⁻¹ DE N; G 50=BRS GUAMIRIM; P= BRS PARRUDO; 04= CD 1104; 22 =CD 122; 40= CD 1440; 50= CD 150; 54= CD 154; C= IPR CATUARA; M= MIRANTE; Q= QUARTZO



FONTE: O autor (2017).

FIGURA 2.7 – ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (ACP) USANDO COMO VARIÁVEIS DE RESPOSTA (DEPENDENTES) OS DADOS DE NUTRIENTES DOS GRÃOS E DA FOLHA BANDEIRA, COMPONENTES AGRONÔMICOS DOS GENÓTIPOS E DE RENDIMENTO DE GRÃOS EM CASCAVEL-PR. CP: COMPONENTE PRINCIPAL; 50 = DOSE DE 50 kg ha⁻¹ DE N; 100 = DOSE DE 100 kg ha⁻¹ DE N; G 50=BRS GUAMIRIM; P= BRS PARRUDO; 04= CD 1104; 22 =CD 122; 40= CD 1440; 50= CD 150; 54= CD 154; C= IPR CATUARA; M= MIRANTE; Q= QUARTZO



FONTE: O autor (2017).

3.5.7 Eficiência de uso de nitrogênio

A eficiência de uso de nitrogênio conforme Fageria & Barbosa Filho (1981) separa as cultivares por comportamento em cada quadrante em relação a eficiência do uso interno do N para conversão em produção de grãos, ou acúmulo de nutrientes como, proteína, Fe e Zn.

As cultivares Quartzo, CD 150 e CD 1104 foram as mais eficientes em produção de grãos com menor aplicação de N nos três ambientes (ER e ENR) (FIGURA 2.8A, B e C).

As cultivares Quartzo e CD 1104 apresentaram elevado potencial de produção de grãos a baixas doses de N (ER e ENR), porém com baixo potencial para biofortificação em todos os ambientes (FIGURA 2.8D a L). As exceções foram a Quartzo, com potencial de aumento da qualidade nutricional somente em Cascavel (TABELA 2.8F, I e L), ambiente que apresentou a melhor produtividade de grãos, e a CD 1104 que destacou-se quanto ao acúmulo de proteína e nutrientes em Palotina (FIGURA 2.8D, G e J).

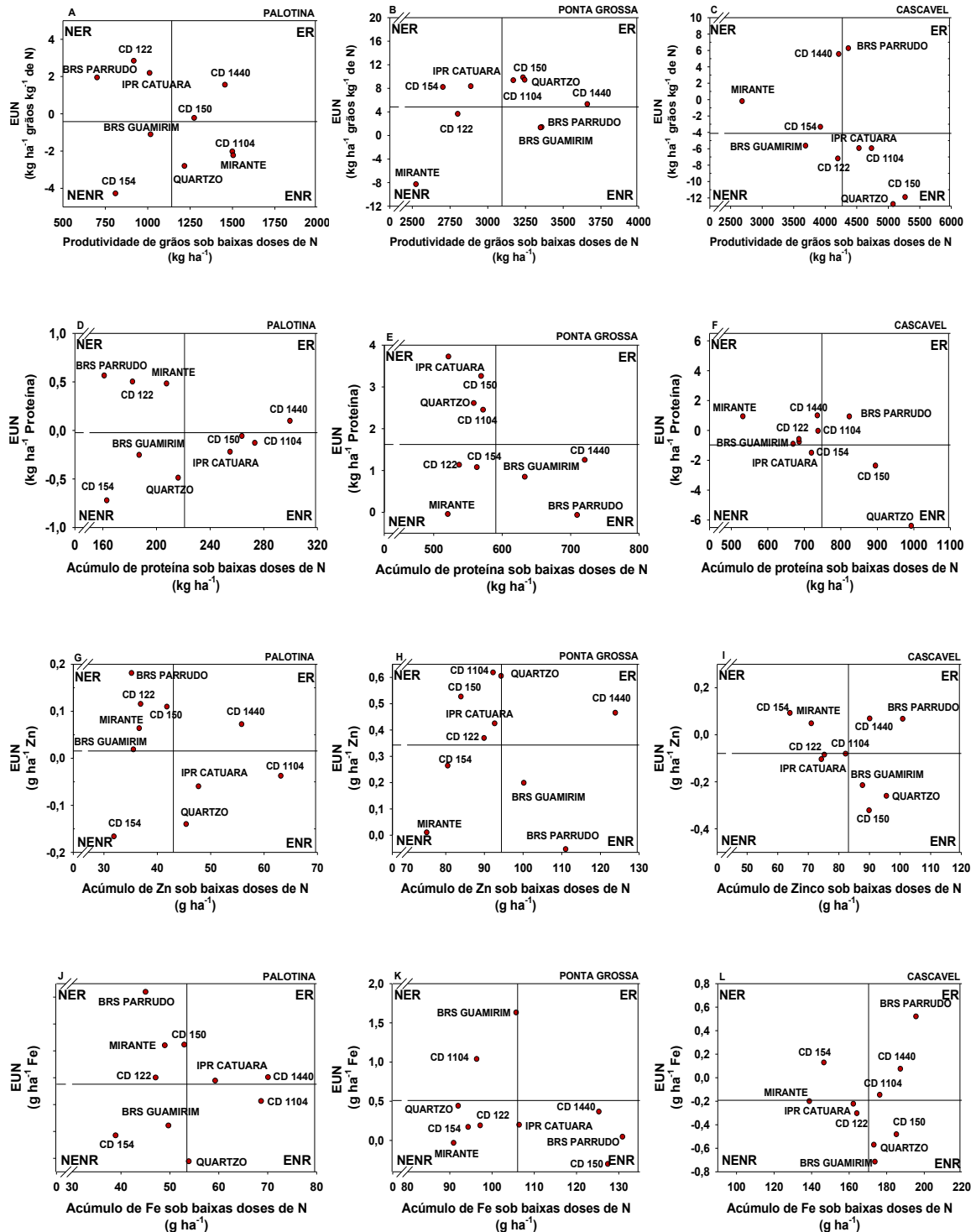
A cultivar CD 150 foi eficiente e responsiva (ER) potencial para produtividade de grãos em Palotina e Ponta Grossa (FIGURA 2.8A e B) e expressou potencial para biofortificação, com menor fornecimento de N no solo apenas em Palotina (FIGURA 10D, G e J).

A cultivar BRS Guamirim que foi eficiente em Ponta Grossa tanto para produtividade de grãos, acúmulo de proteína e Zn (FIGURA 2.8B, E e H) não expressou tal eficiência em Cascavel e Palotina (FIGURA 2.8A, D, G, C, F, I).

A BRS Parrudo foi eficiente (ER e ENR) em converter baixas doses de N em maiores produtividades de grãos, acúmulo de proteínas, Fe e Zn em Ponta Grossa e Cascavel, exceto em Palotina.

Os dados de eficiência de uso de N confirmaram os resultados de produtividade de grãos e nutrientes obtidos pelo teste de Tukey (TABELA 2.2). Em termos de maior concentração de proteína, Zn e Fe nos grãos a cultivar BRS Parrudo se destacou em relação às demais em todos os locais (FIGURAS 2.2A, 2B e 2C). Mas, quando submetida à baixas doses de N em Palotina esta não obteve o melhor resultado (FIGURA 2.2).

FIGURA 2.8 – EFICIÊNCIA DE USO DE NITROGÊNIO DE GENÓTIPOS DE TRIGO PARA PRODUTIVIDADE DE GRÃOS EM PALOTINA (A), PONTA GROSSA (B) E CASCAVEL (C); PARA ACÚMULO DE PROTEÍNA NO GRÃO EM PALOTINA (D), PONTA GROSSA (E), CASCAVEL (F); PARA ACÚMULO DE ZINCO NO GRÃO EM PALOTINA (G), PONTA GROSSA (H), CASCAVEL (I); E PARA ACÚMULO DE FERRO NO GRÃO EM PALOTINA (J), PONTA GROSSA (K), E CASCAVEL (L).



FONTE: O autor (2017).

A alocação das cultivares nos quatro quadrantes de eficiência (FIGURA 2.8) separou a CD 1440 e a BRS Parrudo como sendo as cultivares mais promissoras (ER E ENR) voltadas tanto para a rendimento de grãos como para a biofortificação e conseqüente nutrição humana. Isto porque elas se localizaram como eficientes para produção de grãos e alto potencial de acúmulo de Fe e Zn na parte comestível às baixas doses de N em todos os ambientes no caso da CD 1440, exceto proteína em Cascavel e acúmulo de proteína, Fe e Zn para a maioria dos ambientes no caso da BRS Parrudo.

A seleção de cultivares que apenas apresentam aumento da concentração de Zn e Fe, sem contribuir para a maior capacidade de produção de grãos não necessariamente resultam em genótipos com alta capacidade de acúmulo de Zn e Fe (Cakmak et al., 2010). A seleção da cultivar adequada ao ambiente e a dose de N mostra a possibilidade de desenvolvimento de cultivares de trigo através da melhoria da absorção ou da eficiência de uso interno do N na planta (Sattelmacher et al., 1994).

3.6 CONCLUSÕES

As maiores concentrações de proteína, Zn e Fe nos grãos estão relacionadas a interação ambiente x genótipo x dose, pois o fator ambiental influenciou no aumento da produtividade de grãos, e conseqüentemente, na redução da concentração de nutrientes.

A cultivar BRS Parrudo apresentou maior perfilhamento, concentração de proteína, Zn e Fe nos grãos e posicionou-se entre as de maior produtividade de grãos em todos os ambientes. Em termos de componentes agronômicas relacionadas à cultivares de maior potencial para biofortificação destacou-se o afilhamento e a produção de biomassa aérea, enquanto a componente agronômica nº de grãos por espiga esteve inversamente relacionado ao efeito ambiental, pois, em Palotina houve correlação positiva com a maior concentração de nutrientes, e em Cascavel houve correlação negativa em função da diluição dos nutrientes.

Com o índice de uso eficiente de N classificou-se as cultivares BRS Parrudo e CD 1440 como mais promissoras que unem alto acúmulo de proteína, Zn e Fe nos grãos, alta produtividade de grãos, e menos exigentes em adubação nitrogenada, na maioria dos ambientes. O aumento da dose de N não foi eficiente em aumentar a produtividade de grãos em todos os ambientes, mas aumentou o teor de Zn e Fe nos grãos, mostrando ser possível adotar cultivares mais eficientes na alocação destes nutrientes nos grãos, obtendo maiores rendimentos de grãos e economizando 50% da adubação nitrogenada, segundo o uso do índice de uso eficiente de N.

3.7 REFERÊNCIAS

ACIKSOZ, S.B.; YAZICI, A.; OZTURK, L.; CAKMAK, I. Biofortification of wheat with iron through soil and foliar application of nitrogen and iron fertilizers. *Plant Soil*, 2011.

ALLOWAY, B.J. Zinc in soils and crop nutrition. International Zinc Association Communications. IZA and IFA Brussels, 2.ed., 2008. 139p.

BARRACLOUGH, P. B.; HOWART, J.R.; JONES, J.; LOPEZ-BELLIDO, R.; PARMAR, S.; SHEPERD, C.E.; HAWKESFORD, M.J. Nitrogen efficiency of wheat: Genotypic and environmental variation and prospects for improvement. *European Journal Agronomy*, 33:1-11, 2010.

CAKMAK, I.; OZKAN, H.; BRAUN, H.J.; WELCH, R. M.; ROMHELD, V. Zinc and iron concentrations in seeds of wild primitive and modern wheats. *Food Nutrition Bull*, 21:401-403, 2000.

CAKMAK, I.; PFEIFFER, W.H.; McCLAFFERTY, B. Biofortification of Durum wheat with zinc iron. *Cereal Chemistry*, 87, 2010.

CAKMAK, I. Plant nutrition research: Priorities to meet human needs for food in sustainable ways. *Plant Soil*, 247:3-24, 2002.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Observatório agrícola, Acompanhamento da safra de grãos. Monitoramento agrícola – cultivos de inverno (safra 2015) e de verão (safra 2015/16). 3:4, 2016.

EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Ed: Fábio Cesar da Silva. - 2. ed. rev. ampl. Brasília- DF, 2009.

ERNANI P. R.; SANTOS, J. C. P.; KAMINSKI, J.; RHEINHEIMER, D. Prediction of phosphorus uptake by a mechanistic model in a low phosphorus highly weathered soil affected by mycorrhizae inoculation. *Journal Plant Nutrition* 17: 1067-1078, 1994.

FAGERIA, N.K.; BARBOSA FILHO, M.P. Avaliação de cultivares de arroz para maior eficiência na absorção de fósforo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 16:777-782, 1981.

FREITAS, T.F.S. de.; SILVA, P.R.F. da.; MARIA, C.H.P.; MENEZES, V.G.; ANGHINONI I.; BREDEMEIER, C.; VIEIRA, V.M. Produtividade de arroz irrigado e eficiência da adubação nitrogenada influenciadas pela época da semeadura. *R. Bras. Ci. Solo*, 32:2397-2405, 2008.

GAO, X.; ODEAN. M.L.; GRANT,C.A. Grain concentration 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*, 121, 36-44, 2012.

GARVIN, D. F.; WECH, R.M.; FINLAY, J.W. Historical shifts in seed mineral micronutrient concentration of U.S. hard red winter wheat germplasm. *Journal Science Food Agriculture* 86:2213-2220, 2006.

GAUER, L.E.; GRANT, C.A.; GEHL, D.T.; BAILEY, L.D. Effects of nitrogen fertilization on grain protein content, nitrogen uptake, and nitrogen use efficiency of six spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars, in relation to estimated moisture supply. *Can. J. Plant. Sci.* 72:235-241, 1992.

GOMEZ-BECERRA, H.F.; ERDEM, H.; YAZICI, A.; TUTUS, Y.; TORUM, B.; OZTURK, L.; CAKMAK, I. Grain concentrations of protein and mineral nutrients in a large collection of spelt wheat grown under different environments. *Journal of Cereal Science*, 52: 342-349, 2010.

GREGERSEN, P.L.; HOLM, P.B.; KRUPINSKA, K. Leaf senescence and nutrient remobilisation in barley and wheat. *Plant Biology*, 37-49, 2008.

HAILE, D.; NIGUSSIE, D.; AYANA, A. Nitrogen use efficiency of bread wheat: Effects of nitrogen rate and time of application. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12:389-409, 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 Soil*, 342:149-164, 2011a.

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

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

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e perspectivas. 2 ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 201p.

MASCLAUX, C.; VALADIER, M. H.; BRUGIERE, N.; MOROT-GAUDRY, J.F.; HIREL, B. Characterization of the sink/ source transition in tabaco (*Nicotiana tabacum L*) shoots in relation to nitrogen management in leaf senescence. *Planta*, 211:510-218, 2000.

MOUGONOUV, A.; GOMEZ-BECERRA, H.F.; ABUGALIEVA, A.; DZHUNUSOVA, M.; YESSIMBEKOVA, M.; MUMINJANOV, H.; ZELENSKIY, Y.; OZTURK, L.; CAKMAK, I. Iron and zinc grain density in common wheat grown in Central Asia. *Euphytica*, 155:193-203, 2007.

NOURELDIN, N.A.; SAUDY, H.S.; ASHMAWY, F.; SAED, H.M. Grain yield response index of bread wheat cultivars as influenced by nitrogen levels. *Annals of Agriculture Science*, 58:2, 147-152, 2013.

OZTURK, L.; YAZICI, M. A.; YUCEL, C.; TORUN, A.; CEKIC, C.; BAGCI, A.; OZKAN, H.; BRAUN, H. J.; SAYERS, Z.; CAKMAK, I. Concentration and localization of zinc during seed development and germinations in wheat. *Physiologia Plantarum*, 128: 144-152, 2006.

PASCOALINO, J.A.L. Estratégias de adubação com zinco para biofortificação agrônômica de trigo. Dissertação de mestrado em Ciência do Solo, 2014.

SANGHVI, T. G. Economic Rationale for Investing in Micronutrient Programs. A Policy Brief Based on New Analyses. Office of Nutrition, Bureau for Research and Development, United States Agency for International Development, Washington, DC. 1996.

SATTELMACHER, B.; HORST, W.J.; BECKER, H.C. Factors that contribute to genetic variation for nutrient efficiency of crop plants. *Pflanzen. Bodenk*, 157: 215-224, 1994.

SHIVAY, Y. S.; PRASAD, R.; RAHAL, A. Relative efficiency of zinc oxide and zinc sulfate- enriched urea for spring wheat. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 82:259-264, 2008.

SILVA, C. L.; BENIN, G.; BORNHOFEN, E.; TODESCHINI, M. H.; DALLO, S. C.; SASSI, L.H.S. Characterization of brazilian wheat cultivars in terms of nitrogen use efficiency. *Bragantia*, 73:87-96, 2014.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO/ COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO, SBSCS/CQFS, 2004. Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. 10 ed. Porto Alegre, 400p.

TER BRAAK, C.J.F.; SMILAUER, P. CANOCO Reference manual and CanoDraw for Windows user's guide: Software for Canonical Community Organization (version 4.5) Ithaca, Microcomputer Power, 500p.

TIWARI, V. K.; RAWAT, N. CHUUNEJA, P.; NEELAM, K.; AGGARWAL, R.; RANDHAWA, S.; DHALIWAL, H. S.; KELLER, B.; SINGH, K. Mapping of quantitative trait loci for grain iron and zinc concentration in diploid a genome wheat. *Journal of Heredity*, 100: 771-776, 2009.

UAUY, C.; BREVIS, J. C.; DUBCOVSKY, J. The high grain protein content gene *Gpc-B1* accelerates senescence and has pleiotropic effects on protein content in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 57; 2785-2794, 2006.

WELCH, R.M.; GRAHAM, R.D. A new paradigm for world agriculture: meeting human needs. Productive, sustainable, nutritious. *Field Crops Research*, 60, 1-10, 1999.

WELCH, R.M. Linkages Between Trace Elements in Food Crops and Human Health. IN: Alloway (ed.), *Micronutrient Deficiencies in Global Crop Production*, 287, Springer Science + Business Media B.V. 2008.

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*, 182:49-84, 2009.

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

ZHAO, F.J.; SU, Y.H.; DUNHAM, S.J.; RAKSZEGI, M.; BEDO, Z.; McGRATH, S.P.; SHEWRY, P.R. Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin. *Journal of Cereal Science*, 49: 290-295, 2009.

4. CAPÍTULO III. INFLUÊNCIA DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DO SOLO RIZOSFÉRICO NO USO EFICIENTE DE N PARA BIOFORTIFICAÇÃO

4.1 RESUMO

O entendimento dos mecanismos de obtenção de N do solo rizosférico e sua relação com o uso eficiente de N em cultivares de trigo com maior capacidade de alocação de proteínas, Fe e Zn nos grãos é uma alternativa para amenizar as deficiências nutricionais humanas e promover o uso mais racional do N. Este trabalho objetivou a) avaliar a relação entre atividade enzimática do solo rizosférico de cultivares de trigo e a absorção, EUN e acúmulo de proteína, Zn e Fe; b) identificar índices de EUN que apontem as cultivares mais eficientes à biofortificação. Foram selecionados 4 genótipos com potencial para biofortificação e alta produtividade de grãos, de um experimento de campo, submetidos a 2 doses de N (50 e 100 kg ha⁻¹) em Ponta Grossa-PR. Foram avaliados o N, Fe e Zn da folha bandeira e a concentração de N, e o acúmulo de proteína, Fe e Zn nos grãos e N da parte aérea em estágio de maturidade fisiológica. Foram obtidos a produtividade de grãos e biomassa seca da parte aérea. Em paralelo, na época de florescimento pleno amostras de solo rizosférico foram coletadas e analisadas quanto à atividade enzimática da β -glicosidases, proteases e de hidrólise de fluoresceína diacetato (FDA), e quanto ao C-biomassa microbiana. A partir dos dados calculou-se a eficiência de uso de N e dos índices calculou-se os índices (EUN), eficiência de absorção de N (EAN), eficiência de utilização de N (EUtN) e índice de colheita de N (ICN). As cultivares CD 1440 e BRS Parrudo apresentaram maior acúmulo de Zn, Fe e proteína possivelmente associado à maior atividade enzimática da protease no solo rizosférico proporcionando maior EAN. O aumento do fornecimento do N influenciou no acúmulo de nutrientes para biofortificação, não alterou a atividade enzimática, mas reduziu a EUN e a EAN. Ao final constatou-se que a atividade enzimática, sobretudo da protease e β -glicosidase são boas indicadora do uso eficiente de N e do acúmulo de nutrientes nos grãos. Os índices de eficiência de uso de N avaliados, apontam para a EAN como um indicador de acúmulo de nutrientes nos grãos. A avaliação da EUN para acúmulo de proteína e N se mostrou melhor metodologia para identificação de cultivares eficientes no uso de N e acúmulo de proteína nos grãos.

Palavras-chave: EUN. Protease. β -Glicosidase. Acúmulo de Zn.

4.2 ABSTRACT

The understanding of the N obtaining mechanisms of the rhizospheric soil and its relation with the efficient use of N in wheat cultivars with greater capacity of protein, Fe and Zn allocation in the grains is an alternative to ameliorate the human nutritional deficiencies and promote the use. The objective of this work was: a) to evaluate the relationship between enzymatic activity of the rhizospheric soil of wheat cultivars and the absorption, EUN and accumulation of protein, Zn and Fe; b) identify EUN indexes that indicate the most efficient cultivars for biofortification. For this, 4 genotypes with biofortification potential and high grain yield were selected from a field experiment, submitted to two rates of N (50 and 100 kg ha⁻¹) in Ponta Grossa-PR. The N, Fe and Zn of the flag leaf and the concentration of N, and the accumulation of protein, Fe and Zn in the grains and N of the aerial part in the stage of physiological maturity were evaluated. Grain yield and dry shoot biomass were obtained. In parallel, during the flowering season, samples of rhizospheric soil were collected and analyzed for the enzymatic activity of β -glycosidases, proteases and hydrolysis of fluorescein diacetate (FDA), and for microbial C-biomass. From the data, the efficiency of the use of N was calculated and the indices (EUN), N absorption efficiency (EAN), N utilization efficiency (EUtN) and N harvest index were calculated). The cultivars CD 1440 and BRS Parrudo showed higher accumulation of Zn, Fe and protein possibly associated with the greater enzymatic activity of the protease in the rhizospheric soil, providing higher EAN. Increasing N supply influenced the accumulation of nutrients for biofortification, did not alter enzymatic activity, but reduced EUN and EAN. In the end, it was verified that the enzymatic activity, mainly of the protease and β -glycosidase, are good indicators of the efficient use of N and the nutrient accumulation in the grains. The N utilization efficiency indexes evaluated in this study point to EAN as an indicator of nutrient accumulation in grains. The evaluation of EUN for protein and N accumulation proved to be a better methodology to identify efficient cultivars in the use of N and accumulation of protein in the grains.

Keywords: EUN. Protease. β -Glycosidase. Accumulation of Zn.

4.3 INTRODUÇÃO

O uso do nitrogênio na produção de uma cultura maximiza a produtividade de grãos (Haile et al., 2012), mas deveria ser acompanhada da otimização do manejo adequado quanto a escolha da cultivar mais eficiente e quanto a dose de N a aplicar. Nas plantas, existe manejo para aumentar a concentração de nutrientes, tal como o Zn, Fe e proteínas nas partes comestíveis das plantas, prática denominada de Biofortificação agrônômica (Palmgren et al., 2008; Alloway, 2008; Aciksoz et al., 2011). O aumento do Zn nos grãos, promovido pelo aumento da concentração de proteínas está associado ao fato de o Zn estar ligado às proteínas, e na ausência de Zn não haver a síntese de proteínas. O Zn constitui um cofator enzimático e as proteínas dependem do Zn para a sua atividade (Alloway, 2008; Aciksoz et al., 2011).

A biofortificação dos cereais, maiores fontes de minerais e proteínas nos países em desenvolvimento (Cakmak et al., 2008), é a alternativa mais promissora para amenizar os impactos de um melhoramento genético, a décadas, voltados apenas para produtividade de grãos (Cakmak, 2002; Welch et al., 2008), negligenciando as necessidades humanas pela introdução de produtos de menor qualidade nutricional.

A eficiência de uso de N (EUN), conforme a metodologia de Moll et al. (1982), pelas cultivares é dependente de mecanismos como absorção e a translocação do nutriente dentro da planta, como também de práticas de cultivo que propiciem menores perdas de N no sistema (Raun & Johnson, 1999). Porém, o aumento do fornecimento do N diminui a EUN (Dawson et al., 2008). Este fato decorre do aumento gradual da produtividade de grãos com o aumento do fornecimento do N (Haile et al., 2012), e da baixa eficiência de uso do N (Barraclough et al., 2010) pelas altas perdas por volatilização, lixiviação e desnitrificação (Raun & Johnson, 1999), que não são contabilizadas no cálculo da EUN (Dawson et al., 2008).

Nos grãos cereais a EUN foi estimada em 33% em função das perdas decorrentes das excessivas aplicações nitrogenadas (Raun & Johnson, 1999), da baixa eficiência de translocação para os grãos (Silva et al., 2014), e da aplicação do N não parcelada (Dawson et al., 2008).

A atividade enzimática da rizosfera é uma das principais evidências de que as cultivares apresentam diversas estratégias para a obtenção dos nutrientes do solo (Marinari et al., 2014). Mecanismos de obtenção eficiente do N através das plantas dependem de fatores genéticos e ambientais (Dawson et al., 2008). Por exemplo, a exsudação de enzimas extracelulares como a protease pode acelerar a mineralização do N proteico do solo a

aminoácidos, e estes podem ser em maior proporção absorvidos pelas raízes (Yamagata et al., 1999; Cantarela, 2007; Souza & Fernandes, 2006).

Apesar de diversos estudos tratarem a atividade enzimática do solo como importante indicador de qualidade do mesmo (Moreira & Siqueira, 2006; Makoi & Ndakidemi, 2008; Lopes et al., 2013; Caldwell, 2005), são escassos estudos que indicam as enzimas do solo rizosférico relacionados com o aumento da biofortificação da planta para o maior acúmulo de proteína, Zn e Fe nos grãos.

Na literatura, são utilizados índices que derivam de diversas metodologias para avaliar o uso eficiente de N visando o aumento em produtividade e de proteína nos grãos (Dawson et al., 2008). Neste estudo, o uso destes índices, de uso incipiente, foi propositadamente voltado à busca de índices que estão mais correlacionados ao acúmulo de nutrientes nos grãos e, conseqüentemente, daquelas cultivares mais eficientes à biofortificação.

A atividade enzimática da rizosfera nesse estudo foi avaliada com o propósito de apontar as cultivares de trigo que apresentam mecanismos diferentes na obtenção de nutrientes, e como esta atividade está associada à absorção de N pela planta e acúmulo de proteína, Zn e Fe nos grãos.

As hipóteses formuladas para este trabalho são de que a nível de cultivar ocorre influência na atividade enzimática e biológica no solo rizosférico, e isso influencia em diferentes índices de eficiência de uso de N.

Por isso, este trabalho objetiva avaliar a) a atividade enzimática do solo rizosférico e sua influência na absorção e uso eficiente de N para acúmulo de proteína, Zn e Fe, voltados a biofortificação dos grãos; b) identificar índices de uso eficiente de N que apontem as cultivares mais eficientes à biofortificação.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

4.4.1 Instalação dos experimentos de campo

Foi instalado um experimento a campo na localidade de Ponta Grossa na estação experimental da Fundação ABC, no estado do Paraná – BR.

4.4.2 Caracterização inicial, instalação e condução do experimento de campo

Os resultados das análises de solo do local dos experimentos, antes da sua instalação, constam na TABELA 3.1 e as variações de temperatura e precipitação pluviométrica durante a condução dos experimentos na FIGURA 3.1. As variações de temperatura e precipitação pluviométrica durante a condução dos experimentos são apresentadas na FIGURA 2.1.

A semeadura ocorreu em 29 de junho de 2015. A densidade de semeadura foi de 360 sementes por m² (60 sementes por metro linear). A semeadura ocorreu com o uso de semeadora, com sementes tratadas com o uso de triadimensol (1/2 dose) e imidacloprid. A adubação de semeadura foi de 300 kg ha⁻¹ de 8-30-20 em todos os locais. A adubação de cobertura foi realizada aos 35 dias após a emergência (DAE) onde foram aplicadas as duas doses de N (50 e 100 kg ha⁻¹ de N) no dia 24/06/2015 em Ponta Grossa - PR.

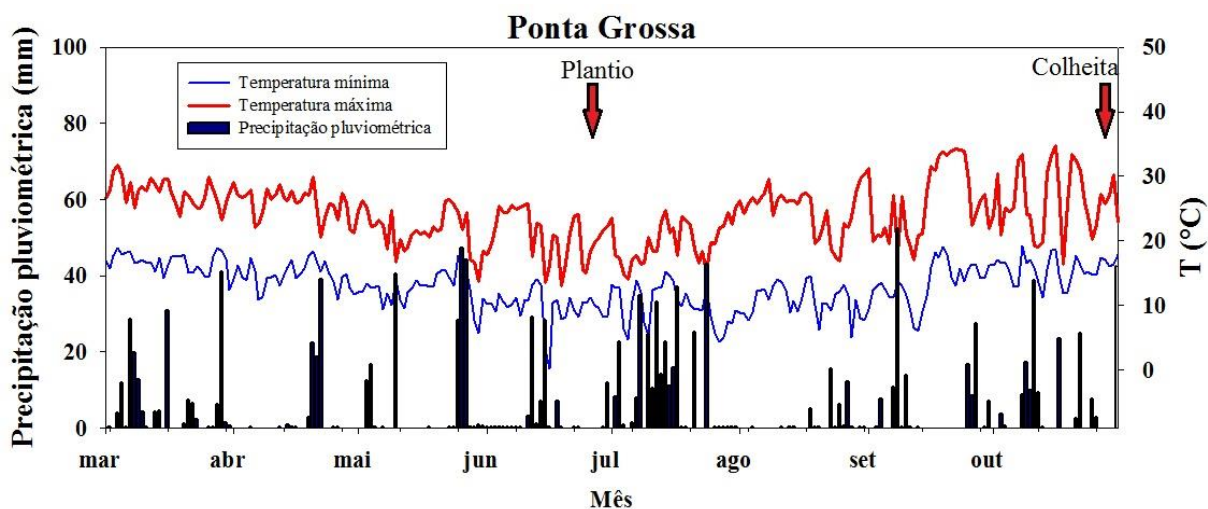
A área útil da parcela consistiu em 5 m², sendo 6 linhas de 5 m de comprimento e espaçamento de 17 cm. A bordadura compreendeu a 0,5 m.

TABELA 3.1 – CARACTERIZAÇÃO INICIAL DO SOLO DO EXPERIMENTO DE PONTA GROSSA- PR

Profundidade	pH	Al	H+Al	Ca	Mg	K
cm	CaCl ₂			Cmol _c dm ⁻³		
	5,15	0,065	3,05	2,15	0,9	0,28
	Médio	Baixo		Alto	Médio	Alto
0- 20	P	M.O	Zn	Cu	Mn	V%
	mg dm ⁻³	g dm ⁻³	mg kg ⁻¹			52,19
	64,5	17,5	-	-	-	
	Muito alto	Baixo				Alto

LEGENDA: O P, K, Cu, Zn, Fe e Mn foram determinados por Mehlich I. FONTE: Pavan et al., (1992).

FIGURA 3.1 – PRECIPITAÇÃO PLUVIOMÉTRICA E TEMPERATURA MÉDIA MENSAL, DURANTE O CULTIVO DO TRIGO SEMEADO EM 29/06/2016 EM PONTA GROSSA



FONTE: O autor (2017).

4.4.3 Tratamentos e delineamento experimental dos experimentos de campo

Os tratamentos consistiram de um fatorial 4 x 2, combinando as quatro cultivares de trigo (CD 1440, CD 150, BRS Parrudo e Quartzo) desenvolvidas em diferentes instituições de pesquisa, submetidas a duas doses de N, uma dose de subnutrição (que foi estimada conforme a literatura) a dose 50 kg ha⁻¹ de N e de uma dose adequada (100 kg ha⁻¹ de N) conforme a necessidade da cultura (CBCS/CQFS, 2004) e aplicados na forma de ureia. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 3 repetições.

4.4.4 Concentração de N e acúmulo nutricional dos grãos

Após a maturação fisiológica os grãos foram colhidos na área útil da parcela e amostras de grãos e biomassa aérea de trigo foram secas até peso constante, em seguida, moídas em liquidificador e digeridas por solução nítrico-peróxido conforme metodologia da Embrapa (2009) e determinados por meio de Espectroscopia de Emissão Óptica com plasma induzido (ICP-OES). O teor total de nitrogênio (N) foi determinado por combustão via-seca, por meio do aparelho VARIO EL III – (Elementar®, Frankfurt, Alemanha).

O acúmulo de nutrientes nos grãos foi obtido pela multiplicação da concentração do nutriente pela produtividade de grãos, descontando-se a umidade. As concentrações de

proteína, Zn, Fe e a produtividade de grãos destas cultivares foram obtidas da FIGURA 2.2 e 2.3 do capítulo 2.

4.4.5 Componentes de eficiência de uso de N

Os componentes de eficiência de uso de N foram determinados de acordo com o método descrito por Moll et al. (1982).

Eficiência de uso de N - EUN (g ha^{-1}) = Produção de grãos / N aplicado;

Eficiência de absorção de N - EAN (g ha^{-1}) = (N no grão + N na biomassa aérea)/N aplicado;

Eficiência de utilização de N - EUtN (g ha^{-1}) = Produção de grãos / (N no grão + N na biomassa aérea);

Índice de colheita de N - (ICN) = N no grão x Produção de grãos/(N no grão +N na biomassa aérea) x (produção de grãos + biomassa aérea em kg ha^{-1});

O “N no grão” é a concentração de N nos grãos (g kg^{-1}); “N na biomassa aérea” é a concentração de N na biomassa da parte aérea da cultura (g kg^{-1}) e “biomassa total” é a soma da biomassa de grãos e da biomassa da parte aérea da cultura (kg ha^{-1}).

Para ICN este cálculo quantifica quanto do N aplicado foi remobilizado da biomassa para os grãos;

Índice de colheita - (IC) (kg ha^{-1}) = Produção de grãos/ (Produção de grãos+biomassa aérea).

4.4.6 Eficiência de uso de N para biofortificação (acúmulo de nitrogênio e proteínas)

As variáveis avaliadas para o cálculo de eficiência para biofortificação foram a matéria seca de grãos e a concentração de proteínas e N nos grãos. Posteriormente calculou-se o acúmulo de proteína e N, conforme item 3.2.4, do item Material e Métodos.

Em seguida, se determinou os valores de eficiência com base na metodologia de Fageria & Barbosa Filho (1981):

Se estabeleceu uma separação das cultivares eficientes das não-eficientes com a seguinte fórmula, utilizando a eficiência em N como exemplo:

Alfa= (Acúmulo de N na maior dose) - (Acúmulo de N na menor dose) (kg ha^{-1})/ menor dose (kg ha^{-1});

Para a obtenção dos valores responsivos (R) e não responsivos (NR), obteve-se o valor alfa de todas as cultivares, e com a média dos valores de alfa estabeleceu-se o ponto para

traçar uma reta, que foi a linha divisória na horizontal do gráfico do eixo y produzido no Sigma Plot. As cultivares posicionadas abaixo da linha da divisória foram consideradas NR, as cultivares posicionadas acima são as R.

Para classificação das cultivares em eficientes (E) e não eficientes (NE), obteve-se a média do acúmulo do nutriente da menor dose de N (kg ha^{-1}), que foi o ponto para traçar a linha vertical no eixo x. As cultivares com os valores posicionados a esquerda da linha foram consideradas E e as cultivares posicionadas a direita são as NE.

Os grupos classificatórios foram definidos em: cultivares eficientes e responsivas (ER) são aquelas que obtiveram as maiores produtividades de grãos ou acúmulo de nutrientes na menor dose de N, e foram responsivas com o maior fornecimento de N no solo; as eficientes e não responsivas (ENR) são aquelas cultivares que apresentam altas produtividades a baixas doses de N, mas com o aumento do N não respondem; as não eficientes e responsivas (NER), são aquelas cultivares que apenas mantiveram a produção com o aumento do fornecimento do N no solo, ou seja, para estas não adianta diminuir a dose de N; e as não eficientes e não-responsivas (NENR), que são aquelas cultivares que não são eficientes a baixas doses de N e, também, não aumentam a produção com o aumento da adubação. Os genótipos que obtiverem a mesma classificação (baseada nos valores de eficiência calculados para acúmulo de proteínas e nitrogênio) foram selecionados para compor os referidos grupos.

4.4.7 Solo rizosférico

Duas linhas de meio metro linear de plantas com raízes, foram coletadas durante o florescimento pleno das cultivares no dia 10 de outubro de 2015, com auxílio de uma pá, com 10 cm de profundidade do solo. Plantas inteiras foram agitadas levemente, sendo retirado todo o excesso de solo solto das raízes, deixando-se apenas o remanescente, mesmo com a separação. O solo rizosférico foi obtido da seguinte maneira, em duas etapas: Na primeira, as plantas com raízes foram agitadas em saco plástico por aproximadamente 30 segundos, o solo solto foi descartado; na segunda etapa foi novamente agitado em saco plástico, até a máxima obtenção do solo, e o solo obtido considerado o solo rizosférico (Nakatani et al., 2008). O solo rizosférico foi peneirado em peneira de 2 mm, seco ao ar e armazenados em geladeira conforme Embrapa (2014).

4.4.8 Atividade enzimática e C da biomassa microbiana

Para a determinação da umidade do solo, foi coletado com auxílio de um trado a 10 cm de profundidade, duas amostras por parcela. As amostras pesadas e secas em estufa a 60° C. Posteriormente, descontou-se a umidade do solo para determinação de análises biológicas e enzimáticas.

A partir de amostras do solo rizosférico determinou-se a atividade enzimática da β -glicosidase, protease, hidrólise de diacetato (FDA) e o C da biomassa microbiana. As amostras foram encaminhadas, em caixa térmica com gelo e conduzidas no laboratório de Leguminosas Florestais na Embrapa Agrobiologia em Seropédica-RJ.

A β -glicosidase foi obtida com a extração e determinação colorimétrica do *p*-nitrofenol liberado quando a amostra de solo foi incubada com solução tamponada (pH 6,0) contendo o substrato sintético *p*-nitrofenil- β -D-glicopiranosídeo (Tabatabai, 1994).

A enzima protease foi analisada com amostra de solo incubada com caseína em 2 h, pH 8,1 e 50°C. A determinação da tirosina liberada no meio com o reagente Folin Cioucateol, conforme metodologia de Ladd & Butler (1972).

A atividade de hidrólise de FDA foi determinada por incubação de amostras de solo por 2 h (37° C) e determinado com a liberação de fluoresceína de acordo com Schnurer & Rosswall (1982) e modificado por Dick et al. (1996).

Para extração do C da biomassa microbiana do solo, utilizou-se o método de irradiação-extração, descrito por Ferreira et al. (1999) e Muller (2016) e a determinação do C da biomassa microbiana seguiu a metodologia de Silva et al. (2007).

4.4.9 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste F (ANOVA). Na sequência, foram aplicados testes de comparação de médias (Scott Knott 5%), correlação de Pearson e análise multivariada para avaliar a correlação entre as variáveis respostas na PCA. Os dados foram analisados por meio do software Assistat e pelo software Canoco versão 4.5 (Ter Braak & Smilauer, 2002).

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.5.1 Acúmulo de proteína, Zn e Fe nos grãos

O acúmulo de proteína e Zn nos grãos variou conforme as cultivares e as doses de N adicionadas, enquanto o acúmulo de Fe apenas apresentou alteração entre as cultivares (TABELA 3.2). Não houve interação entre genótipo x dose (G x D) para o acúmulo dos nutrientes avaliados (TABELA 3.1).

A média do acúmulo de proteína, Zn e Fe nos grãos foram de 638, 118,3 e 120,5 kg ha⁻¹, respectivamente (TABELA 3.2). Os valores de proteína estão semelhantes aos observados por Silva et al. (2014) na cultivar Quartzo, uma das cultivares trabalhadas no presente estudo, com acúmulo de proteína de 610 e 673 kg ha⁻¹, em experimentos conduzidos em Pato Branco-PR e Coxilha-RS, respectivamente.

Entre as cultivares o maior acúmulo de proteína, Zn e Fe ocorreu na BRS Parrudo e na CD 1440. Porém, para acúmulo de Fe a CD 150 também se destacou (FIGURA 3.2).

O maior fornecimento de N proporcionou aumento do acúmulo de proteína e Zn no grão, exceto para Fe (FIGURA 3.2). Mesmo com a produtividade de grãos igual estatisticamente entre as cultivares avaliadas (FIGURA 2.2, Capítulo 2), estas variações indicam diferenças e entre as cultivares quanto ao acúmulo de nutrientes nos grãos.

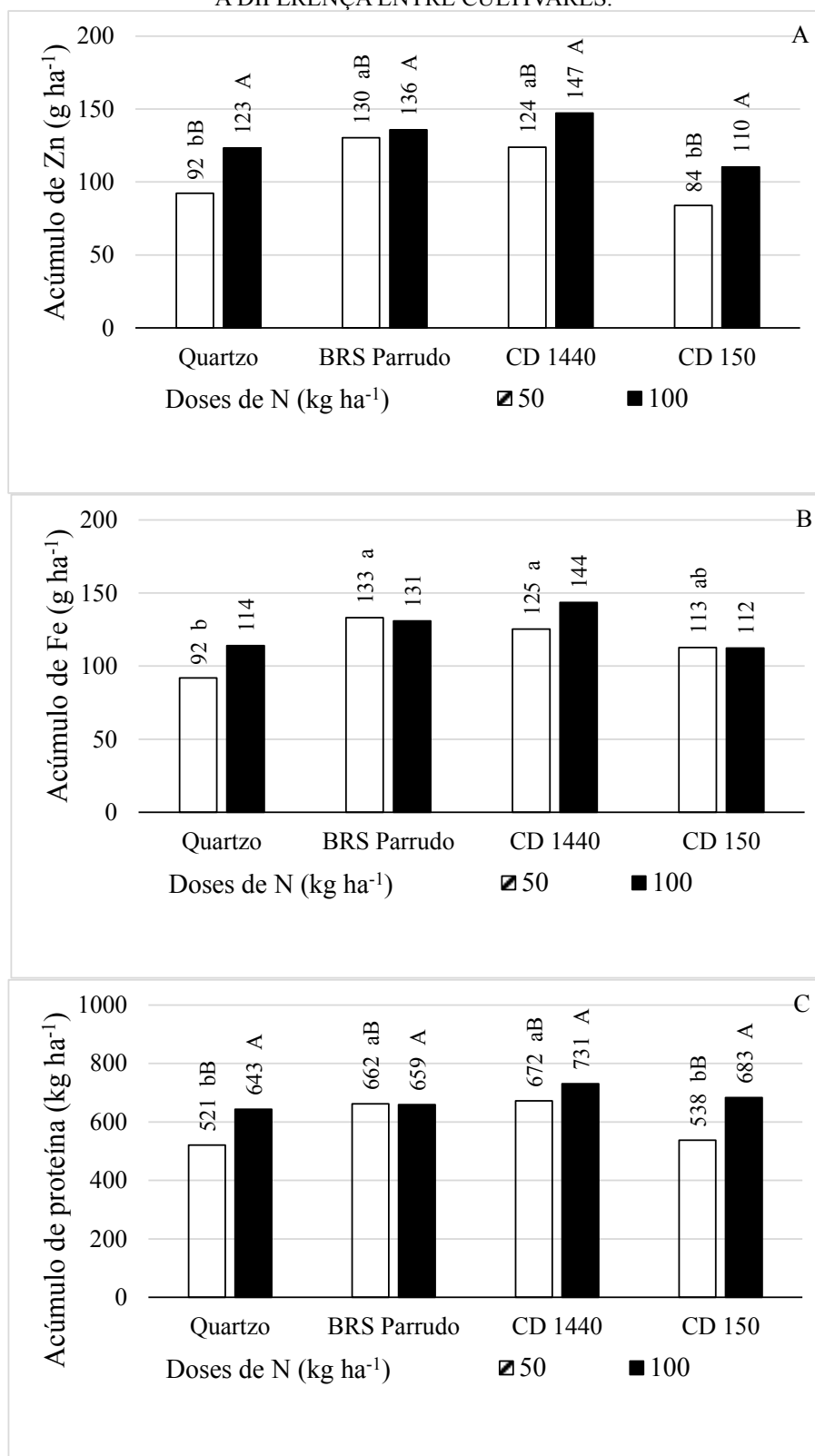
TABELA 3.2 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO ACÚMULO DE ZINCO, FERRO E PROTEÍNA NOS GRÃOS DE QUATRO GENÓTIPOS DE TRIGO DE ALTO POTENCIAL PARA PRODUTIVIDADE E BIOFORTIFICAÇÃO CULTIVADAS EM PONTA GROSSA, SUBMETIDAS A DUAS DOSES DE N

Variável	Fontes de variação e quadrados médios			Erro (GL = 24)	Média	CV (%)
	Genótipo (G) (GL = 3)	Dose (D) (GL = 1)	G x D (GL = 3)			
Acúmulo de Zn (g ha ⁻¹)	2.864,89 **	2.824,23 **	538,10 ns	326,68	118,37	15,27
Acúmulo de Fe (g ha ⁻¹)	1.862,39 **	889,74 ns	251,48 ns	328,67	120,50	15,04
Acúmulo de proteína (kg ha ⁻¹)	22.458,52 **	53.990,82 **	8.250,99 ns	4.094,47	638,56	10,02

LEGENDA: ** e * são valores de significância a 1 % (p<0,01) e 5 % (0,01p<0,05) de nível de probabilidade pelo teste F; ns: não significativo (p>0,05); GL: grau de liberdade; CV: coeficiente de variação; PRODG: produtividade de grãos; PTNDG: produtividade de grãos; FeG: teor de ferro nos grãos; ZnG: teor de zinco nos grãos. FONTE: O autor (2017).

Nas plantas com deficiência de N, o aumento da concentração de Zn é uma estratégia para aumentar as proteínas. Há autores que mostram que o N e o Zn em condições adequadas no solo, proporcionam maior absorção de ambos pelas raízes, influenciada pelo aumento de proteínas de transporte nas células das raízes das plantas, que absorvem e transportam Zn e Fe para os órgãos em acúmulo (Kutman et al., 2010; Kutman et al., 2011).

FIGURA 3.2 – ACÚMULO DE Zn (A), Fe (B) E PROTEÍNA (C) EM QUATRO CULTIVARES DE TRIGO DE ALTO POTENCIAL PARA PRODUTIVIDADE E BIOFORTIFICAÇÃO CULTIVADAS EM PONTA GROSSA, SUBMETIDAS A DUAS DOSES DE N. AS LETRAS MINÚSCULAS SOBRE OS VALORES DAS MÉDIAS INDICAM AS DIFERENÇAS ENTRE AS DOSES DE N E AS LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM A DIFERENÇA ENTRE CULTIVARES.



FONTE: O autor (2017).

A avaliação de cultivares que apresentam maior capacidade de absorver e acumular Fe, Zn e proteína nos grãos é uma alternativa promissora para biofortificação e para o uso eficiente do N, em função do aumento do transporte destes micronutrientes dentro das células com fornecimento adequado de adubações nitrogenadas, que proporcionam maior acúmulo de nutrientes para biofortificação.

4.5.2 Atividade enzimática da β -glicosidase, protease, FDA e carbono da biomassa microbiana

Houve variação da atividade das enzimas β -glicosidase, protease, FDA e do C biomassa microbiana apenas entre cultivares, sem efeito da variação da dose de N (TABELA 3.3). Entretanto, houve interação entre genótipo x dose (G x D) somente para C biomassa microbiana (TABELA 3.3). O que indica que algumas cultivares apresentaram resposta dependendo da dose aplicada.

Houve diferença entre as cultivares em apresentar maior atividade enzimática na rizosfera em uma cultivar e menor em outra.

Dentre as cultivares, aquela que se destacou para todas as enzimas da rizosfera foi a CD 1440 (FIGURA 3.3A, B e C). Esta também apresentou o maior acúmulo de proteína, Zn e Fe nos grãos (FIGURA 3.2). O que reflete da influência da atividade enzimática no acúmulo de nutrientes, e a importância do estudo das enzimas do solo como uma das estratégias nutricionais utilizadas pelas cultivares para obtenção de nutrientes do solo.

As cultivares que apresentaram maior atividade da β -glicosidase foram a Quartzo, CD 1440 e a CD 150 (FIGURA 3.3 A). Esta enzima atua realizando o rompimento de ligações químicas funcionais da glicose por hidrólise. Atua na hidrólise de β glicosídeos presentes nos resíduos em decomposição, cujo seu produto final é a glicose, uma importante fonte de energia e C para a vida dos microrganismos do solo (Makoi & Ndakidemi, 2008).

TABELA 3.3 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA VARIÁVEIS DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA, ÍNDICES DE N E DISTRIBUIÇÃO DE N NA PLANTA, EM FUNÇÃO GENÓTIPOS DE TRIGO DE ALTO POTENCIAL PARA PRODUTIVIDADE E BIOFORTIFICAÇÃO E DOSES DE N, EM EXPERIMENTO DE CAMPO EM PONTA GROSSA

Variável	Fontes de variação e quadrados médios				Média	CV (%)
	Genótipo (G) (GL = 3)	Dose (D) (GL = 1)	G x D (GL = 3)	Erro (GL = 16)		
Atividade enzimática						
C-Biomassa microbiana (mg kg ⁻¹)	1.998,63 ^{ns}	6.401,29 ^{ns}	23.892,14 ^{**}	2.229,27	141,53	33,36
β glicosidase (μmol pNP/g SS/h)	3,80 [*]	1,55 ^{ns}	1,03 ^{ns}	1,10	8,96	11,68
FDA (μg Fluoresc/ g S S/h)	308,48 ^{**}	1,96 ^{ns}	50,66 ^{ns}	29,54	103,95	5,23
Protease (μg de TYR/gSS/h)	67.998,41 ^{**}	8.091,41 ^{ns}	27.726,87 [*]	5.958,46	305,34	25,28
Índices de eficiência de uso de N						
EUN	34,88 ^{ns}	6.384,14 ^{**}	11,31 ^{ns}	32,72	53,07	10,78
EAN	0,14 ^{**}	6,81 ^{**}	0,05 ^{ns}	0,02	1,84	8,29
EUtN	22,54 ^{**}	8,35 ^{ns}	0,52 ^{ns}	2,60	28,73	5,62
IC	0,00 [*]	0,02 ^{**}	0,00 [*]	0,00	0,46	6,99
ICN	0,05 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,05	0,79	27,54
Distribuição de N na planta						
N biomassa (kg ha ⁻¹)	71,21 ^{ns}	2,17 ^{ns}	20,16 ^{ns}	24,26	22,04	21,90
N grão (kg ha ⁻¹)	407,27 ^{ns}	813,96 [*]	130,69 ^{ns}	135,27	102,47	11,35
N total absorvido (kg ha ⁻¹)	517,09 ^{ns}	901,48 [*]	13,24 ^{ns}	170,49	124,94	10,45

LEGENDA: ** e * são valores de significância a 1 % (p<0,01) e 5 % (0,01p<0,05) de nível de probabilidade pelo teste F; ns: não significativo (p>0,05); GL: grau de liberdade; CV: coeficiente de variação. FONTE: O autor (2017).

Nas plantas, até 30% dos produtos da fotossíntese são translocados para as raízes e exsudados para o solo (Neumann & Romheld, 2012), entre eles encontram-se polissacarídeos e proteínas (Rohrbacher & Arnaud, 2016), açúcares, carboidratos, aminoácidos, ácidos orgânicos, compostos fenólicos, íons inorgânicos, moléculas gasosas, vitaminas, bem como enzimas (Dakora & Philips, 2002). Como há uma relação direta entre o aumento da rizodeposição com o aumento da atividade enzimática e da biomassa microbiana (Barber & Matin, 1976) entende-se que estes fatores ocorrem sempre correlacionados.

A maior quantidade de energia, C e enzimas extracelulares exsudadas das raízes das plantas refletem proporcionalmente na decomposição da matéria orgânica do solo (MOS) (Asmar et al., 1994; Liljeroth et al., 1994). A rizodeposição depende da espécie da planta e estimula a proliferação de diferentes comunidades microbianas que influenciam na atividade biológica, na produção extracelular de enzimas da rizosfera, formando um verdadeiro *hot spot* da ciclagem de nutrientes em torno na interface solo-planta (Marinari et al., 2014).

Os valores da atividade protease (TABELA 3.3) foram similares aos valores de 237 e 481,05 μg h⁻¹ g⁻¹ encontrados por Yamagata et al. (1999) para arroz, e as cultivares BRS Parrudo e a CD 1440 apresentaram destaque significativo para a atividade da protease

(FIGURA 3.3B). Estas cultivares também foram as que mais acumularam proteína nos grãos, o que indica que a eficiência para o acúmulo de proteína nos grãos nestas cultivares está relacionada ao aumento da atividade enzimática da protease no solo rizosférico.

A protease atua acelerando a decomposição da MOS, na quebra das moléculas orgânicas e na decomposição das proteínas do solo, fração em que o nitrogênio está na forma orgânica (N orgânico do solo), o que favorece a primeira etapa da mineralização da proteína a aminoácidos (Asmar et al., 1994). Estudos demonstram o efeito da protease, na mineralização do N orgânico, nas plantas com a sequência milho >soja >arroz (Yamagata et al., 1999).

As plantas podem, portanto, absorver o N na forma de aminoácidos ou ainda, o N pode ser mais uma vez mineralizado pela enzima aminoácido desidrogenase para amônia, e com a queda do pH passa para amônio, forma preferencial de absorção pois não envolve gasto energético para absorção, sendo absorvido por difusão facilitada (Cantarela, 2007; Souza & Fernandes, 2006). No entanto, a absorção de N na forma de aminoácidos é possibilitada pela absorção via simporte.

Há também hipóteses do acúmulo de proteína em plantas como o arroz, ligadas a absorção do N na forma de proteína, translocado até os grãos durante a fase de enchimento dos grãos, através da endocitose e isto indicou uma menor competição com os organismos do solo e menor atividade protease (Yamagata et al., 1999).

A presença de microrganismos simbióticos nas raízes como o rizóbio e fungos micorrízicos influenciam no aumento da quantidade e qualidade da exsudação (Andrade, 1999), e no aumento da exsudação do C fixado pelas plantas (Barber & Martin, 1976), o que fomentaria também a presença de microrganismos como *Bacillus subtilis*, *Aspergillus*, *Arthobacter* e *Bacillus* envolvidos com a protease no solo (Moreira & Siqueira, 2006).

A planta, por exemplo, supre os fungos micorrízicos com C e energia e por sua vez, o fungo provê as plantas com água e nutrientes, com isso ampliando a capacidade de absorção de nutrientes da planta com consequente aumento da taxa fotossintética e da produtividade de grãos (Berbara et al., 2006).

A atividade da protease, na menor dose de N aplicada, correlacionou com o C da biomassa microbiana ($r = 0,82^{**}$), com acúmulo de Zn ($r = 0,82^{**}$) e acúmulo de proteína nos grãos ($r = 0,72^{**}$). Na maior dose de N houve correlação somente com a β -glicosidase ($r = 0,67^*$).

Com a maior atividade da FDA, destacaram-se as cultivares BRS Parrudo, CD 1440 e a CD 150, em relação a Quartzzo (FIGURA 3.3C). A ausência de efeito da Quartzzo para a atividade da FDA indica que mesmo sendo avaliado em solo rizosférico, que apresenta maior

população de bactérias e fungos (Nakatani et al., 2008), esta cultivar influencia em menor escala a atividade biológica desses decompositores do solo. O FDA é um índice de atividade enzimática que verifica se o solo está hidrolisado por enzimas liberadas das bactérias e fungos ativos, que são decompositores primários, e é um bom indicador para atividade total de enzimas de decompositores do solo (Schnurer & Rosswall, 1982).

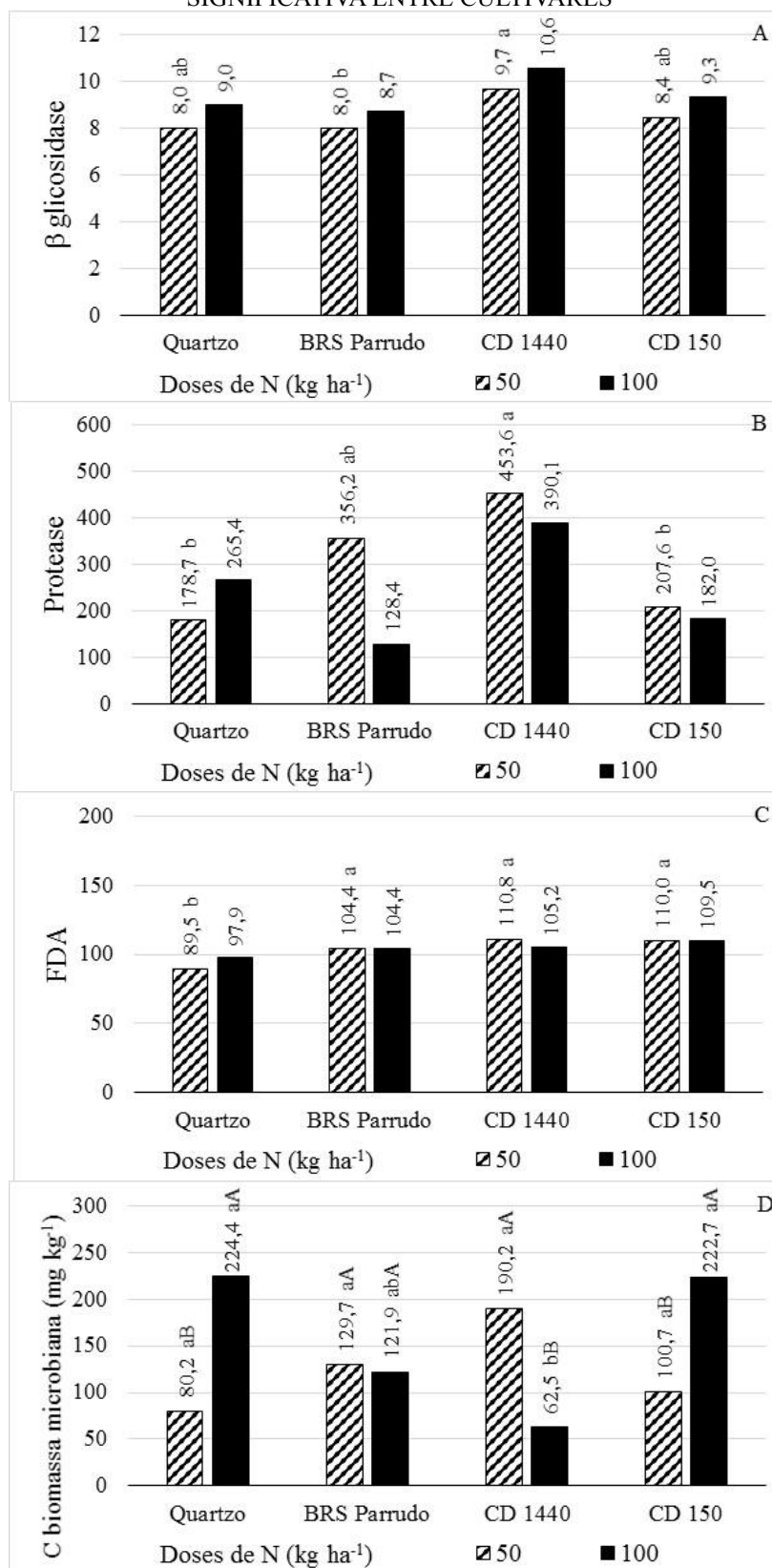
A interação ocorrida entre o C da biomassa microbiana (TABELA 3.2) mostrou comportamento diferente das cultivares em cada dose. Onde na menor dose de N o maior teor ocorreu nas cultivares BRS Parrudo e CD 1440, enquanto na maior dose de N os maiores valores ocorreram nas cultivares BRS Parrudo, Quartzo e CD 150 (FIGURA 3.3 D). O aumento do fornecimento de N no solo promove uma ampliação da diferença entre as cultivares quanto ao C da biomassa do solo, em função do acréscimo da produção primária líquida promovida pelo aumento da produtividade que indiretamente eleva a entrada de C no solo, o que pode ser observado em relação ao aumento de produtividade de grãos em Ponta Grossa com o aumento da dose de N (FIGURA 2.2, Capítulo 2).

O maior C da biomassa microbiana, na menor dose de N aplicada, para as cultivares BRS Parrudo e CD 1440 (FIGURA 3D), pode ser um indicativo de maior exsudação do C fixado e enzimas extracelulares por estas cultivares.

Houve correlação positiva entre a FDA e β -glicosidase, somente na maior dose de N ($r = 0,67^*$). Indicando que onde houve mais esta atividade enzimática também ocorreu maior FDA. E o C da biomassa microbiana apresentou correlação negativa com acúmulo de Zn ($r = -0,80^{**}$), e com acúmulo de Fe ($r = -0,79^{**}$). Poucos trabalhos avaliaram a relação das enzimas com o acúmulo de nutrientes. Rana et al. (2012) avaliou enzimas e C da biomassa microbiana e encontrou correlação positiva somente entre C da biomassa microbiana e maior concentração de Zn e Fe nos grãos. Os resultados divergem possivelmente por estes autores terem avaliado somente uma cultivar de trigo.

A atividade enzimática da rizosfera é uma das principais evidências de que a estratégia nutricional das cultivares, também está na obtenção dos nutrientes do solo. Mecanismos de maior eficiência a baixas doses de N mantiveram-se para BRS Parrudo e CD 1440 em função da ausência de resposta para a atividade enzimática com o aumento do N. Além de mecanismos de obtenção do N através da exsudação de enzimas extracelulares como a protease para acelerar a mineralização do N proteico do solo. A atividade enzimática da rizosfera foi importante indicador de genótipos com maior eficiência de uso de N para biofortificação, em função das cultivares BRS Parrudo e CD 1440 apresentarem a maior atividade enzimática e o maior acúmulo de proteína e Zn no grão.

FIGURA 3.3 – ATIVIDADE DA ENZIMA β -GLICOSIDASE (A), PROTEASE (B), FDA (C) E C DA BIOMASSA MICROBIANA (D) EM QUATRO CULTIVARES DE TRIGO DE ALTO POTENCIAL PARA PRODUTIVIDADE E BIOFORTIFICAÇÃO CULTIVADAS EM PONTA GROSSA, SUBMETIDAS A DUAS DOSES DE N. AS LETRAS MINÚSCULAS SOBRE OS VALORES DAS MÉDIAS INDICAM AS DIFERENÇAS ENTRE AS DOSES E AS LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM A DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ENTRE CULTIVARES



FONTE: O autor (2017).

4.5.3 Análise de componentes principais

Considerando, a análise de componentes principais (ACP) (FIGURA 3.4), os dois primeiros componentes principais explicaram na CP 1= 28,9 % e na CP 2= 40,4 % da variabilidade dos dados (FIGURA 3.4).

Houve um claro agrupamento de todos os acúmulos de proteína, Zn e Fe e das enzimas voltadas para as cultivares CD 1440 e BRS Parrudo, nas duas doses de N e para a Quartzo somente na dose 100. Não houve nenhuma correlação entre o acúmulo de nutrientes com a Quartzo na dose 50 e para a CD 150.

Nas duas doses de N houve estrita correlação na cultivar CD 1440 entre acúmulo de proteína, Zn, Fe, produtividade de grãos, enzimas β -glicosidase e protease do solo.

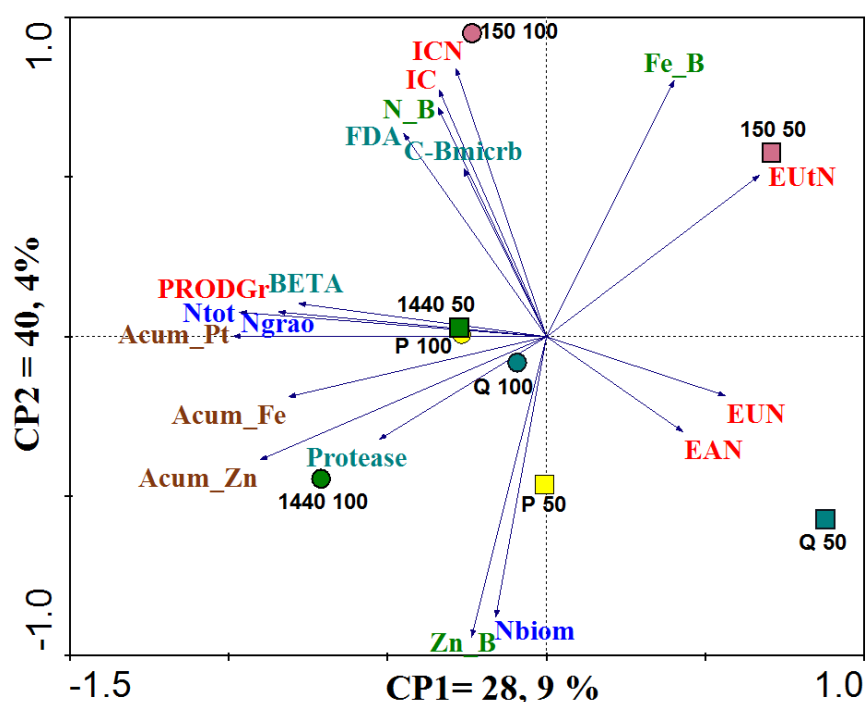
A maior correlação da CD 150 ocorreu com a FDA, o C da biomassa microbiana do solo, IC e ICN. A maior relação entre o C da biomassa microbiana e FDA eram esperados já que a FDA expressa a atividade enzimática de fungos e bactérias do solo. A cultivar Quartzo na dose 50 apresentou comportamento inverso ao acúmulo de proteína, Zn, Fe e atividade enzimática e biológica do solo.

Com base na análise multivariada (ACP), houve tendência da atividade enzimática da β -glicosidase e protease do solo rizosférico estar correlacionada com a produtividade de grãos, acúmulo de proteína, Zn e Fe nos grãos.

A EAN, EUN e EUtN não se correlacionaram com acúmulo de nutrientes e atividade enzimática.

A atividade enzimática da rizosfera se mostrou um bom indicativo para a escolha de cultivares com maior potencial para o acúmulo de nutrientes, potencial produtivo e potencial para biofortificação.

FIGURA 3.4 – ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (ACP) USANDO COMO VARIÁVEIS DE RESPOSTA (DEPENDENTES) OS DADOS DE ACÚMULO DE PROTEÍNA, ZN E FE DOS GRÃOS E CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES DA FOLHA BANDEIRA, CONCENTRAÇÃO DE N NOS GRÃOS, NA BIOMASSA AÉREA E ABSORÇÃO TOTAL DE N, ATIVIDADE ENZIMÁTICA DO SOLO RIZOSFÉRICO DAS CULTIVARES, C DA BIOMASSA MICROBIANA, ÍNDICES DE EFICIÊNCIA DE USO DE N E RENDIMENTO DE GRÃOS EM PONTA GROSSA-PR. CP: COMPONENTE PRINCIPAL; 50 = DOSE DE 50 kg ha⁻¹ DE N; 100 = DOSE DE 100 kg ha⁻¹ DE N; P = BRS PARRUDO; 40 = CD 1440; 50 = CD 150; Q = QUARTZO. PRODGr = PRODUÇÃO DE GRÃOS; Acum Pt = ACÚMULO DE PROTEÍNA NO GRÃO; Acum Fe = ACÚMULO DE Fe NO GRÃO; Acum Zn = ACÚMULO DE Zn NO GRÃO; Ntot = N GRÃO + N BIOMASSA AÉREA (ACUMULADO); N grão = ACÚMULO DE N NO GRÃO; Nbiom = ACÚMULO DE N NA BIOMASSA AÉREA; FDA = ENZIMA FDA; BETA = β-GLICOSIDASE; C-BMICRB = C DA BIOMASSA MICROBIANA; N_B = NITROGÊNIO NA FOLHA BANDEIRA; Zn_B = Zn NA FOLHA BANDEIRA; Fe_B = Fe NA FOLHA BANDEIRA; IC = ÍNDICE DE COLHEITA; ICN̄ = ÍNDICE DE COLHEITA DE N; EUN = EFICIÊNCIA DE USO DE N; EAN = EFICIÊNCIA DE ABSORÇÃO DE N; EUTN = EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO DE N



FONTE: O autor (2017).

4.5.4 Índices de eficiência de uso de N

As principais componentes da eficiência de uso de N (EUN) conforme Moll et al. (1982) são: a eficiência de absorção (EAN), definida como a capacidade da planta absorver N e a eficiência de utilização de N (EUTN) definida como a capacidade da planta utilizar o N para a produção de grãos.

A EAN, a EUTN e o IC variaram entre as cultivares, enquanto a variação da dose de N influenciou a EAN, EUN, IC e N dos grãos e o total absorvido. Houve interação entre dose e cultivar, somente para IC (FIGURAS 3.6 e 3.7 e TABELA 3.2).

Nos grãos, a concentração de N absorvido não diferiu entre as cultivares, mas houve incremento da dose aplicada (FIGURA 3.5 B). A biomassa aérea não variou para cultivar e dose de N (FIGURA 3.5 C). A concentração do N total absorvido (N acumulado no grão + N acumulado na biomassa aérea), apenas foi maior com o aumento da concentração de N na dose 100 kg ha⁻¹ de N (FIGURA 3.5 A, B e C). Isso indica que a maior concentração de N nos grãos está ligada ao aumento da eficiência de absorção pela cultivar.

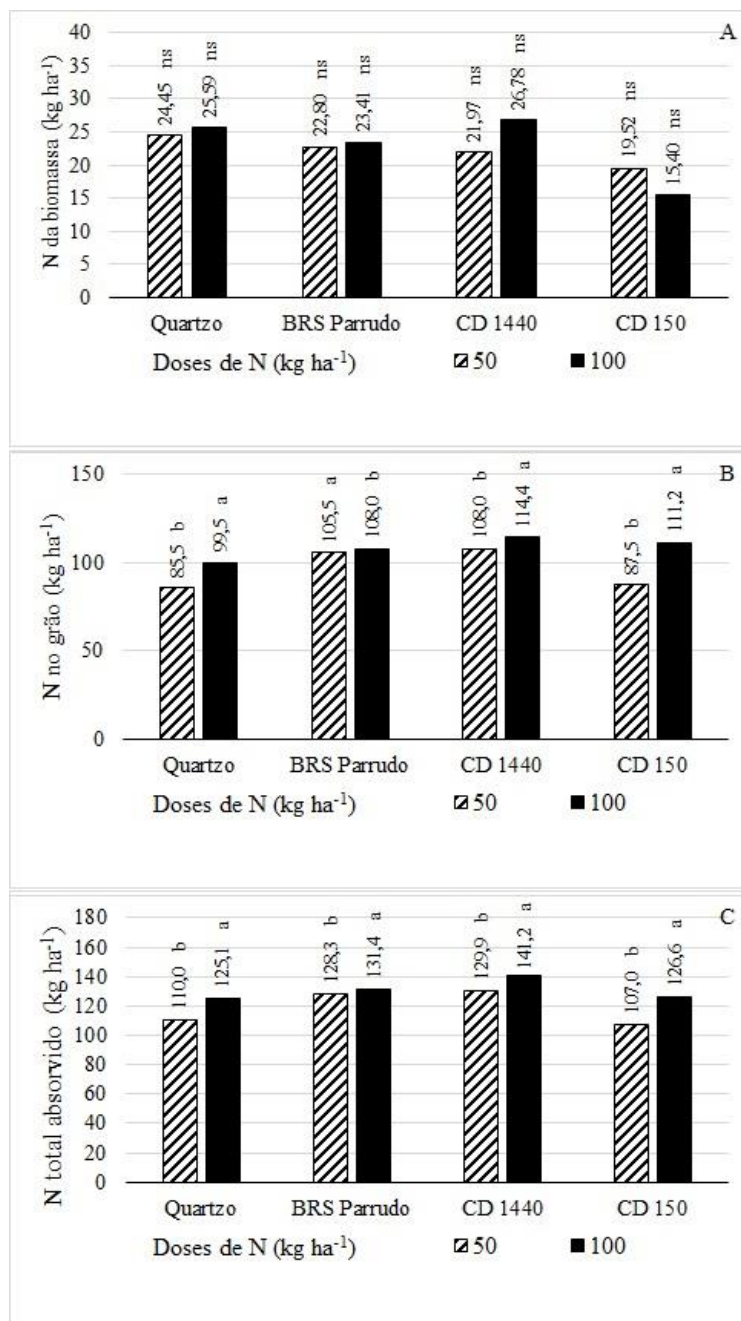
Não houve diferença da EUN entre as cultivares avaliadas. Porém, houve diminuição da EUN com o aumento do N aplicado (FIGURA 3.6 A). Com a diminuição da dose de N houve um ganho de 47% da EUN. O aumento do fornecimento do N influencia na diminuição da EUN (Dawson et al., 2008). Este fato decorre do aumento gradual da produtividade de grãos com o aumento do fornecimento do N (Haile et al., 2012), e da baixa eficiência de uso do N (Barraclough et al., 2010), pelas altas perdas por volatilização, lixiviação e desnitrificação (Raun et al., 1999) que não são contabilizadas no cálculo da EUN (Dawson et al., 2008).

Nos grãos de cereais a EUN foi estimada em 33% em função das perdas decorrentes das excessivas aplicações nitrogenadas (Raun & Johnson, 1999), da baixa eficiência de translocação para os grãos (Silva et al., 2014), da aplicação do N não parcelada (Dawson et al., 2008).

A maior EAN ocorreu nas cultivares BRS Parrudo e CD 1440. Porém, ocorreu diminuição da EAN com o aumento do fornecimento de N (FIGURA 3.6B). Isso sugere que estas cultivares são eficientes em absorver N também pelas raízes, quando este nutriente encontra-se em menor quantidade no solo. O aumento da EAN pelas raízes pode contribuir para a maior extração do N do solo e conseqüentemente, menores perdas de N (Xu et al., 2012). A EAN depende da capacidade da cultivar em recuperar o N aplicado (Todeschini et al., 2016), pode diminuir com o aumento das doses de N (Haile et al., 2012), e está estritamente relacionada ao aumento da rizodeposição proporcionadas por estes genótipos, que influenciam em maior atividade enzimática e biológica no solo rizosférico (FIGURA 3.3).

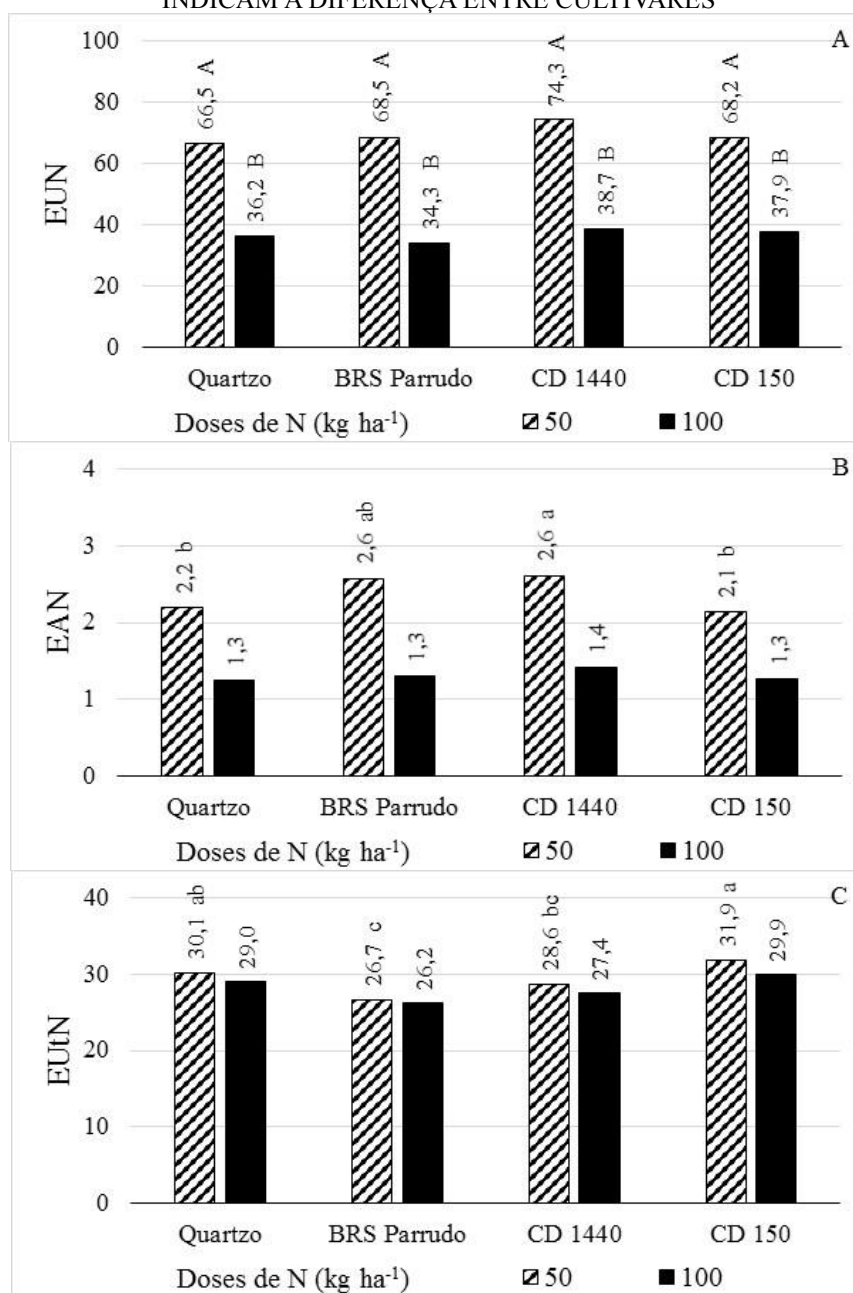
A EUtN, que é o rendimento obtido em produção de grãos para cada unidade de N total absorvido, foi maior nas cultivares Quartzo e CD 150 e não variou entre as doses de N aplicadas (FIGURA 3.6 C). Conforme a literatura, é esperada diminuição da EUtN com aumento de N (Todeschini et al., 2016; Barraclough et al., 2010), e isso se deve ao efeito direto do N sobre a produtividade de grãos (Beche et al., 2014). Neste estudo, as cultivares com maior EUtN foram aquelas com a menor qualidade nutricional de N, proteína, Zn e Fe nos grãos.

FIGURA 3.5 – ABSORÇÃO DE N NA BIOMASSA DA PARTE AÉREA (A), ABSORÇÃO DE N NOS GRÃOS (B) E N TOTAL ABSORVIDO (N ACUMULADO NA BIOMASSA + N ACUMULADO NOS GRÃOS) (C) EM QUATRO CULTIVARES DE TRIGO DE ALTO POTENCIAL PARA PRODUTIVIDADE E BIOFORTIFICAÇÃO CULTIVADAS EM PONTA GROSSA, SUBMETIDAS A DUAS DOSES DE N



FONTE: O autor (2017).

FIGURA 3.6 – ÍNDICES DE EFICIÊNCIA DE USO DO N, SENDO EUN (A), EAN (B) E EUTN (C) EM QUATRO CULTIVARES DE TRIGO DE ALTO POTENCIAL PARA PRODUTIVIDADE E BIOFORTIFICAÇÃO CULTIVADAS EM PONTA GROSSA, SUBMETIDAS A DUAS DOSES DE N. AS LETRAS MINÚSCULAS INDICAM AS DIFERENÇAS ENTRE AS DOSES E AS LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM A DIFERENÇA ENTRE CULTIVARES



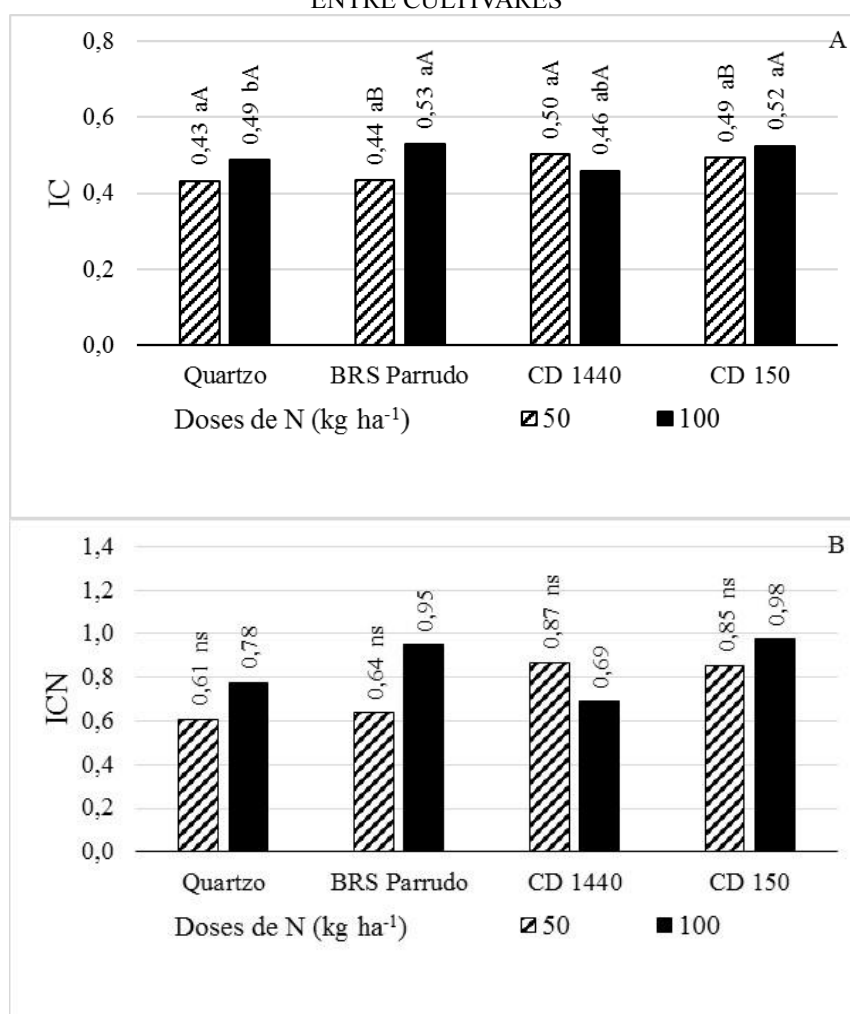
FONTE: O autor (2017).

Houve correlação muito forte da EUN nas duas doses de N com a produtividade de grãos ($r = 1^{**}$), com a EAN ($r = 0,82^{**}$) e com o acúmulo de proteína nos grãos ($r = 0,87^{**}$). A EUTN não explicou a EUN neste estudo.

A variabilidade genética alterou o IC conforme a dose de N, sendo que nas cultivares BRS Parrudo e CD 150 ocorreram os maiores valores na menor dose de N, enquanto na maior

dose de N aplicada, apesar de ter elevado o IC, não houve diferença do IC entre as cultivares (FIGURA 3.7 A). Plantas com maior IC geralmente apresentam maior EUN conforme a literatura (Raun et al., 1999). Quanto ao ICN não foi significativo entre as cultivares e doses de N. A ausência de efeito para ICN não era esperado, mas também ocorreu para Haile et al. (2012).

FIGURA 3.7 – ÍNDICE DE COLHEITA (IC) (A) E ÍNDICE DE COLHEITA DE N (N) (B) EM QUATRO CULTIVARES DE TRIGO DE ALTO POTENCIAL PARA PRODUTIVIDADE E BIOFORTIFICAÇÃO CULTIVADAS EM PONTA GROSSA, SUBMETIDAS A DUAS DOSES DE N. AS LETRAS MINÚSCULAS INDICAM AS DIFERENÇAS ENTRE AS DOSES E AS LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM A DIFERENÇA ENTRE CULTIVARES



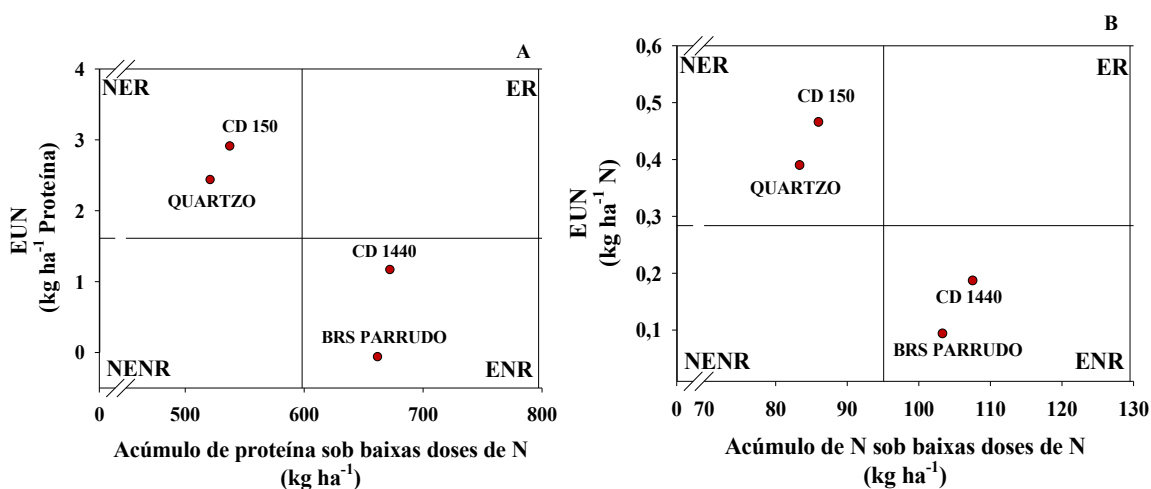
FONTE: O autor (2017).

A EUN conforme Fageria & Barbosa Filho (1981) é outra metodologia de avaliação da eficiência e separa as cultivares por comportamento em cada quadrante em relação a eficiência do uso interno do N para conversão em produção de grãos ou acúmulo de nutrientes como nitrogênio e proteína (FIGURA 3.8).

As cultivares BRS Parrudo e CD 1440 foram eficientes no acúmulo de proteína e nitrogênio (ENR) (FIGURA 3.8), porém não são responsivas, pois com o aumento da dose de N aplicada não aumentaram o acúmulo de nitrogênio e proteína no grão.

A Quartzo e CD 150 não foram eficientes em converter o N aplicado em N nos grãos e acúmulo de proteína, e foram responsivas com o aumento das doses aplicadas (FIGURA 3.8).

FIGURA 3.8 – EFICIÊNCIA DE USO DE N (EUN) PARA ACÚMULO DE PROTEÍNA (A) E PARA ACÚMULO DE NITROGÊNIO EM kg ha^{-1} (B), EM QUATRO CULTIVARES DE TRIGO DE ALTO POTENCIAL PARA PRODUTIVIDADE E BIOFORTIFICAÇÃO CULTIVADAS EM PONTA GROSSA, SUBMETIDAS A DUAS DOSES DE N



FONTE: O autor (2017).

Os índices de eficiência de uso de N avaliados, neste estudo, apontam para a EAN como um indicador de acúmulo de nutrientes nos grãos. A avaliação da EUN conforme Fageria & Barbosa Filho (1981) se mostrou melhor metodologia de EUN para identificação de cultivares eficientes no uso de N e acúmulo de proteína e N nos grãos. A EUN e EUtN conforme Moll et al. (1982), IC e ICN não foram bons indicadores para seleção de cultivares com potencial para biofortificação.

4.6 CONCLUSÕES

As cultivares CD 1440 e BRS Parrudo apresentaram maior potencial de acúmulo de Zn, Fe e proteína no grão o que está associado a maior atividade enzimática da protease e β -glicosidase,

A atividade enzimática, sobretudo da protease e β -glicosidase, são boas indicadoras do uso eficiente de N e do acúmulo de proteína, Zn e Fe nos grãos.

O maior acúmulo de nutrientes para biofortificação foi proporcionado pela maior eficiência de absorção (EAN) e maior absorção de N pela planta.

O aumento do fornecimento do N proporcionou o incremento do acúmulo de proteína e também de Zn nos grãos, não alterou a atividade enzimática da rizosfera e diminuiu a EUN e a EAN das plantas.

A avaliação da EUN para acúmulo de proteína e N se mostrou melhor metodologia para identificação de cultivares eficientes no uso de N e acúmulo de proteína nos grãos.

4.7 REFERÊNCIAS

ACIKSOZ, S.B.; YAZICI, A.; OZTURK, L.; CAKMAK, I. Biofortification of wheat with iron through soil and foliar application of nitrogen and iron fertilizers. *Plant Soil*, 2011.

ALLOWAY, B.J.; Zinc in soils and crop nutrition. International Zinc Association Communications. IZA and IFA Brussels, 2.ed., 2008. 139p.

ANDRADE, G. Interacciones microbianas en la rizosfera. In: SIQUIERA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIM, V.; FURTINI-NETO, A.E.; CARVALHO, J.G., eds. Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas. SBCS, Universidade Federal de Lavras, 1999. p. 551-575.

ASMAR, F.; EILAND, F.; NIELSEN, N.E. Effect of extracelular enzyme activities on solubilization rate of soil organic nitrogen. *Biology Fertily Soils*, 17: 32-38, 1994.

BARBER, D.A.; MARTIN, J. K. The release of organic substances by cereal roots into soil. *New Phytologist*, 76:69-80, 1976.

BARRACLOUGH, P.B.; HOWART, J.R.; JONES, J.; LOPEZ-BELLIDO, R. PARMAR, S.; SHEPERD, C.E.; HAWKESFORD, M.J. Nitrogen efficiency of wheat: Genotypic and environmental variation and prospects for improvement. *European Journal Agronomy*, 33:1-11, 2010.

BECHE, E.; BENIN, G.; BORNHOFEN, E.; DALLO, S. C.; SASSI, L. H. S.; OLIVEIRA, R de. Eficiência de uso de nitrogênio em cultivares de trigo pioneiras e modernas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 49: 948-957, 2014.

BERBARA, R.L.L.; SOUZAF, A.; FONSECAH, M.A.C. Fungos micorrizicos arbusculares: muito além da nutrição. In: FERNANDES, M.S., ed. *Nutrição Mineral de Plantas*. Viçosa: SBCS, 2006. p.57 -60.

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

CAKMAK, I.; PFEIFFER, W.H.; McCLAFFERTY, B. Biofortification of Durum wheat with zinc iron. *Cereal Chemistry*, 87, 2010.

CAKMAK, I. Plant nutrition research: Priorities to meet human needs for food in sustainable ways. *Plant Soil*, 247:3-24, 2002.

CALDWELL, B.A. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiologia*, 49: 637-644, 2005.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V.; V.H; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (Eds). *Fertilidade do solo*. Viçosa, MG, SBCS, 2007. p.375-470.

COX, M.C.; QUALSET, C.O.; RAINS, D.W. Genetic variation for nitrogen assimilation and translocation in wheat. II Nitrogen assimilation in relation to grain yield and protein. *Crop Science*, 25: 435-440, 1985.

DAKORA, F. D.; PHILLIPS, D. A. (2002): Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant Soil*, 245, 35–47.

DAWSON, J.C.; HUGGINS, D.R.; JONES, S.S. Characterizing nitrogen use efficiency in natural and agricultural ecosystems to improve the performance of cereal crops in low-input and organic agricultural systems. *Field Crops*, 107: 89-101, 2008.

DICK RP.; BREAKWELL DP.; TURCO RF. Soil enzyme activity and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: DORAN, JW, JONES, AJ, eds. *Methods for assessing soil quality*, vol. SSSA Special Publication 49. SSSA, Madison, 1996. p. 247-271.

FAGERIA, N.K.; BARBOSA FILHO, M.P. Avaliação de cultivares de arroz para maior eficiência na absorção de fósforo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 16:777-782, 1981.

FERREIRA, A. S.; CAMARGO, F. A. O.; VIDOR, C. Utilização de microondas na avaliação da biomassa microbiana do solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 23:991-996, 1999.

HAILE, D.; NIGUSSIE, D.; AYANA, A. Nitrogen use efficiency of bread wheat: Effects of nitrogen rate and time of application. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12:389-409, 2012.

HARDY, R.W.F.; HAVELKA, U.D. Nitrogen fixation research: A key to world food? *Science*, Washigton, 188:633-643, 1975.

HARPER, L. A.; SHARPE, G.W.; LANGDALE, G.W; GIDDENS, J.E. Nitrogen cycling in wheat crop: Soil, plant and aerial nitrogen transport. *Agronomy Journal*, 79:965-973, 1987.

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 Soil*, 342:149-164, 2011a.

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

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

LADD, J.N.; BUTLER, J.H.A. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and peptide derivatives as substrates. *Soil Biology & Biochemistry* 4, 19–30, 1972.

LILJEROTH, E.; KUIKMAN, P.; VEEN, J.A.V. Carbon translocation to the rhizosphere of maize and wheat and influence on turnover of native soil organic matter at different soil nitrogen levels. *Plant Soil*, 233-240, 1994.

LOPES, A.A.de C. Interpretation of microbial soil indicators as a function of crop yield and organic carbon. *Soil Science Society America Journal*, 77:461-472, 2013.

NAKATANI, A. S.; SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F.; LAMBAIS, M. R. Comunidades microbianas, atividade enzimática e fungos micorrízicos em solo rizosférico de “landfarming” de resíduos petroquímicos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32:1501-1512, 2008.

MAKOI, H.J.R.; NDAKIDEMI, P.A. Selected soil enzymes: examples of their potential roles in the ecosystem. *African Journal of Biotechnology*, 7:3, 181-191, 2008.

MARINARI, S.; MOSCATELLI, C.; GREGO, S. Enzymes at Plant-Soil Interface. In: GIANFREDA, L. & RAO, M.A; eds. *Enzymes in agricultural sciences*, OMICS eBooks Group, 2014. p. 94-109.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. *Microbiologia do solo*. 2.ed., UFLA - LAVRAS, 2006. 729 p.

MOLL, R.H.; KAMPRATH, E.J.; JACKSON, W.A. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. *Agronomy Journal*, 74: 562-564, 1982.

MÜLLER, F. C. Parâmetros químicos e microbiológicos do solo em áreas de restauração florestal na reserva natural rio cachoeira, Antonina-PR. Dissertação de mestrado em Ciência do Solo, UFPR, 2016.

NEUMANN, G.; ROMHELD, V. Rhizosphere chemistry in relation to plant nutrition. In: MARSCHNER, P. eds. *Mineral Nutrition of higher plants*. 3.ed., 2012. 643p.

PALMGREN, M. G.; CLEMENS, S.; WILLIAMS, L.E.; KRAMER, U.; BORG, S.; SCHJORRING, J. K.; SANDERS, D. Zinc biofortification of cereals: problems and solutions. *Trends in Plant Science*, 13:9, 2008.

RAUN, W.R.; JOHNSON, G.V. Improving nitrogen use efficiency for cereal production. *Agronomy Journal*, 91:3, 357-367, 1999.

ROHRBACHER, F.; ST-ARNAUD, M. Root Exudation: The Ecological Driver of Hydrocarbon Rhizoremediation. *Agronomy*, 6:1-19, 2016.

SILVA, E.E.; AZEVEDO, P. H. S de.; De-POLLI, H. Determinação do carbono da biomassa microbiana do solo (BMS-C). Comunicado técnico, 98, 2007 Seropédica- RJ.

SILVA, C. L.; BENIN, G.; BORNHOFEN, E.; TODESCHINI, M. H.; DALLO, S. C.; SASSI, L.H.S. Characterization of brazilian wheat cultivars in terms of nitrogen use efficiency. *Bragantia*, 73:87-96, 2014.

SOUZA, S.R.; FERNANDES, M.S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M.S., ed. *Nutrição mineral de plantas*. Viçosa: SBCS, 2006. p.215-252.

SCHNURER, J.; ROSSWALL, T. Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Total Microbial Activity in Soil and Litter. *Applied and environmental microbiology*, 1256-1261, 1982.

TABATABAI, M.A. Soil enzymes. In: WEAVER RW, ANGLE JS, BOTTOMLEY PS, eds. *Methods of Soil Analysis, part 2. Microbiological and biochemical properties* SSSA, Madison, Wis, 1994. p. 775-833.

TER BRAAK, C.J.F.; SMILAUER, P. *CANOCO Reference manual and CanoDraw for Windows user's guide: Software for Canonical Community Origination (version 4.5)* Ithaca, Microcomputer Power, 500p.

TODESCHINI, M. H.; MILIOLI, A. S.; TREVIZAN, D.M.; BORNHOLEN, E.; FINATTO, T.; STORCK, L.; BENIN, G. Eficiência de uso de Nitrogênio em cultivares modernas de trigo. *Bragantia, Campinas*, 75:351-361, 2016.

WELCH, R.M. Linkages Between Trace Elements in Food Crops and Human Health. IN: Alloway (ed.), *Micronutrient Deficiencies in Global Crop Production*, 287, Springer Science + Business Media B.V. 2008.

XU, G.; FAN, X.; MILLER, A.J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annual Review of Plant Biology*, 63: 153-182, 2012.

YAMAGATA, M.; NORIHARU, A.E. Direct acquisition of organic Nitrogen by crops. *JARQ*, 33:15-21, 1999.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO/ COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO, SBCS/CQFS. *Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina*, 10.ed.. Porto Alegre, 2004. 400 p.

SCHNURER, J.; ROSSWALL, T. Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Total Microbial Activity in Soil and Litter. *Applied and environmental microbiology*, 1256-1261, 1982.

TER BRAAK, C.J.F.; SMILAUER, P. *CANOCO Reference manual and CanoDraw for Windows user's guide: Software for Canonical Community Origination (version 4.5)* Ithaca, Microcomputer Power, 500p.

5. CONCLUSÃO GERAL

O presente trabalho demonstrou a viabilidade de se escolher cultivares que apresentem maior concentração nutricional e proteica, acúmulo de nutrientes e maiores produtividades de grãos aplicando-se índice de uso eficiente de N, para classificar aquelas que apresentam elevada eficiência de uso de N em menores doses nitrogenadas.

A atividade enzimática da protease e β -glicosidase são boas indicadoras de uso eficiente de N e cultivares com maior acúmulo de proteínas, Zn e Fe nos grãos. A EAN foi a que melhor apontou as cultivares de maior potencial para biofortificação. A EUN segundo Fageria & Barbosa Filho (1981) se mostrou melhor metodologia para identificação de cultivares eficientes no uso de N e acúmulo de proteína no grão.

Além disso, é possível através do manejo eficiente de cultivares reduzir os desperdícios com adubação nitrogenada que vem gerando contaminações tanto sobre a qualidade da água em função de perdas via escoamento superficial e lixiviação, bem como perdas de N que atingem a atmosfera e possam contribuir com os gases de efeito estufa.

Ainda com relação às escolhas das cultivares mais eficientes no uso do N, análises enzimáticas contribuem para explicar tanto a maior assimilação do N dentro da planta, como a maior aceleração da decomposição do N orgânico do solo e sua relação com os microrganismos do solo para ampliar sua nutrição.

Cultivares mais eficientes no uso do N, como a BRS Parrudo e a CD 1440, mostraram ser possível a união entre a melhoria da qualidade nutricional dos grãos para suprir as necessidades nutricionais humanas, à produtividade de grãos.

A BRS Parrudo mesmo apresentando melhor produtividade de grãos e concentração proteica e nutricional em ambos os ambientes analisados, foi a que apresentou a maior concentração de Zn no grão. O Zn, por sua vez, na semente, aumenta o vigor para germinação, amplia a atividade fotossintética da planta pelo aumento de perfilhos por planta, aumenta a produtividade de grãos e por aumentar o período vegetativo, aumentando a absorção de nutrientes. A escolha de cultivares que apresentam maior capacidade de acúmulo e alocação de Zn é uma pesquisa muito promissora à biofortificação.

6. REFERÊNCIAS

ACIKSOZ, S.B.; YAZICI, A.; OZTURK, L.; CAKMAK, I. Biofortification of wheat with iron through soil and foliar application of nitrogen and iron fertilizers. *Plant Soil*, 2011.

ALLOWAY, B.J.; Zinc in soils and crop nutrition. International Zinc Association Communications. IZA and IFA Brussels, 2.ed. 2008. 139p.

ANDRADE, G. Interacciones microbianas en la rizosfera. In: SIQUIERA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIM, V.; FURTINI-NETO, A.E.; CARVALHO, J.G., (Eds.). Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas. SBCS, Universidade Federal de Lavras, 1999. p. 551-575.

ASMAR, F.; EILAND, F.; NIELSEN, N.E. Effect of extracelular enzyme activities on solubilization rate of soil organic nitrogen. *Biology Fertily Soils*, 17: 32-38, 1994.

ASSISTAT 7.5 beta 2010. Disponível em: <<http://www.assistat.com/index.html>>. Acesso em 09 mar. 2015.

BARBER, D.A.; MARTIN, J. K. The release of organic substances by cereal roots into soil. *New Phytologist*, 76:69-80, 1976.

BARRACLOUGH, P. B.; HOWART, J.R.; JONES, J.; LOPEZ-BELLIDO, R. PARMAR, S.; SHEPERD, C.E.; HAWKESFORD, M.J. Nitrogen efficiency of wheat: Genotypic and environmental variation and prospects for improvement. *European Journal Agronomy*, 33:1-11, 2010.

BECHE, E. Caracteres agronômicos e fisiológicos associados ao progresso do melhoramento genético de trigo no Brasil. Dissertação mestrado, UTFPR, Pato Branco, 2013.

BECHE, E.; BENIN, G.; BORNHOFEN, E.; DALLO, S. C.; SASSI, L. H. S.; OLIVEIRA, R de. Eficiência de uso de nitrogênio em cultivares de trigo pioneiras e modernas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 49: 948-957, 2014.

BERBARA, R.L.L.; SOUZAF, A.; FONSECAH, M.A.C. Fungos micorrizicos arbusculares: muito além da nutrição. In: FERNANDES, M.S., ed. Nutrição Mineral de Plantas. Viçosa: SBCS, 2006. p.57 -60.

BREDEMEIER, C.; MOUNDSTOCK, C.M. Regulação e absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. *Ciência Rural*, Santa Maria, 30:365-372, 2000.

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

CAKMAK, I. Plant nutrition research: Priorities to meet human needs for food in sustainable ways. *Plant Soil*, 247:3-24, 2002.

CAKMAK, I.; OZKAN, H.; BRAUN, H.J.; WELCH, R. M.; ROMHELD, V. Zinc and iron concentrations in seeds of wild primitive and modern wheats. *Food Nutr. Bull*, 21:401-403, 2000.

CAKMAK, I.; PFEIFFER, W.H.; McCLAFFERTY, B. Biofortification of Durum wheat with zinc iron. *Cereal Chemistry*, 87, 2010.

CALDWELL, B.A. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiologia*, 49: 637-644, 2005.

CANTARELLA, H.; Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L, (Eds). *Fertilidade do solo*. Viçosa, MG, SBCS, 2007. p.375-470.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. *Sementes: Ciência, tecnologia e produção*. 5 ed, 2012, 590p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Observatório agrícola, Acompanhamento da safra de grãos. Monitoramento agrícola – cultivos de inverno (safra 2015) e de verão (safra 2015/16). 3:4, 2016.

COX, M.C.; QUALSET, C.O.; RAINS, D.W. Genetic variation for nitrogen assimilation and translocation in wheat. II Nitrogen assimilation in relation to grain yield and protein. *Crop Science*, 25: 435-440, 1985.

DAKORA, F. D.; PHILLIPS, D. A. (2002): Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant Soil*, 245, 35–47.

DAWSON, J.C.; HUGGINS, D.; JONES, S.S. Characterizing nitrogen use efficiency in natural and agricultural ecosystems to improve the performance of cereal crops in low-input and organic agricultural systems. *Field Crops*, 107: 89-101, 2008.

DENCHEN, A.R.; NACHTIGALL, G.R. Micronutrientes. In: *Nutrição Mineral de Plantas* (Ed): Manlio Silvestre. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 327-354, 2006.

DICK, R.P.; BREAKWELL, D.P.; TURCO, R.F. Soil enzyme activity and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J.; (Eds). *Methods for assessing soil quality*, vol. SSSA Special Publication 49. SSSA, Madison, 1996. p. 247-271.

EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. (Ed): Fábio Cesar da Silva. - 2. ed. rev. ampl. Brasília- DF, 2009.

ERNANI P. R.; SANTOS, J. C. P.; KAMINSKI, J.; RHEINHEIMER, D. Prediction of phosphorus uptake by a mechanistic model in a low phosphorus highly weathered soil affected by mycorrhizae inoculation. *Journal Plant Nutrition* 17: 1067-1078, 1994.

ESKEW, D.L.; WELCH, R.M.; NORVELL, W.A. Nickel in higher plants: further evidence for an essential role. *Plant Physiology*, 76(3):691-693, 1984.

FAGERIA, N.K.; BARBOSA FILHO, M.P. Avaliação de cultivares de arroz para maior eficiência na absorção de fósforo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 16:777-782, 1981.

FERREIRA, A. S.; CAMARGO, F. A. O.; VIDOR, C. Utilização de microondas na avaliação da biomassa microbiana do solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 23:991-996,

1999.

FREITAS, T.F.S. de.; SILVA, P.R.F. da.; MARIA, C.H.P.; MENEZES, V.G.; ANGHINONI I.; BREDEMEIER, C.; VIEIRA, V.M. Produtividade de arroz irrigado e eficiência da adubação nitrogenada influenciadas pela época da semeadura. R. Bras. Ci. Solo, 32:2397-2405, 2008.

GAO, X.; ODEAN, M.L.; GRANT, C.A. Grain concentration 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, 121, 36-44, 2012.

GARVIN, D. F.; WECH, R.M.; FINLAY, J.W. Historical shifts in seed mineral micronutriente concentration of U.S. hard red winter wheat germplasm. Journal Science Food Agriculture 86:2213-2220, 2006.

GAUER, L.E.; GRANT, C.A.; GEHL, D.T.; BAILEY, L.D. Effects of nitrogen fertilization on grain protein content, nitrogen uptake, and nitrogen use efficiency of six spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars, in relation to estimated moisture supply. Canadian Journal Plant Science. 72:235-241, 1992.

GOMEZ-BECERRA, H.F.; ERDEM, H.; YAZICI, A.; TUTUS, Y.; TORUM, B.; OZTURK, L.; CAKMAK, I. Grain concentrations of protein and mineral nutrients in a large collection of spelt wheat grown under different environments. Journal of Cereal Science, 52: 342-349, 2010.

GREGERSEN, P.L.; HOLM, P.B.; KRUPINSKA, K. Leaf senescence and nutriente remobilisation in barley and wheat. Plant Biology, 37-49, 2008.

HAILE, D.; NIGUSSIE, D.; AYANA, A. Nitrogen use efficiency of bread wheat: Effects of nitrogen rate and time of application. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 12:389-409, 2012.

HARDY, R.W.F.; HAVELKA, U.D. Nitrogen fixation research: A key to world food? Science, Washigton, 188:633-643, 1975.

HARPER, L. A.; SHARPE, G.W.; LANGDALE, G.W.; GIDDENS, J.E. Nitrogen cycling in wheat crop: Soil, plant and aerial nitrogen transport. *Agronomy Journal*, 79:965-973, 1987.

HEWITT, E. J.; SMITH, T. A. *Plant Mineral Nutrition*. The English Universities Press. Londres, 1975, 298p.

HOGAN, M.E.; SWIFT, I.E.; DONE, J. Urease assay and ammonia release from leaf tissues. *Phytochemistry*, 22:3, 663-667, 1983

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

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

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 Soil*, 342:149-164, 2011a.

LADD, J.N.; BUTLER, J.H.A. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and peptide derivatives as substrates. *Soil Biology & Biochemistry* 4, 19-30, 1972.

LILJEROTH, E.; KUIKMAN, P.; VEEN, J.A.V. Carbon translocation to the rhizosphere of maize and wheat and influence on turnover of native soil organic matter at different soil nitrogen levels. *Plant Soil*, 233-240, 1994.

LOPES, A.A.de C. Interpretation of microbial soil indicators as a function of crop yield and organic carbon. *Soil Science Society America Journal*, 77:461-472, 2013.

MAKOI, H.J.R.; NDAKIDEMI, P.A. Selected soil enzymes: examples of their potential roles in the ecosystem. *African Journal of Biotechnology*, 7:3, 181-191, 2008.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e perspectivas. 2 ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 201p.

MARINARI, S.; MOSCATELLI, C.; GREGO, S. Enzymes at Plant-Soil Interface. In: GIANFREDA, L. & RAO, M.A; eds. *Enzymes in agricultural sciences*, OMICS eBooks Group, 2014. p. 94-109.

MARSCHNER, P. Mineral Nutrition of higher plants. Third edition, 2012, 643p.

MASCLAUX, C.; VALADIER, M. H.; BRUGIERE, N.; MOROT-GAUDRY, J.F.; HIREL, B. Characterization of the sink/ source transition in tabaco (*Nicotiana tabacum L*) shoots in relation to nitrogen management in leaf senescence. *Planta*, 211:510-218, 2000.

MATILE, P.; SHELLENBERG, M.; VICENTINI, F. Localization of chorophyllase in the choroplast envelope. *Planta*, 201:96-99, 1997.

McCULLOUGH, H.; Determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clinica Chimica Acta*, 17:2, 297-304, 1967.

MOLL, R.H.; KAMPRATH, E.J.; JACKSON, W.A. Analysis and interpretation of factors wich contribute to efficiency of nitrogen utilization. *Agronomy Journal*, 74: 562-564, 1982.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. *Microbiologia do solo*. 2.ed., UFLA - LAVRAS, 2006. 729 p.

MOUGONOUV, A.; GOMEZ-BECERRA, H.F.; ABUGALIEVA, A.; DZHUNUSOVA, M.; YESSIMBEKOVA, M.; MUMINJANOV, H.; ZELENSKIY, Y.; OZTURK, L.; CAKMAK, I. Iron and zinc grain density in common wheat grown in Central Asia. *Euphytica*, 155:193-203, 2007.

MULDER, E. G.; BOXMA, R.; VEEN, W. L. V. The effect of molybdenum and nitrogen deficiencies on nitrate reduction in plant tissues. *Plant and Soil*, 10:335-355, 1959.

MÜLLER, F. C.; Parâmetros químicos e microbiológicos do solo em áreas de restauração florestal na reserva natural rio cachoeira, Antonina-PR. Dissertação de mestrado em Ciência do Solo, UFPR, 2016.

NAKASATHIEN, S.; ISRAEL, D.W.; WILSON, R.F.; KWANYUEN, P. Regulation of seed protein concentration in soybean by supra-optimal nitrogen supply. *Crop Science*, 40:1277-1284, 2000).

NAKATANI, A. S.; SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F.; LAMBAIS, M. R. Comunidades microbianas, atividade enzimática e fungos micorrízicos em solo rizosférico de “landfarming” de resíduos petroquímicos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32:1501-1512, 2008.

NEUMANN, G.; ROMHELD, V. Rhizosphere chemistry in relation to plant nutrition. In: MARSCHNER, P. eds. *Mineral Nutrition of higher plants*. 3.ed., 2012. 643p.

NOURELDIN, N.A.; SAUDY, H.S.; ASHMAWY, F.; SAED, H.M. Grain yield response index of bread wheat cultivars as influenced by nitrogen levels. *Annals of Agriculture Science*, 58:2, 147-152, 2013.

OAKS, A. Efficiency of nitrogen utilization in C3 e C4 cereals. *Plant Physiology*, Lascaster 106:407-414,1994.

OZTURK, L.; YAZICI, M. A.; YUCEL, C.; TORUN, A.; CEKIC, C.; BAGCI, A.; OZKAN, H.; BRAUN, H. J.; SAYERS, Z.; CAKMAK, I. Concentration and localization of zinc during seed development and germinations in wheat. *Physiologia Plantarum*, 128: 144-152, 2006.

PALMGREN, M. G.; CLEMENS, S.; WILLIAMS, L.E.; KRAMER, U.; BORG, S.; SCHJORRING, J. K.; SANDERS, D. Zinc biofortification of cereals: problems and solutions. *Trends in Plant Science*, 13:9, 2008.

PASCOALINO, J.A.L. Estratégias de adubação com zinco para biofortificação agrônômica de trigo. Dissertação de mestrado em Ciência do Solo, 2014.

PEOPLES, M.B.; DALLING, M.J. The interplay between proteolysis and amino acid metabolism during senescence and nitrogen reallocation. In: NOODEN, L.D & LEOPOLD, A.C, eds. Senescence and aging in plants. San Diego, Academic Press, 181-217,1988.

RAUN, W.R.; JOHNSON, G.V. Improving nitrogen use efficiency for cereal production. *Agronomy Journal*, 91:3, 357-367,1999.

RODAK, B.W.; MORAES, M. F de.; PASCOALINO, J.; JUNIOR, A. de O.; CASTRO, C de.; PAULETTI, V. Methods to quantify nickel in soils and plant tissues. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 39: 788-793, 2015.

ROHRBACHER, F.; ST-ARNAUD, M. Root Exudation: The Ecological Driver of Hydrocarbon Rhizoremediation. *Agronomy*, 6:1-19, 2016.

SANGHVI, T. G. Economic Rationale for Investing in Micronutrient Programs. A Policy Brief Based on New Analyses. Office of Nutrition, Bureau for Research and Development, United States Agency for International Development, Washington, DC. 1996.

SATTELMACHER, B.; HORST, W.J.; BECKER, H.C; Factors that contribute to genetic variation for nutrient efficiency of crop plants. *Pflanzen. Bondenk*, 157: 215-224, 1994.

SCHNURER, J.; ROSSWALL, T. Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Total Microbial Activity in Soil and Litter. *Applied and environmental microbiology*, 1256-1261, 1982.

SHIVAY, Y. S.; PRASAD, R.; RAHAL, A. Relative efficiency of zinc oxide and zinc sulfate- enriched urea for spring wheat. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 82:259-264, 2008.

SILVA, C. L.; BENIN, G.; BORNHOFEN, E.; TODESCHINI, M. H.; DALLO, S. C.; SASSI, L.H.S. Characterization of brazilian wheat cultivars in terms of nitrogen use efficiency. *Bragantia*, 73:87-96, 2014.

SILVA, E.E.; AZEVEDO, P. H. S de.; De-POLLI, H. Determinação do carbono da biomassa microbiana do solo (BMS-C). Comunicado técnico, 98, 2007 Seropédica- RJ.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO/ COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO, SBCS/CQFS, 2004. Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. 10 ed. Porto Alegre, 400p.

SOUZA, S.R.; FERNANDES, M.S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M.S., ed. Nutrição mineral de plantas. Viçosa: SBCS, 2006. p.215-252.

SOUZA, V.Q., NARDINO, M.; BONATO, G. O.; BAHRY, C. A.; CARON, B. O.; ZIMMER, P. D.; SHMIDT, D. Desfolha em diferentes estádios fenológicos sobre características agrônômicas em trigo. *Bioscience Journal Uberlândia*, 29: 1905-1911, 2013.

TABATABAI, M.A. Soil enzymes. In: WEAVER RW, ANGLE JS, BOTTOMLEY PS, eds. *Methods of Soil Analysis, part 2. Microbiological and biochemical properties* SSSA, Madison, Wis, 1994. p. 775-833.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TER BRAAK, C.J.F.; SMILAUER, P. *CANOCO Reference manual and CanoDraw for Windows user's guide: Software for Canonical Community Organization (version 4.5)* Ithaca, Microcomputer Power, 2002, 500p.

TIWARI, V. K.; RAWAT, N.; CHUUNEJA, P.; NEELAM, K.; AGGARWAL, R.; RANDHAWA, S.; DHALIWAL, H. S.; KELLER, B.; SINGH, K. Mapping of quantitative trait loci for grain iron and zinc concentration in diploid a genome wheat. *Jornal of Heredity*, 100: 771-776, 2009.

TODESCHINI, M. H.; MILIOLI, A. S.; TREVIZAN, D.M.; BORNHOLEN, E.; FINATTO, T.; STORCK, L.; BENIN, G. Eficiência de uso de Nitrogênio em cultivares modernas de trigo. *Bragantia*, Campinas, 75:351-361, 2016.

TURPIN, D. H.; VANLERBERGHE, G.C.; AMORY, A. M. The inorganic carbon requirements for nitrogen assimilation. *Canada Journal of Botany*, Ottawa, 69:1139-1145, 1991.

UAUY, C.; BREVIS, J. C.; DUBCOVSKY, J. The high grain protein content gene *Gpc-B1* accelerates senescence and has pleiotropic effects on protein content in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 57; 2785-2794, 2006.

VALÉRIO, I. P.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; MACHADO, A. A.; BENIN, G.; SCHEEREN, P.L.; SOUZA, V. Q.; HARTWING, I. Desenvolvimento de afilhos e componentes de rendimento de trigo sob diferentes densidades de semeadura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília, v. 43, n. 3, p. 319-326, 2008.

VIANA, E.M. Interação de Nitrogênio e Potássio na nutrição, no teor de clorofila e na atividade reductase do nitrato em plantas de trigo. Dissertação de mestrado em Solos e Nutrição de plantas. Piracicaba, 2007.

WELCH, R.M.; GRAHAM, R.D. A new paradigm for world agriculture: meeting human needs. Productive, sustainable, nutritious. *Field Crops Research*, 60, 1-10, 1999.

WELCH, R.M. Linkages Between Trace Elements in Food Crops and Human Health. IN: Alloway (ed.), *Micronutrient Deficiencies in Global Crop Production*, 287, Springer Science + Business Media B.V. 2008.

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*, 182:49-84, 2009.

WOOD, B.W.; REILLY, C.C.; NYCZEPIR, A.P. Mouse-ear of pecan: I. Symptomatology and occurrence. *HortScience*, 39(1):87-94, 2004a.

XU, G; FAN, X; MILLER, A.J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annual Review of Plant Biology*, 63: 153-182, 2012.

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

YAMAGATA, M.; NORIHARU, A.E. Direct acquisition of organic Nitrogen by crops. *JARQ*, 33:15-21, 1999.

ZHAO, F.J.; SU, Y.H.; DUNHAM, S.J.; RAKSZEGI, M.; BEDO, Z.; McGRATH, S.P.; SHEWRY, P.R. Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin. *Journal of Cereal Science*, 49: 290-295, 2009.