



Teses Manejo do Arroz

Sumário

Doses e épocas de aplicação de nitrogênio na suscetibilidade do arroz a temperatura baixa na fase reprodutiva

Composição química e propriedades antioxidantes de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**DOSES E ÉPOCAS DE APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO
NA SUSCETIBILIDADE DO ARROZ A
TEMPERATURA BAIXA NA FASE REPRODUTIVA**

TESE DE DOUTORADO

Ramón Felipe Méndez Larrosa

**Santa Maria, RS, Brasil
2008**

**DOSES E ÉPOCAS DE APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO NA
SUSCETIBILIDADE DO ARROZ A TEMPERATURA BAIXA
NA FASE REPRODUTIVA**

por

Ramón Felipe Méndez Larrosa

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área
de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de
Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau
de

Doutor em Agronomia

Orientador:
Prof. Dr. Enio Marchesan

Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil

2008

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Agronomia**

**A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese de
Doutorado**

**DOSES E ÉPOCAS DE APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO NA
SUSCETIBILIDADE DO ARROZ A TEMPERATURA BAIXA
NA FASE REPRODUTIVA**

**elaborada por
Ramón Felipe Méndez Larrosa**

**como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Agronomia**

Comissão Examinadora:

**Enio Marchesan, Dr.
(Presidente/Orientador)**

Luis Antonio de Avila, Ph.D., (Co-Orientador)(UFSM)

Leandro Souza da Silva, Dr., (Co-Orientador)(UFSM)

Walkyria Bueno Scivittaro, Dra. (EMBRAPA)

Alvaro Roel Dellazzopa, Ph.D. (INIA)

Santa Maria, 12 de junho 2008

DEDICATÓRIA

A minha família
Minha esposa Belky,
e meus filhos, Martín e Maria.
A meus Pais Martha (*in memoriam*) e Angelino(*in memoriam*),
A meus irmãos, Hugo, Juan (*in memoriam*), Ruben, Teresa, Elsa e
Mabel.
A meus sogros Albérico (*in memoriam*) e Blanca
A meus amigos Alvear e Teresa

AGRADECIMENTOS

A minha família pelo apoio e tempo que foi suprimido, especialmente a minha esposa por ter que fazer de pai em minha ausência e sua constante incentivo.

Ao PEC/PG pelo apoio financeiro.

Ao Prof.. Orientador Enio Marchesan e aos Profs. do Comitê de orientação, Luis Antonio de Avila e Leandro Souza da Silva pela orientação e ensinamentos recebidos.

A INIA Treinta y Três por ter colaborado na realização dos experimentos nos seus locais.

Aos Eng. Agr. Enrique Deambrosi, Jose Terra e Sidinei José Lopes pelas sugestões do delineamento experimental executado.

Ao Eng. Agr. Enrique Deambrosi pela ajuda e sugestões recebidas na execução dos experimentos.

Aos Funcionários de INIA Treinta y Três, da Seção Manejo e Melhoramento de arroz, Servicios Auxiliares, Semillas, Operaciones, Agroclimatologia, e Secretaria: Washington Duplat, Gustavo Crossa, Beto Sosa, Ruben Jara, Fernando Lauz, Alexandra Ferreira, Jorge Obispo, Adan Rodriguez, Luis Casales, Fernando Escalante, Fernando Cabrera, Robert Larrosa, Dardo Mesa, Miguel Dominguez, Rafael Bas, Mauro Figueroa, Carlos Segovia, Bruno Sosa, Fernando Reymundez, Domingo Gadea, Mabel Oxley, Julio Gorosito, Daniel Ramirez, Gerardo Ituarte, Raul Bauzil, Jorge Alonso e Olga Alvarez pela ajuda recebida e responsabilidade na condução dos experimentos de Campo e Casa de Vegetação.

Aos colegas do “Grupo de Pesquisa em Arroz Irrigado de Várzeas da UFSM”: Silvio Cazarotto Villa, Fernando Machado dos Santos, Jacqueline Golombieski, Edinalvo Rabaioli Camargo, Alejandro Kramer, Melissa Walter, Mara Grohs, Tiago Luis Rosato, Gustavo Mack Teló, Paulo Fabricio Massoni, Diego Rost Arocemena, Diogo Machado Cezimbra, Rafael Messomo pela ajuda recebida durante meus estudos, troca de experiência e convivência.

À Universidade Federal de Santa Maria por ter me acolhido durante meus estudos.

A todos aqueles que de uma ou de outra me ajudaram durante minha estada na UFSM.

RESUMO GERAL

Tese de Doutorado em Agronomia
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria

DOSES E ÉPOCAS DE APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO NA SUSCETIBILIDADE DO ARROZ A TEMPERATURA BAIXA NA FASE REPRODUTIVA

Autor: Ramón Felipe Méndez Larrosa
Orientador: Enio Marchesan
Santa Maria, 12 de junho de 2008

A liberação de novas cultivares e a melhoria nas práticas de manejo fazem necessário estudar as épocas e doses de N a serem aplicadas para obter altas produtividades. Também existem poucas informações a respeito do efeito das aplicações de doses de nitrogênio (N) em diferentes estádios (vegetativos ou reprodutivos) sobre a sensibilidade das plantas de arroz quando submetidas ao frio na fase reprodutiva. Em vista disto, foram instalados quatro experimentos dois em campo e dois em casa de vegetação com o objetivo de determinar o efeito da época e a dose de aplicação de N sobre a produtividade e sobre a susceptibilidade de plantas de arroz irrigado à temperatura baixa na fase reprodutiva. Os experimentos foram conduzidos no ano agrícola 2006/2007 e 2007/2008 na estação experimental do INIA Treinta y Três, Uruguai. O delineamento experimental utilizado em casa de vegetação foi o inteiramente casualizado em esquema bifatorial (fator A: estádios ou doses de aplicação de N e fator B: tratamento de temperatura), com quatro repetições. Para estudar o efeito da época de aplicação de N, os tratamentos do fator A foram aplicação de N (30 kg ha^{-1}) nos estádios V4, V5, V6, V7, V8, R0, R1 e a testemunha sem N em cobertura. Para estudar o efeito de doses foram aplicados para o fator A 0, 23, 46 e 69 kg ha^{-1} de N no estádio V4 e as mesmas doses no estádio R0 e uma testemunha sem N em cobertura nos dois estádios. No fator B dos dois experimentos realizou-se dois tratamentos: com e sem frio (com frio as plantas foram submetidas com $12,5^{\circ}\text{C}$ durante 7 horas em 4 noites seguidas quando o colar da folha bandeira ficou à mesma altura que o colar da folha anterior). O delineamento em campo foi de blocos ao acaso com quatro repetições. Os tratamentos foram de estádios ou doses de aplicação de N iguais aos dos

experimentos em casa de vegetação Em casa de vegetação a esterilidade de espiguetas não é afetada pela aplicação de N em estádios diferentes, nem pelas doses aplicadas, em função dos tratamentos de frio a que as plantas foram submetidas. O tratamento de frio provoca um efeito temporário no índice SPAD atrasando a emergência de panículas e reduzindo o tamanho da panícula, mas não afeta a produtividade. Em campo o arroz cultivado em área após três anos de pecuária há baixa resposta às doses e épocas de aplicação de N em cobertura sobre a produtividade de grãos e seus componentes.

Palavras-chave: Arroz irrigado, estádios e doses de aplicação de N, baixa temperatura, índice SPAD.

GENERAL ABSTRACT

Ph D. Dissertation in Agronomy
Agronomy Graduate Program
Federal University of Santa Maria

RATES AND STAGES OF NITROGEN APPLICATION IN RICE SUSCETIBILITY TO LOW TEMPERATURE IN REPRODUCTIVE STAGE

Author: Ramón Felipe Méndez Larrosa
Adviser: Enio Marchesan
Autor: Ramón Felipe Méndez Larrosa
Santa Maria, Junho 12, 2008

The release of new cultivars and improvement in management practices is necessary to examine the time and nitrogen (N) rates to be applied to obtain high yields. Also there is little information about the effect of the N rate and stage (vegetative or reproductive) on the sensitivity of plants of rice to cold in the reproductive stage. For these reasons four experiments were installed two in field and two in a greenhouse with the objective of determining the effect of N rates and application timing on yield and on the susceptibility of rice plants to low temperature in the reproductive stage. The experiments were conducted in the 2006/2007 and 2007/2008 growing season at INIA Treinta y tres, Uruguay. The experimental design in greenhouse was completely randomized in a factorial experimental design (factor A: stages or rates of N application and B factor: treatment of temperature), with four replications. To study the effect of the time of application of N, The treatments were application of N (30 kg ha^{-1}) in the stages V4, V5, V6, V7, V8, R0, R1 and control without N in topdress. To study the effect of rates were applied to the factor A 0, 23, 46 and 69 kg ha^{-1} , in V4 stage and the same rates in R0 stage. For the factor B of the two experiments were carried out two treatments: with and without cold (cold with the plants were treated with 12.5°C for 7 hours in 4 nights when the collar of the flag leaf was at the same height as the collar of the leaf below). Treatments from the field experiments were the same for the factor A of the experiments in greenhouse later explained, in a randomized block design with four replications. In a greenhouse the spikelets sterility was not affected by the application of N in different stages or the rates applied when the plants were subjected to cold. The cold treatment caused a

temporary effect on the SPAD index retarding panicle emergency and reducing the size of the panicle, but did not affect yield. In the rice grown in the area after three years of livestock the plants respond to low rates and times of application of N in yield and its components

Keywords: Flooded rice, N application stages, rates of N application, low temperature, SPAD index.

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

TABELA 1	Produtividade de grãos, número de panículas por metro quadrado, número de grãos/panícula, massa de mil grãos e esterilidade de espiguetas em função da época de aplicação de N na cultivar INIA Olimar, INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2007.....	35
TABELA 2	Índice SPAD, matéria seca da parte aérea de plantas, teor de N total e N absorvido, registrados no estágio R3-R4, em função da época de aplicação de N na cultivar INIA Olimar, INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2007.....	37
TABELA 3	Produtividade de grãos, panículas por metro quadrado, grãos por panícula, massa de mil grãos e esterilidade de espiguetas em função de doses de N aplicados nas fases vegetativa e reprodutiva na cultivar INIA Olimar, Treinta y Três, Uruguai, 2007.....	38
TABELA 4	Índice SPAD, matéria seca da parte aérea de plantas, teor de nitrogênio (N) total e N absorvido, registrados no estágio R3-R4 em função das doses de N aplicadas nas fases vegetativa e reprodutiva na cultivar INIA Olimar, INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2007.....	39

Capítulo

III

TABELA 1	Tratamentos de épocas de aplicação de nitrogênio para a cultivar INIA Olimar. INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2008.....	45
----------	---	----

TABELA 2	Efeito da época de aplicação de nitrogênio na resposta a frio da cultivar Olimar, medida pela esterilidade de espiguetas, produtividade de grãos por balde, número de grãos por panícula e massa de mil grãos, INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2008.....	48
----------	--	----

TABELA 3	Efeito da época de aplicação de nitrogênio na resposta a frio da cultivar Olimar, medida pelo índice SPAD aos 3 e 10 dias após o tratamento (DAT) de frio e do número de panículas por balde aos 87 e 92 dias após a emergência (DAE), INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2008.....	49
----------	--	----

Capítulo IV

TABELA 1	Doses de nitrogênio, em kg há ⁻¹ , aplicados na cultivar INIA Olimar nos estádios V4 e R0, Treinta y Três, Uruguai, 2008.....	55
----------	--	----

TABELA 2	Efeito da aplicação de temperaturas baixas em plantas de arroz da cultivar INIA Olimar, na esterilidade de espiguetas, produtividade de grãos, número de grãos por panícula e massa de mil grãos . INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2008.....	57
----------	--	----

TABELA 3	Efeito da aplicação de temperaturas baixas em plantas de arroz da cultivar INIA Olimar, na medida indireta do teor de clorofila (Índice SPAD) realizados aos 3 e 10 dias após o tratamento (DAT) de frio e número de panículas/balde aos 87 e 92 dias depois da emergência (DAE) de plântulas. INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2008.....	60
----------	--	----

LISTA DE FIGURAS

Capítulo II

- FIGURA 1 Diagrama apresentando a ocorrência dos estádios de Counce et al. (2000) dos experimentos 1 e 2 em campo. E: emergência de plântulas..... 34

Capítulo III

- FIGURA 1 Diagrama apresentando a ocorrência dos estádios de Counce et al. (2000) do experimento 1 em casa de vegetação. E: emergência de plântulas, IF: início frio, FF: final frio..... 46

Capítulo IV

- FIGURA 1 Diagrama apresentando a ocorrência dos estádios de Counce et al. (2000) no experimento de doses de aplicação de N em casa de vegetação. E: emergência de plântulas, IF: início frio, FF: final frio..... 56
- FIGURA 2 Efeitos da dose N nos estádios V4 e R0 na produtividade de grãos por balde. INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés Uruguai, 2008..... 58
- FIGURA 3 Efeitos das doses de nitrogênio no estádio V4 e R0 no teor de clorofila medida indireta pelo índice SPAD aos 10 dias do tratamento de frio, INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2008..... 60
- FIGURA 4 Efeito das doses de nitrogênio no estádio V4 e R0 no teor de clorofila medida indireta pelo índice SPAD aos 16 dias do tratamento de frio, INIA Treinta y Tres, Treinta y Trés, Uruguai, 2008..... 61
- FIGURA 5 Efeito das doses de nitrogênio no estádio V4 e R0 no número de panículas por balde aos 87 dias após a emergência, INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2008..... 62
- FIGURA 6 Efeito das doses de nitrogênio no estádio V4 e R0 no número final de panículas por balde aos 92 dias após a emergência, INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2008..... 63

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice 1	Insolação mensal normal e ocorrida de outubro a março nas safras 2006/07 e 2007/08. INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2008.....	74
Apêndice 2	Precipitação pluvial mensal normal e ocorrida entre outubro e março nas safras 2006/07 e 2007/08. INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2008.....	74
Apêndice 3	Temperaturas máximas e mínimas ocorridas durante os meses de janeiro a março de 2007 INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2008.....	75
Apêndice 4	Temperaturas máximas e mínimas ocorridas durante os meses de janeiro a março de 2008 INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2008.....	75
Apêndice 5	Foto amostrando o estádio de tratamento com frio. INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2008.....	76
Apêndice 6	Foto amostrando o estádio de tratamento com frio. INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2008.....	76
Apêndice 7	Foto amostrando o estádio de tratamento com frio. INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2008.....	77

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	11
CAPÍTULO I. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: EFEITOS DAS BAIXAS TEMPERATURAS NA RESPOSTA A NITROGÊNIO.....	18
Resumo.....	18
Abstract.....	18
Introdução.....	19
Efeitos do frio na cultura de arroz.....	22
Interação do nitrogênio com baixa temperatura.....	25
Medidas para minimizar o efeito do frio sobre o arroz irrigado.....	26
CAPÍTULO II. MANEJO DA ADUBAÇÃO NITROGENADA EM COBERTURA DO ARROZ IRRIGADO.....	29
Resumo.....	29
Abstract.....	29
Introdução.....	30
Material e métodos.....	32
Resultados e discussão.....	34
Conclusões.....	40
CAPÍTULO III. ÉPOCA DE APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO E A SUSCETIBILIDADE DO ARROZ IRRIGADO A TEMPERATURA BAIXA NA FASE REPRODUTIVA.....	41
Resumo.....	41
Abstract.....	41
Introdução.....	42
Material e métodos.....	44
Resultados e discussão.....	46
Conclusões.....	50
CAPÍTULO IV. DOSES DE NITROGÊNIO E A SUSCETIBILIDADE DO ARROZ IRRIGADO A BAIXA TEMPERATURA NA FASE REPRODUTIVA.....	51
Resumo.....	51
Abstract.....	52
Introdução.....	52
Material e métodos.....	54
Resultados e discussão.....	56
Conclusões.....	63
Conclusões gerais.....	64
Sugestões para trabalhos futuros.....	65
Referências.....	66

INTRODUÇÃO

Caracterização do problema

A eficiência da adubação nitrogenada para o arroz irrigado depende de fatores ambientais e do manejo da lavoura. Nos últimos anos, tem ocorrido uma melhora no manejo da lavoura e também a liberação de novas cultivares proporcionando maior potencial de produtividade (Deambrosi & Mendez, 2002). Dentro de uma mesma espécie, as diferentes cultivares podem ter exigências nutricionais diferenciadas (Freitas et al, 2001). Na lavoura de arroz, a adubação nitrogenada tem grandes requerimentos e necessita maiores cuidados quanto a época e doses aplicadas. Isto faz necessária a realização continuada através dos anos de experimentos com o objetivo de determinar a época ideal e a dose a ser aplicada de modo de obter a maior produtividade (Walker, 2006a).

No Rio Grande do Sul, atualmente, as doses de nitrogênio (N) recomendadas para o arroz irrigado dependem do teor de matéria orgânica do solo e ao incremento de produtividade da cultura pretendido, mas podem ser ajustadas em função das condições climáticas ocorridas com relação à temperatura e luminosidade (SOSBAI, 2007). Isso porque o clima na região produtora de arroz do sul do RS existe probabilidade de ocorrência de frio na fase reprodutiva do arroz (Steinmetz et al., 1997), o qual provoca esterilidade de espiguetas com conseqüente diminuição na produtividade de grãos. Neste sentido, trabalhos feitos no Japão e na Austrália determinam um aumento na sensibilidade ao frio com um aumento da disponibilidade de N aplicado tanto na fase vegetativa como na fase reprodutiva do arroz irrigado. As altas doses de N nos estádios vegetativos estão associadas a um rápido crescimento vegetativo antes da floração o qual pode promover um desequilíbrio fotossíntese-respiração, reduzindo as espiguetas cheias e diminuindo a produtividade final (Heenan, 1984). Este autor também encontrou diferenças entre cultivares na sensibilidade ao frio com aumento na dose de N. As aplicações de N nos estádios vegetativos também incrementam o perfilhamento e o número de espiguetas por planta, provocando redução de grãos de pólen cheios por antera tornando-os mais propensos a uma maior esterilidade de espiguetas sob baixa temperatura (Gunawardena et al., 2003a). Estes autores relatam que, removendo perfilhos das plantas de arroz, ocorre maior número de grãos maduros de pólen por

antera e uma menor esterilidade de espiguetas sob baixa temperatura. Segundo Gunawardena & Fukai (2005), as plantas de arroz devem ter suficiente quantidade de assimilados sintetizados no momento da formação do grão de pólen e não de reservas para obter um número ideal deles cheios totalmente de assimilados e ter uma boa fertilidade de espiguetas. Os trabalhos de Satake et al. (1987), mostraram que aplicando N na fase reprodutiva (no período entre diferenciação de espiguetas até o estágio de jovem micróspora) obtiveram a mais alta esterilidade de espiguetas sob baixa temperatura na fase reprodutiva (12°C por 3 dias). Hayashi et al. (2000) demonstraram que altas aplicações de N na fase reprodutiva, no período compreendido entre a diferenciação de espiguetas até micróspora jovem, diminuíram o número de micrósporas e grãos de pólen sendo isto intensificado pelo tratamento de frio (12°C/12°C por 4 dias).

Outro aspecto a ser considerado é que com a liberação de novas cultivares há necessidade de conhecer o efeito das épocas e doses de aplicação de N. Também, há poucas informações no sul do Rio Grande do Sul e leste de Uruguai a respeito das doses de N que podem provocar efeitos sobre a sensibilidade do arroz a baixa temperatura na fase reprodutiva, bem como aquelas relacionadas ao momento da aplicação de N, especialmente devido ao efeito de aplicações de N na fase vegetativa e reprodutiva.

Objetivos

O presente trabalho tem como objetivo estudar a relação entre os efeitos da baixa temperatura e época e dose de aplicação do N.

Hipóteses

- Aplicando o N cedo na fase vegetativa pode reduzir a sensibilidade das plantas de arroz à temperatura baixa na fase reprodutiva.
- A aplicação de dose moderada de N pode diminuir a sensibilidade das plantas de arroz a temperatura baixa na fase reprodutiva.

CAPÍTULO I

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: EFEITOS DAS BAIXAS TEMPERATURAS NA RESPOSTA A NITROGÊNIO

Resumo

Em regiões de clima temperado há a possibilidade de ocorrência de temperatura igual ou menor do que 15°C durante os estádios reprodutivos do arroz. Nestes estádios, o conteúdo de nitrogênio (N) é comumente alto na planta, devido principalmente às aplicações realizadas no estágio vegetativo. O N é o nutriente utilizado em maior quantidade na cultura de arroz irrigado e, atualmente, as doses utilizadas são cada vez maiores, visando o incremento da produtividade. Pesquisas demonstram que o aumento da esterilidade de espiguetas devido à ocorrência de baixas temperaturas nos estádios mais sensíveis da planta são agravadas com a aplicação de doses elevadas de N. Diferentes características agronômicas, como perfilhamento, número de espiguetas por panícula e estatura de plantas (onde a panícula fica exposta ao frio), que aumentam devido ao acréscimo da aplicação de N, aumentam a esterilidade de espiguetas sob baixa temperatura na fase reprodutiva. A lâmina de água mais profunda é a única prática de manejo citada para atenuar os efeitos da baixa temperatura com alta aplicação de N, enquanto o melhoramento genético objetiva a busca de cultivares com maior tolerância ao frio.

Palavras-chave: baixa temperatura, esterilidade de espiguetas, adubação nitrogenada, arroz irrigado.

Abstract

In temperate climate regions, temperatures equal or smaller than 15°C are common during the reproductive rice stage. At this stage, plant nitrogen content (N) is usually high mainly due to nitrogen applications in the vegetative stage. Nitrogen is the nutrient applied in largest amount and the amount of N applied has been increased recently to achieve higher grain yield. Some researches report increase in spikelet sterility due to low temperatures occurrence in the most sensitive rice stages. Several characteristics, such as tillering, number of grains per panicle and culms length, which increase due to increment in N application, also increase the spikelet sterility under low temperature in the reproductive stage. Deeper water layer is the

only strategy used to mitigate the effects of low temperatures when high N amounts are used, while breeders try to develop new cultivars with low temperatures tolerance in sensible stages.

Key-words: low temperature, spikelet sterility, nitrogen, flooded rice.

Introdução

A planta de arroz, de origem tropical, requer como temperatura ótima para o crescimento e desenvolvimento entre 25 °C e 30°C, sendo prejudiciais temperaturas inferiores a 20°C, dependendo do estágio de crescimento e desenvolvimento em que se encontra a cultura. Os maiores problemas causados pelas baixas temperaturas são os danos na germinação, crescimento lento e descoloração de plântulas, perfilhamento e crescimento reduzido, atraso da floração, exerceção incompleta da panícula, esterilidade de espiguetas, descoloração das panículas na maturação e grãos imaturos (Nishiyama, 1995).

A área de arroz atingida pelo frio no mundo chega a sete milhões de hectares anuais (Kariya, 2003) Nas regiões Sul do Brasil e Leste do Uruguai, onde o arroz é produzido no sistema de irrigação por alagamento, existe probabilidade de ocorrência de frio na fase reprodutiva da lavoura, nos meses de janeiro e fevereiro (Deambrosi et al., 1997; Steinmetz et al., 1997). Os outros países que reportam danos causados por frio são: Austrália, Bangladesh, China, Colômbia, Cuba, Índia, Indonésia, Irã, Japão, Coreia, Nepal, Paquistão, Peru, Sri Lanka, Estados Unidos e Rússia (Kwak, 2005). Dados da literatura evidenciam que no Japão os danos por frio ocorrem um em a cada quatro anos (Kariya, 2003). Nos Estados Unidos, o local mais afetado por esta condição climática é a região da Califórnia.

Além dos efeitos do frio na fase reprodutiva, na região Sul do Brasil e no Leste do Uruguai também é comum a presença de temperatura baixa na fase vegetativa. Entretanto, na maioria das vezes, nesta última fase, seus efeitos são reversíveis provocando somente um atraso no ciclo da cultura. Notadamente, o efeito mais importante acontece quando o dano por frio ocorre no estágio reprodutivo, já que o mesmo é, na maioria das vezes, irreversível, diminuindo a produtividade de grãos. Porém, a intensidade e a duração do período de frio, bem como o diferente estágio de crescimento e desenvolvimento das plantas, fazem com que estas condições e o dano provocado pelo frio sejam diferentes de país para país

e mesmo de região para região (Cruz & Milach, 2000). O dano por frio ocorre principalmente nas variedades do tipo “Índica”, as quais são semeadas na região Sul do Brasil e no leste do Uruguai, embora estas variedades tenham sido adaptadas a esses ambientes.

Outro fator a ser considerado na sensibilidade das plantas ao frio é o conteúdo de N na planta, que pode ser alterado de acordo com o manejo da adubação nitrogenada. A eficiência da utilização de N na cultura do arroz irrigado depende, principalmente, das características do solo, do manejo da água, das condições climáticas, do sistema produtivo e de cultivares. No Rio Grande do Sul atualmente, as doses de N recomendadas para o arroz irrigado dependem do teor de matéria orgânica do solo e da expectativa de produtividade da cultura. Simultaneamente, tem-se registrado um incremento na quantidade de N aplicado no arroz, na tentativa de se obter maiores produtividades.

Até a década de 60, quando predominavam cultivares de arroz de porte alto, como Caloro, EEA 404 e 406, entre outros, com baixo potencial de rendimento, muito susceptíveis ao acamamento e à brusone, as recomendações de adubação eram na ordem de até 30 kg ha⁻¹ de N (Recomendações, 1967). Nos anos 70, com a introdução de cultivares de porte intermediário, como Bluebelle e Labelle, de maior potencial de rendimento, houve também aumento nas recomendações máximas até 40 kg ha⁻¹ de N (Mielniczuck et al., 1969). Posteriormente, o lançamento de cultivares modernos, como BR-IRGA 409, em 1979, e BR-IRGA 410, em 1980, com alto potencial de produtividade, foi novamente acompanhado por novas alterações nas recomendações, aumentando a dose até 70 kg ha⁻¹ de N (Siqueira et al., 1987). No período de 1985 a 1995, novos cultivares, como BR-IRGA 412 e 413, BRS 6 e 7, IRGA 416 e El Paso L144 que, além da alta produtividade de grãos, apresentavam também outras características desejáveis, como alto vigor inicial, ou tolerância à toxidez de ferro e a brusone, tolerância ao frio e com melhor qualidade de grão, resultaram em alteração nas recomendações de adubação de até 90 kg ha⁻¹ de N (COMISSÃO, 1995). Atualmente, novos cultivares continuaram a ser produzidos pela pesquisa, alguns como o IRGA 417 e 420, BRS Pelota, Avaxi (híbrido) e IRGA 422CL (mutagênico), com alto potencial de produtividade de grãos e outras características desejáveis, possibilitaram um aumento na dose até 120 kg ha⁻¹ de N com a flexibilidade em até 30% para mais ou para menos nas recomendações, em função especialmente do histórico de produtividade, ocorrência de acamamento ou

doenças e da situação econômica do produtor (CQFS, 2004; SOSBAI, 2005).

Entretanto, a aplicação isolada de N não conduz a alta produtividade de grãos. Esta depende de inúmeros fatores como preparo do solo com nivelção e drenagem, manejo da água, época de semeadura e controle de plantas daninhas. Também devem ser considerados os diferentes tipos de solos e seu conteúdo de matéria orgânica, conjuntamente com a variedade a ser utilizada. Tendo em consideração todos estes fatores de solo e de cultivo, as condições climáticas determinam a resposta das plantas à adubação nitrogenada. Os ambientes estressantes (baixa temperatura, radiação solar baixa, etc...) determinam que a planta diminua seu metabolismo, não utilizando o N aplicado ou aquele disponível no solo. A obtenção de altas produtividades de grãos com altas aplicações de N se faz sob presença de alta radiação solar. Porém, as condições climáticas são diferentes de região para região e de ano para ano, mudando, portanto, a resposta das plantas ao N.

Além da dose de N, o momento em que se faz sua aplicação pode ser fator importante na resposta da cultura. Na maioria das lavouras de arroz da região Sul dos Estados Unidos, a totalidade de N aplicado é dividida em três aplicações: de 50 a 60% da dose total aplicada no solo seco pouco antes da inundação, de 20 a 25% é aplicada ao início da fase reprodutiva e o restante, de 20 a 25%, é distribuído 10 dias mais tarde (Bollich et al., 1994). No Brasil, as recomendações da pesquisa para aplicações de N nos Estados da região Sul (SOSBAI, 2007) indicam que a dose a ser aplicada depende da quantidade de matéria orgânica do solo e do incremento de produtividade pretendido. O momento de aplicação, por sua vez, depende da quantidade de N a ser aplicada. Caso a dose de N for menor que 50 kg ha^{-1} , deve-se realizar uma única aplicação em cobertura, no início da diferenciação da panícula. Para os demais casos, é mais eficiente aplicar em torno de 50% da dose em cobertura no início do perfilhamento e o restante no início de desenvolvimento da panícula. Na Austrália, a maior parte do N é aplicada antes da inundação e, se necessário, mais N é aplicado em cobertura, na iniciação da panícula. A dose média é de 80 a 100 kg ha^{-1} de N, sendo que alguns produtores aplicam até 250 kg ha^{-1} de N (Farrell et al., 2003). O produtor na Austrália dispõe de condições climáticas (radiação solar) favoráveis a resposta das plantas ao N (Boerema, 1974). No Uruguai, os trabalhos de pesquisa a campo demonstram as vantagens de aplicar o N em uma, duas ou três vezes, de acordo com o tipo de solo, sistema de rotação,

preparo do solo, sistema de plantio, data de semeadura, histórico de doenças e condições climáticas, podendo limitar a resposta ao nitrogênio. Essas pesquisas recomendam aplicações de N de até 70 kg ha⁻¹ (Deambrosi & Mendez, 2002).

A época e a dose onde se aplica N podem afetar a sensibilidade do arroz ao frio, portanto, para manejar eficientemente o N é necessário conhecer as relações entre aplicações de N e a ocorrência de temperatura baixa no estágio reprodutivo do arroz.

Efeitos do frio na cultura do arroz

A planta de arroz, de origem tropical, quando semeada em regiões de clima temperado, está submetida a estresse por efeito da temperatura baixa. Os danos podem ser reversíveis, dependendo da fase de desenvolvimento que as plantas se encontram quando ocorre o frio e da duração do mesmo. A obtenção de rendimentos estáveis através dos anos é de extremo interesse, sendo importante conhecer os efeitos das condições ambientais, especialmente com relação à temperatura nos momentos de maior sensibilidade da planta de arroz.

Neste contexto, Buriol et al. (1991) concluem que, na época de floração do arroz em Santa Maria (RS, Brasil), existe risco de ocorrência de temperaturas mínimas do ar prejudiciais à fecundação das flores. No Uruguai, Deambrosi et al. (1997) afirmam que há uma probabilidade de 20% (um em cada cinco anos) de ocorrerem médias decêndias de temperaturas do ar inferiores a 15°C, para todo o mês de janeiro e os dois primeiros decêndios de fevereiro. Steinmetz et al. (1997) estudaram os riscos de ocorrência de temperaturas baixas na fase reprodutiva em oito localidades do Sul do Rio Grande do Sul (Brasil) e duas localidades do Uruguai e encontraram diferenças de riscos entre as regiões, sendo Treinta y Três, localizada no Uruguai, a que apresentou os maiores riscos.

Quando há ocorrência de frio na fase reprodutiva do arroz, há uma redução na taxa fotossintética de 14% a 20%, devido à indução ao fechamento dos estômatos (Shimono et al., 2004). Efeitos similares na capacidade fotossintética foram relatados no Japão por Ohashi et al. (2000). Estes autores estudaram a incidência de baixa temperatura combinada com baixa radiação, já que no norte deste país o arroz irrigado é exposto a estas condições.

Quando há situações de estresse, a planta desenvolve uma série de processos que determinam um sinal para ativar aqueles genes responsivos ao

estresse, gerando então a resposta da planta. Na atualidade, os mecanismos pelos quais os sinais de baixa temperatura são percebidos e traduzidos em resposta bioquímica são pouco conhecidos (Martin & Busconi, 2001). Neste sentido, Rabbani et al. (2003), trabalhando com genes de arroz, encontraram 36 deles associados ao dano por frio atuando ao mesmo tempo; alguns deles envolvidos também na resposta ao estresse provocado por salinidade ou seca.

A temperatura baixa promove uma mudança na fluidez dos lipídeos das membranas celulares, causando perda de suas funções normais (Lyons, 1973). Quando a temperatura diminui até um determinado limite, ocorre uma solidificação dos lipídeos das membranas celulares originando canais com um concorrente incremento da permeabilidade e perdas de metabólitos. As enzimas ligadas à membrana diminuem sua atividade, com acúmulo de metabólitos tóxicos e redução da corrente citoplasmática. Devido ao dano nas membranas, as mitocôndrias e os cloroplastos diminuem sua atividade (Lyons, 1973). O frio também origina aumento nos níveis de espécies de oxigênio ativo que causam dano às membranas das células e organelas, sendo maior nos cloroplastos, diminuindo, portanto a atividade fotossintética (Kuk, 2003). Segundo Imin et al. (2006), o padrão de síntese de proteínas é mudado quando as plantas de arroz são expostas ao frio. Esses autores detectaram e identificaram proteínas responsivas ao dano por frio, que estão associadas à biossíntese de proteínas, resposta ao estresse, biogênese de lipídeos, formação da parede celular, desarranjo de proteínas e metabolismo da energia. Todas essas proteínas afetam o funcionamento das mitocôndrias, retículo endoplasmático, ribossomas e parede celular. A abundância de 37 proteínas da antera foi mudada mais de duas vezes após 1, 2 e 4 dias de tratamento com frio no cultivar Doongara da Austrália.

A literatura relata papel muito importante do cálcio (Ca) na transdução de sinais nas situações de estresse provocando a expressão de genes que respondem ao frio (Smallwood & Bowles, 1982). Assim, Harper et al. (1991) estabelecem que o Ca atuaria nas plantas como segundo mensageiro através da estimulação de enzimas dependentes do nutriente. Em um trabalho de Abo-El-Saad & Wu (1995), estas enzimas, localizadas nas membranas celulares, foram induzidas pelas giberelinas na germinação de sementes de arroz. Quando as plantas experimentam o frio, as membranas mudam de fluidez e há influxo de Ca, seguido resposta pela aparição das enzimas ligadas ao Ca. Martin & Busconi (2001), na Argentina,

determinaram que as enzimas ligadas ao Ca foram ativadas em resposta ao frio no cultivar de arroz Don Juan. A resposta foi obtida depois de 12 a 18 horas do tratamento térmico, concluindo que as enzimas não participam na parte inicial da resposta. Estas enzimas são encontradas no citoplasma e nas membranas celulares.

Existem dois estádios de maior sensibilidade à temperatura baixa na planta de arroz: no desenvolvimento dos grãos de pólen (emborrachamento) e na antese (Nishiyama, 1995). No primeiro caso, há dois momentos de maior sensibilidade ao frio: no início da meiose e na fase de tétrade do micrósporo jovem após a meiose (Nishiyama, 1984). Isto corresponde no estádio de emborrachamento da planta de arroz quando as aurículas das folhas bandeira e anterior ficam a mesma altura na planta.

Os efeitos da baixa temperatura no estádio reprodutivo são irreversíveis, diminuindo a produtividade de grãos. Neste estádio, a quantidade de grãos de pólen completamente maduros é o parâmetro mais importante na determinação da fertilidade das espiguetas (Satake, 1991; Gunawardena et al., 2002). Os resultados das pesquisas indicam que a principal causa de esterilidade é a indeiscência das anteras no momento da fertilização. O frio provoca inibição no desenvolvimento do grão de pólen, resultando finalmente em esterilidade, principalmente através de indeiscência parcial ou total das anteras. Ocorre um acúmulo de açúcares e amido nas células do tapete, causando uma hipertrofia, o que origina uma interrupção da nutrição dos micrósporos, deixando o grão de pólen incompletamente maduro (Satake, 1976; Satake, 1991; Nishiyama, 1993). O tapete é uma capa de tecido que envolve o lado externo das células mães do pólen ou micrósporos. Esses tecidos desenvolvem um importante papel no processo de desenvolvimento do grão de pólen, aportando os nutrientes necessários.

A quantidade de grãos de pólen necessários para a fecundação estabelecida na literatura é variável. Nishiyama (1995) considera a quantidade ideal como 640 grãos; já Satake (1976) cita a quantidade de 10 grãos e Gunawardena (2002) de 20. Muitas vezes, apesar do número de grãos de pólen aparentemente normais serem suficientes para provocar a fertilização no estigma, ainda assim ocorre esterilidade (Hayashi et al., 2004). Segundo estes autores, isto é devido à ocorrência de mudanças em algumas enzimas responsáveis por processos bioquímicos do metabolismo do carbono, nitrogênio e de resposta ao estresse, devido aos efeitos

combinados da disponibilidade de N e frio.

Interação do nitrogênio com baixas temperaturas

No Rio Grande do Sul e no Leste do Uruguai, para a obtenção de alta produtividade de arroz, é necessária a aplicação de N, já que, em geral, os solos não podem suprir as necessidades desse nutriente às plantas. Comumente, as aplicações em cobertura são realizadas em dois momentos: no início do perfilhamento e no começo da fase reprodutiva. A cobertura nitrogenada, antes da inundação pode aumentar a eficiência de uso do N aplicado na fase reprodutiva, incrementando a matéria seca total, o uso de N e a produtividade de grãos (Wilson et al., 1998). Fisiologicamente existe translocação do N de outras partes da planta para a panícula em crescimento. Os estudos mostram que o consumo do N aplicado é mais rápido na fase reprodutiva do que quando aplicado na fase vegetativa (Bacon, 1985). Portanto, as plantas de arroz encontram-se com um nível alto de N durante a fase reprodutiva, seja pela fisiologia da planta ou pelas aplicações em cobertura.

Na Austrália, em experimento conduzido com as variedades Calrose e Inga, Heenan (1984) concluiu que sob temperatura de 12°C durante 4 dias, no momento quando a aurícula da folha bandeira e da folha anterior ficaram à mesma distância, a esterilidade aumentava com o acréscimo da dose de N aplicado antes da inundação. Por efeito somente do frio, a cultivar Calrose diminuiu a fertilidade de espiguetas em 43%. Entretanto, com a aplicação de 150 kg ha⁻¹ de N, antes da inundação, a diminuição foi de 65%. Para a cultivar Inga, os tratamentos de baixa temperatura diminuíram a fertilidade de espiguetas em 58%, sem aplicação de N, e 70% com aplicação de 150 kg ha⁻¹, antes da inundação.

Posteriormente, Haque (1988), no IRRI, trabalhando com condições controladas e solução nutritiva quando a distancia entre a folha bandeira e a da folha anterior ficou entre -7,5 cm e + 5,0 cm, relatam que a esterilidade de espiguetas induzida por baixas temperaturas (15°C durante 5 dias) foi incrementada com o aumento do N aplicado. No Japão, Hayashi et al. (2000), sob condições controladas em câmara de crescimento, avaliaram o efeito de altas aplicações de N, da temperatura baixa (12/12°C, dia/noite por 4 dias) e do sombreamento na fase reprodutiva, concluindo que a alta quantidade de N aplicado, desde a diferenciação das espiguetas até a fase de início da micróspora do grão de pólen, diminuía a

quantidade de micrósporas e grãos maduros de pólen. Em outro experimento conduzido com a variedade Amaro, na Austrália, Gunawardena et al. (2003a) observaram que a indução à esterilidade de espiguetas por baixa temperatura (18°C / 13°C , dia/noite, por 5 dias) na fase de microesporogenese do grão de pólen aumentou com a aplicação de N, sendo maior nos tratamentos com 150 kg ha^{-1} antes da inundação. O aumento na esterilidade de espiguetas foi devido à redução nos grãos de pólen maduros por antera. Este efeito foi atenuado com a remoção de perfilhos das plantas de arroz. Assim, Gunawardena et al. (2002) citam uma correlação negativa entre o número de perfilhos e o número de grãos maduros de pólen.

Portanto, as aplicações de altas doses de N, que determinam um maior número de perfilhos, causam também o aumento da esterilidade. O nutriente aumentou o crescimento do colmo em comprimento, localizando a panícula fora da proteção da água (Gunawardena et al., 2001). Além disso, a maior quantidade de perfilhos, provocada pela alta aplicação de N, diminui a disponibilidade imediata de assimilados no momento de produção de grãos maduros de pólen (Gunawardena & Fukai, 2004). O aumento de N também incrementou o número de grãos por panícula, reduzindo a quantidade de assimilados no momento da formação de grãos de pólen maduros e ocasionando um aumento de esterilidade de espiguetas (Gunawardena & Fukai, 2005). Trabalhos de Heenan (1984) e Gunawardena (2003a) relatam que a maior esterilidade de espiguetas ocorre com altas aplicações de N, principalmente antes da inundação. Experimentos posteriores demonstraram também alta esterilidade de espiguetas com aplicações de N realizadas na iniciação da panícula (Gunawardena & Fukai, 2005). O período de frio dos tratamentos nos experimentos anteriormente citados foi prolongado: Heenan (1984), 12°C durante 4 dias; Haque (1988), 15°C durante 5 dias; Hayashi et al (2000), 12°C durante 4 dias no estágio de jovem microspora e Gunawardena et al. (2003 a), $18/13^{\circ}\text{C}$, dia/noite durante 5 dias durante o desenvolvimento da panícula.

Medidas para minimizar o efeito do frio sobre o arroz irrigado

Os fatores de estresse abióticos como a estiagem, salinidade e temperaturas extremas são conhecidas há muito tempo como os maiores limitantes à produtividade (Boyer, 1982). As plantas estão constantemente expostas ao estresse. Alguns tipos de estresse, como a temperatura, podem ser estressantes em minutos,

entanto outros podem experimentar-se por semanas (falta de água), ou ainda, em meses (carência de nutrientes) (Taiz & Zeiger, 2004). Segundo Smallwood & Bowles (2002), as temperaturas baixas provocam um estresse de desidratação pela diminuição de absorção de água pela raiz e o transporte no colmo. O frio pode gerar estresse osmótico pela incidência no consumo e perda de água ficando uma maior concentração de solutos nas células. Para superar este estresse certas plantas tem evoluído para uma alta capacidade de sintetizar e acumular solutos não tóxicos (osmoprotetores ou solutos compatíveis) no citoplasma. É um mecanismo geral para aumentar a pressão osmótica e manter a turgescência e a gradiente na condução de água (Nuccio et al, 1999). Os osmoprotetores são compostos altamente solúveis que não provocam mudanças no pH fisiológico e não são tóxicos a altas concentrações e podem estabilizar proteínas e membranas quando níveis salinos ou temperaturas extremas são desfavoráveis (Mc Neil et al., 1999). Segundo Bodapati et al. (2006), a aplicação foliar de osmoprotetores (glycinebetaine) aumentou ao dobro o número de grãos de pólen da planta de arroz comparado com a testemunha. Estes pesquisadores relatam que em experimento de campo a aplicação destes compostos na safra 2000/2001 incrementou a produtividade de arroz em 11%.

Quando ocorrem condições de alta temperatura existe a produção de proteínas derivadas do choque de calor (heat shock protein) as quais protegem as plantas do estresse de alta temperatura (Vierling, 1991). Segundo Sabehat et al. (1996), as proteínas sintetizadas em um ambiente de alta temperatura podem permanecer por muito tempo (21 dias) dando proteção às plantas quando submetidas a baixa temperatura. Em plântulas de arroz submetidas a 45°C durante 10 minutos não foram observados os sintomas de dano por frio quando foram submetidas depois a baixa temperatura (Salveit, 2001).

Diversos pesquisadores tentaram atenuar o problema das baixas temperaturas no estágio reprodutivo do arroz através de práticas de manejo. Nesse contexto, Williams & Angus (1994) pesquisaram a resposta em produtividade de grãos das aplicações de N em duas profundidades da lâmina d'água (5 e 20 cm) no estágio mais sensível para o desenvolvimento do grão de pólen à baixa temperatura. Os autores obtiveram resposta de até 125 kg ha⁻¹ de N na maior profundidade d'água (20 cm). Isto está relacionado com a proteção da panícula à baixa temperatura promovida pela lâmina de água, o que ocasiona um aumento na quantidade de grãos maduros de pólen (Gunawardena et al., 2001).

A temperatura da água é mais alta quando a temperatura do ar chega a valores abaixo de 15°C (Roel, 2004). A mesma, também, pode variar de acordo com a profundidade da lâmina. Assim, Roel (2004) determinou que a temperatura de uma lâmina da água mais estreita foi mais baixa do que uma maior. Neste sentido, Gunawardena et al. (2003b) estabeleceram que, para as condições da Austrália, a baixa temperatura da raiz, sob condições de lâmina da água superficial, pode contribuir negativamente para maior esterilidade de espiguetas. Este resultado foi confirmado em pesquisas posteriores realizadas também na Austrália por Gunawardena (2005).

Em relação ao melhoramento de plantas visando a tolerância ao frio, existem dificuldades na seleção a campo já que a semeadura tardia de genótipos para fazer coincidir o estágio mais sensível com o frio é difícil, em função de diferenças no ciclo entre genótipos. Esta dificuldade de trabalhar a campo levou a condução de pesquisas com temperatura controlada (Cruz & Milach, 2000). Segundo estes autores, a herança da tolerância ao frio em arroz parece ser oligogênica e em alguns estudos de herdabilidade pode ser moderada a alta. Os autores também afirmam que a tolerância ao frio nos estádios vegetativos e reprodutivos é governada por fatores genéticos diferentes, sendo necessário realizar seleção em cada fase. De forma resumida, estabelecem que o mecanismo fisiológico primário envolvido na tolerância ao frio é a conservação da atividade e funcionamento das membranas celulares a baixa temperatura. Estes autores mencionam as técnicas modernas utilizadas, que são a fluorescência da clorofila e o uso de marcadores isoenzimáticos. Segundo Farrell et al. (2003), vários procedimentos no melhoramento de plantas, na Austrália, como introdução de genótipos tolerantes ao frio, aumento do tamanho das anteras e incremento da sensibilidade ao fotoperíodo, deveriam ser levados em consideração para atenuar os efeitos do frio. No Uruguai, trabalhos de pesquisa em melhoramento de plantas, conduziram à criação do cultivar INIA Tacuarí, tolerante ao frio para semeaduras tardias com obtenção de bons níveis de rendimento. Neste país, a pesquisa na busca de cultivares tolerantes ao frio é um programa permanente de trabalho.

CAPÍTULO II

MANEJO DA ADUBAÇÃO NITROGENADA EM COBERTURA DO ARROZ

IRRIGADO

NITROGEN TOPDRESS APPLICATION MANAGEMENT FOR FLOODED RICE

Resumo

Com a liberação de novos cultivares de arroz irrigado, de maior produtividade potencial e qualidade de grãos, há a necessidade de se conhecer o comportamento desses materiais com relação ao manejo da adubação, especialmente a adubação nitrogenada em cobertura. Com este objetivo foram conduzidos dois experimentos em campo com a nova cultivar uruguaia INIA Olimar, para estabelecer, doses e épocas de aplicação de nitrogênio (N). Os experimentos foram conduzidos no ano agrícola 2006/07 na estação experimental do INIA Treinta y Trés, Uruguai. Para avaliar o efeito do estágio de desenvolvimento na aplicação de N, em um experimento, os tratamentos foram compostos pela aplicação 30 kg de N ha⁻¹ nos estádios V4, V5, V6, V7, V8, R0 e R1 e para determinar o efeito de doses, em outro experimento, os tratamentos foram compostos pela aplicação de 23, 46 e 69 kg de N ha⁻¹ no estágio V4 e as mesmas doses no estágio R0, além de uma testemunha sem nitrogênio nos estádios V4 e R0 em ambos os experimentos. Para o arroz INIA Olimar cultivado no Uruguai em área após três anos de pecuária há baixa resposta às épocas e não há influencia das doses de aplicação de N em cobertura sobre a produtividade de grãos e seus componentes.

Palavras-chave: Nitrogênio, época e dose de aplicação de nitrogênio, manejo do nitrogênio, *Oryza sativa*.

Abstract

With the release of new rice cultivars, it is necessary to know the best nitrogen management to achieve maximum yield. For this reason, it were conducted two field experiments with the new cultivar INIA Olimar, with the objectives of to determine the best stage and rates of nitrogen application, for the experiment one and two,

respectively. The experiments were conducted in 2006/2007 growing season at INIA Treinta y Tres, Uruguay. The experimental design for both experiments was a randomized complete block with four replications. To study the effect of the growth stage in response to N, the treatments were applied of the same rate of N (30 kg ha^{-1}) at V4, V5, V6, V7, V8, R0, R1 growth stages and including a check plot without nitrogen application. To study the effect of rates were applied 23, 46 and 69 kg ha^{-1} of N in the stage V4 and the same rates at the R0, including a check without N in V4 and R0 stages. For the new rice cultivar INIA, grown in Uruguay in area after three years of livestock production, does not respond to nitrogen rates and timing of application.

Keywords: growth stage, nitrogen management, *Oryza sativa*.

Introdução

A eficiência da adubação nitrogenada para o arroz irrigado depende de fatores ambientais e do manejo da lavoura. Nos últimos anos, o surgimento de novos cultivares e a adoção de práticas de manejo mais apropriadas têm proporcionado maior potencial de produtividade (Deambrosi & Mendez, 2002). Entretanto, segundo Freitas et al. (2001), diferentes genótipos de uma mesma espécie podem mostrar exigências nutricionais diferenciadas. Entre os nutrientes essenciais, o N é o elemento que requer as maiores quantidades e maiores cuidados em relação à época e ao modo de aplicação, sendo necessário a realização continuada de experimentos sobre doses e épocas de aplicação de N para determinar as recomendações mais apropriadas para o cultivo de arroz (Walker, 2006a, 2006b).

Como apenas parte do N aplicado é utilizada pelas plantas, devido às perdas físicas ou químicas, imobilização por microorganismos ou sorção ao solo (Norman et al., 2003), as quantidades devem ser as adequadas para obter alta produtividade de grãos e não poluir o ambiente. Também as condições climáticas, principalmente temperatura e radiação solar, afetam a utilização de N pelas plantas sendo necessário avaliar em cada região e entre anos as necessidades totais de N pelas plantas. A recomendação de adubação de N depende da dose e da época adequada de aplicação, pois segundo Norman et al. (2003), os componentes tidos em conta

em uma apropriada nutrição com N são: fonte correta de adubo nitrogenado, dose e momento adequado de aplicação de N.

Com relação à época de aplicação, são poucos os trabalhos na literatura tendo como objetivo determinar o momento ótimo de aplicação de N na fase vegetativa. A adubação nitrogenada no início da fase reprodutiva, mais especificamente na alongação dos entrenós, tem sido a mais estudada. Assim, Hall et al. (1967) e Wells & Johnston (1970), avaliando três cultivares, encontraram que a maior produtividade foi obtida com a aplicação de nitrogênio quando os entrenós tinham determinado comprimento, sendo variável para cada cultivar. No Uruguai, avaliando aplicações sucessivas de N na fase reprodutiva, Santos & Jacques (1999) encontraram diferenças em produtividade entre os momentos fisiológicos, sendo o início de alongação dos entrenós o mais apropriado para aplicação de N para a cultivar INIA Tacuarí. Para a cultivar El Paso 144, Deambrosi & Mendez (2002) encontraram o momento ótimo de aplicação de N aos 10 dias após o início da alongação dos entrenós.

Para aplicação na fase vegetativa, Santos & Jacques (1999) obtiveram um incremento do número de perfilhos para a cultivar INIA Tacuarí, sendo o momento ótimo de aplicação de N aos 10 dias após o início do perfilhamento. Também, Deambrosi & Mendez (2002) encontraram incrementos em matéria seca e N absorvido com aplicações sucessivas de N a partir do início do perfilhamento, sendo os máximos para estas características aos 10 dias para INIA Tacuarí e 13 dias para El Paso 144.

Em relação à dose de N aplicada, Scivittaro & Machado (2004) relatam vários aspectos a serem considerados na resposta do arroz irrigado, os quais interagem entre si, podendo-se destacar o suprimento do N do solo e outros nutrientes (P, K), tipo de solo, época e densidade de semeadura, controle de plantas daninhas, doenças, rotação de culturas, fontes e épocas de aplicação de N, e condições climáticas (particularmente temperatura e radiação solar). Segundo esses autores, é importante que a definição da dose de N a aplicar não seja só definida através do teor de matéria orgânica do solo, mas também baseando-se em resultados locais de pesquisas. No Uruguai, os trabalhos de pesquisa em campo demonstram as vantagens de aplicar o N em uma, duas ou três vezes, de acordo com o tipo de solo, sistema de rotação, preparo do solo, sistema de plantio, data de semeadura,

presença de doenças e condições climáticas; recomendando-se aplicações de até 70 kg de N ha⁻¹ (Deambrosi & Mendez, 2002).

Assim, o objetivo desse trabalho foi determinar a melhor época de aplicação de N (Experimento 1) e a melhor dose de N em cobertura (Experimento 2) para a obtenção da maior produtividade de grãos do novo cultivar INIA Olimar.

Material e Métodos

Foram instalados dois experimentos em campo experimental de Paso de la Laguna do INIA Treinta y Três (latitude: 33° 14"S, longitude: 54°22" e altitude: 25 m). Antes da semeadura coletaram-se amostras de solo nos quatro blocos do experimento para realizar análise química, onde os resultados, em média para o experimento 1 foram: pH (H₂O): 5,3, M.O. (%): 2,66 (adequado), P (Bray 1 µ P g⁻¹): 3,4 (baixo); P (Ac. Cítrico µ P g⁻¹): 3,8 (baixo) e K (meq 100g⁻¹): 0,30 (adequado). Para o experimento 2 os valores médios foram: pH (H₂O): 5,4, M.O. (%): 2,42 (adequado), P (Bray 1 µ P g⁻¹): 3,0 (baixo). P (Ac. Cítrico µ P g⁻¹): 3,5 (baixo) e K (meq 100 g⁻¹): 0,32 (adequado). As interpretações entre parênteses estão de acordo ao recomendado pelo INIA Treinta y Tres Estación Experimental del Este, Uruguai.

No Experimento 1, foi aplicada uma dose total em cobertura de 60 kg de N por ha⁻¹, sendo 30 kg ha⁻¹ aplicados em diferentes estádios de desenvolvimento da fase vegetativa (V4, V5, V6, V7 e V8) e outros 30 kg ha⁻¹ na fase reprodutiva em R0, além de dois tratamentos que receberam 30 kg ha⁻¹ em V4 e outros 30 kg ha⁻¹ em R1 e R2, mais uma testemunha sem N em cobertura. No experimento 2 variou-se a dose de N, aplicando-se 0, 23, 46 e 69 kg de N ha⁻¹ em V4 e outros 23 kg de N ha⁻¹ no estádio R0, além de outros três tratamentos que receberam 23 kg de N ha⁻¹ em V4 e 0, 46 e 69 kg de N ha⁻¹ em R0, mais uma testemunha sem N em cobertura. O estádio R0 foi definido quando o início de alongamento dos entrenós e R1 quando se observou o primórdio floral. Os dois experimentos tiveram uma adubação de N na semeadura na linha de 27 kg há⁻¹. Todos os tratamentos de aplicação de N foram realizados com as parcelas alagadas. Os dois experimentos foram inundados aos 22 dias da emergência de plântulas. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com 4 repetições. Utilizou-se a escala de Counce et al. (2000) para a determinação dos estádios de crescimento e desenvolvimento, marcando com anéis de arame colorido 10 plantas em todas as parcelas de um bloco.

Utilizou-se a cultivar INIA Olimar semeando-se em 19 de novembro de 2006 na densidade de 148 kg ha^{-1} de semente e aplicando $27 \text{ kg de N ha}^{-1}$ e 70 kg ha^{-1} de P_2O_5 na semeadura. O potássio foi aplicado a lanço nas parcelas quatro dias depois da semeadura usando cloreto de potássio na quantidade de 20 kg ha^{-1} de K_2O . INIA Olimar é uma cultivar semi-anã, e tem um ciclo total até maturação de 123 dias entanto que para El Paso 144 o ciclo é de 134 dias. O solo do experimento foi preparado com quatro gradagens e finalizado com um rolo compactador para semeadura em linha. Depois destas operações foram construídas as taipas e os canais de água para irrigação, sendo que cada parcela foi delimitada por taipas. No experimento 1 o número médio de plântulas emergidas por metro quadrado foi de 213 com um coeficiente de variação de 22,1 entanto no experimento 2 o número médio foi de 206 com um coeficiente de variação de 19,1.

O controle de plantas daninhas nos dois experimentos foi realizado aos 9 dias da emergência de plântulas de arroz, com uma mistura de herbicidas, quinclorac ($0,325 \text{ g ha}^{-1}$ i.a.) + clomazone ($0,38 \text{ g ha}^{-1}$ i.a.) + propanil ($1,68 \text{ g ha}^{-1}$ i.a.) + pirazosulfuron-etil (25 g ha^{-1} i.a.). No estágio V7- V8 os experimentos foram drenados para controle de “bicheira da raiz” (*Oryzophagus oryzae*). Utilizou-se este método por ser menos tóxico. A água se manteve em um nível baixo e o solo ficou seco por dois dias alagando-se em seguida.

Nos dois experimentos, no estágio R3-R4 foi realizada coleta de plantas de uma área de $0,25\text{m} \times 0,17\text{m}$ ($0,085 \text{ m}^2$), cortando-as no nível do solo, as quais foram usadas para determinar a quantidade de matéria seca e de nitrogênio total. A partir do teor de N total e da matéria seca determinou-se a quantidade de N absorvido. No momento de emergência das panículas (R3-R4) realizou-se a leitura com o clorofilômetro (SPAD 502) no terço superior de 10 folhas bandeira por parcela nos dois experimentos.

No momento da colheita, coletaram-se amostras de plantas de área de $0,30\text{m} \times 0,17\text{m}$ ($0,102\text{m}^2$) para a determinação dos componentes da produtividade de grãos. Nestas amostras registraram-se o número de panículas m^{-2} , sendo coletadas 15 panículas para determinação da esterilidade de espiguetas e grãos por panícula. A produtividade de grãos foi avaliada em uma área de $1,36 \text{ m} \times 6 \text{ m}$ ($8,16 \text{ m}^2$), sendo ajustada à umidade dos grãos para 13%, para determinar a massa de mil grãos e produtividade de grãos.

A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando-se o pacote estatístico MSTAT 4 (da Universidade de Michigan, USA).

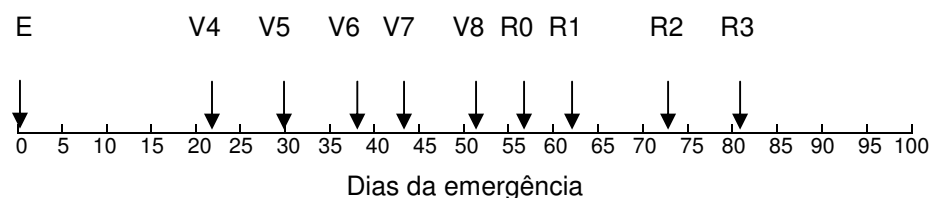


Figura 1 Diagrama apresentando a ocorrência dos estádios de Counce et al. (2000) dos experimentos 1 e 2 em campo. E: emergência de plântulas.

Resultados e discussão

Com relação à época de aplicação do nitrogênio (Tabela 1), houve resposta significativa à aplicação de N na produtividade de grãos de arroz, comparado com a testemunha sem N, destacando-se quando a aplicação de N foi realizada no estágio V7. Entretanto, a aplicação de N neste estágio não foi significativamente diferente dos demais tratamentos que receberam N em cobertura. Os componentes da produtividade não foram influenciados pela época de aplicação de N, exceto para massa de mil grãos, cuja diferença apresentada entre os tratamentos é pequena e de pouco significado agrônômico e só foi evidenciada pelo baixo coeficiente de variação. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Santos & Jacques (1999), que trabalhando com os cultivares INIA Tacuari e El Paso 144, não encontraram diferenças para a produtividade de grãos entre os estádios de aplicação de N no perfilhamento. No entanto, Walker et al. (2006b) encontraram que as aplicações de N para cultivares semi-anãs tiveram maior produtividade quando o N foi aplicado antes da inundação definitiva comparado com aplicações na fase reprodutiva.

Tabela 1. Produtividade de grãos, número de panículas por metro quadrado, número de grãos/panícula, massa de mil grãos e esterilidade de espiguetas em função da época de aplicação de N na cultivar INIA Olimar, INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2007.

Tratamentos	Produtividade de grãos	Panículas m ⁻²	Grãos panícula ⁻¹	Massa de mil grãos	Esterilidade de espiguetas
	T ha ⁻¹g.....%.....
Testemunha	8,61 b ⁽¹⁾	635 ^{ns(2)}	86 ^{ns}	27,1 bc	16,6 ^{ns}
V4/R0 ⁽³⁾	9,38 ab	622	86	27,7 a	14,2
V5/R0	9,80 ab	662	97	27,2 bc	21,6
V6/R0	9,95 ab	557	93	27,4 ab	17,2
V7/R0	10,49 a	689	94	27,1 bc	24,2
V8/R0	9,51 ab	625	94	26,9 bc	20,4
V4/R1	9,67 ab	622	95	27,3 abc	19,2
V4/R2	9,12 ab	578	91	26,9 c	13,6
Média	9,57	624	92	27,2	18,4
C.V.(%)	7,0	15,3	8,6	0,8	39,9

⁽¹⁾ Médias nas colunas não ligadas pela mesma letra diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro;

⁽²⁾ Teste F não significativo.

⁽³⁾ Estádios de desenvolvimento segundo escala de Counce et al. (2000) nos quais foram aplicados 30 kg ha⁻¹ de N.

A pouca influência da época de adubação nitrogenada neste experimento pode estar relacionada a três aspectos principais. Um deles é o manejo do solo antes da semeadura, o qual foi realizado preparo de verão com aplicação de glifosato um mês antes da semeadura. Esta aplicação de herbicida promoveu a morte da vegetação que, pela decomposição, liberou N para o solo, sendo aproveitado pelas plantas de arroz. Outro aspecto a considerar é que no campo experimental realiza-se uma rotação de um ano de arroz e três anos de pousio do solo, o que possibilita a regeneração da vegetação. A disponibilidade de N pelo solo parece ter sido próximo do suficiente para as plantas, já que o N do solo é a principal fonte de N para as plantas de arroz e, segundo Kealey (1994), o solo pode aportar até 90% do N total consumido pelas plantas. Assim, em função da pequena quantidade adicional de nitrogênio que a planta precisou, a época de fornecimento pode não ter sido um fator decisivo. Um terceiro aspecto foi a aplicação de N na semeadura o qual pode ter sido suficiente para as plantas.

Embora pouco efeito sobre o rendimento de grãos e seus componentes, a aplicação de N nos diferentes estádios promoveu efeito significativo no teor de clorofila medido pelo índice SPAD, sem ter uma relação aparente com o rendimento de grãos, a semelhança do que foi observado para a massa de mil grãos. A análise de comparação de médias apresentou diferenças entre as aplicações entre os estádios V4/R0 (maior) e V4/R1 (menor) (Tabela 2). Para os parâmetros de matéria seca da parte aérea de plantas, teor de N nas plantas e N absorvido não foram encontradas diferenças significativas, evidenciando que as diferenças no índice SPAD não foram suficientes para provocar efeitos sobre o potencial produtivo das plantas. A drenagem do solo para controle da bicheira não deve ter interferido nestas variáveis, já que os valores encontrados são maiores aos relatados por Méndez (2000) utilizando a cultivar El Paso 144 no estádio R0. Assim, pode-se inferir que o solo teve um bom fornecimento de N para as plantas devido ao teor de N absorvido tanto na testemunha como nos demais tratamentos com aplicação de N.

Tabela 2. Índice SPAD, matéria seca da parte aérea de plantas, teor de N total e N absorvido, registrados no estágio R3-R4, em função da época de aplicação de N na cultivar INIA Olimar, INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2007.

Tratamentos	Índice SPAD	Matéria Seca	N total	N absorvido
	T ha ⁻¹%.....kg ha ⁻¹
Testemunha	32,2 ab ⁽¹⁾	15,95 ^{ns (2)}	0,87 ^{ns}	138,7 ^{ns}
V4/R0 ⁽³⁾	34,8 a	17,30	0,85	147,5
V5/R0	34,2 ab	15,88	0,90	140,4
V6/R0	33,8 ab	14,58	0,90	132,6
V7/R0	33,8 ab	16,48	0,90	146,9
V8/R0	34,5 ab	14,22	0,90	128,9
V4/R1	31,7 b	15,46	0,86	132,6
V4/R2	33,6 ab	14,78	0,84	123,5
Média	33,6	15,58	0,88	136,4
C.V.(%)	3,6	12,8	7,4	12,9

⁽¹⁾ Médias nas colunas não ligadas pela mesma letra diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro;

⁽²⁾ Teste F não significativo.

⁽³⁾ Estádios de desenvolvimento segundo escala de Counce et al. (2000) nos quais foram aplicados 30 kg ha⁻¹ de N.

Apesar dos valores absolutos evidenciarem uma tendência de aumento, não houve efeito significativo das doses de N aplicadas no rendimento de grãos e seus componentes (Tabela 3). É provável que a aplicação de N no estágio V4, estágio de desenvolvimento que não evidenciou resposta à aplicação de N no experimento 1 por uma provável maior disponibilidade de N no solo, tenha restringido os efeitos da adubação de cobertura. Além disso, a falta de resposta ao N aplicado pode ter ocorrido pelas condições climáticas ideais, sem ocorrência de condições adversas durante o ciclo da cultura pelo registro de alta produtividade da testemunha.

Tabela 3. Produtividade de grãos, panículas por metro quadrado, grãos por panícula, massa de mil grãos e esterilidade de espiguetas em função de doses de N aplicados nas fases vegetativa e reprodutiva na cultivar INIA Olimar, Treinta y Três, Uruguai, 2007.

Tratamentos	Produtividade de grãos	Panículas m ⁻²	Grãos panícula ⁻¹	Massa de mil grãos	Esterilidade de espiguetas
	...T ha ⁻¹g.....%.....
Testemunha	8,78 ^{ns(1)}	532 ^{ns}	105 ^{ns}	26,9 ^{ns}	19,9 ^{ns}
0N V4 – 23N RO ⁽²⁾	8,70	598	100	27,1	16,2
23N V4 - 23N RO	9,84	600	90	27,1	12,6
46N V4 - 23N RO	10,10	625	97	27,4	11,6
69N V4 - 23N RO	10,39	586	99	27,2	10,7
23N V4 – 0N RO	9,52	500	99	26,8	20,0
23N V4 - 46N RO	9,20	618	88	27,3	29,5
23N V4 - 69N RO	9,80	567	103	27,4	16,0
Média	9,54	578	98	27,2	17,1
C.V. (%)	8,9	14,1	12,7	1,5	61,8

⁽¹⁾ ns: não significativo

⁽²⁾ Tratamentos referem-se a estádios de desenvolvimento segundo escala de Counce et al. (2000) e a dose de N aplicada.

Em cinco experimentos realizados em INIA Treinta y Três nos últimos anos com a cultivar INIA Olimar, tendo como objetivo determinar a dose ótima de aplicação de N, foi encontrada resposta significativa em três deles (Blanco et al., 2004; Deambrosi et al., 2006, 2007). Nos experimentos em que não houve resposta, os autores sugerem que foi devido a um bom fornecimento de N pelo solo e às condições meteorológicas favoráveis. Cabe ressaltar novamente a rotação de culturas realizada nas fazendas do Uruguai, onde o arroz é cultivado em 25%-30% da área e o restante é utilizado com pecuária. Esta rotação permite recuperar os solos dos anos com cultura de arroz e possivelmente esta seja uma causa da falta de resposta a N nos experimentos. Também, no Uruguai estão sendo conduzidos estudos sobre a presença de microorganismos fixadores de N atmosférico associados à cultura de

arroz (Canzani et al., 1998, Labandera et al., 2004, Irisarri, 2003), o que pode ter contribuído para a falta de resposta ao N.

As doses de N aplicadas influenciaram o índice SPAD, mas esta variável não ajudou a explicar os efeitos sobre a produtividade com a aplicação de N (Tabela 4). O objetivo da leitura SPAD foi correlacionar os valores com o teor de N no tecido das plantas, mas foi obtido um baixo e significativo coeficiente de correlação entre esses parâmetros ($r = 0,341$, $n=32$) provavelmente devido a pequena variação. Nesse sentido, a matéria seca da parte aérea de plantas, o teor de N total e o N absorvido também não foram afetados pelos tratamentos.

Tabela 4. Índice SPAD, matéria seca da parte aérea de plantas, teor de nitrogênio (N) total e N absorvido, registrados no estágio R3-R4 em função das doses de N aplicadas nas fases vegetativa e reprodutiva na cultivar INIA Olimar, INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2007.

Tratamentos	Índice SPAD	Matéria SecaT ha ⁻¹	N total%....	N absorvidokg ha ⁻¹
Testemunha	32,4 ab ⁽¹⁾	15,48 ^{ns (2)}	0,84 ^{ns}	130,2 ^{ns}
0N V4 – 23N RO	33,7 ab	14,56	0,77	112,4
23N V4 – 23N RO	33,7 ab	15,83	0,84	134,3
46N V4 – 23N RO	34,2 ab	14,96	0,88	132,6
69N V4 – 23N RO	32,4 ab	15,76	0,84	132,9
23N V4 – 0N RO	31,1 b	14,09	0,83	116,8
23N V4 – 46N RO	34,2 a	15,32	0,94	144,3
23N V4 – 69N RO	34,9 a	14,71	0,91	132,4
Média	33,3	15,09	0,86	129,5
C.V.(%)	3,4	13,3	8,6	16,6

⁽¹⁾ Médias nas colunas não ligadas pela mesma letra diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro;

⁽²⁾ Teste F não significativo.

A rotação de um ano com arroz e três com pecuária permite uma recuperação de N no solo para ter um adequado fornecimento deste nutriente, mesmo para as novas cultivares liberadas pela pesquisa e, portanto não há necessidade de mudar o manejo da adubação nitrogenada para este cultivar já que para as cultivares com

maior área de plantio como El Paso 144 ou INIA Tacuarí o recomendado é aplicar até 70 kg ha⁻¹. Em situações onde a lavoura de arroz é semeada sucessivamente através dos anos devem-se pesquisar qual é o manejo adequado da adubação nitrogenada em cobertura.

Conclusões

Para o arroz INIA Olimar cultivado no Uruguai em área após três anos de pecuária há baixa resposta às doses e pouco efeito das épocas de aplicação de N em cobertura sobre o nível de N na planta, a produtividade de grãos e seus componentes.

CAPÍTULO III
ÉPOCA DE APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO E A SUSCETIBILIDADE DO ARROZ
IRRIGADO A TEMPERATURA BAIXA NA FASE REPRODUTIVA

NITROGEN APPLICATION TIMING AND SUSCEPTIBILITY OF RICE PLANT TO
LOW TEMPERATURE IN THE REPRODUCTIVE PHASE

Resumo

Espera-se que a aplicação de N deve afetar a sensibilidade das plantas de arroz quando submetidas ao frio na fase reprodutiva. Em vista disto, foi instalado um experimento em casa de vegetação, com o objetivo de determinar o efeito da época de aplicação de N sobre a suscetibilidade de plantas de arroz irrigado à temperatura baixa na fase reprodutiva. O experimento foi conduzido no ano agrícola 2007/08 na estação experimental do INIA Treinta y Três, Uruguai. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema bi-fatorial (fator A: estádios de aplicação de N e fator B: aplicação de frio ou não, com quatro repetições. Os tratamentos do fator A foram aplicação de N (30 kg ha^{-1}) nos estádios V4, V5, V6, V7, V8, R0, R1 e a testemunha sem N em cobertura. No fator B, realizaram-se dois tratamentos: com e sem frio. No tratamento com frio as plantas foram submetidas a $12,5^{\circ}\text{C}$ durante 7 horas em 4 noites quando o colar da folha bandeira ficou à mesma altura que o colar da folha anterior. A esterilidade de espiguetas não foi influenciada pela época de aplicação de N em diferentes estádios, pelo tratamento de frio, mas encontrou-se efeito temporário do frio no índice SPAD.

Palavras-chave: Arroz irrigado, épocas de aplicação de N, frio, índice SPAD.

Abstract

There is a lack of information about the effect of nitrogen applications (N) in different stages (vegetative or reproductive) on the sensitivity of rice plants to cold temperature in booting stage. The objective of the experiment was to determine the effect of the stages of application of N on the susceptibility of rice plants to low temperature in the reproductive phase. The experiment was sowed in 2007/08

growing season in greenhouse in the experimental area of INIA Treinta y Tres, Uruguay, with INIA Olimar cultivar. In the controlled experiment, a completely randomized design was used, with four replications in a factorial scheme (factor A: stages of application of N and factor B: temperature treatment). The treatments of the factor A were N application in V4, V5, V6, V7, V8, R0, R1 and a untreated check. In cold treatment the plants were treated with 12.5°C during 7 hours for 4 nights when the collar of the flag leaf was at the same height of the previous leaf. Spikelet sterility was not affected by the application of N in different stages, by cold treatment or their interaction, but the cold treatment affected temporally the SPAD index.

Keywords: Flooded rice, N application stages, low temperature, spikelet sterility, SPAD index.

Introdução

O nitrogênio (N) é um dos macronutrientes essenciais para a obtenção de alta produtividade de grãos de arroz, sendo um dos nutrientes mais estudados. Entretanto, ainda existem aspectos desconhecidos na sua interação com o ambiente e utilização pela planta. A eficiência de utilização do N pela planta de arroz depende de inúmeros fatores, já que é um nutriente com uma dinâmica especial, sendo influenciado por fatores do ambiente e por práticas de manejo da lavoura. Geralmente, no arroz irrigado, o N é aplicado em três momentos: na semeadura, início do perfilhamento e da fase reprodutiva, com o objetivo de obter maior eficiência de sua utilização. Entretanto, apesar do controle da maioria das variáveis de manejo da lavoura, as condições climáticas, principalmente temperatura e radiação solar, são essenciais para obtenção de resposta ao nutriente e elevada produtividade de grãos.

São poucos os trabalhos encontrados na literatura tendo como objetivo determinar o momento ótimo de aplicação de N dentro dos estádios da fase vegetativa ou reprodutiva e os efeitos na suscetibilidade a baixa temperatura na fase reprodutiva. Satake et al (1987), estudando o efeito do N na suscetibilidade ao frio na fase reprodutiva, dividiram a fase mais sensível ao frio (emborrachamento entre R0 e R2 segundo a escala de Counce) em três estádios: período inicial, entre o estádio de diferenciação dos nós até a diferenciação de espiguetas; período médio, entre a diferenciação das espiguetas até o estádio de jovem micróspora; e, período

tardio entre a jovem micróspora até o final da floração. O estágio mais sensível onde a aplicação de N provocou mais esterilidade de espiguetas foi o período médio, ou seja, entre a diferenciação das espiguetas até o estágio de jovem micróspora. Resultados similares foram obtidos por Hayashi et al. (2000), que encontraram que no período de diferenciação das espiguetas até o início da micróspora a aplicação de N conjuntamente com a ocorrência de frio provocaram maior esterilidade de espiguetas. Experimentos de Gunawardena et al. (2001) na Austrália mostraram maior esterilidade de espiguetas por indução de frio e com aplicações de N na fase vegetativa, pouco antes da inundação, o que, segundo os autores, esteve associado ao incremento da estatura de plantas ficando a panícula em desenvolvimento mais exposta à temperatura baixa do ar. Em outro trabalho, Gunawardena et al. (2003a) trabalharam tanto na fase vegetativa quanto na fase reprodutiva e encontraram que, independentemente da fase, doses únicas originam alta esterilidade de espiguetas, concluindo também que a aplicação de N na fase vegetativa pouco antes da inundação provocou maior esterilidade. As aplicações de altas doses de N, que determinam um maior número de perfilhos, causam também o aumento da esterilidade. O nutriente aumentou o crescimento do colmo em comprimento, localizando a panícula fora da proteção da água (Gunawardena et al., 2001). Além disso, a maior quantidade de perfilhos, provocada pela alta aplicação de N, diminui a disponibilidade imediata de assimilados no momento de produção de grãos maduros de pólen (Gunawardena & Fukai, 2004). O aumento de N também incrementou o número de grãos por panícula, reduzindo a quantidade de assimilados no momento da formação de grãos de pólen maduros e ocasionando um aumento de esterilidade de espiguetas (Gunawardena & Fukai, 2005).

Na região Sul das Américas existe grande probabilidade de ocorrência de temperatura do ar abaixo de 15°C na fase reprodutiva da planta de arroz, temperatura considerada prejudicial à cultura (Deambrosi et al., 1997 e Steinmetz et al., 1997). No Uruguai, em Treinta y Tres, segundo um estudo de 36 anos, existe uma probabilidade de 0,75% de ter um ou mais períodos de 3 ou mais dias com temperaturas menores a 15°C na primeira quinzena de janeiro. Esta probabilidade é maior que a segunda quinzena de janeiro (0,55), que no mês de fevereiro (0,69 e 0,59) e que a primeira quinzena de março (0,69) (Deambrosi & Mendez, 2007).

Em vista do exposto e da falta de resultados locais com aplicações de N dentro dos estádios de cada fase, faz-se necessário a realização de experimentos

com esse intuito. Portanto, o objetivo do experimento foi determinar o efeito da aplicação de N em estádios da fase vegetativa e da fase reprodutiva sobre a suscetibilidade da planta de arroz a temperatura baixa na fase reprodutiva.

Material e Métodos

O experimento foi instalado no ano agrícola 2007/08 com a cultivar INIA Olimar em casa de vegetação do INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai. O solo para o experimento foi retirado do campo experimental de arroz do INIA Treinta y Trés. Os resultados da análise química de solos foram, em média, os seguintes: pH (H_2O), 6,1; M.O.(%), 2,79 (adequada); P (Ac. Cítrico $\mu P g^{-1}$), 4,40 (baixo); K (meq $100g^{-1}$), 0,22 (adequado); areia 27%; silte 47%; e argila 26%. O solo foi caracterizado como Solod melânico da Unidade de Solos “La Charqueada” segundo Altamirano (1979), utilizando a Classificação de solos do Uruguai.

As sementes da cultivar Olimar foram embebidas por 24 horas em água e semeadas no dia 6 de novembro de 2007, em baldes de 10 L com 10 kg de solo ficando 8 plântulas por balde. Como fontes de N, fósforo (P) e potássio (K) foram utilizados uréia, fosfato de amônio e cloreto de potássio, respectivamente, aplicando-se a seguinte quantidade como nutriente na semeadura: 8 mg kg^{-1} de solo de N, 20,4 mg kg^{-1} de solo de P_2O_5 com a aplicação de fosfato de amônio e 9,6 mg kg^{-1} de solo de K_2O colocando cloreto de potássio. O solo do balde foi mantido úmido colocando-se água quando necessário até a quarta folha quando foi alagado deixando uma pequena lâmina de água a qual foi aumentada na medida que as plantas foram crescendo até atingir 5cm. A quantidade de uréia aplicada nos diferentes tratamentos foi calculada com base na área dos baldes. Os 30 kg $há^{-1}$ de N aplicados correspondem a 31 mg de N kg^{-1} de solo.

O delineamento utilizado para o experimento foi o inteiramente casualizado em esquema bifatorial (Fator A: estádios de aplicação de N e Fator B: tratamentos de temperatura: com e sem frio), com quatro repetições (Tabela 1).

Tabela 1. Tratamentos de épocas de aplicação de nitrogênio para a cultivar INIA Olimar. INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2007.

Tratamentos	Fase vegetativa		Fase reprodutiva	
	Estádio	N (kg ha ⁻¹)	Estádio	N (kg ha ⁻¹)
Testemunha sem nitrogênio		0		0
V4/R0 ⁽¹⁾	V4	30	R0	30
V5/R0	V5	30	R0	30
V6/R0	V6	30	R0	30
V7/R0	V7	30	R0	30
V8/R0	V8	30	R0	30
V4/R1	V4	30	R1	30
V4/R2	V4	30	R1+ 4 dias	30

⁽¹⁾ Estádios de desenvolvimento segundo escala de Counce et al. (2000).

Para a determinação dos estádios de desenvolvimento utilizou-se a escala de Counce et al. (2000), marcando a folha com anéis de arame colorido no colmo principal de 1 planta em 16 baldes.

Os baldes com as plantas foram mantidos todo o tempo na casa de vegetação. Quando o colar da folha bandeira ficou próximo ao colar da folha anterior, entre os estádios R1 e R2 segundo Counce et al (2000), aplicou-se o tratamento de frio. O tratamento foi de 12,5°C por 7 horas durante 4 noites seguidas na câmara de frio. Para a determinação do tratamento de frio fez-se um estudo da base de dados da estação agrometeorológica do INIA Treinta y Trés com registros a partir de 1972. Estudou-se o período de 1° de janeiro a 15 de fevereiro. Selecionaram-se os dias com temperatura menor ou igual a 15°C nesse período, fazendo leitura das bandas do termohidrógrafo para determinar a média de temperatura e o número de horas. A média dessas temperaturas foi de 12,5°C e o número de horas foram de 7. Em todas as situações o evento de frio ocorria nas noites.

A manutenção da temperatura dentro da casa de vegetação foi feita automaticamente, mantendo-se temperaturas entre 20°C e 35°C. Quando a temperatura baixava de 20°C, o sistema automaticamente ligava a calefação e quando a temperatura aumentava acima de 35°C ligava aspersores, que nem sempre foi eficiente para reduzir a temperatura. Durante o período de condução do experimento, registrou-se a temperatura do solo e do dossel de plantas através de um registrador automático de temperatura.

Os parâmetros avaliados foram: determinação do índice SPAD (determinação indireta do teor de clorofila), através de um clorofilômetro, medida aos 3 e 10 dias após do tratamento do frio no terço superior da folha bandeira de 10 plantas no colmo principal; produtividade de grãos por balde; número de panículas por balde; número de grãos por panícula; massa de mil grãos; e esterilidade de espiguetas. A determinação dos componentes do rendimento foi realizada em 10 panículas por balde.

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias separadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Para o análise da percentagem de esterilidade de espiguetas foi utilizada a transformação arcoseno (Gomez & Gomez, 1984).

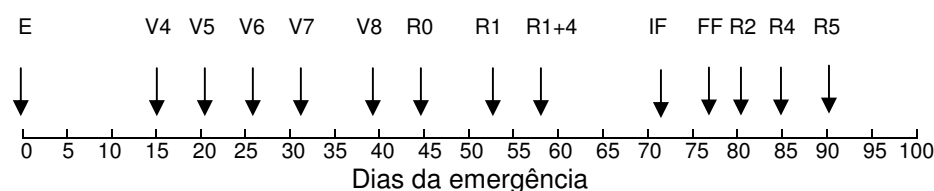


Figura 1 Diagrama apresentando a ocorrência dos estádios de Counce et al. (2000) do experimento 1 em casa de vegetação. E: emergência de plântulas, IF: início frio, FF: final frio.

Resultados e discussão

Para esterilidade de espiguetas, não foi encontrado efeito significativo dos tratamentos (Tabela 2). Estes resultados são diferentes de resultados encontrados na literatura já que é reportado que as aplicações de N tanto na fase vegetativa quanto na reprodutiva provocam maior esterilidade de espiguetas quando as plantas são submetidas a frio na fase reprodutiva (Heenan, 1984; Haque, 1988; Hayashi et al., 2000 e Gunawardena, 2003a).

Um aspecto importante é a duração do período de frio, sendo que, se o período for prolongado, incluindo aplicação de frio de dia e à noite, ocorre maior esterilidade, como nos trabalhos de Heenan (1984), 12°C durante 4 dias; Haque (1988), 15°C durante 5 dias; Hayashi et al (2000), 12°C durante 4 dias e Gunawardena et al. (2003 a), 18/13°C, dia/noite durante 5 dias. A combinação de temperatura e duração do período de frio relatados, possivelmente estejam relacionados às condições meteorológicas das regiões estudadas, uma vez que no Uruguai o frio geralmente ocorre durante as noites.

Outro aspecto é que os pesquisadores citados anteriormente usaram doses altas de N: Heenan (1984) (75 e 150 kg ha⁻¹ de N), Haque (1988) (10, 40 e 80 mg kg⁻¹ de N), Hayashi et al (2000) (80 mg kg⁻¹ de N) e Gunawardena (2003) (150 kg ha⁻¹). No presente experimento utilizou-se 30 kg ha⁻¹ de N em cada estágio o que é uma dose muito baixa se comparada com as citadas, o que pode explicar, em parte, a não ocorrência de danos pelos tratamentos aplicados. Outro aspecto que pode explicar a falta de respostas às doses de N e de temperatura na esterilidade de espiguetas são as temperaturas elevadas após a aplicação dos tratamentos de frio, pois de acordo com Satake (1969) elevadas temperaturas antes ou depois do tratamento de frio, minimizam o efeito do mesmo na esterilidade de espiguetas.

Ainda podem-se considerar os diferentes momentos em que os genótipos utilizados nos trabalhos por diferentes pesquisadores têm mais sensibilidade ao frio. Assim, Heenan (1984), trabalhando com as variedades Calrose e Inga, encontraram que o momento onde o dano por frio para Calrose foi maior quando a distância entre as aurículas das folhas bandeira e penúltima folha estava entre -1 e +3 cm enquanto que para Inga a maior sensibilidade ocorreu quando a distância entre as duas estruturas botânicas situava-se em +6 cm. A cultivar INIA Olimar utilizada no experimento é nova e, portanto, não se conhece o momento de maior sensibilidade ao frio e pode ter ocorrido que a aplicação dos tratamentos de frio não tivessem ocorrido em momento de maior sensibilidade pela planta. Além disso, a variabilidade encontrada entre as unidades experimentais, para esterilidade de espiguetas foi muito alta (C.V: = 54,7%) , dificultando encontrar diferenças entre os tratamentos. Verificou-se efeito simples da época de aplicação de N na produtividade de grãos por balde, o número de grãos por panícula e massa de 1000 grãos não foram influenciados pelo tratamento de temperatura. A aplicação de N no estágio V4 proporcionou a produtividade mais alta e superior à testemunha, mas não foi registrado diferenças entre os outros tratamentos (Tabela 2). O efeito do N provocando maior número de panículas ao final da floração (92 DAE) (Tabela 3) no estágio V4 explica a maior produtividade de grãos encontrados neste tratamento. A aplicação de N na época V4 seguramente provocou maior perfilhamento

Tabela 2. Efeito da época de aplicação de nitrogênio na resposta a frio da cultivar Olimar, medida pela esterilidade de espiguetas, produtividade de grãos por balde, número de grãos por panícula e massa de mil grãos, INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2008.

Tratamentos	Esterilidade De espiguetas	Produtividade de grãos	Grãos por Panícula	Massa de mil grãos
	%	G balde ⁻¹	Número	g
Testemunha sem nitrogênio	23,4 (ns)	33,7 b ⁽¹⁾	76 a	24,9 a
V4/R0 ⁽²⁾	13,8	60,5 a	93 a	25,4 a
V5/R0	13,5	56,5 ab	92 a	26,1 a
V6/R0	15,9	57,5 ab	93 a	26,1 a
V7/R0	19,5	53,5 ab	83 a	25,2 a
V8/R0	16,8	53,5 ab	85 a	26,0 a
V4/R1	13,6	51,8 ab	85 a	26,1 a
V4/R2	13,2	45,7 ab	83 a	25,8 a
Sem frio	17,6 ^(ns)	51,0 ^(ns)	86 ^(ns)	25,8 ^(ns)
Com frio	14,8	52,2	87	25,6
Média	16,2	51,6	86	25,7
C.V.(%)	54,7	21,1	13,3	2,3

⁽¹⁾ Médias nas colunas não ligadas pela mesma letra diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$);

⁽²⁾ Estádios de desenvolvimento segundo escala de Counce et al. (2000) nos quais foram aplicados 30 kg ha⁻¹ de N.

^(ns) Médias não diferem pelo Teste F ($p \leq 0,05$).

As leituras feitas com o clorofilômetro (índice SPAD) na folha bandeira, três dias após da exposição das plantas ao frio, apresentaram efeitos simples significativos tanto da época de aplicação de N, como do tratamento de temperatura (Tabela 3). Entretanto, a leitura aos 10 dias após o tratamento com temperatura não apresentou resultados significativos, recuperando-se do estresse do frio. O efeito simples do tratamento de temperatura no índice SPAD onde o tratamento com frio provocou diminuição de 30,3 e 29,4 para os tratamentos sem e com frio, respectivamente. Na Tabela 3 apresenta-se a comparação de médias pelo teste de Tukey, tanto aos 3 como aos 10 dias onde o tratamento de aplicação de N no estágio R1+4 dias apresentou maior valor seguramente devido a que a leitura foi realizada pouco depois da aplicação de N. Observa-se também o aumento no índice SPAD entre os registros aos 3 dias (30,3) e aos 10 dias (31,4) de aplicado o frio (R2-R3 e R5, respectivamente). Isto possivelmente seja devido à translocação de N para a folha bandeira. Os registros foram maiores tanto aos 3 como aos 10 dias de tratados nos estádios reprodutivos (R1 e R1+4) possivelmente porque estão próximos das aplicações de N.

Tabela 3. Efeito da época de aplicação de nitrogênio na resposta a frio da cultivar Olimar, medida pelo índice SPAD aos 3 e 10 dias após o tratamento (DAT) de frio e do número de panículas por balde aos 87 e 92 dias após a emergência (DAE), INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2008 .

Tratamentos	Índice SPAD 3 DAT	Índice SPAD 10 DAT	Número de panículas por balde 87 DAE	Número de panículas por balde 92 DAE
Testemunha sem nitrogênio	29,3 bc ⁽¹⁾	31,3 abc	7ab	20 ab
V4/R0 ⁽²⁾	28,5 c	31,0 abc	11 ab	27 a
V5/R0	27,7 c	30,8 abc	8 ab	25 ab
V6/R0	28,3 c	32,7 ab	11 ab	26 ab
V7/R0	29,0 bc	29,2 bc	4 ab	18 ab
V8/R0	29,1 bc	27,5 c	1 b	16 b
V4/R1	32,8ab	33,5 a	14 a	26 ab
V4/R1+4	34,2 ^a	34,3 a	13 ab	22 ab
Sem frio	30,3 *	31,4 ^(ns)	10*	22 ^(ns)
Com frio	29,4	31,2	7	23
Média	29,8	31,3	9	22
C.V.(%)	6,1	5,7	65,1	19,8

⁽¹⁾ Médias nas colunas não ligadas pela mesma letra diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$);

⁽²⁾ Estádios de desenvolvimento segundo escala de Counce et al. (2000) nos quais foram aplicados 30 kg ha⁻¹ de N;

* Média de tratamento por frio diferem pelo Teste F ($p \leq 0,05$);

^(ns) Médias não diferem pelo Teste F ($p \leq 0,05$).

A medida indireta do teor de clorofila (índice SPAD) apresenta um registro relativo da cor verde das folhas. O uso do aparelho está baseado no fato de que a cor na folha está positivamente correlacionada com o teor de N no tecido, e o N na folha deve afetar a produtividade de grãos (Turner & Jund, 1994). Argenta et al. (2001) citando vários autores estabelece que essa relação é atribuída ao fato de que 50% a 70 % do N total das folhas é integrante de enzimas que estão associadas aos cloroplastos. Segundo Lyons (1973), o frio provoca mudanças na fluidez das membranas plasmáticas modificando as funções desta. As proteínas do centro de reação da fotossíntese e transporte de elétrons estão localizados nas membranas dos cloroplastos e também a síntese de ribossomas e proteínas (Berry & Bjorkman, 1980). Portanto, o tratamento de frio provocou uma redução da atividade fotossintética nos primeiros 3 dias, inferido através do índice SPAD diminuindo a produção de assimilados. Depois de 10 dias do tratamento não se observaram diferenças nos registros.

O tratamento de temperatura também afetou o número de panículas por balde aos 87 dias da emergência, onde os registros foram 10 e 7 panículas por balde para o tratamento sem e com frio, respectivamente. Segundo estes resultados um aspecto a considerar foi a diminuição do índice SPAD pelo tratamento de frio o que possivelmente provocou uma diminuição de produção de assimilados originando um atraso na emergência de panículas diminuindo o número aos 87 DAE e recuperando-se aos 92 DAE.

Para alguns autores o frio provocou uma diminuição no número de perfilhos inibindo sua emergência (Kakizaki, 1978) que utilizou uma temperatura média de 18,5°C no estádio de 8 folhas. Shimono et al. (2002) relatam experimentos conduzidos por vários pesquisadores onde concluem que o crescimento do arroz é mais limitado pela temperatura da água que a do ar antes da metade da fase reprodutiva. Estes autores encontraram uma redução de 9% a 14% no número de panículas devido a tratamentos de baixa temperatura (16,9°C±1,2°C em 1996, 17,9°C±1,5°C em 1997 e 16,5°C±1,1°C em 1998) e de 19,5°C±1,6. Shimono et al. (2007) obtiveram redução do perfilhamento com temperatura da água de 19,5°C durante o desenvolvimento da panícula, mas com temperatura baixa na fase vegetativa. No presente experimento a temperatura média do solo e da água foi 15,2°C durante o período de tratamento com frio na câmara.

Conclusões

A esterilidade de espiguetas não é afetada pela aplicação de N em diferentes estádios (0 a 60 kg ha⁻¹ aplicados de V4 a R1+4) ou pelo frio aplicados na fase reprodutiva, mas este afeta temporariamente o teor de clorofila medido pelo índice SPAD.

CAPÍTULO IV

DOSES DE NITROGÊNIO E A SUSCETIBILIDADE DO ARROZ IRRIGADO A BAIXA TEMPERATURA NA FASE REPRODUTIVA

NITROGEN RATES AND THE SUSCEPTIBILITY OF THE RICE PLANT TO LOW TEMPERATURE IN THE REPRODUCTIVE PHASE

Resumo

A literatura recente do Japão, Austrália e do IRRI relata os efeitos de elevadas aplicações de nitrogênio (N) provocando maior sensibilidade à temperatura baixa nas plantas de arroz. O objetivo do experimento em casa de vegetação foi avaliar os efeitos das doses de N sobre a suscetibilidade das plantas de arroz a temperatura baixa na fase reprodutiva. O experimento foi conduzido no ano agrícola 2007/2008 no INIA Treinta y Três, Uruguai, utilizando a cultivar INIA Olimar. O delineamento experimental utilizado em condições controladas foi o inteiramente casualizado em esquema bi-fatorial com quatro repetições (fator A: doses de N em estádios vegetativos e reprodutivos e fator B: tratamento de temperatura). Os níveis do fator A foram doses de N de 23, 46 e 69 kg ha⁻¹ de N no estágio V4 e as mesmas doses no estágio R0 e uma testemunha sem aplicação de N nos dois estádios. No fator B os tratamentos de temperatura foram com e sem frio. O tratamento de frio foi de 12,5°C por quatro noites durante 7 horas sendo realizado quando o colar da folha bandeira estava à mesma altura do colar da folha anterior. A esterilidade de espiguetas não foi influenciada pelo aumento das doses de N, efeito do frio nem sua interação, mas o tratamento de frio teve incidência temporária no índice SPAD.

Palavras-chave: Arroz irrigado, nitrogênio, doses de aplicação de N, baixa temperatura, esterilidade de espiguetas, índice SPAD.

Abstract

The current literature of Japan, Australia and IRRI shows the effect of high rates of nitrogen applications (N) resulting in higher sensitivity to low temperature in rice plants. The objective of the experiment was to evaluate the effect of the levels of N application on the susceptibility of the rice plants to low temperature in reproductive phase. The experiment was conducted in 2007/2008 growing season in controlled conditions in INIA Treinta y Trés, Uruguay, with INIA Olimar cultivar. A completely randomized design was used in controlled experiment with factorial scheme with 4 replications. Factor A was the levels of N application in vegetative and reproductive stages, and factor B the treatment of temperature. The treatments of the factor A were: 23, 46 and 69 kg ha⁻¹ in V4 stage and the same levels of N in R0 stage plus a check without N in topdress. The temperature treatments were two: with and without cold. The cold treatment of this factor was of 12.5°C during four nights for 7 hours when the collar of the flag leaf was at the same height of the collar of the previous leaf. It was not found incidence of level of N, cold treatment or interaction in spikelet sterility but was found temporally effects in SPAD index.

Keywords: Flooded rice, N application stages, low temperature, spikelet sterility

Introdução

Na região produtora de arroz do Sul do RS e leste do Uruguai é necessário aplicar nitrogênio (N), já que o nitrogênio aportado pelo solo não é suficiente para suprir as necessidades das plantas. As doses são determinadas em experimentos de campo. Estes trabalhos são contínuos de ano para ano devido à liberação de novas cultivares de maior produtividade e qualidade de grãos. A recomendação de aplicação de N deve considerar a dose adequada e, também, a época de aplicação, já que o N é um nutriente que se perde facilmente do sistema de produção por diversos mecanismos (Fageria et al., 2003). Segundo Scivittaro & Machado (2004), no Sul do RS, as recomendações devem situar-se, em média, entre 30 e 90 kg ha⁻¹ de N para o sistema de semeadura em solo seco e entre 60 e 120 kg ha⁻¹ de N para o sistema pré-germinado. No Uruguai, realizam-se aplicações integral ou parcelada para obter maior eficiência, sendo as doses aplicadas de até 70 kg de N ha⁻¹.

No leste do Uruguai, Deambrosi et al. (1997) determinaram uma probabilidade de 20% (1 em cada 5 anos) de ocorrerem médias decêndais de temperaturas médias do ar inferiores a 15°C para todo o mês de janeiro e nos dois primeiros decêndios de fevereiro, período coincidente com a fase reprodutiva das plantas de arroz. Steinmetz et al (1997) estudaram os riscos de ocorrência de temperaturas baixas na fase reprodutiva em oito localidades do Sul do Brasil e duas de Uruguai e encontraram diferenças de riscos entre elas, sendo Treinta y Três, no Uruguai, a que apresentou os maiores riscos. Em um estudo recente de uma série histórica de 36 anos, Deambrosi & Mendez (2007) determinaram, para a região leste do Uruguai, maior probabilidade (0,75) de períodos com três ou mais dias com temperaturas menores do que 15°C na primeira quinzena de janeiro, sendo superior à segunda quinzena de janeiro (0,55), às duas quinzenas de fevereiro (0,69 e 0,59) e a primeira quinzena de março (0,69).

Trabalhos realizados no Japão e na Austrália determinaram que a esterilidade de espiguetas ocasionadas por temperatura baixa é aumentada por doses elevadas de N aplicadas (Heenan, 1984; Haque, 1988 Hayashi et al., 2000; Gunawardena et al., 2003a). Alta dose aplicada de N no estágio de diferenciação de espiguetas até o início da formação da micróspora provoca diminuição na fertilidade de espiguetas (Satake et al., 1987). Resultados similares são relatados por Hayashi et al. (2000), devido segundo os autores, à redução no número de micrósporas e grãos de pólen. As aplicações de N tanto na fase vegetativa, pouco antes do início da irrigação, como na iniciação da panícula, ocasionam diminuição no número de grãos maduros de pólen (Gunawardena & Fukai, 2005). As aplicações de doses altas de N nos estádios vegetativos estão associadas a um rápido crescimento vegetativo antes da floração o qual pode promover um desequilíbrio fotossíntese-respiração, reduzindo as espiguetas cheias e a produtividade final (Heenan, 1984). Nos mesmos estádios também pode incrementar o perfilhamento e o número de espiguetas por planta provocando redução no suprimento de assimilados para os grãos de pólen cheios por antera, originando maior esterilidade de espiguetas (Gunawardena et al., 2003a). Gunawardena & Fukai (2005) estabelecem que, para obter um número ideal de grãos de pólen por antera cheios de assimilados, a planta deve ter um fornecimento suficiente de assimilados de forma imediata, ou seja, aqueles produzidos no momento de formação do grão de pólen e não os de reservas da bainha e colmos.

As condições climáticas mudam de região para região, sendo necessário estudar localmente os efeitos das doses de N tanto na fase vegetativa como na reprodutiva na suscetibilidade à baixa temperatura aplicada na fase reprodutiva.

Na região leste uruguaia, há poucas informações a respeito do efeito de doses de N que podem provocar efeitos sobre a sensibilidade do arroz a temperatura baixa. Portanto, o objetivo do experimento foi avaliar a dose de aplicação de N sobre a suscetibilidade das plantas de arroz a temperatura baixa durante a fase reprodutiva.

Material e métodos

O experimento foi instalado no ano agrícola 2007/08 com a cultivar INIA Olimar em casa de vegetação do INIA Treinta y Tres, Treinta y Tres, Uruguai. O solo para o experimento foi retirado do campo experimental de arroz do INIA Treinta y Trés. Os resultados da análise química de solos foram, em média, os seguintes: pH (H_2O), 6,1; M.O.(%), 2,79 (adequada); P (Ac. Cítrico $\mu P g^{-1}$), 4,40 (baixo); K (meq $100g^{-1}$), 0,22 (adequado), areia 27%, silte 47% e argila 26%. O solo foi caracterizado como Solod melânico da Unidade de Solos “La Charqueada” segundo Altamirano (1979) da Classificação de solos de Uruguai.

As sementes da cultivar INIA Olimar foram embebidas 24 horas em água e semeadas no dia 6 de novembro de 2007, em baldes de 10 L, com 10 kg de solo ficando 8 plântulas de arroz. Como fontes de N, fósforo (P) e potássio (K) foram utilizados uréia, fosfato de amônio e cloreto de potássio, respectivamente, aplicando-se a seguinte quantidade como nutriente na semeadura: 8 mg kg^{-1} de solo de N, 20,4 mg kg^{-1} de solo de P_2O_5 como fosfato de amônio e 9,6 mg kg^{-1} de solo de K_2O aplicado como cloreto de potássio. O solo do balde foi mantido úmido colocando água quando for necessário até a quarta folha quando foi alagado deixando uma lâmina de água de 5 mm a qual foi aumentada na medida que as plantas foram crescendo até atingir 5 cm. A quantidade de uréia aplicada nos diferentes tratamentos foi calculada de acordo com a superfície dos baldes.

O delineamento utilizado para o experimento foi o inteiramente casualizado em esquema bifatorial (fator A: doses de aplicação de N e fator B: tratamentos de temperatura: com e sem frio), com quatro repetições (Tabela 1).

Tabela 1. Doses de nitrogênio, em kg ha^{-1} , aplicados na cultivar INIA Olimar nos estádios V4 e R0. INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2008.

Tratamentos	Estádio V4	Estádio R0
T1	0	0
T2	0	23
T3	23	23
T4	46	23
T5	69	23
T6	23	0
T7	23	46
T8	23	69

Para a determinação dos estádios de desenvolvimento do arroz utilizou-se a escala de Counce et al. (2000), marcando a planta com anéis de arame colorido no colmo principal em 16 baldes.

Os baldes com as plantas foram mantidos todo o tempo na casa de vegetação. No colmo principal quando chegou o estágio onde o colar da folha bandeira ficou próximo ao colar da folha anterior entre os estádios R1 e R2 segundo Counce et al (2000), aplicou-se o tratamento de frio aos baldes correspondentes. O tratamento foi de $12,5^{\circ}\text{C}$ por 7 horas durante quatro noites na câmara de frio.

Para a determinação do tratamento de frio, fez-se um estudo da base de dados da estação agrometeorológica do INIA Treinta y Trés com registros a partir de 1972. Estudou-se o período de 1° de janeiro a 15 de fevereiro. Selecionaram-se os dias com temperatura menor ou igual a 15°C nesse período fazendo leitura das bandas do termohidrógrafo para determinar a média de temperatura e o número de horas. A média foi $12,5^{\circ}\text{C}$ para temperatura e o número de horas, sete. Em todas as situações o evento de frio ocorria nas noites.

A manutenção da temperatura dentro da casa de vegetação foi feita automaticamente, mantendo-se temperaturas entre 20°C e 35°C . Quando a temperatura baixava de 20°C , o sistema automaticamente ligava a calefação e quando a temperatura aumentava acima de 35°C ligava aspersores, que nem sempre foi eficiente para reduzir a temperatura. Durante o período de condução do experimento, registrou-se a temperatura do solo e do dossel de plantas através de um registrador automático de temperatura.

Os parâmetros avaliados foram: índice SPAD, medida indireta do teor de clorofila, medidas aos 3, 10 e 16 dias após do tratamento do frio no estádio R2-R3 no terço superior da folha bandeira de 10 plantas no colmo principal, produtividade de grãos por balde, número de panículas por balde, massa de mil grãos e percentagem de esterilidade de espiguetas. A determinação dos componentes do rendimento foi realizada em 10 panículas por balde.

Para a análise estatística foi utilizando o pacote estatístico MSTAT 4 da Universidade de Michigan (E.U.A), aplicando-se o teste F para as variáveis em estudo e, quando significativo, foi feita a análise de regressão polinomial. Para o análise da percentagem de esterilidade de espiguetas foi utilizada a transformação arcoseno (Gomez & Gomez, 1984).

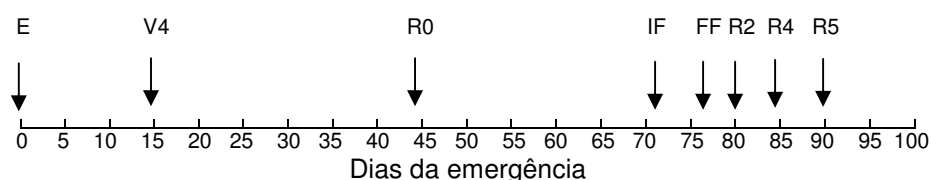


Figura 1 Diagrama apresentando a ocorrência dos estádios de Counce et al. (2000) no experimento de doses de aplicação de N em casa de vegetação. E: emergência de plântulas, IF: início frio, FF: final frio.

Resultados e discussão

O principal parâmetro em estudo do efeito das doses na suscetibilidade das plantas de arroz ao frio na fase reprodutiva, a esterilidade de espiguetas, não foi influenciada pelos efeitos simples das doses de N, tratamento de temperatura nem foi encontrado interação entre eles. (Tabela 2). Isto difere da maioria dos artigos publicados na literatura principalmente do Japão e Austrália (Heenan, 1984, Haque, 1988, Hayashi et al., 2000, Satake et al., 1987, e Gunawardena et al., 2003a, 2005) onde a esterilidade de espiguetas incrementou em seus trabalhos com o aumento da dose de aplicação de N.

Três aspectos importantes podem ser considerados para explicar os resultados obtidos neste trabalho. Um deles é que o período de tratamento com frio aplicados na maioria dos trabalhos relatados na literatura foi durante as 24 horas do dia com uma duração similar a nosso experimento onde o tratamento de frio foi de 7 horas durante a noite por 4 dias. O período de frio foi selecionado de um estudo da

base de dados das condições locais com uma ocorrência do evento “frio” moderada na região. Também o aumento da temperatura durante o dia é comum depois de noites frias em janeiro.

Outro aspecto é que na maioria dos experimentos citados na literatura a dose de N utilizada foi alta: Heenan (1984) (75 e 150 kg ha⁻¹ de N), Haque (1988) (10, 40 e 80 ppm de N), Hayashi et al (2000) (80 ppm de N) e Gunawardena et al. (2003a) (150 kg há⁻¹). Com estas doses as plantas ficam mais suscetíveis ao frio, mas deve ser a realidade destes países onde a resposta a N é alta devido às condições climáticas adequadas. Neste experimento, a maior dose aplicada foi de 69 kg há⁻¹. Há ainda o genótipo reagente. INIA Olimar, genótipo utilizado no experimento de qual se tem pouco conhecimento da suscetibilidade ao frio, principalmente o momento de maior sensibilidade à temperatura fria. Pode ter ocorrido que os tratamentos tenham sido aplicados em momentos em que este genótipo não apresentasse a maior sensibilidade a temperatura baixa. Assim Heenan (1984) trabalhando com as variedades Calrose e Inga encontraram que o momento onde o dano por frio para Calrose foi maior quando a distância entre as aurículas das folhas bandeira e penúltima folha estava entre -1 e +3 cm enquanto que para Inga a maior sensibilidade ocorreu quando a distância entre as duas estruturas botânicas situava-se em +6 cm.

Tabela 2 Efeito da aplicação de temperaturas baixas em plantas de arroz da cultivar INIA Olimar, na esterilidade de espiguetas, produtividade de grãos, número de grãos por panícula e massa de mil grãos . INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2008.

Tratamentos	Esterilidade de espiguetas (%)	Produtividade de grãos (kg balde ⁻¹)	Número de grãos por panícula	Massa de mil grãos (g)
Sem frio	19,1 ^(ns)	58,3 ^(ns)	90*	26,7 ^(ns)
Com frio	23,2	55,5	80	26,5
Média	21,2	56,9	85	26,6
C.V.(%)	66,4	17,8	21,3	2,2

* Médias diferem pelo teste F (p≤0,05).

^(ns) Médias não diferem pelo Teste F (p≤0,05).

O frio provocou diminuição dos grãos por panícula (Tabela 2). Isto pode ter ocorrido ao considerar o colmo principal no balde para determinar o momento de tratamento do frio. Talvez, a maioria dos perfilhos neste momento estivessem mais

atrasados, podendo ter provocado efeito na determinação do número de grãos por panícula.

A produtividade por balde e a massa de mil grãos não foram afetadas pelo frio nem ocorreu interação entre os dois fatores. Apesar do maior número de grãos obtido no tratamento sem aplicação de frio, isto não se refletiu na produtividade. O elevado coeficiente de variação obtido para esterilidade de espiguetas (66,4%) e também para o número de grãos por panícula, explicam, em parte, este resultado. Com relação às doses de N, observou-se incremento da produtividade com o aumento das doses de N, sendo maior a resposta no estágio R0 com aplicação de 69 kg há⁻¹. (Figura 1). O incremento em produtividade pode ser explicado por maior número de grãos por panícula neste tratamento.

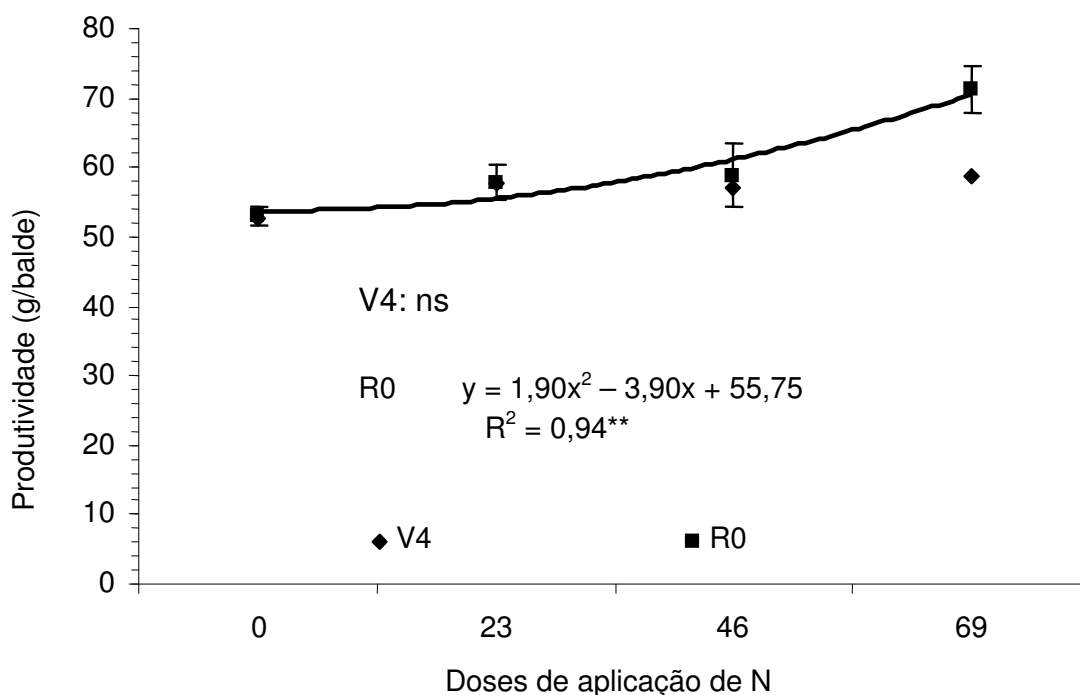


Figura 2 Efeitos da dose N nos estádios V4 e R0 na produtividade de grãos por balde. INIA Treinta y Três, Treinta y Três Uruguai, 2008.

A medida indireta do teor de clorofila (índice SPAD) foi afetada pelo tratamento de frio tanto aos três quanto aos 10 dias de tratamento com frio. Já aos 16 dias não foi encontrado efeito do frio (33,9 vs. 33,6) (Tabela 3). Observa-se também, um incremento na média do Índice SPAD aos 3 dias de tratado com frio (28,9) com o

registro aos 10 dias após o tratamento (32,4). Isto pode ser devido à translocação de N das folhas velhas para a folha bandeira. Na mesma tabela se observa também um atraso na emergência de panículas aos 87 dias da emergência de plantas provocados pela temperatura baixa recuperando-se aos 92 ao final da emergência de panículas. O frio possivelmente provocou uma diminuição na atividade fotossintética inferida através do clorofilômetro. Segundo estes resultados um aspecto a considerar foi a diminuição do índice SPAD pelo tratamento de frio o que possivelmente provocou uma diminuição de produção de assimilados. Ao acontecer diminuição da atividade fotossintética pelo efeito do frio há também redução na produção de assimilados o que originou atraso na emergência de panículas explicando deste modo a redução das mesmas aos 87 dias da emergência de plântulas, mas houve recuperação aos 92 DAE. Segundo Lyons (1973), o frio provoca perda na fluidez das membranas tanto das células como das organelas (cloroplastos, ribossomos, etc...), mudando a funcionalidade das mesmas. As proteínas do centro de reação da fotossíntese e transporte de elétrons estão localizadas nas membranas dos tilacóides dos cloroplastos (Berry & Bjorkman, 1980). Os mecanismos fotoquímicos da fotossíntese não são afetados por mudanças na temperatura. Entretanto, os processos enzimáticos como a cadeia de transportadores de elétrons nos tilacóides, a fotofosforilação e as enzimas do ciclo de Calvin são afetadas pelo frio (Oquist, 1983). Segundo Shimono et al. (2004) há uma redução na taxa fotossintética de 10% a 14% quando há ocorrência de frio provocado por um fechamento dos estômatos. Como já foi estabelecido o frio provoca dano nas membranas das células e organelas sendo maior nos cloroplastos, diminuindo a atividade fotossintética (Kuk, 2003). Alguns autores relatam inibição na emergência de perfilhos (Kakizaki, 1978), no estágio de 8 folhas. Também, Shimono et al. (2007), encontrou redução no número de perfilhos devido a tratamento de baixa temperatura da água (19,5°C) no estágio de desenvolvimento das panículas, mas estes pesquisadores realizaram tratamentos de frio na fase vegetativa. A temperatura nos balde quando se estava aplicando o frio foi de 15,2°C.

Tabela 3. Efeito da aplicação de temperaturas baixas em plantas de arroz da cultivar INIA Olimar, na medida indireta do teor de clorofila (Índice SPAD) realizados aos 3 e 10 dias após o tratamento (DAT) de frio e número de panículas/balde aos 87 e 92 dias depois da emergência (DAE) de plântulas. INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2008.

Tratamentos	Índice SPAD 3 DAT	Índice SPAD 10 DAT	Número de panículas por balde aos 87 DAE	Número de panículas por balde aos 92 DAE
Sem frio	29,7*	32,8*	18*	29 ^(ns)
Com frio	28,0	32,0	15	28
Média	28,9	32,4	16	28
C.V.(%)	5,3	3,2	24,7	10,0

* Médias diferem pelo teste F ($p \leq 0,05$).

^(ns) Médias não diferem pelo Teste F ($p \leq 0,05$).

O N afetou o índice SPAD nas leituras feitas aos 10 e 16 dias após a aplicação dos tratamentos de frio, tendo sido encontrando ajuste para a aplicação de N no estágio V4 (Figura 2 e 3). Neste estágio há uma diminuição dos valores, na medida em que aumenta a dose de aplicação de N. Isto pode ser devido a que com o aumento do N também incrementa a massa seca das plantas e possivelmente tenha ocorrido um efeito de diluição do N com diminuição das leituras com o clorofilômetro.

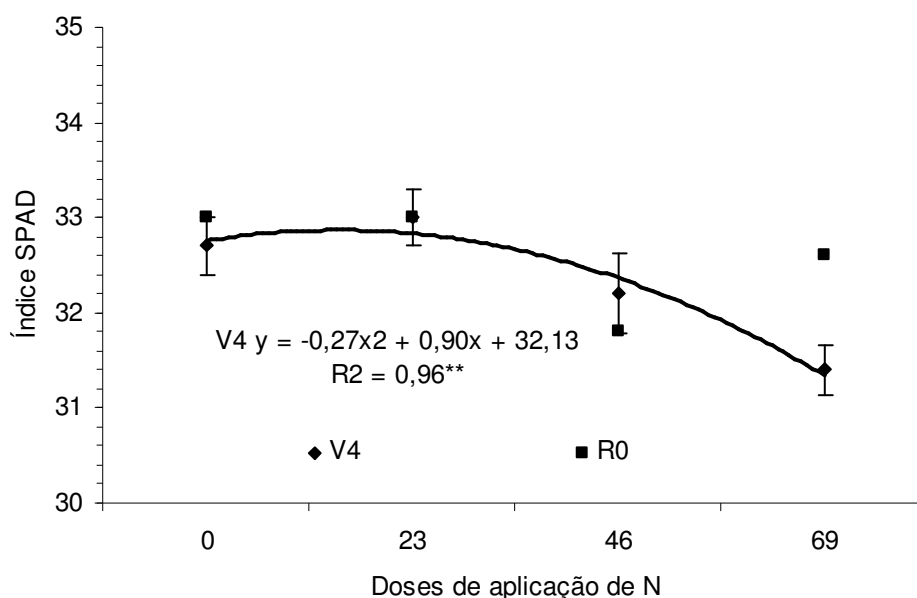


Figura 3 Efeitos das doses de nitrogênio no estágio V4 e R0 no teor de clorofila medida indireta pelo índice SPAD aos 10 dias do tratamento de frio, INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2008.

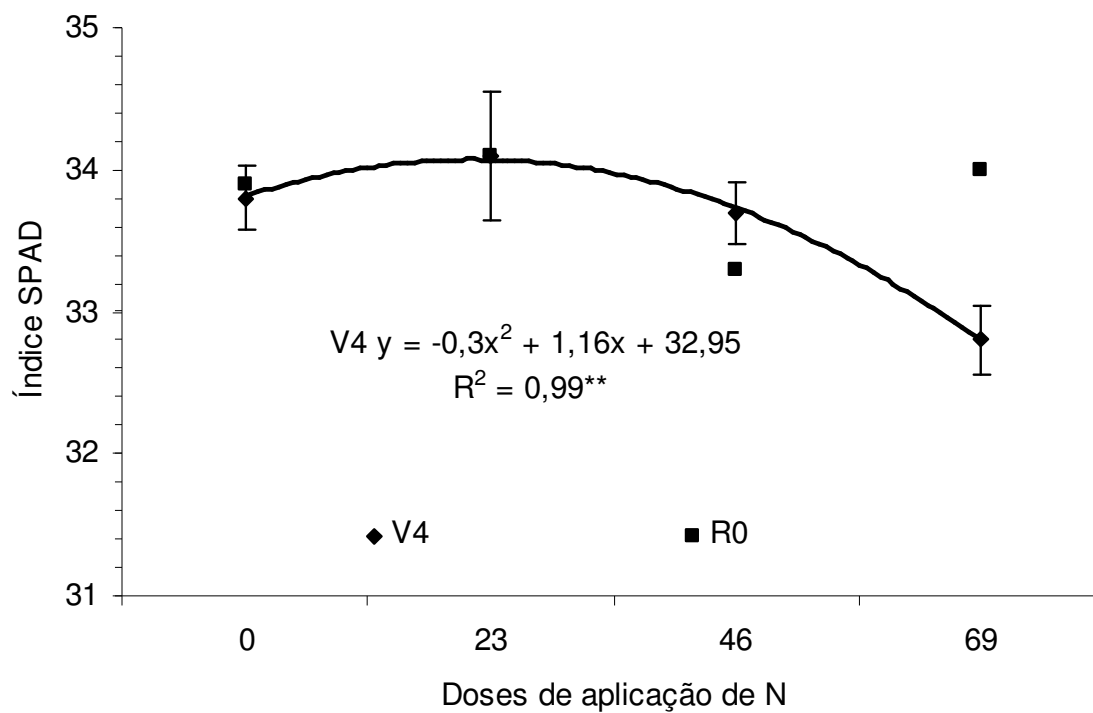


Figura 4. Efeito das doses de nitrogênio no estágio V4 e R0 no teor de clorofila medida indireta pelo índice SPAD aos 16 dias do tratamento de frio, INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2008.

O N incrementou o número de panículas aos 87 e 92 dias da emergência de plântulas (DDE) onde foi encontrado ajuste significativo para o estágio V4 unicamente (Figuras 4 e 5). O incremento de N possivelmente aumentou o perfilhamento neste estágio sendo a taxa maior no estágio V4, mas este aumento não teve incidência na produtividade final por balde já que a maior produtividade de grãos foi mais alta no estágio R0 com a aplicação de 69 kg há⁻¹ de N (Figura 1).

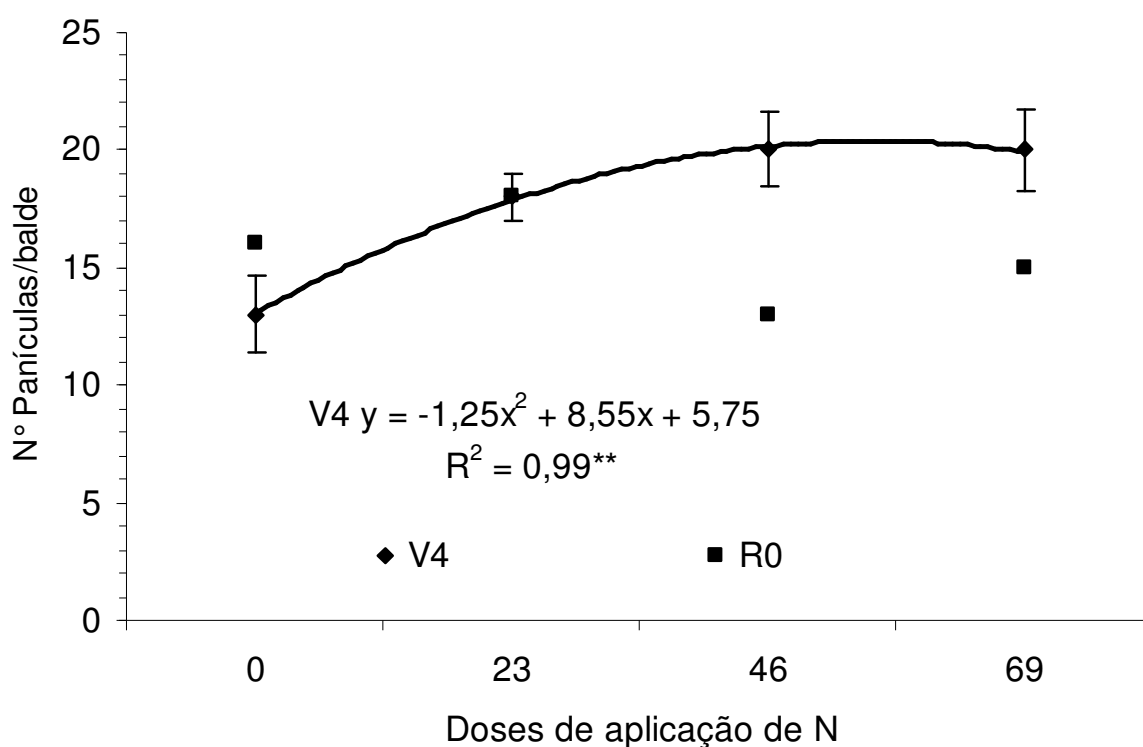


Figura 5. Efeito das doses de nitrogênio no estágio V4 e R0 no número de panículas por balde aos 87 dias após a emergência, INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2008.

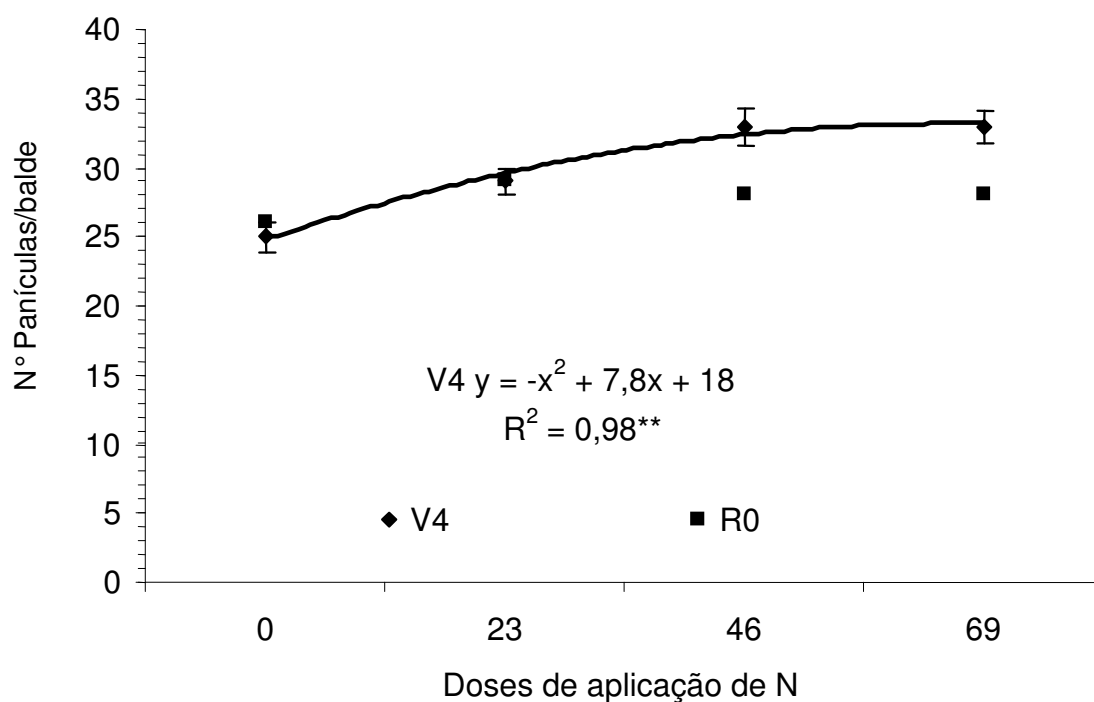


Figura 6. Efeito das doses de nitrogênio no estágio V4 e R0 no número final de panículas por balde aos 92 dias após a emergência, INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2008.

Conclusões

A esterilidade de espiguetas, da cultivar INIA Olimar, não é afetada pelo incremento das doses de N e nem pela temperatura. As plantas são afetadas temporariamente pela medida indireta do teor de clorofila (índice SPAD) até 10 dias após os tratamentos de frio o que provoca atraso na emergência de panículas.

Considerações gerais

Os resultados dos experimentos de campo com a nova cultivar INIA Olimar não provocam uma mudança na informação existente para as cultivares que se utilizam atualmente na maioria da região Leste do Uruguai. A hipótese de que a nova cultivar poderia ter um manejo diferente enquanto a época e dose de N aplicado devido a maior produtividade não foram confirmadas e, portanto, o manejo da adubação nitrogenada realizada atualmente na lavoura seriam as mesmas para a nova cultivar, se fosse semeada em solos em rotação ou pousio com pecuária. Em solos com lavoura intensa de arroz irrigado através dos anos deveria estudar-se o manejo da adubação com N já que é um nutriente utilizado em maior quantidade pelas plantas de arroz depois do potássio.

A informação obtida dos experimentos em casa de vegetação indica que nas condições em que foram realizados os experimentos não há efeito da época e a dose de aplicação de N nem interações na suscetibilidade das plantas de arroz ao frio. Isto é diferente aos resultados encontrados na literatura e a explicação está na metodologia aplicada nos experimentos. Assim, a dose utilizada de N, a duração do período de aplicação de frio e o desconhecimento das características de suscetibilidade ao frio da nova cultivar (como por exemplo, o momento crítico de sensibilidade ao frio) foram as principais diferenças com o relatado na literatura. Nos relatos encontrados na bibliografia, as doses utilizadas são muito maiores e a duração do período de frio aplicado é mais prolongado ao utilizado nos presentes experimentos.

Observou-se diminuição da medida indireta do teor de clorofila (Índice SPAD) pelo efeito da aplicação de frio com incidência de até 10 dias em um experimento. Isto ocasiona atraso na emergência de panículas comparado com os tratamentos sem frio.

Resumindo, não houve incremento da esterilidade de espiguetas pelo efeito do estádio e ao aumento na dose de aplicação de N. Os tratamentos aplicados foram realizados de acordo com as condições que ocorrem na realidade das lavouras. A aplicação dos tratamentos só provocou atraso na emergência de panículas o que pode ser explicado pela menor produção de assimilados por efeito do frio na fase reprodutiva.

Sugestões para trabalhos futuros

Os experimentos controlados necessitam ser continuados para obter informação da resposta ao frio do arroz irrigado em função da aplicação de nitrogênio. Pois há a necessidade de comprovar em condições regionais o que foi verificado em outras regiões sobre o efeito das aplicações de nitrogênio sobre a susceptibilidade ao frio das plantas de arroz. Também, seria necessário corroborar as informações dos momentos mais suscetíveis da planta de arroz ao frio nas cultivares mais utilizadas no Uruguai já que pesquisadores australianos verificaram a existência de diferenças entre cultivares. Os mesmos experimentos em casa de vegetação dever-se-iam fazer com os outros dois cultivares mais semeados (El Paso 144 e INIA Tacuarí) que ocupam mais dos 90% da área semeada de arroz irrigado no Uruguai.

Um aspecto logístico é como uniformizar o mesmo estádio nos baldes já que nos dois anos de pesquisa um mesmo balde tinha muita variabilidade nos estádios sendo difícil que as plantas recebam o tratamento no mesmo estádio.

Outro ponto a se estudar é realizar os tratamentos de frio com as temperaturas que ocorrem no dia após a noite fria. Para isto há a necessidade de estudar qual a magnitude tem a temperatura do dia no banco de dados nos períodos de 4 ou 5 noites consecutivos com temperatura abaixo de 15°C. Isto porque no Japão ocorre frio durante o dia.

Outro aspecto a considerar são as doses utilizadas. Nos experimentos da presente tese as doses foram de acordo às utilizadas no Uruguai e, portanto, seria necessário aplicar doses altas como nos experimentos realizados no Japão e Austrália.

Referências

ABO–EL–SAAD; WU, R. A rice membrane calcium – dependent protein kinase is induced by gibberellin. **Plant Physiology**. v. 108, p. 187 – 793, 1995.

ALTAMIRANO, A. Carta detallada de suelos. Campo experimental Paso de la Laguna. Montevideo: Ministerio de Agricultura y Pesca. Dirección de Suelos y Fertilizantes, 1979. 1 Mapa, Escala 1:2500.

ARGENTA, G.; FERREIRA DA SILVA, P. R.; BORTOLINI, C.G. et al. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, n.2, pp. 158-167, 2001.

BACON, P. E. The effect of nitrogen application time on Calrose rice growth and yield in South – eastern Australia. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v.25, n.1, p.183-190, 1985.

BERRY, J.; BJORKMAN, O. Photosynthetic response and adaptations to temperature in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 31, p. 491-543, 1980.

BLANCO, P. et al. INIA Olimar. Características y comportamientos en la zafra 2003/04. **Revista de la Asociación de Cultivadores de Arroz**, Montevideo, Uruguay, Año X, n. 38, p.40-48, 2004.

BODAPATI, N. et al. Agronomic and molecular aspects of osmoprotectant application and cold tolerance in rice. **Rural Industries Research and Development Corporation**, N° 05-197, 20 p., 2006.

BOEREMA, E. B. Climatic effects on growth and yield of rice in the Murrumbidgee Valley of New South Wales – Australia. **Il Riso**, v. 23, p.385-397, 1974.

BOLLICH, P. K. et al.. Management of fertilizer nitrogen in dry-seeded, delayed-flood rice. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v.34, p. 1007-1012, 1994.

BOYER, J. S. Plant productivity and environment. **Science**, v. 218, p. 443-448, 1982.

BURIOL, G. A. et al. Ocorrência e duração das temperaturas mínimas diária do ar prejudiciais à fecundação das flores do arroz em Santa Maria, RS. 1- Probabilidades de ocorrência. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.21, n1, p.23-24, 1991.

CANZANI, F. et al. Cuantificación y aislamiento de microorganismos fijadores de nitrógeno en arroz. In: Arroz. Resultados experimentales 1997-98. INIA Treinta y Tres. Uruguay. Actividades de difusión N° 165:5:7-10, 1998.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO – CFS RS/SC. **Recomendações de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 3 ed. Passo Fundo: SBSC Núcleo Regional Sul/Embrapa-CNPT, 1995. 223p.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – CQFS RS/SC. **Manual de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre: SBSC-Núcleo Regional Sul, 2004. 400p.

COUNCE, P.A. et al. A uniform, objective and adaptative system for expressing rice development. **Crop Science**, n.40, p.436-443, 2000.

CRUZ, R. P. da; MILACH, S. C. K. Melhoramento genético para tolerância ao frio em arroz irrigado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n. 5, p.909-917, 2000.

DEAMBROSI, E.; MÉNDEZ, R.; ROEL, A. **Estrategia en la producción de arroz para un mejor aprovechamiento de las principales variables climáticas**. INIA Treinta y Tres, 1997. Serie Técnica 89, Agosto de 1997, 16p.

DEAMBROSI, E.; MÉNDEZ, R. Response of rice to midseason nitrogen applications in Uruguay. In: HILL, J. E.; HARDY, B. (Eds.) **Proceedings of the Second Temperate Rice Conference**, p.147-154. 13 – 14 June 1999, Sacramento, California, USA. Los Banos (Philippines): International Rice Research Institute, 2002.

DEAMBROSI, E. et al. Respuesta de INIA Olimar a la aplicación de nitrógeno y a su fraccionamiento. In: INIA URUGUAY. **Arroz, resultados experimentales 2005-2006**. INIA Treinta y Tres, Edición de emergencia, 2006.

DEAMBROSI, E.; MENDEZ, R. Respuesta de cultivares de arroz tipo indica a densidades de siembra y aplicaciones de nitrógeno en la zona este de Uruguay. Serie Técnica N° 167, INIA Treinta y Tres, 2007, 36p.

DE LOS SANTOS, J. F.; JACQUES, M. Determinación de las épocas más adecuadas para realizar las coberturas nitrogenadas en el cultivo de arroz. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía, 1999, 167p.

FAGERIA, N. K.; STONE, L. F. Manejo do nitrogênio. In: FAGERIA, N. K.; STONE, L. F. & DOS SANTOS, A. B. (Eds.) **Manejo da fertilidade do solo para o arroz**

irrigado. Santo Antonio de Goiás, GO: EMBRAPA Arroz e Feijão, 2003. p. 51-94.

FARRELL, T. C.; FOX, K. M.; WILLIAMS, R. L. et al. Reducing cold damage in Australia. In: 3^{era} Conferencia Internacional de Arroz de clima templado. Punta del Este, Uruguay, 2003. CD-ROM.

FREITAS, J. G. D. et al. Resposta de cultivares de arroz irrigado ao nitrogênio. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, São Paulo, v. 58, n.3, p.573-579, 2001.

GOMEZ, K. A. & GOMEZ, A. A. Statistical procedures for agricultural research. 2nd ed. Singapore: John Wiley & Sons, 1984. 680 p.

GUNAWARDENA, T. A. et al. Research on cold tolerance in Australia: focusing on nitrogen-cold interactions and genotypic variation. In: HILL, J. E.; HARDY, B. (Eds.) **Proceedings of the Second Temperate Rice Conference**, p.195-200. 13 – 14 June 1999, Sacramento, California, USA. Los Banos (Philippines): International Rice Research Institute, 2002.

GUNAWARDENA, T. A., FUKAI, S. **The effects of nitrogen application and assimilate availability on engorged pollen production and spikelet sterility in rice.** Disponível em:<http://www.regional.org.au/au/cs/2004/poster/2/7/1/313_gunawardena.htm#print=1&P...> Acesso em: 19 de maio de 2005

GUNAWARDENA, T. A.; FUKAI, S. The interaction of nitrogen application and temperature during reproductive stage on spikelet sterility in field-grown rice. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v.56, p.625-636, 2005.

GUNAWARDENA, T. A.; FUKAI, S.; BLAMEY, F. P. C. Low temperature induced spikelet sterility in rice. I. Nitrogen fertilization and sensitive reproductive period. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v.54, p.937-946, 2003a.

GUNAWARDENA, T. A.; FUKAI, S.; BLAMEY, F. P. C. Low temperature induced spikelet sterility in rice. II. Effects of panicle and root temperature. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v.54, p.947-956, 2003b.

GUNAWARDENA, T. A.; FUKAI, S.; BLAMEY, F. P. C. **Nitrogen decreases deep irrigation efficacy in reducing low temperature damage in rice.** Disponível em:<<http://www.regional.org.au/au/asa/2001/3/a/gunawardena.htm>>. Acesso em: 18 de abril de 2005.

HALL, V. L.; SIMS, J. L.; JOHNSTON, T. H.. Timing of nitrogen fertilization of rice. II. Culm elongation as a guide to optimum timing of applications near midseason.

Agronomy Journal, Madison, v. 60. pp. 450-453, 1967.

HAQUE, M. Z. Effect of nitrogen, phosphorus and potassium on spikelet sterility induced by low temperature at the reproductive stage of rice. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.109, p.31-36; 1988.

HARPER, J. F. et al. A calcium – dependent protein kinase with a regulatory domain similar to calmodulin. **Science**, v. 252, p. 951 – 954, 1991.

HAYASHI, T.; YAMAGUCHI, T.; NAKAYAMA, K. et al. High nitrogen conditions enhance the cooling damage to pollen in rice plants: proteome analysis of mature anthers. Disponível em:< http://www.regional.org.au/au/cs/2004/poster/3/2/1/1303_hayashi.htm?print=1&PHPSE...>. Acesso em: 20 maio de 2005.

HAYASHI, T.; KASHIWABARA, K.; YAMAGUCHI, T. et al. Effects of high nitrogen supply on the susceptibility to coolness at the young microspore stage in rice (*Oryza Sativa L.*). **Plant Production Science**, Tokyo, v.3, n. 3, p.323-327, 2000.

HEENAN, D. P. Low-temperature induced floret sterility in the rice cultivars Calrose and Inga as influenced by nitrogen supply. **Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry**, Melbourne, v.24, p.255-259, 1984.

IMIN, N. et al. Low temperature treatment at the young microspore stage induces protein changes in rice anthers. **Molecular & Celular Proteomics**, v. 5.2, p. 274-292, 2006.

IRISARRI, P et al. Nitrogen fixation by heterocystous cyanobacteria in Uruguayan rice fields. Proc. 3rd International Temperate Rice Conference. Punta del Este, Uruguay, 2003.

KAKIZAKI, Y. Studies on tillering of rice plant: influence of the alternating transfers of temperature on tillering. Disponível em <<http://www.iici.nii.ac.jp/naid/110001721409/en/1978>>. Acesso em : 15 de Agosto de 2007.

KARIYA, K. Chilling injuries in reproductive phase of rice plants. In: 3^{era} Conferencia Internacional de Arroz de clima templado. Punta del Este, Uruguay, 2003. CD-ROM.

KEALEY, J. C.; HUMPHREYS, E.; BLACK, A. S. et al. Presowing nitrogen fertilizer management for aerial sown rice on puddle soil. In: Proceedings...Yanco, New South Wales: Yanco Agricultural Institute, v. 2, 1994. 724 p. p. 553-562.

KWAK, K. The growth and development of the rice plant at reproductive growing stage. In: NICS RDA KOICA Eds. Rice breeding and physiology training course on the project for development of rice research capabilities at the National Institute of Agricultural Research in Uruguay. NICS RBA KOICA: Suwon, Korea, 2005, p. 181-210.

KUK, I. Y.; SHIN, J. S.; BURGOS, N. R. et al. Antioxidative enzymes offer protection from chilling damage in rice plants. **Crop Science**, Madison, v. 43, p. 2109-2117, 2003.

LABANDERA et al. Desarrollo de inoculantes a base de bacterias fijadoras de nitrógeno em arroz. In: Arroz. Resultados experimentales 2003-04. INIA Treinta y Três, Uruguay. Actividades de difusión N° 373 3: 43-46, 2004.

LYONS, J. M. Chilling injury in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 24, p. 445-466, 1973.

MARTIN, M. L. & BUSCONI, L. A rice membrane-bound calcium – dependent protein kinase is activated in response to low temperature. **Plant Physiology**, v. 125, p. 1442-1449, 2001.

Mc NEIL, M. L. et al. Betaines and relates osmoprotectants. Target for metabolic engineering of stress resistance. **Plant Physiology**, v. 120, p. 945-949, 1999.

MENDEZ, R. **Eficiência da aplicação de nitrogênio no perfilhamento do arroz em três manejos de irrigação**. 2000. 74f. Tese (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2000.

MIELNICZUK, J.; LUDWICK, A.; BOHNEN, H. **Recomendações de adubo e calcário para solos e culturas do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: UFRGS-Faculdade de Agronomia e Veterinária, 1969. 29 p. (UFRGS, Boletim Técnico, 2)

NISHIYAMA, I. Climatic influence on pollen formation and fertilization. In: Shigesaburo Tsunoda and Norindo Takahashi, Eds. **Biology of rice**. Developments in Crop Science No 7. Tokyo: Elsevier, p.153-171, 1984.

NISHIYAMA, I. 4. Morphological damages caused by the cool weather. In Matsuo, T.; Hoshikawa, K. Eds.: **Science of the rice plant**, v. 1. Morphology. Tokyo: Food and Agricultural Policy Research Center, p.580-587, 1993.

NISHIYAMA, I. Damage due to extreme temperatures. In Matsuo, T et al. Eds.: **Science of the rice plant**, v. 2. Physiology. Tokyo: Food and Agricultural Policy Research Center, p.769-812,1995.

NORMAN, R.; WILSON, C.; SLATON, N. Soil fertilization and mineral nutrition in US mechanized rice culture. In C. W. Smith and R. H. Dilday (eds.): Rice. Origin, History, Technology, and Production. John Wiley and Sons, Inc. Hoboken, NJ. U.S.A., 3.4, pp.331-411, 2003.

NUCCIO, M. L. et al. Metabolic engineering of plants for osmótica stress resistance. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 2, p. 128-134, 1999.

OHASHI, K. MAKINO, A. & MAE, T. Growth and carbon utilization in rice plant under conditions of physiologically low temperature and irradiance. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 27, p. 99-107, 2000.

OQUIST, G. Effects of low temperature on photosynthesis. **Plant, Cell and Environment**, v. 6, p.281-300, 1993.

RABBANI, M. A. et al. Monitoring expression profiles of rice genes under cold, drought, and high-salinity stresses and abscisic acid application using cDNA microarray and RNA gel-blot analyses. **Plant Physiology**, v.133, p. 1755-1767, 2003.

RECOMENDAÇÕES de adubação: adubos e corretivos para fósforo e potássio. Porto Alegre: UFRGS/Faculdade de Agronomia e Veterinária, 1967. 4 p.

ROEL, A. Comportamiento de la temperatura del agua y del canopio con diferentes Alturas de láminas de riego. In: INIA URUGUAY. **Arroz, Resultados Experimentales 2003-2004**. Treinta y Tres: INIA, 2004. Cap. 3, p.9-15. (Actividades de Difusión, V.373), 2004.

SABEHAT, A. et al. The correlation between heat-shock protein accumulation and persistence and chilling tolerance in tomato fruit. **Plant Physiology**, v. 110, p. 531-537, 1996.

SALTVEIT, M. E. Chilling injury is reduced in cucumber and rice seedlings and in tomato pericarp discs by heat-shock applied after chilling. **Postharvest Biology and Technology**, v. 21, p. 169-177, 2001.

SMALLWOOD, M. & BOWLES, D.J. Plants in a cold climate. **Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.**, v. 357, p. 831-847, 2002.

SATAKE, T. Research on cool injury of paddy rice plants in Japan. **Japan Agricultural Research Quarterly**, V 4, n. 4, p.5-10, 1969.

SATAKE, T. et al. Male sterility caused by cooling treatment at young microspore stage in rice plants. XXVI. Effect of water temperature and nitrogen application before the critical stage on sterility induced by cooling at the critical stage. **Jpn. J. Crop Sci.** V. 56, p. 404-410, 1987.

SATAKE, T. Male sterility caused by cooling treatment at the Young microspore stage in rice plants. XXX. Relation between fertilization and the number of engorged pollen grains among spikelet cooled at different pollen development stages. **Japanese Journal of Crop Science**, V LX, n. 4, p.523-528, 1991.

SATAKE, T. Sterile type cold injury in paddy rice plants. In: International Rice Research Institute, Eds. **Climate and Rice**. IRRI: Los Banos, The Phillippines, p.281-300, 1976.

SCIVITTARO, W. B.; MACHADO, O. M. Adubação e calagem para a cultura do arroz irrigado. In: GOMES, A. da S. & MAGALHAES Jr., A. M. (Eds.). **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília, DF: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2004. p 259-303.

SHIMONO, H.; HASEGAWA, T.; IWAMA, K. et al. Responses of growth and grain yield in paddy rice to cool water at different growth stages. **Field Crop Research**, v.73, p. 67-79, 2002.

SHIMONO, H.; HASEGAWA, T.; FUJIMURA, S. et al. Responses of leaf photosynthesis and plant water status in rice to low water temperature at different growth stages. **Field Crop Research**, v.89, p. 71-83, 2004.

SHIMONO, H.; OKADA, M.; KANDA, E. et al. Low temperature-induced sterility in rice: Evidence for the effects of temperature before panicle initiation. **Field Crop Research**, v.101, p. 221-231, 2007.

SIQUEIRA, O.J.F.; SCHERER, E. E.; TASSINARI, G.; et al.. **Recomendação de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Passo Fundo-EMBRAPA-CNPT, 1987. 100 p.

SOSBAI, Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. Arroz Irrigado: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil. In: **IV Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado e XXVI Reunião da Cultura do Arroz Irrigado**. Santa Maria, RS, 2005. 159p.

SOSBAI, Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. Arroz Irrigado: Recomendações

Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil. In: **V Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado e XXVII Reunião da Cultura do Arroz Irrigado**. Pelotas, RS, 2007. 164p.

STEINMETZ, S.; ROEL, A.; ASSIS, F. N. de. Risco de ocorrência de frio durante o período reprodutivo do arroz irrigado em regiões produtoras do Rio Grande do Sul e do Uruguai. In: XXII Reunião da Cultura do Arroz Irrigado, 1997, Camburiu. **Anais...** Camboriu: EPAGRI-IRGA-EMBRAPA/CPTACT-CNPq, 1997, p.114-117.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2004

TURNER, F.T.; JUND, M.F. Assessing the nitrogen requirement of rice crops with a chlorophyll meter. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, n.34, pp.1001-1005, 1994.

VIERLING, E. The roles of heat shock proteins in plan. *Ann. Rev. Plant Physiology Plant Mol. Biol.*, v. 42, p. 579-620, 1991.

WALKER, T. Rice grain yield response to nitrogen fertilization for newly released cultivars and hybrids. **Research Report**. Mississippi State University, Mississippi, v. 23, n.20, 6p., 2006a.

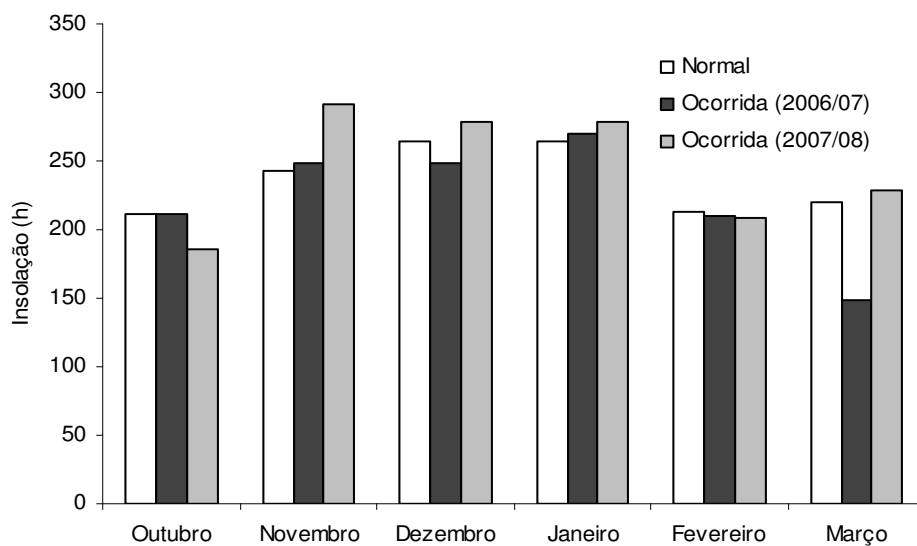
WALKER et al. Grain yield and milling quality response of two rice cultivars to top-dress nitrogen application timings. **Agronomy Journal**, Madison, v. 98, p. 1495 – 1500, 2006b.

WELLS, B. R. & JOHNSTON, T. H. Differential response of rice varieties to timing of mid-season nitrogen applications. **Agronomy Journal**, Madison, v. 62, pp. 608-612, 1970.

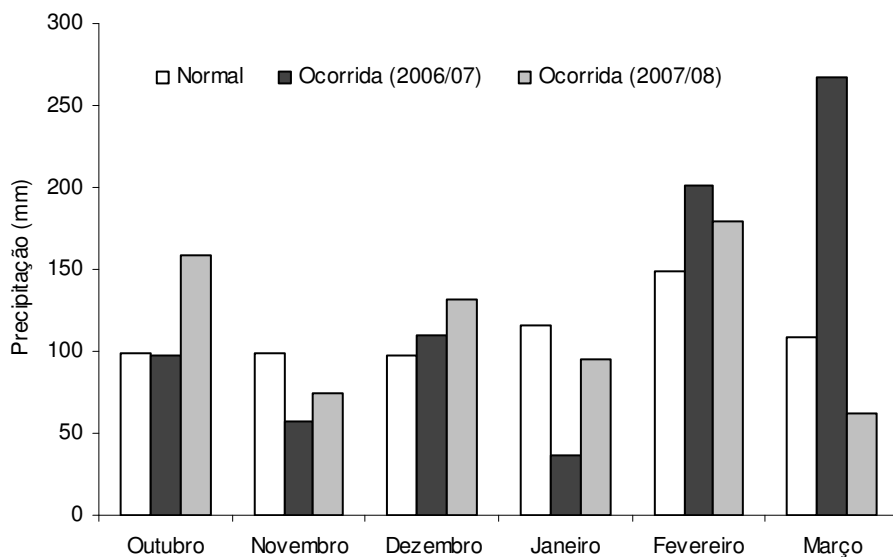
WILLIAMS, R. L.; ANGUS, J. F. Deep floodwater protects high-nitrogen rice crops from low-temperature damage. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v.34, p.927-932, 1994.

WILSON, C. E. Jr.; BOLLIICH, P. K.; NORMAN, R. J. Nitrogen application timing effects on nitrogen efficiency of dry-seeded rice. **Soil Science Society of American Journal**, Melbourne, v.62, p.959-964, 1998

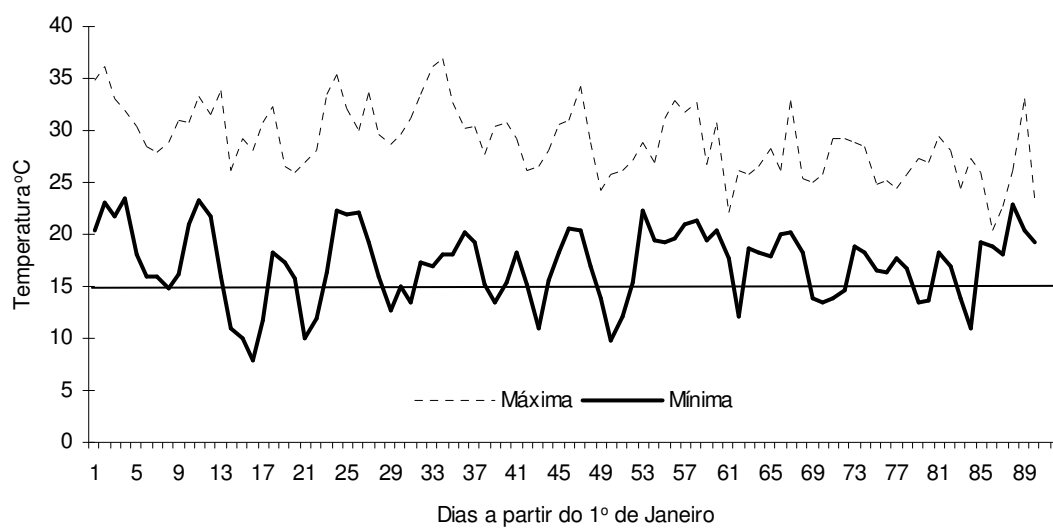
APÊNDICES



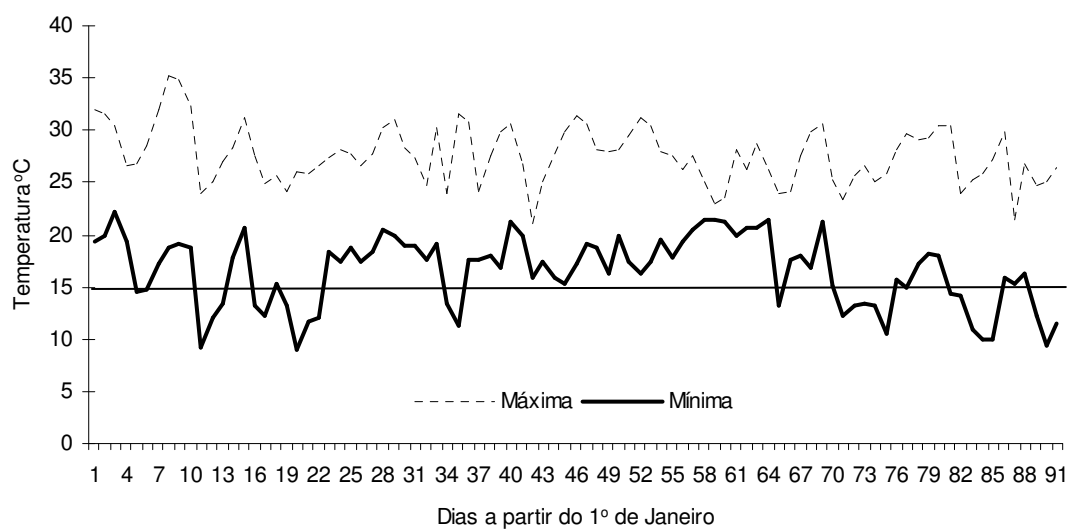
Apêndice 1 Insolação mensal normal e ocorrida de Outubro a Março nas safras 2006/07 e 2007/08. INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2008.



Apêndice 2 Precipitação pluvial mensal normal e ocorrida entre Outubro e Março nas safras 2006/07 e 2007/08. INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2008.



Apêndice 3 Temperaturas máximas e mínimas ocorridas durante os meses de Janeiro a Março de 2007 INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2008.



Apêndice 4 Temperaturas máximas e mínimas ocorridas durante os meses de Janeiro a Março de 2008 INIA Treinta y Trés, Treinta y Trés, Uruguai, 2008.



Apêndice 5 Foto amostrando o estágio de tratamento com frio. INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2008.



Apêndice 6. Foto amostrando o estágio de tratamento com frio. INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2008.



Apêndice 7. Foto amostrando o estágio de tratamento com frio. INIA Treinta y Três, Treinta y Três, Uruguai, 2008.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E PROPRIEDADES
ANTIOXIDANTES DE GRÃOS DE ARROZ COM
PERICARPO MARROM-CLARO, VERMELHO E
PRETO**

TESE DE DOUTORADO

Melissa Walter

**Santa Maria, RS, Brasil
2009**

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E PROPRIEDADES
ANTIOXIDANTES DE GRÃOS DE ARROZ COM PERICARPO
MARROM-CLARO, VERMELHO E PRETO**

por

Melissa Walter

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de
Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal,
da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS),
como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Agronomia.

Orientador: Prof. Enio Marchesan

**Santa Maria, RS, Brasil
2009**

Walter, Melissa, 1980-

W233c

Composição química e propriedades antioxidantes de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto / por Melissa Walter ; orientador Enio Marchesan. - Santa Maria, 2009.

119 f. ; il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, RS, 2009.

1. Agronomia 2. *Oryza sativa* 3. Arroz vermelho 4. Arroz preto 5. Compostos fenólicos 6. Atividade antioxidante I. Marchesan, Enio, orient. II. Título

CDU: 633.18

Ficha catalográfica elaborada por
Luiz Marchiotti Fernandes – CRB 10/1160
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Rurais/UFSM

© 2009

Todos os direitos autorais reservados a Melissa Walter. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor.

Endereço: Av. Borges de Medeiros, n. 733, Bairro Centro, Santa Rosa, RS, 98900-000

Fone (0xx) 55 35121456; Fax (0xx) 35121474; End. Eletr: melmelissaw@hotmail.com

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Agronomia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES DE
GRÃOS DE ARROZ COM PERICARPO MARROM-CLARO,
VERMELHO E PRETO**

elaborada por
Melissa Walter

como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Enio Marchesan, Dr.
(Presidente/Orientador)

Erna Vogt de Jong, Dra. (UFRGS)

Márcia Vizzotto, Dra. (Embrapa)

Leila Picolli da Silva, Dra. (UFSM)

Neila Silvia Pereira dos Santos Richards (UFSM)

Santa Maria, 27 de fevereiro de 2009

Aos meus pais, Nelsi e Osmar,
por todo amor, compreensão,
amizade, confiança, força e tempo
que sempre me dedicaram,
dedico esse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a meus pais, Nelsi e Osmar, que sempre me incentivaram e apoiaram, me ajudando a chegar onde estou hoje, e meus irmãos, André e Fábio.

Ao Curso de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade de realizar o curso de Doutorado.

Ao CNPq, pela bolsa de estudos e auxílio financeiro para a realização desse projeto.

Ao meu orientador, prof. Marchesan, pela orientação e amizade.

Aos meus co-orientadores, Leila, Luis e Márcia, pela ajuda durante o desenvolvimento do projeto.

Aos meus colegas de setor, grandes amigos, Gustavo, Mezzomo, Fernando, Paulo, Mara, Cassol, Tiago, Meneghetti, Rafael, Diogo, Dâmaris, Marcos, Alejandro. Durante essa jornada, passamos por muitas coisas e aprendemos juntos.

Aos colegas do Nidal, Jaque, Cris, Bruna Alves e todos os outros que, de alguma forma, me auxiliaram.

Ao IRGA, aos pesquisadores Valmir Gaedke Menezes e Carlos Alberto Alves Fagundes, e à Epagri, ao pesquisador Moacir Antônio Schiocchet, pelos materiais genéticos utilizados no trabalho.

A todos aqueles que conheci na Universidade, aos colegas de curso, professores e funcionários, que participaram desse período da minha vida.

A todos meus sinceros agradecimentos.

“Não se compreende todo o caminho num
grande e único passo: novas estradas se abrem
quando se persiste no caminhar.”
(Paulo Freire)

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES DE GRÃOS DE ARROZ COM PERICARPO MARROM-CLARO, VERMELHO E PRETO

AUTORA: MELISSA WALTER

ORIENTADOR: ENIO MARCHESAN

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 27 de fevereiro de 2009.

O arroz (*Oryza sativa*) destaca-se como um dos principais alimentos, tanto em produção como consumo. Embora o arroz normalmente cultivado na maioria dos países seja aquele com pericarpo marrom-claro, também existem grãos com pericarpo vermelho e preto, utilizados na alimentação em algumas regiões do mundo. O consumo desses grãos está relacionado principalmente as suas características sensoriais, mas algumas pesquisas demonstram que eles também podem apresentar diferenças nutricionais em relação ao arroz com pericarpo marrom-claro. Dessa forma, este trabalho foi conduzido com os objetivos de avaliar a composição química, as características antioxidantes e o efeito fisiológico em ratos, de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto, tanto de genótipos recomendados para cultivo como aqueles considerados daninhos, com vista a sua utilização na alimentação. Os grãos avaliados foram cultivados em ensaio de campo na safra 2006/07, sob iguais condições, em área de várzea da Universidade Federal de Santa Maria, RS. Para a avaliação da composição química foram determinados os teores de carboidratos totais, amilose, fibra alimentar, proteína, lipídios, matéria mineral e minerais, de grãos integrais. As características antioxidantes foram determinadas a partir da concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFST) e da atividade antioxidante (AAO), sendo avaliados grãos submetidos a diferentes processamentos (integral, polido, parboilizado integral e parboilizado polido; cru e cozido). Através de ensaio biológico, com ratos machos Wistar sadios alimentados com rações contendo grãos integrais de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho ou preto, ou ração controle, foi avaliado o efeito do consumo desses grãos. Foram avaliados o ganho de peso, consumo de ração, gordura epididimal, concentração sanguínea de glicose, triglicerídeos, colesterol total e HDL, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase no fígado, e peroxidação lipídica no sangue e no fígado. Os resultados mostraram diferença significativa na composição química entre grãos com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto, principalmente no teor de fibra e minerais, sendo que alguns genótipos com pericarpo vermelho e preto se destacaram por possuírem maior concentração de certos componentes avaliados, como proteína e minerais. Na caracterização antioxidante, foi observada diferença significativa na concentração de CFST e na AAO entre genótipos, sendo os maiores valores encontrados nos grãos com pericarpo vermelho e preto, com correlação positiva e significativa entre estes parâmetros. A parboilização reduziu a concentração de CFST nos grãos, com conseqüente redução da AAO. De forma semelhante, o cozimento dos grãos também reduziu a concentração de CFST, principalmente nos grãos integrais e polidos. No ensaio biológico não foi observado efeito significativo das rações contendo grãos de arroz para a maioria dos parâmetros avaliados, observando-se efeito somente para o peso da gordura epididimal e a atividade da enzima SOD no fígado, mas sem diferença entre os tipos de arroz. O aumento na atividade da enzima SOD pode indicar possível redução no estresse oxidativo do organismo, entretanto maiores estudos são necessários.

Palavras-chave: *Oryza sativa*; arroz vermelho; arroz preto; compostos fenólicos; atividade antioxidante

ABSTRACT

PhD Thesis
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria

CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF RICE GRAINS WITH LIGHT-BROWN, RED AND BLACK PERICARP COLOR

AUTHOR: MELISSA WALTER
ADVISOR: ENIO MARCHESAN
Santa Maria, February 27th 2009.

Rice (*Oryza sativa*) stands out as an important food, considering production and consumption. Although the rice usually cultivated in most countries is the one with light-brown pericarp color, there are other grains with red and black pericarp color, used for food in some regions of the world. The consumption of these grains is mainly related to their organoleptic characteristics, but some researches demonstrate that they can also present nutritional differences compared to light-brown color rice grains. So, the present research aimed at evaluating the chemical composition, the antioxidant characteristics and the physiological effect on rats, of rice grains with light-brown, red and black pericarp color, from recommended genotypes and weedy rice, for their utilization in the diet. The grains were obtained in the 2006/07 growing season, under equal conditions, in the experimental area of Universidade Federal de Santa Maria, RS. For the evaluation of the chemical composition the contents of total carbohydrates, amylose, fiber, protein, lipids, mineral matter and minerals were determined in brown rice grains. The antioxidant characteristics were determined from the concentration of total soluble phenolic compounds (TSPC) and the antioxidant activity (AOA), evaluated in grains with different processing (brown, polished, parboiled brown and parboiled polished; raw and cooked). By a bioassay, with healthy Wistar male rats fed diets containing brown rice grains with light-brown, red or black pericarp color, or a control diet, the effect of the consumption of these grains was evaluated. Body weight gain, feed consumption, epididymal fat pad, blood concentration of glucose, triglycerides, total cholesterol and HDL cholesterol, activity of the enzymes superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase in the liver, and lipid peroxidation in the blood and liver were determined. The results showed significant difference in the chemical composition among grains with light-brown, red and black pericarp, mainly in the content of fiber and minerals, and some genotypes with red and black pericarp stood out with higher concentration of some of the components evaluated, like protein and minerals. In the antioxidant characterization, significant difference was observed in the concentration of TSPC and AOA among genotypes, with the higher values for grains with red and black pericarp color, with positive and significant correlation between these parameters. Parboiling reduced the concentration of TSPC in the grains, with reduction in the AOA. In a similar way, cooking of the grains also reduced the concentration of TSFC, especially in brown and polished grains. In the bioassay, no significant effect of the diets containing rice grains was observed for most of the evaluated parameters, with effect only on the weight of the epididymal fat pad and on the activity of SOD in the liver, but with no difference among rice types. The increase in the activity of SOD may indicate possible reduction in the oxidative stress of the organism, but more research is necessary.

Palavras-chave: *Oryza sativa*; red rice; black rice; phenolic compounds; antioxidant activity

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	10
CAPÍTULO 1	12
Arroz: composição e características nutricionais	12
Resumo	12
Abstract.....	12
Introdução.....	13
Estrutura e composição do grão	14
Carboidratos	14
Proteínas	16
Lipídios	18
Minerais	19
Vitaminas.....	20
Compostos fenólicos	21
Ácido fítico	22
Conclusões.....	22
CAPÍTULO 2	32
Compostos fenólicos e atividade antioxidante do arroz	32
Resumo	32
Abstract.....	32
Introdução.....	33
Compostos fenólicos	34
Compostos fenólicos e atividade antioxidante	35
Compostos fenólicos no arroz	36
Atividade antioxidante e efeito biológico.....	38

Considerações finais	40
CAPÍTULO 3	47
Multiplicação de material genético e caracterização de genótipos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto	47
Objetivos.....	47
Materiais e métodos.....	47
Resultados e discussão	50
CAPÍTULO 4	58
Composição química de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto.....	58
Resumo	58
Abstract.....	58
Introdução	59
Material e métodos	60
Resultados e discussão	61
CAPÍTULO 5	70
Caracterização das propriedades antioxidantes de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto, e efeito do processamento	70
Resumo	70
Abstract.....	71
Introdução	71
Material e métodos	72
Resultados e discussão	75
CAPÍTULO 6	88
Efeitos biológicos da utilização de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto na alimentação de ratos	88
Resumo	88
Abstract.....	88
Introdução.....	89
Material e métodos	90
Resultados e discussão	92
CONSIDERAÇÕES FINAIS	105
REFERÊNCIAS	107

INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa*) é um dos cereais mais produzidos e consumidos no mundo, caracterizando-se como principal alimento para mais de metade da população mundial. Sua importância destaca-se principalmente em países em desenvolvimento, tais como o Brasil, desempenhando papel estratégico em níveis econômico e social.

O Brasil atualmente encontra-se entre os dez maiores produtores mundiais deste cereal, com produção de 13.140.900 toneladas (2,17% da produção mundial), destinada principalmente ao mercado interno (FAO, 2008). Neste contexto, o Rio Grande do Sul (RS) responde por aproximadamente 60% da produção nacional.

O arroz normalmente cultivado para consumo na maioria dos países, inclusive no Brasil, é aquele com pericarpo marrom-claro, mas também existem grãos com pericarpo vermelho e preto. A forma mais conhecida desses grãos é a espontânea, considerada uma planta daninha na cultura do arroz devido aos prejuízos à lavoura ocasionados pela competição por água, luz e nutrientes, afetando o desenvolvimento do arroz cultivado, e pela depreciação do produto final.

Entretanto, embora o arroz com pericarpo vermelho e preto seja normalmente visto como problema na orizicultura, em diversos países estes grãos são utilizados na alimentação, principalmente em países asiáticos, mas também na região Nordeste do Brasil, onde o consumo de arroz vermelho é um hábito alimentar da população local. Devido a essa utilização pela população, nos últimos anos os programas de melhoramento genético vêm desenvolvendo pesquisas de forma a obter genótipos melhorados, ampliando a disponibilidade desses grãos para consumo.

O consumo de grãos de arroz com pericarpo vermelho e preto está relacionado principalmente às características sensoriais, mas algumas pesquisas demonstram que eles também podem apresentar diferenças nas características nutricionais em relação ao arroz com pericarpo marrom-claro, principalmente no teor de proteínas, minerais e vitaminas. Além disso, a coloração do pericarpo dos grãos, uma das principais características que os diferencia visualmente, está vinculada ao acúmulo de compostos fenólicos, os quais têm sido relacionados a efeitos benéficos à saúde em diversos alimentos.

Considerando o exposto, a presente pesquisa foi conduzida com os objetivos de avaliar a composição química, as características antioxidantes e o efeito biológico de grãos de arroz

com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto, tanto de genótipos recomendados para cultivo como de genótipos considerados daninhos, como forma de melhor avaliar a utilização desses grãos na alimentação.

CAPÍTULO 1

ARROZ: COMPOSIÇÃO E CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS

Rice: composition and nutritional characteristics

Melissa Walter, Enio Marchesan, Luis Antonio de Avila

Ciência Rural, v.38, n.4, p.1184-1192, 2008

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Resumo

Devido à importância do arroz na dieta, sua composição e características nutricionais estão diretamente relacionadas à saúde da população. Esse cereal constitui fonte de energia, devido ao alto teor de amido, fornecendo também proteínas, lipídios, vitaminas e minerais. O presente trabalho de revisão objetivou examinar a composição do arroz, suas características nutricionais e o melhoramento destas através da genética. São observadas variações na composição do arroz, tanto devido ao genótipo quanto ao processamento, afetando as características nutricionais. O arroz apresenta efeito positivo na prevenção de diversas doenças crônicas devido a diferentes constituintes, e sua composição vem sendo melhorada através da genética, obtendo-se grãos com características nutricionais mais interessantes.

Palavras-chave: arroz, composição, carboidratos, proteínas, lipídios, compostos fenólicos.

Abstract

Due to the importance of rice in the diet, its composition and nutritional characteristics are related to human's health. This cereal is a source of energy, due to its high starch content, also providing proteins, lipids, vitamins and minerals. The present review aimed at examining rice composition, its nutritional characteristics, and the improvement of these characteristics through genetic modification. Variations in rice composition are observed due to genotype and processing, affecting nutritional characteristics. Rice has a positive effect on the prevention of several chronic diseases due to different constituents, and its composition have

been improved through genetic modifications, resulting in grains with more interesting nutritional characteristics.

Key words: rice, composition, carbohydrates, proteins, lipids, phenolic compounds.

Introdução

O arroz (*Oryza sativa*) é um dos cereais mais produzidos e consumidos no mundo, caracterizando-se como principal alimento para mais de metade da população mundial. Sua importância destaca-se principalmente em países em desenvolvimento, tais como o Brasil, desempenhando papel estratégico em níveis econômico e social. A produção anual de arroz é de aproximadamente 606 milhões de toneladas. Nesse cenário, o Brasil participa com 13.140.900 t (2,17% da produção mundial) e destaca-se como único país não asiático entre os 10 maiores produtores (FAO, 2008).

Apenas uma pequena quantidade de arroz é consumida como ingrediente em produtos processados, sendo seu maior consumo na forma de grão. O arroz é uma excelente fonte de energia, devido à alta concentração de amido, fornecendo também proteínas, vitaminas e minerais, e possui baixo teor de lipídios. Nos países em desenvolvimento, onde o arroz é um dos principais alimentos da dieta, ele é responsável por fornecer, em média, 715 kcal *per capita* por dia, 27% dos carboidratos, 20% das proteínas e 3% dos lipídios da alimentação. No Brasil, o consumo *per capita* é de 108 g por dia, fornecendo 14% dos carboidratos, 10% das proteínas e 0,8% dos lipídios da dieta (KENNEDY et al., 2002). Portanto, devido à importância do arroz na dieta de grande parte da população, sua qualidade nutricional afeta diretamente a saúde humana.

Diversos componentes do arroz, presentes no farelo e/ou no endosperma, têm sido relacionados a diferentes efeitos no organismo. Pesquisadores relatam efeitos benéficos à saúde, como auxílio no controle da glicose sanguínea, redução dos lipídios séricos e da pressão arterial, entre outros, auxiliando na prevenção e controle de doenças crônicas, como diabetes e doenças cardiovasculares (MILLER et al., 1992; KOIDE et al., 1996; QURESHI et al., 1997; RONG et al., 1997; XIA et al., 2003). Esses efeitos estão relacionados à presença dos compostos no grão, sendo portanto afetados por diferentes fatores, principalmente pela característica genotípica e pelo processamento. Pesquisas vêm sendo desenvolvidas a fim de melhorar a característica nutricional do arroz através do melhoramento genético, sendo que já foram obtidos grãos com maior teor de pró-vitamina A, ferro, zinco e alguns aminoácidos.

Essa revisão bibliográfica objetivou examinar a composição do arroz, suas características nutricionais, e o melhoramento destas características através da genética.

Estrutura e composição do grão

O grão de arroz consiste da cariopse e de uma camada protetora, a casca. A casca, composta de duas folhas modificadas, a pálea e a lema, corresponde a cerca de 20% do peso do grão. A cariopse é formada por diferentes camadas, sendo as mais externas o pericarpo, tegumento e camada de aleurona, que representam 5-8% da massa do arroz integral. A camada de aleurona apresenta duas estruturas de armazenamento proeminentes, os grãos de aleurona (corpos protéicos) e os corpos lipídicos. O embrião ou gérmen está localizado no lado ventral na base do grão, é rico em proteínas e lipídios, e representa 2-3% do arroz integral. O endosperma forma a maior parte do grão (89-94% do arroz integral) e consiste de células ricas em grânulos de amido e com alguns corpos protéicos (JULIANO & BECHTEL, 1985).

Através da descascagem, separa-se a casca da cariopse, obtendo-se o arroz integral. Esse pode ser polido para remoção do farelo (pericarpo, tegumento, camada de aleurona e gérmen), que representa 8,5-14,8% do arroz integral (JULIANO & BECHTEL, 1985), obtendo-se o arroz branco polido. Os grãos também podem ser submetidos à parboilização, processo hidrotérmico através do qual se obtém o arroz parboilizado, o qual pode ser consumido na forma integral ou polido.

O arroz é constituído principalmente por amido, apresentando quantidades menores de proteínas, lipídios, fibras e cinzas (Tabela 1). Entretanto, a composição do grão e de suas frações está sujeita a diferenças varietais, variações ambientais, de manejo, de processamento e de armazenamento (ZHOU et al., 2002), produzindo grãos com características nutricionais diferenciadas. Além disso, os nutrientes não estão uniformemente distribuídos nas diferentes frações do grão. As camadas externas apresentam maiores concentrações de proteínas, lipídios, fibra, minerais e vitaminas, enquanto o centro é rico em amido. Dessa forma, o polimento resulta em redução no teor de nutrientes, exceto de amido, originando as diferenças na composição entre o arroz integral e o polido.

Carboidratos

Os carboidratos são os principais constituintes do arroz. Além do amido, que corresponde a aproximadamente 90% da matéria seca do arroz polido, também estão presentes açúcares livres e fibra. Enquanto o endosperma é composto principalmente por

amido, o farelo e o gérmen apresentam principalmente fibra, contendo pequenas quantidades de outros carboidratos (JULIANO, 1993).

O amido é um homopolissacarídeo composto por cadeias de amilose e amilopectina. As proporções em que estas cadeias aparecem diferem entre genótipos, podendo-se classificar os grãos como ceroso (1-2% de amilose), conteúdo de amilose muito baixo (2-12%), baixo (12-20%), intermediário (20-25%) e alto (25-33%) (JULIANO, 1993). O conteúdo de amilose é considerado um dos principais parâmetros para a qualidade tecnológica e de consumo do arroz. De forma geral, grãos com maior teor de amilose apresentam textura mais firme após o cozimento, sendo preferidos em diversos países, como o Brasil, e por isso essa característica é avaliada durante o desenvolvimento de cultivares. Entretanto, outros fatores, como a estrutura das cadeias de amilopectina e o teor de proteína também influenciam essa característica (ONG & BLANSHARD, 1995).

A concentração de amido no arroz pode variar devido a fatores genéticos e ambientais, como observado por FREI et al. (2003), que obteve teores de amido entre 72 e 82% em arroz integral de diferentes cultivares. O processamento também influencia o percentual de amido, sendo este maior no arroz branco polido (87,58%) e no parboilizado polido (85,08%) comparado ao integral (74,12%) (Tabela 1), devido à remoção do farelo. Além das variações na concentração, são observadas diferenças na taxa e extensão da digestão do amido, que podem ser influenciadas pela variação na proporção amilose:amilopectina, processamento do grão, propriedades físico-químicas, tamanho de partícula e presença de complexos lipídio-amilose (GODDARD et al., 1984), afetando significativamente algumas respostas metabólicas importantes no organismo. Dessa forma, embora normalmente o arroz seja classificado como um alimento de alta resposta glicêmica comparado a outros produtos amiláceos, são relatados índices glicêmicos variando de 54 a 121%, para o arroz branco polido (MILLER et al., 1992).

Uma das principais características relacionadas à resposta metabólica ao arroz consumido é a relação amilose:amilopectina. O maior teor de amilose no arroz, assim como em outros alimentos amiláceos, resulta em menor resposta glicêmica e insulinêmica (GODDARD et al., 1984; MILLER et al., 1992). Essas diferenças fisiológicas são interessantes na prevenção e tratamento de doenças, como o diabetes, pois a menor digestão e absorção de carboidratos auxilia na manutenção de níveis regulares de glicose no sangue (VELANGI et al., 2005). O consumo de alimentos com menor resposta glicêmica também tem sido associado à redução dos lipídios séricos em pacientes hiperlipidêmicos, diminuindo os riscos de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (JENKINS et al., 2002).

O arroz apresenta pequena quantidade de açúcares livres, localizados principalmente nas camadas externas do grão, sendo sua concentração afetada pela variedade, grau de polimento e processamento. Os principais açúcares no arroz são sacarose (aproximadamente 90%), glicose e frutose (MATSUO et al., 1995). TRAN et al. (2004) observaram para o arroz integral 685 mg 100g⁻¹ de sacarose e 40 mg 100g⁻¹ de glicose, ocorrendo redução significativa nos teores após o polimento, com valores de 142 e 20 mg 100g⁻¹ para sacarose e glicose, respectivamente.

Os polissacarídeos não digeridos pelas enzimas no trato gastrointestinal, como celulose, hemiceluloses, amido resistente e pectinas, fazem parte da fração fibra alimentar, que pode ser dividida em solúvel e insolúvel. Sua concentração é maior nas camadas externas do grão e diminui em direção ao centro, resultando em baixa concentração desses componentes nos grãos submetidos ao polimento (Tabela 1). Além das diferenças nos teores de fibra total devido às características genótípicas e de processamento, LAI et al. (2007) observaram diferenças na proporção dos componentes da fibra entre arroz ceroso e não ceroso. O arroz ceroso apresentou maior proporção de hemiceluloses (41,1%), com menor concentração de substâncias pécicas (31,9%) e celulose (26,9%). Já o não ceroso apresentou maior quantidade de substâncias pécicas (43,7%) e menor de celulose (32,7%) e hemiceluloses (23,7%).

A fibra alimentar exerce diferentes funções no organismo humano. Sua capacidade de retenção de água auxilia na prevenção da constipação (WARNER, 1981). Além disso, por não ser digerida, a fibra torna-se disponível para fermentação pela microflora no intestino grosso, com diferentes efeitos no organismo. O maior consumo de fibra na dieta tem sido associado à redução na pressão arterial, na concentração de colesterol total, colesterol LDL e triglicerídeos, e ao controle da glicose sanguínea (LI et al., 2003; BEHALL et al., 2006), auxiliando na prevenção e controle de algumas doenças crônicas, como diabetes e doenças cardiovasculares. Entretanto, pesquisadores relatam que, em alguns casos, a fibra pode prejudicar a absorção de minerais devido a sua capacidade de ligação e/ou sequestro desses.

Proteínas

O conteúdo de proteínas no arroz é considerado baixo, em média 7%. Entretanto, observa-se grande variação na concentração desse nutriente, com valores entre 4,3 e 18,2% (LUMEN & CHOW, 1995), a qual é afetada por características genótípicas, adubação nitrogenada, radiação solar e temperatura durante o desenvolvimento do grão (JULIANO & BECHTEL, 1985). As proteínas podem ser classificadas em albumina, globulina, prolamina e glutelina, e estão organizadas em dois tipos de corpos protéicos no endosperma. Os corpos

protéicos I são grandes estruturas esféricas, com anéis concêntricos, ricos em prolamina. Já os corpos protéicos II não apresentam a estrutura em anéis, e são ricos em glutelina e globulina (ZHOU et al., 2002). No endosperma, a glutelina forma a principal fração, correspondendo a aproximadamente 80% das proteínas, com menor concentração de albumina e globulina (15%) e prolamina (5-8%). Já o farelo apresenta aproximadamente 60% de albumina, seguido por prolamina e glutelina (27%) e globulina (7%) (JULIANO, 1993). Portanto, a composição em proteínas do endosperma difere do farelo.

A composição em proteínas também é afetada pela característica genotípica. LIU et al. (2005b) observaram não só diferença na concentração total de proteínas (7,35-11,47%) entre genótipos, como também variação nos tipos de proteínas. A maior variação foi observada para a glutelina, com concentração no grão entre 5,9-9,8%, e correlação positiva com o teor total de proteínas, sendo menores as diferenças para prolamina (0,69-0,77%), globulina (0,37-0,52%) e albumina (0,38-0,49%).

A qualidade da proteína depende de seu conteúdo em aminoácidos. Similar a outros cereais, o arroz apresenta a lisina como aminoácido limitante. Entretanto, entre os cereais, o arroz apresenta uma das maiores concentrações de lisina, resultando em balanço de aminoácidos mais completo (JULIANO, 1993). Assim como são observadas variações no teor total de proteínas, também existem diferenças na composição em aminoácidos das proteínas entre o arroz integral e o polido.

Além dos aminoácidos protéicos, o arroz também apresenta pequena quantidade de aminoácidos livres, localizados principalmente no gérmen (594,9 mg 100g⁻¹) e no farelo (361,4 mg 100g⁻¹), com pequena concentração no endosperma (52,7 mg 100g⁻¹). Entre os aminoácidos livres, predominam aspartato e glutamato, que correspondem a aproximadamente 60% do total (SAIKUSA et al., 1994).

Para melhorar o perfil de aminoácidos, pesquisas vêm sendo conduzidas visando aumentar a concentração de certos aminoácidos, como lisina, metionina e cisteína, através de modificação genética. ZHENG et al. (1995) avaliaram a introdução do gene da β -faseolina, proteína de armazenamento do feijão com conteúdo de lisina relativamente alto (6%), observando aumento significativo no teor desse aminoácido nos grãos. SINDHU et al. (1997) relataram a integração, síntese e acúmulo de legumina, uma proteína de armazenamento da ervilha com maior proporção de lisina, enquanto KATSUBE et al. (1999) relataram a transferência e acúmulo de glicinina, uma proteína da soja, melhorando a composição em aminoácidos no arroz transformado. Com o objetivo de aumentar o conteúdo de aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína), LEE et al. (2003) avaliaram a introdução do gene da

proteína 2S albumina de gergelim, rica nesses aminoácidos, observando aumento na concentração de metionina (entre 29 e 76%), cisteína (31 a 75%) e proteína total (0,64 a 3,54%) no arroz transformado.

Lipídios

Os lipídios podem ser encontrados organizados em corpos lipídicos (esferossomos) na camada de aleurona, no embrião e no endosperma, ou associados a grânulos de amido (LUMEN & CHOW, 1995). Entretanto, a maior concentração ocorre no gérmen (1/3 do conteúdo total) e na camada de aleurona. Dessa forma, a concentração de lipídios é maior no arroz integral, sendo reduzida com o polimento, geralmente observando-se concentrações inferiores a 1% no arroz polido (Tabela 1).

O teor de lipídios no grão também é afetado pelas características genótípicas. TAIRA & ITANI (1988), avaliando grãos integrais de diferentes cultivares, obtiveram valores entre 2,3 e 3,2%, enquanto os resultados de MANO et al. (1999) variaram entre 2,2 e 2,6%. Na fração lipídica, foi observada proporção de 84-87% de lipídios neutros, 5-7% de glicolipídios e 7-9% de fosfolipídios. Na fração lipídios neutros, 63-69% eram triglicerídeos. A fração de glicolipídios foi formada principalmente por esterilglicosídeos (31-35%), acilesterilglicosídeos (19-23%), cerebrosídeos (20-22%) e diglicosildiacilgliceróis (15-18%). Na fração fosfolipídios predominaram fosfatidilcolina (41-42%), fosfatidiletanolamina (31-33%) e fosfatidilinositol (15-17%) (MANO et al. 1999).

Os principais ácidos graxos no arroz são os ácidos palmítico (16:0), oléico (18:1) e linoléico (18:2), correspondendo a aproximadamente 95% dos ácidos graxos presentes nos lipídios totais (TAIRA & ITANI, 1988; MANO et al., 1999). Portanto, o arroz contém proporção significativa de ácidos graxos insaturados, que possuem papel importante em vários processos fisiológicos e que, por não serem sintetizados pelo organismo humano, devem ser supridos pela alimentação.

O óleo do farelo de arroz apresenta uma fração conhecida como matéria insaponificável, correspondendo a aproximadamente 4% do óleo, que consiste de fitosteróis, álcoois triterpênicos, ésteres do ácido ferúlico (γ -orizanol), tocóis (vitamina E, tocoferóis e tocotrienóis), entre outros compostos (QURESHI et al., 1997). Aproximadamente 50% da matéria insaponificável é constituída por γ -orizanol, um mistura de ésteres de ácido ferúlico com fitosteróis e álcoois triterpênicos (RONG et al., 1997). Estudos têm associado o óleo do farelo de arroz à redução no colesterol total e ao aumento do colesterol HDL, auxiliando na prevenção de doenças cardiovasculares. Esses efeitos são associados não somente à

composição em ácidos graxos do óleo, mas também à matéria insaponificável presente, principalmente γ -orizanol, tocotrienóis e esteróis, atuando de diferentes formas para a redução do colesterol (QURESHI et al., 1997; RONG et al., 1997; VISSERS et al., 2000).

Minerais

A concentração de minerais difere nas frações do grão. Enquanto no arroz com casca o silício é componente dominante, no arroz integral e polido destacam-se fósforo, potássio e magnésio. Ferro e zinco, dois minerais essenciais para a saúde humana, estão disponíveis em baixas concentrações no grão (JULIANO & BECHTEL, 1985).

O conteúdo mineral é grandemente influenciado pelas condições de cultivo, incluindo fertilização e condições do solo, e pelo processamento. De forma geral, os minerais apresentam-se em maior concentração nas camadas externas do grão (Tabela 2), com aproximadamente 72% no farelo e 28% no grão polido. Entretanto, alguns minerais apresentam distribuição mais uniforme, como sódio e cálcio, permanecendo no arroz branco polido 63% do sódio e 74% do cálcio do arroz integral (ITANI et al., 2002). Embora o arroz integral tenha maior concentração de minerais do que o polido, isso não significa necessariamente maior quantidade de minerais absorvidos pelo organismo, visto que a biodisponibilidade pode ser afetada pela presença de maiores teores de fibra e ácido fítico no arroz integral (JULIANO, 1993).

Com a parboilização, observa-se aumento no conteúdo mineral comparado ao arroz branco polido (Tabela 1), relacionado à migração de minerais das camadas externas para o endosperma durante o processo (JULIANO, 1993). Entretanto, avaliando-se individualmente os minerais, são observados comportamentos diferenciados. STORCK (2004) e HEINEMANN et al. (2005) relatam maiores concentrações de potássio e fósforo no arroz parboilizado polido comparado ao branco polido, sem efeito na concentração de magnésio. Por outro lado, as concentrações de manganês, zinco e sódio são menores, indicando que os minerais apresentam diferentes padrões de migração durante a parboilização, afetando diferentemente sua concentração nos grãos.

Além do processamento, o genótipo também afeta de forma expressiva o conteúdo de minerais, e estudos têm demonstrado maior concentração de alguns minerais em grãos de arroz com pericarpo vermelho e preto (ITANI et al., 2002; MENG et al., 2005).

Devido à importância do arroz na alimentação, pesquisas vêm sendo desenvolvidas para aumentar a concentração de minerais no grão, principalmente ferro e zinco. Uma das formas utilizadas é o melhoramento convencional, a partir de genótipos com maior

concentração destes minerais, visto que existe grande variação na concentração de ferro ($2\text{-}52\ \mu\text{g g}^{-1}$) e zinco ($6\text{-}28\ \mu\text{g g}^{-1}$) entre genótipos (JULIANO, 1985). A transgenia também vem sendo utilizada com esse objetivo. VASCONCELOS et al. (2003) avaliaram a introdução no arroz do gene da ferritina da soja, uma proteína armazenadora de ferro. Foram observados aumentos de até quatro vezes na concentração de ferro, tanto no arroz integral ($71\ \mu\text{g g}^{-1}$ vs. $15,7\ \mu\text{g g}^{-1}$) como no branco polido ($37\ \mu\text{g g}^{-1}$ vs. $10\ \mu\text{g g}^{-1}$). Segundo os autores, o consumo desse arroz pode suprir até 33% da recomendação diária de ferro com 300 g de grãos. Entretanto, ainda são necessários maiores estudos para avaliar a biodisponibilidade deste mineral.

Além do aumento na concentração de ferro, VASCONCELOS et al. (2003) observaram também aumento na concentração de zinco nos grãos com ferritina. O arroz integral apresentou valores máximos de $55,5\ \mu\text{g g}^{-1}$, comparado ao controle contendo $33,6\ \mu\text{g g}^{-1}$. Embora não se saiba a razão desse aumento, sabe-se que a concentração de ferro e zinco no grão está correlacionada, isto é, alterações nos níveis de um afetam os níveis do outro, sugerindo um possível mecanismo regulatório comum.

Vitaminas

O arroz contém principalmente vitaminas do complexo B e α -tocoferol (vitamina E), com concentrações insignificantes das vitaminas A, D e C. A concentração é maior nas camadas externas do grão, sendo que, para tiamina, riboflavina, niacina e α -tocoferol, aproximadamente 78, 47, 67 e 95%, respectivamente, estão presentes no farelo (JULIANO, 1993). Dessa forma, o polimento reduz significativamente a concentração de vitaminas (Tabela 3).

Pesquisas vêm sendo desenvolvidas para aumentar a concentração de vitaminas no arroz, melhorando suas características nutricionais. Entre elas, destacam-se aquelas relacionadas à vitamina A devido à importância de sua deficiência, que atinge milhões de pessoas, e seus efeitos na saúde. As pesquisas levaram à obtenção do *Golden rice*, um arroz transgênico contendo carotenóides em seu endosperma, precursores da vitamina A. Para obtenção do *Golden rice*, os pesquisadores avaliaram a expressão no arroz de enzimas importantes na biossíntese da pró-vitamina A, como fitoeno sintase do milho ou de *Narcissus pseudonarcissus*, caroteno desaturase de *Erwinia uredovora* e licopeno β -ciclase de *Narcissus pseudonarcissus* (BEYER et al., 2002; PAINE et al., 2005). No trabalho desenvolvido por PAINE et al. (2005), foram obtidos grãos contendo $37\ \mu\text{g g}^{-1}$ de

carotenóides totais, sendo aproximadamente 84% de β -caroteno (principal precursor). Segundo os autores, considerando uma concentração média de $25 \mu\text{g g}^{-1}$ de β -caroteno, atinge-se 50% da recomendação diária de vitamina A para crianças com 72 g desse arroz. Entretanto, são necessárias mais pesquisas para avaliar outros fatores, como absorção do β -caroteno e conversão em vitamina A.

Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos, ou polifenóis, são metabólitos secundários dos vegetais com diferentes funções nas plantas. Eles podem ser classificados em diferentes grupos, sendo os ácidos fenólicos, os flavonóides e os taninos os principais na dieta (KING & YOUNG, 1999).

Diversos compostos fenólicos já foram identificados, destacando-se no arroz os ácidos fenólicos, principalmente os ácidos ferúlico e *p*-cumárico (TIAN et al., 2004; ZHOU et al., 2004) e no arroz com pericarpo vermelho e preto, as antocianinas cianidina-3-O- β -D-glicosídeo e peonidina-3-O- β -D-glicosídeo (MORIMITSU et al., 2002). Outros compostos identificados no arroz incluem os ácidos vanílico, siríngico, caféico, gálico, protocatéquico, hidroxibenzóico, sinápico e clorogênico, e os ésteres 6'-O-(E)-feruloilsacarose, 6'-O-(E)-sinapoilsacarose e γ -orizanol (TIAN et al., 2004; ZHOU et al., 2004). No arroz com pericarpo vermelho e preto também foram identificadas as antocianidinas cianidina e malvidina, procianidinas poliméricas, siringaldeído, vanilina, ácidos *p*-cumárico, 4,7-dihidroxivanílico, protocatéquico metil éster, sinápico, ferúlico e caféico, 6'-O-(E)-feruloilsacarose, 6'-O-(E)-sinapoilsacarose e γ -orizanol (MORIMITSU et al., 2002; HYUN & CHUNG, 2004). Os polifenóis estão localizados principalmente no pericarpo, sendo a maior parte removida durante o polimento (TIAN et al., 2004), e sua concentração é maior no arroz com pericarpo vermelho e preto (NAM et al., 2005).

Além de suas conhecidas funções nos vegetais, pesquisas têm demonstrado o efeito benéfico de compostos fenólicos de diferentes fontes, inclusive do arroz, na saúde humana. Este efeito decorre de sua ação antioxidante, auxiliando na prevenção de danos celulares e de doenças crônicas, incluindo doenças cardiovasculares, envelhecimento, diabetes e câncer (KOIDE et al., 1996; XIA et al., 2003; HYUN & CHUNG, 2004). No arroz, maior atividade antioxidante é observada nos grãos integrais e naqueles com pericarpo vermelho e preto, devido à maior concentração de polifenóis (NAM et al., 2005).

Ácido fítico

O ácido fítico (mioinositol hexafosfato, IP6) é uma forma de armazenamento de fósforo, constituindo aproximadamente 70% do conteúdo desse mineral em sementes. Ele pode ser encontrado na forma de fitato, ligado a cátions como potássio, magnésio, cálcio, ferro e zinco (LIU et al., 2005a). O teor é maior nas camadas externas do grão (aproximadamente 88%), estando associado principalmente à camada de aleurona. Dessa forma, o polimento resulta em redução significativa da sua concentração, como observado por HUNT et al. (2002), que obtiveram 0,065% de ácido fítico para o arroz branco polido, comparado a 0,78% para o arroz integral. Também são observadas diferenças genotípicas na sua concentração (LIU et al., 2005a).

Devido a sua capacidade quelante, historicamente o ácido fítico tem sido considerado um composto com ação prejudicial à nutrição, contribuindo para a menor absorção de vários minerais importantes, como cálcio, ferro e zinco, podendo provocar deficiências (HURRELL et al., 2003). Entretanto, pesquisas têm demonstrado que esse composto pode auxiliar na manutenção da saúde. Devido a sua capacidade de quelar ferro, o qual participa de reações oxidantes, ele apresenta efeito antioxidante (GRAF & EATON, 1990). O ácido fítico também tem sido relacionado à redução nos riscos de desenvolvimento de diferentes tipos de câncer devido a sua ação antioxidante, redução da proliferação celular (GRAF & EATON, 1990), indução à diferenciação celular (SHAMSUDDIN et al., 1997) e à apoptose (VERGHESE et al., 2006). LEE et al. (2005) e LEE et al. (2006) relatam também a redução de lipídios no soro e no fígado e dos níveis sanguíneos de glicose em ratos diabéticos, podendo auxiliar no controle do diabetes.

Conclusões

As variações na composição do arroz, tanto devido ao genótipo quanto ao processamento, são interessantes para a alimentação, devido à diferença nas características nutricionais, podendo-se utilizar o arroz com diferentes fins na dieta. Por exemplo, grãos com menor índice glicêmico podem ser indicados para auxiliar na prevenção e/ou controle do diabetes, grãos com maior teor de minerais podem ser indicados para pessoas em risco nutricional por deficiência da ingestão desses micronutrientes, entre outros. Deve-se salientar que a principal forma de consumo do grão, o arroz branco polido, apresenta redução na concentração da maioria dos nutrientes, afetando significativamente as características nutricionais. O arroz apresenta efeito positivo na prevenção de diversas doenças crônicas devido a diferentes constituintes, mas é deficiente em alguns nutrientes. Nos últimos anos,

pesquisas vêm sendo desenvolvidas visando contornar esses problemas, utilizando tanto o melhoramento convencional como a transgenia, obtendo-se grãos com características nutricionais mais interessantes para o consumo humano. Cada vez mais, o arroz se destaca não somente como um dos principais alimentos para a população, mas também como um alimento de qualidade, que pode auxiliar na manutenção da saúde, devendo ser incentivada a produção desse cereal e a continuidade das pesquisas.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de estudo e produtividade dos autores.

Tabela 1 - Composição centesimal média (% na matéria seca) de arroz integral, branco polido e parboilizado polido

Constituinte	Arroz integral	Arroz branco polido	Arroz parboilizado polido
Amido total	74,12	87,58	85,08
Proteínas (N x 5,95)	10,46	8,94	9,44
Lipídios	2,52	0,36	0,69
Cinzas	1,15	0,30	0,67
Fibra total	11,76	2,87	4,15
Fibra insolúvel	8,93	1,05	1,63
Fibra solúvel	2,82	1,82	2,52

Fonte: Adaptado de STORCK (2004).

Tabela 2 - Concentração de minerais em arroz integral e branco polido.

Mineral	Arroz integral	Arroz branco polido
Macrominerais (mg g ⁻¹ , com 14% de umidade)		
Cálcio	0,1-0,5	0,1-0,3
Magnésio	0,2-1,5	0,2-0,5
Fósforo	1,7-4,3	0,8-1,5
Potássio	0,6-2,8	0,7-1,3
Silício	0,6-1,4	0,1-0,4
Enxofre	0,3-1,9	0,8
Microminerais (µg g ⁻¹ , com 14% de umidade)		
Alumínio	0,3-26,0	0,1-2,2
Cádmio	0,02-0,16	0,025
Cloro	210-560	200-300
Cobalto	0,03-0,04	0,017
Cobre	1-6	2-3
Iodo	0,03	0,02
Ferro	2-52	2-28
Manganês	2-36	6-17
Níquel	0,2-0,5	0,14
Selênio	0,3	0,3
Sódio	17-340	5-86
Zinco	6-28	6-23

Fonte: Adaptado de JULIANO (1985).

Tabela 3 - Conteúdo de vitaminas ($\mu\text{g g}^{-1}$ com 14% de umidade) em arroz integral e branco polido

Vitamina	Arroz integral	Arroz branco polido
Retinol (A)	0-0,11	0-tr ^a
Tiamina (B ₁)	2,9-6,1	0,2-1,1
Riboflavina (B ₂)	0,4-1,4	0,2-0,6
Niacina (B ₃)	35-53	13-24
Ácido pantotênico (B ₅)	9-15	3-7
Piridoxina (B ₆)	5-9	0,4-1,2
Biotina (B ₇)	0,04-0,10	0,01-0,06
Ácido fólico (B ₉)	0,1-0,5	0,03-0,14
Cianocobalamina (B ₁₂)	0-0,004	0-0,0014
Ácido p-aminobenzóico	0,3	0,12-0,14
α -tocoferol (E)	9-25	tr-3

^a traços.

Fonte: Adaptado de JULIANO & BECHTEL (1985).

Referências

BEHALL, K. M. et al. Whole-grain diets reduce blood pressure in mildly hypercholesterolemic men and women. **Journal of the American Dietetic Association**, v.106, p.1445-1449, 2006.

BEYER, P. et al. Golden rice: introducing the β -carotene biosynthesis pathway into rice endosperm by genetic engineering to defeat vitamin A deficiency. **Journal of Nutrition**, v.132, p.506S-510S, 2002.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Statistical databases**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 15 abr. 2008.

FREI, M. et al. Studies on in vitro starch digestibility and the glycemic index of six different indigenous rice cultivars from the Philippines. **Food Chemistry**, v.83, p.395-402, 2003.

GODDARD, M. S. et al. The effect of amylose content on insulin and glucose responses to ingested rice. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.39, p.388-392, 1984.

GRAF, E.; EATON, J. W. Antioxidant functions of phytic acid. **Free Radical Biology and Medicine**, v.8, p.61-69, 1990.

HEINEMANN, R. J. B. et al. Comparative study of nutrient composition of commercial brown, parboiled and milled rice from Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, n.4, p.287-296, 2005.

HUNT, J. R. et al. Bioavailability of zinc from cooked Philippine milled, undermilled, and brown rice, as assessed in rats by using growth, bone zinc and zinc-65 retention. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.5229-5235, 2002.

HURRELL, R. F. et al. Degradation of phytic acid in cereal porridges improves iron absorption by human subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.77, p.1213–1219, 2003.

HYUN, J. W.; CHUNG, H. S. Cyanidin and malvidin from *Oryza sativa* cv. Heugjinjubyeo mediate cytotoxicity against human monocytic leukemia cells by arrest of G₂/M phase and induction of apoptosis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.2213-2217, 2004.

ITANI, T. et al. Distribution of amylose, nitrogen, and minerals in rice kernels with various characters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.5326-5332, 2002.

JENKINS, D. J. A. et al. Glycemic index: overview of implications in health and disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, p.266S-273S, 2002.

JULIANO, B. O. Polysaccharides, proteins, and lipids of rice. In: JULIANO, B. O. (Ed.). **Rice: chemistry and technology**. Minnesota: American Association of Cereal Chemists, 1985. Cap. 3, p.59-174.

JULIANO, B. O. **Rice in human nutrition**. Rome: FAO, 1993. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 01 dez. 2006.

JULIANO, B. O.; BECHTEL, D. B. The rice grain and its gross composition. In: JULIANO, B. O. (Ed.). **Rice: chemistry and technology**. Minnesota: American Association of Cereal Chemists, 1985. Cap. 2, p.17-57.

KATSUBE, T. et al. Accumulation of soybean glycinin and its assembly with the glutelins in rice. **Plant Physiology**, v.120, p.1063-1073, 1999.

KENNEDY, G. et al. Nutrient impact assessment of rice in major rice-consuming countries. **International Rice Commission Newsletter**, v.51, p.33-42, 2002.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemical. **Journal of the American Dietetic Association**, v.99, p.213-218, 1999.

KOIDE, T. et al. Antitumor effect of hydrolyzed anthocyanin from grape rinds and red rice. **Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals**, v.11, n.4, p.273-277, 1996.

LAI, V. M. F. et al. Non-starch polysaccharide compositions of rice grains with respect to rice variety and degree of milling. **Food Chemistry**, v.101, p.1205-1210, 2007.

LEE, S. H. et al. Effects of dietary phytic acid on serum and hepatic lipid levels in diabetic KK mice. **Nutrition Research**, v.25, p.869-876, 2005.

LEE, S. H. et al. Dietary phytic acid lowers the blood glucose level in diabetic KK mice. **Nutrition Research**, v.26, p.474-479, 2006.

LEE, T. T. T. et al. Enhanced methionine and cysteine levels in transgenic rice seeds by the accumulation of sesame 2S albumin. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v.67, n.8, p.1699-1705, 2003.

LI, J. et al. Long-term effects of high dietary fiber intake on glucose tolerance and lipid metabolism in GK rats: comparison among barley, rice, and cornstarch. **Metabolism**, v.52, n.9, p.1206-1210, 2003.

LIU, Z. H. et al. Grain phytic acid content in japonica rice as affected by cultivar and environment and its relation to protein content. **Food Chemistry**, v.89, n.1, p.49-52, 2005a.

LIU, Z. H. et al. Positional variations in phytic acid and protein content within a panicle of japonica rice. **Journal of Cereal Science**, v.41, p.297-303, 2005b.

LUMEN, B. O.; CHOW, H. Nutritional quality of rice endosperm. In: LUH, B. S. (Ed.). **Rice utilization** - vol II. 2nd ed. New York: Van Nostrand Reinhold Pub., 1995. Cap. 15, p.363-395.

MANO, Y. et al. Comparative composition of brown rice lipids (lipid fractions) of indica and japonica rices. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v.63, n.4, p.619-626, 1999.

MATSUO, T. et al. **Science of the rice plant. Vol. II - Physiology**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1995.

MENG, F. et al. Iron content and bioavailability in rice. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.18, p.333-338, 2005.

MILLER, J. B. et al. Rice: a high or low glycemic index food? **American Journal of Clinical Nutrition**, v.56, p.1034-1036, 1992.

MORIMITSU, Y. et al. Inhibitory effect of anthocyanins and colored rice on diabetic cataract formation in the rat lenses. **International Congress Series**, v.1245, p.503-508, 2002.

NAM, S. H. et al. Antioxidative, antimutagenic, and anticarcinogenic activities of rice bran extracts in chemical and cell assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.816-822, 2005.

ONG, M. H.; BLANSHARD, J. M. V. Texture determinants in cooked, parboiled rice I: rice starch amylose and the fine structure of amylopectin. **Journal of Cereal Science**, v.21, p.251-260, 1995.

PAINE, J. A. et al. Improving the nutritional value of Golden Rice through increased pro-vitamin A content. **Nature Biotechnology**, v.23, n.4, p.482-487, 2005.

QURESHI, A. A. et al. Novel tocotrienols of rice bran modulate cardiovascular disease risk parameters of hypercholesterolemic humans. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.8, p.290-298, 1997.

RONG, N. et al. Oryzanol decreases cholesterol absorption and aortic fatty streaks in hamsters. **Lipids**, v.32, n.3, p.303-309, 1997.

SAIKUSA, T. et al. Distribution of free amino acids in the rice kernel and kernel fractions and the effect of water soaking on the distribution. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, p.1122-1125, 1994.

SHAMSUDDIN, A. M. et al. IP6: a novel anti-cancer agent. **Life Sciences**, v.61, p.343-354, 1997.

SINDHU, A. S. et al. The pea seed storage protein legumin was synthesized, processed, and accumulated stably in transgenic rice endosperm. **Plant Science**, v.130, n.2, p.189-196, 1997.

STORCK, C. R. **Variação na composição química em grãos de arroz submetidos a diferentes beneficiamentos**. 2004. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

TAIRA, H.; ITANI, T. Lipid content and fatty acid composition of brown rice of cultivars of the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.36, p. 460-462, 1988.

TIAN, S. et al. Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice, and germinated brown rice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.4808-4813, 2004.

TRAN, T. U. et al. Analysis of the tastes of brown rice and milled rice with different milling yields using a taste sensing system. **Food Chemistry**, v.88, p.557-566, 2004.

VASCONCELOS, M. et al. Enhanced iron and zinc accumulation in transgenic rice with the ferritin gene. **Plant Science**, v.164, p.371-378, 2003.

VELANGI, A. et al. Evaluation of a glucose meter for determining the glycemic responses of foods. **Clinica Chimica Acta**, v.356, p.191-198, 2005.

VERGHESE, M. et al. Anticarcinogenic effect of phytic acid (IP6): apoptosis as a possible mechanism of action. **LWT Food Science and Technology**, v.39, p.1093-1098, 2006.

VISSERS, M. N. et al. Effect of plant sterols from rice bran oil and triterpene alcohols from sheanut oil on serum lipoprotein concentrations in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.72, p.1510-1515, 2000.

WARNER, A. C. I. Rate of passage of digesta through the gut of mammals and birds. **Nutrition Abstracts and Reviews**, v.51, p.789-975, 1981.

XIA, M. et al. Supplementation of diets with the black rice pigment fraction attenuates atherosclerotic plaque formation in apolipoprotein E deficient mice. **Journal of Nutrition**, v.133, n.3, p.744-751, 2003.

ZHENG, Z. et al. The bean seed storage protein β -phaseolin is synthesized, processed, and accumulated in the vacuolar type-II protein bodies of transgenic rice endosperm. **Plant Physiology**, v.109, p.777-786, 1995.

ZHOU, Z. et al. Composition and functional properties of rice. **International Journal of Food Science and Technology**, v.37, p.849-868, 2002.

ZHOU, Z. et al. The distribution of phenolic acids in rice. **Food Chemistry**, v.87, p.401-406, 2004.

CAPÍTULO 2

COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ARROZ

Phenolic compounds and antioxidant activity of rice

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Resumo

Compostos fenólicos, presentes em diferentes alimentos, têm demonstrado efeitos positivos na prevenção de algumas doenças. Vários desses compostos têm sido identificados no arroz, principalmente ácidos fenólicos e antocianinas, e o tipo e concentração desses compostos no grão são influenciados por diferentes fatores, principalmente genótipo, cor do pericarpo e processamento. Estudos *in vitro* e *in vivo* avaliando grãos de arroz com diferente cor do pericarpo (marrom-claro, vermelho e preto) têm mostrado potenciais efeitos benéficos à saúde relacionados com o conteúdo de polifenóis no grão, como redução do estresse oxidativo, auxílio na prevenção ao câncer, doenças cardiovasculares e complicações do diabetes, entre outros. O presente trabalho examina os compostos fenólicos identificados no arroz, sua atividade antioxidante e seu potencial efeito benéfico à saúde.

Palavras chave: arroz vermelho, arroz preto, polifenóis, antioxidante, efeito biológico

Abstract

Phenolic compounds, present in different foods, have demonstrated positive effects on the prevention of some diseases. Several of these compounds have been identified in rice, mainly phenolic acids and anthocyanins, and the type and concentration of these compounds in the grain are influenced by different factors, mainly genotype, pericarp color and processing. *In vitro* and *in vivo* studies evaluating rice grains with different pericarp color (light brown, red and black) have shown potential beneficial effects on health related to the polyphenol content of the grain, such as reduction of oxidative stress, aid in the prevention of cancer, cardiovascular diseases and complications of diabetes, among others. The present work examines the phenolic compounds identified in rice, their antioxidant activity and their potential beneficial effects on health.

Keywords: red rice; black rice; polyphenols; antioxidant; biological effect

Introdução

Vários estudos têm demonstrado a importância da dieta no desenvolvimento de doenças crônicas, tais como câncer e problemas cardiovasculares (BIRT et al., 2001; KRIS-ETHERTON et al., 2002; STANNER et al., 2004; HOUSTON, 2005), e o consumo de frutas, legumes, hortaliças e cereais integrais está associado à redução no risco de desenvolvimento dessas doenças. Essa associação pode ser atribuída à presença de antioxidantes naturais nesses alimentos, como ácido ascórbico, tocoferóis, carotenóides e compostos fenólicos (polifenóis) (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2004; CHOI et al., 2007), além de outros compostos bioativos.

Entre os compostos com atividade antioxidante, destacam-se os polifenóis, sendo encontrados em uma ampla variedade de alimentos, tais como maçã, amora, cereja, uva, framboesa, frutas cítricas, cebola, espinafre, pimenta, aveia, trigo, chá preto, vinho e chocolate, entre outros (HOLDEN et al., 2005; DIMITRIOS, 2006). Esses compostos têm demonstrado maior capacidade antioxidante *in vitro* do que outros tradicionalmente utilizados, como o ácido ascórbico e o α -tocoferol (PULIDO et al., 2000), enfatizando sua importância como antioxidantes na dieta.

Embora os polifenóis sejam encontrados em diversos alimentos, há variação na concentração e no tipo desses compostos devido a fatores genéticos e ambientais, bem como, condições de processamento (KRIS-ETHERTON et al., 2002). Portanto, a concentração de compostos fenólicos varia grandemente entre dietas, dependendo do tipo e quantidade de alimento consumido.

O arroz, sendo um dos cereais mais produzido e consumido no mundo, apresenta papel importante na relação entre dieta e saúde. Vários compostos com atividade antioxidante já foram identificados nesse cereal, incluindo compostos fenólicos, tocoferóis, tocotrienóis e γ -orizanol (IQBAL et al., 2005). No arroz, os compostos fenólicos estão associados principalmente ao pericarpo, portanto, o processo de polimento reduz sua concentração no grão. Além disso, grãos com pericarpo mais escuro, como o arroz vermelho e o preto, contêm maiores concentrações de polifenóis (TIAN et al., 2004; ZHOU et al., 2004).

A concentração de fenólicos totais no grão tem sido positivamente associada com a atividade antioxidante (ITANI et al., 2002; GOFFMAN & BERGMAN, 2004; ZHANG et al., 2006), com potenciais efeitos benéficos à saúde, como redução do estresse oxidativo (LING et al., 2001; HU et al., 2003), auxílio na prevenção ao câncer (HUDSON et al., 2000; HU et al.,

2003; HYUN & CHUNG, 2004; CHEN et al., 2006), no controle dos lipídios sanguíneos e doenças relacionadas, o que pode ajudar na prevenção de problemas cardiovasculares (LING et al., 2001) e na prevenção das complicações do diabetes (MORIMITSU et al., 2002; YAWADIO et al., 2007).

Portanto, essa revisão tem por objetivo examinar os compostos fenólicos identificados no arroz, sua atividade antioxidante e seus potenciais efeitos benéficos à saúde.

Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas, com diferentes atividades tais como proteção contra patógenos e predadores, suporte mecânico, atração de animais polinizadores, e proteção contra radiação ultravioleta (BRAVO, 1998; PARR & BOLWELL, 2000). Esses compostos constituem um grupo quimicamente heterogêneo, contendo um grupo fenol (grupo hidroxila funcional em um anel aromático) em sua estrutura básica. Eles diferem estruturalmente desde moléculas simples, como os ácidos fenólicos, até compostos altamente polimerizados, como os taninos, compreendendo diferentes classes. Entretanto, os principais fenólicos na dieta são os ácidos fenólicos, os flavonóides e os taninos (KING & YOUNG, 1999).

Os polifenóis são biossintetizados por meio de diferentes rotas, razão pela qual constituem um grupo bastante heterogêneo. Duas rotas metabólicas básicas estão envolvidas na síntese desses compostos: a do ácido chiquímico e a do ácido malônico, sendo a primeira a principal rota de síntese da maioria dos fenóis vegetais. Através da rota do ácido chiquímico, precursores de carboidratos derivados da glicólise e da rota da pentose fosfato são convertidos em aminoácidos aromáticos, como a fenilalanina (TAIZ & ZEIGER, 2004). Essa é desaminada pela ação da fenilalanina amonialiase, originando ácido cinâmico, a partir do qual a maioria dos compostos fenólicos deriva (BOUDET, 2007). Reações subsequentes, incluindo hidroxilações e metilações, levam à adição de grupos químicos à molécula (MEMELINK, 2005), originando os diferentes compostos fenólicos.

Os ácidos fenólicos consistem de dois subgrupos, os derivados do ácido benzóico e os derivados do ácido cinâmico (BALASUNDRAM et al., 2006). Com uma estrutura C₆-C₁ (anel aromático ligado a um átomo de carbono), os derivados do ácido benzóico incluem os ácidos *p*-hidroxibenzóico, protocatéquico, vanílico, gálico e sirínico. Os derivados do ácido cinâmico, com estrutura C₆-C₃ (anel aromático ligado a uma cadeia de três carbonos), incluem os ácidos caféico, ferúlico, *p*-cumárico e sinápico (SIMÕES et al., 2001). Esses ácidos podem ser encontrados na forma livre, de conjugados solúveis ou ligada insolúvel (ADOM & LIU,

2002; ZHOU et al., 2004). Os ácidos fenólicos ligados estão tipicamente envolvidos na estrutura da parede celular, fazendo a ligação cruzada entre os componentes da lignina, com efeitos no crescimento da parede celular, suas propriedades mecânicas e degradabilidade (ZHOU et al., 2004).

Os flavonóides, principal classe de compostos fenólicos nas plantas, são formados por 15 carbonos, organizados em dois anéis aromáticos ligados por uma cadeia de três carbonos (estrutura C₆-C₃-C₆) (ROSSI & KASUM, 2002). Eles podem ser divididos em diferentes classes, sendo as antocianidinas a mais comum, responsável pela maioria das cores vermelha, rosa, roxa e azul nas plantas, atuando como atrativo de animais para a polinização e dispersão de sementes. Geralmente, as antocianidinas estão ligadas a glicosídeos, sendo chamadas de antocianinas (KONG et al., 2003).

Os taninos formam outro grupo de polímeros fenólicos com propriedades de defesa para a planta, e podem ser divididos em condensados e hidrolisáveis. Os taninos condensados são formados pela polimerização de unidades de flavonóides. Esses compostos são frequentemente hidrolisados a antocianidinas, sendo por isso também chamados de proantocianidinas. Os taninos hidrolisáveis são polímeros heterogêneos contendo ácidos fenólicos, especialmente ácido gálico, e açúcares simples (SANTOS-BUELGA & SCALBERT, 2000; BALASUNDRAM et al., 2006).

Compostos fenólicos e atividade antioxidante

Além de suas funções nos vegetais, pesquisas têm demonstrado efeitos benéficos de compostos fenólicos de diferentes fontes na saúde humana devido a sua atividade antioxidante. As células são continuamente expostas a oxidantes, de fontes endógenas e exógenas, e a produção de radicais livres é parte do metabolismo. Entretanto, o organismo também possui compostos antioxidantes, de fontes endógenas e exógenas, participando na manutenção do balanço entre oxidantes e antioxidantes (BENZIE & SZETO, 1999; FOGLIANO et al., 1999; HEIM et al., 2002). O desequilíbrio nesse balanço devido à alteração na concentração desses compostos é chamado estresse oxidativo, e resulta em dano a células e tecidos de várias formas: danificando biomoléculas, ativando vias sinalizadoras específicas, originando produtos tóxicos, alterando a expressão gênica e a atividade de enzimas, e interrompendo mecanismos normais de reparo celular. Por essas razões, o estresse oxidativo tem sido relacionado a diversas doenças crônicas, incluindo problemas cardiovasculares, diabetes e câncer (STANNER et al., 2004).

Os compostos fenólicos podem exercer sua atividade antioxidante de diferentes formas. Eles podem diretamente sequestrar algumas espécies reativas, incluindo radicais hidroxil, peroxil e superóxido, atuando como antioxidantes de quebra de cadeia. Podem suprimir a peroxidação lipídica reciclando outros antioxidantes, como o α -tocoferol. Alguns compostos fenólicos podem ligar metais pró-oxidantes, como ferro e cobre, prevenindo a formação de radicais livres a partir desses pró-oxidantes, enquanto simultaneamente mantêm sua capacidade de sequestrar radicais livres (MORAN et al., 1997; KRIS-ETHERTON et al., 2002; HALLIWELL, 2007). Além disso, os efeitos de alguns fenólicos estão relacionados ao aumento na atividade de enzimas antioxidantes (CHIANG et al., 2006) e indução da síntese de proteínas antioxidantes (CHUNG et al., 2006).

Compostos fenólicos no arroz

Vários compostos fenólicos já foram identificados no arroz. Enquanto grãos com pericarpo marrom-claro apresentam principalmente fenólicos de baixo peso molecular (aproximadamente 85%), naqueles com pericarpo vermelho e preto predominam compostos com maior peso molecular (GOFFMAN & BERGMAN, 2004).

Os principais fenólicos em grãos de arroz com pericarpo marrom-claro são os ácidos fenólicos, principalmente ácidos ferúlico e *p*-cumárico (TIAN et al., 2004; ZHOU et al., 2004). Outros compostos identificados incluem os ácidos sinápico, protocatéquico (HUDSON et al., 2000; TIAN et al., 2005), clorogênico, hidroxibenzóico (TIAN et al., 2005), vanílico, siríngico (ZHOU et al., 2004; TIAN et al., 2005), caféico (HUDSON et al., 2000; ZHOU et al., 2004; TIAN et al., 2005) e gálico (ZHOU et al., 2004), tricina (HUDSON et al., 2000) e os ésteres 6'-O-(E)-feruloilsacarose e 6'-O-(E)-sinapoilsacarose (TIAN et al., 2004; TIAN et al., 2005).

Em grãos de arroz com pericarpo vermelho e preto, os principais fenólicos são as antocianinas cianidina-3-O- β -D-glicosídeo e peonidina-3-O- β -D-glicosídeo (OKI et al., 2002; HU et al., 2003; CHEN et al., 2006; ZHANG et al., 2006; YAWADIO et al., 2007). Outros compostos identificados incluem as antocianidinas cianidina e malvidina (HYUN & CHUNG, 2004; ZHANG et al., 2006), as antocianinas pelargonidina-3,5-diglicosídeo e cianidina-3,5-diglicosídeo (ZHANG et al., 2006) e ácidos fenólicos, como os ácidos ferúlico, caféico e protocatéquico (MORIMITSU et al., 2002).

De acordo com Yawadio et al. (2007), a principal característica que determina o tipo de compostos fenólicos no grão é a cor do pericarpo, já que não foram observadas diferenças

entre as antocianinas quando avaliando grãos com pericarpo preto das subespécies *indica* e *japonica*. A cor também está relacionada à concentração de fenólicos no grão, que normalmente é maior em grãos com pericarpo vermelho e preto. Goffman & Bergman (2004), avaliando diferentes genótipos, obtiveram conteúdo de fenólicos totais entre 1,90 e 50,32mg EAG (equivalente ácido gálico) g⁻¹ farelo, e entre 0,25 e 5,35mg EAG g⁻¹ grão, observando os menores valores para aqueles genótipos com pericarpo marrom-claro. Além da diferença no conteúdo de fenólicos totais relacionada à cor dos grãos, variação também foi observada no conteúdo de fenólicos totais entre genótipos com a mesma cor de pericarpo.

Além da característica genética, outros fatores podem influenciar a concentração de compostos fenólicos. Embora não tenha sido observado efeito do ano de cultivo no conteúdo desses compostos (GOFFMAN & BERGMAN, 2004), diferentes pesquisas demonstram o efeito do processamento do grão, incluindo polimento e germinação. O polimento reduz significativamente a concentração de fenólicos, já que esses estão localizados principalmente nas camadas externas do grão. O farelo contém entre 70 e 90% dos ácidos fenólicos em grãos de arroz com pericarpo marrom-claro (ZHOU et al., 2004), e aproximadamente 85% das antocianinas naqueles com pericarpo preto (HU et al., 2003), com pequena variação dependendo da cultivar e dos compostos considerados. De acordo com Goffman & Bergman (2004), essa alta correlação entre o conteúdo de fenólicos no grão e no farelo sugere que é possível selecionar para maior ou menor conteúdo de fenólicos através da análise do grão sem polimento, reduzindo o tempo de preparo da amostra.

O processo de germinação também afeta os compostos fenólicos no grão. Tian et al. (2005) observaram redução de aproximadamente 70% na concentração de feruloilsacarose e sinapoilsacarose, com aumento no conteúdo dos ácidos ferúlico e sinápico em grãos de arroz com pericarpo marrom-claro durante a germinação. De acordo com estes autores, essa redução foi provavelmente causada por hidrólise, indicando que a germinação provoca a metabolização de compostos fenólicos.

Algumas pesquisas também indicam que a distribuição de compostos fenólicos muda durante o armazenamento. Zhou et al. (2004) observaram redução no conteúdo de ácidos fenólicos ligados em arroz integral e polido durante o armazenamento, e essa redução foi maior a 37°C do que a 4°C. Em contraste, a concentração de ácidos fenólicos livres no arroz polido aumentou significativamente durante o armazenamento, provavelmente como resultado da liberação enzimática ou não enzimática de ácidos fenólicos ligados.

Atividade antioxidante e efeito biológico

A concentração de fenólicos totais em grãos de arroz tem sido positivamente relacionada à atividade antioxidante (ITANI et al., 2002; GOFFMAN & BERGMAN, 2004; ZHANG et al., 2006). Em grãos com pericarpo vermelho, alta correlação foi observada entre essa atividade e o conteúdo de proantocianidinas e, no caso de grãos com pericarpo preto, com o teor de antocianinas (OKI et al., 2002). Esses resultados sugerem que os compostos fenólicos estão entre os principais responsáveis pela atividade antioxidante de grãos de arroz (GOFFMAN & BERGMAN, 2004).

Normalmente, grãos com pericarpo vermelho e preto apresentam maior atividade antioxidante do que aqueles com pericarpo marrom-claro (NAM et al., 2005). Goffman & Bergman (2004), avaliando genótipos com diferente cor de pericarpo, observaram valores de atividade antioxidante entre 10,0 e 13,1 $\mu\text{M ET}$ (equivalente Trolox) g^{-1} farelo para grãos com pericarpo marrom-claro, entre 119,9 e 312,3 $\mu\text{M ET}$ g^{-1} farelo para grãos com pericarpo vermelho e entre 56,3 e 345,3 $\mu\text{M ET}$ g^{-1} farelo para grãos com pericarpo preto. Esses resultados também demonstram que, além da variação na atividade antioxidante entre grãos com diferente cor do pericarpo, variação em um grupo com a mesma cor de pericarpo também é observada.

Além da diferença na atividade antioxidante total, diferenças também são observadas entre genótipos na habilidade de sequestrar espécies reativas de oxigênio. Em pesquisa desenvolvida por Nam et al. (2005), um dos genótipos avaliados reduziu a concentração de ânions superóxido inibindo competitivamente a xantina oxidase (enzima que induz a formação de espécies reativas de oxigênio nas células), e sequestrou radicais hidroxila através de mecanismo direto. Por outro lado, outro genótipo sequestrou ânions superóxido sem afetar a atividade da xantina oxidase, e reduziu a concentração de radicais hidroxila através da ligação de íons ferro. Portanto os compostos antioxidantes presentes nesses grãos podem atuar de diferentes formas para reduzir o estresse oxidativo no organismo e, assim, auxiliar na prevenção de diversas doenças.

A redução do estresse oxidativo por polifenóis de grãos de arroz foi observada em estudos *in vitro* e *ex vivo*, indicada pela redução na produção de óxido nítrico (HU et al., 2003). Simultaneamente à redução nos indicadores de oxidação, foi observado aumento na capacidade antioxidante, incluindo maior capacidade antioxidante total e atividade aumentada de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase e catalase (CHIANG et al., 2006).

Estudos com culturas de células demonstram que os compostos fenólicos do arroz também podem ser associados com atividades antimutagênica, anticarcinogênica e antimetástase, devido a sua habilidade de diretamente proteger o DNA do dano e afetar a proliferação celular (HU et al., 2003; CHEN et al., 2006). Utilizando extratos obtidos de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, observou-se redução no número de células viáveis e formação de colônia de células de câncer de mama e cólon (HUDSON et al., 2000). Avaliando separadamente alguns compostos fenólicos presentes no farelo de arroz, efeitos foram observados em diferentes células cancerosas. Ácido caféico, ácido ferúlico e tricina reduziram o número de células, a viabilidade celular e a clonogenicidade (HUDSON et al., 2000). As antocianinas cianidina e malvidina apresentaram citotoxicidade de forma dose-dependente, com valores de IC₅₀ (concentração que inibe o crescimento em 50%) para células humanas de leucemia de 60 e 40 µg ml⁻¹, respectivamente, com essa atividade sendo atribuída ao efeito destes compostos no ciclo celular, interrompendo-o na fase G₂/M e induzindo apoptose. Entretanto, não foi observada atividade citotóxica quando os compostos foram avaliados na forma de glicosídeos, sugerindo que essa atividade é devido à parte aglicona da molécula (HYUN & CHUNG, 2004). Peonidina-3-glicosídeo e cianidina-3-glicosídeo apresentaram inibição da invasão e motilidade celular de células de carcinoma hepatocelular humano, sem toxicidade aparente (CHEN et al., 2006).

Extratos obtidos de arroz com pericarpo vermelho e preto também podem apresentar efeitos positivos na prevenção das complicações do diabetes. Morimitsu et al. (2002) observaram efeito inibitório da opacidade do cristalino em cultura de células de cristalino obtidas de ratos, o que pode auxiliar na prevenção da catarata em diabéticos. De acordo com os autores, esse efeito pode ser relacionado à inibição da enzima aldose redutase. Alguns compostos foram isolados de arroz com pericarpo preto e testados *in vitro*, incluindo cianidina, peonidina, ácido ferúlico e α-tocoferol, os quais demonstraram efeito inibitório sobre a atividade desta enzima, com efeito dose-dependente (YAWADIO et al., 2007).

Embora estudos *in vitro* possam fornecer informações sobre a atividade antioxidante e possíveis efeitos biológicos dos compostos fenólicos do arroz, a relevância dessa informação para a efetividade antioxidante no organismo é limitada sem dados de biodisponibilidade e metabolismo desses compostos (COLLINS, 2005). Deve-se considerar o fato de que a biodisponibilidade difere grandemente de um polifenol para outro devido a diferentes fatores, como matriz do alimento, concentração do composto no alimento, dieta e variações interindivíduos, afetando a concentração dos metabólitos ativos no organismo (MANACH et

al., 2005; ZHAO & MOGHADASIAN, 2008). Entretanto, poucos estudos têm sido desenvolvidos para avaliar as propriedades antioxidantes de fenólicos do arroz *in vivo*.

Estudos com animais têm demonstrado efeitos benéficos do consumo da fração colorida (pericarpo) de grãos de arroz no controle de lipídios sanguíneos e doenças relacionadas, auxiliando na prevenção de problemas cardiovasculares. Nesses estudos, com camundongos deficientes em apolipoproteína (apo)E (XIA et al., 2003) e coelhos hipercolesterolêmicos (LING et al., 2001), a suplementação da dieta com o pericarpo do arroz reduziu a ocorrência de placas ateroscleróticas. Esse efeito foi relacionado a diferentes mecanismos, incluindo aumento na capacidade antioxidante do organismo (LING et al., 2001), redução na concentração de colesterol total no sangue (XIA et al., 2003), redução na razão entre colesterol LDL e HDL (LING et al., 2001; XIA et al., 2003), redução no acúmulo de colesterol no tecido da aorta e redução na oxidação do colesterol LDL (XIA et al., 2003).

Um estudo com humanos foi desenvolvido por Wang et al. (2007) com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação da dieta com uma fração de arroz com pericarpo preto em pacientes com doença cardíaca coronariana. Os indivíduos consumindo a fração de arroz com pericarpo preto apresentaram aumento no status antioxidante do plasma e redução na inflamação, o que pode beneficiar pacientes com essa doença. De acordo com os autores, a maior concentração de antocianinas no arroz com pericarpo preto, comparado ao arroz com pericarpo marrom-claro, pode ser um dos principais componentes responsáveis pelos efeitos cardioprotetores observados. Também foi observada a absorção de cianidina-3-O- β -D-glicosídeo (antocianina predominante no arroz com pericarpo preto), a qual apareceu no plasma e alcançou nível máximo ($21,5 \pm 4,48 \text{ ng ml}^{-1}$) após 1,5h, mas desapareceu rapidamente após 4h.

Considerações finais

Compostos fenólicos, devido a sua atividade antioxidante, apresentam potenciais efeitos benéficos à saúde. A variabilidade observada em sua concentração nos alimentos é também observada nas dietas, e sua inclusão na rotina alimentar pode alterar o balanço entre oxidantes e antioxidantes no organismo, auxiliando na manutenção da saúde. Nesse contexto, o arroz destaca-se devido a sua importância como alimento para grande parte da população mundial. Esse cereal apresenta diferentes compostos com atividade antioxidante, incluindo polifenóis, e variações são observadas na concentração desses compostos nos grãos, principalmente devido ao genótipo, cor do pericarpo e processamento.

Estudos *in vitro* e *in vivo* têm mostrado potenciais efeitos benéficos dos fenólicos do arroz na saúde. Entretanto, a maioria deles avalia o efeito de frações ricas em fenólicos, e não o grão em si, como é normalmente consumido. Portanto, há necessidade premente de obter mais informações sobre o consumo de grãos de arroz ricos em compostos fenólicos, relacionando-o a seus respectivos efeitos benéficos à saúde. Embora o arroz não esteja entre os alimentos com maior concentração de polifenóis, ele pode ser uma fonte importante desses compostos devido a sua ampla utilização na alimentação, justificando investimentos em pesquisas nessa área, especialmente em estudos *in vivo*, para avaliar a biodisponibilidade e metabolismo dos polifenóis desse cereal e seu efeito no organismo.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências

ADOM, K. K.; LIU, R. H. Antioxidant activity of grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 21, p. 6182-6187, Oct. 2002.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plant and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, Oxford, v. 99, n. 1, p. 191-203, Jan. 2006.

BENZIE, I. F. F.; SZETO, Y. T. Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, n. 2, p. 633-636, Feb. 1999.

BIRT, D. F.; HENDRICH, S.; WANG, W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, Amsterdam, v. 90, n. 2-3, p. 157-177, May-Jun. 2001.

BOUDET, A. M. Evolution and current status of research in phenolic compounds. **Phytochemistry**, Oxford, v. 68, n. 22-24, p. 2722-2735, Nov-Dec. 2007.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, Hoboken, v. 56, n. 11, p. 317-333, Nov. 1998.

CHEN, P. et al. Black rice anthocyanins inhibit cancer cells invasion via repressions of MMPs and u-PA expression. **Chemico-Biological Interactions**, New York, v. 163, n. 3, p. 218-229, Nov. 2006.

CHIANG, A. et al. Antioxidant effects of black rice extract through the induction of superoxide dismutase and catalase activities. **Lipids**, New York, v. 41, n. 8, p. 797-803, Aug. 2006.

CHOI, Y.; JEONG, H. S.; LEE, J. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. **Food Chemistry**, Oxford, v. 103, n. 1, p. 130-138, Jan. 2007.

CHUNG, M. J.; WALKER, P. A.; HOGSTRAND, C. Dietary phenolic antioxidants, caffeic acid and Trolox, protect rainbow trout gill cells from nitric oxide-induced apoptosis. **Aquatic Toxicology**, Oxford, v. 80, n. 4, p. 321-328, Dec. 2006.

COLLINS, A. R. Assays for oxidative stress and antioxidant status: applications to research into the biological effectiveness of polyphenols. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 81, n. 1, p. 261S-267S, Jan. 2005.

DIMITRIOS, B. Sources of natural phenolic antioxidants. **Trends in Food Science and Technology**, Oxford, v. 17, n. 9, p. 505-512, Sep. 2006.

FOGLIANO, V. et al. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, n. 3, p. 1035-1040, Mar. 1999.

GOFFMAN, F. D.; BERGMAN, C. J. Rice kernel phenolic content and its relationship with antiradical efficiency. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Hoboken, v. 84, n. 10, p. 1235-1240, Aug. 2004.

HALLIWELL, B. Dietary polyphenols: good, bad, or indifferent for your health? **Cardiovascular Research**, Oxford, v. 73, n. 2, p. 341-347, Jan. 2007.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Oxford, v. 13, n. 9, p. 527-584, Sep. 2002.

HOLDEN, J. M. et al. Development of a database of critically evaluated flavonoids data: application of USDA's data quality evaluation system. **Journal of Food Composition and Analysis**, Oxford, v. 18, n. 8, p. 829-844, Dec. 2005.

HOUSTON, M. C. Nutraceuticals, vitamins, antioxidants, and minerals in the prevention and treatment of hypertension. **Progress in Cardiovascular Diseases**, New York, v. 47, n. 6, p. 396-449, May-Jun. 2005.

HU, C. et al. Black rice (*Oryza sativa* L. *indica*) pigmented fraction suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide in chemical and biological model systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 18, p. 5271-5277, Aug. 2003.

HUDSON, E. A. et al. Characterization of potentially chemopreventive phenols in extracts of brown rice that inhibit the growth of human breast and colon cancer cells. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, Philadelphia, v. 9, n. 11, p. 1163-1170, Nov. 2000.

HYUN, J. W.; CHUNG, H. S. Cyanidin and malvidin from *Oryza sativa* cv. Heugjinjubyeo mediate cytotoxicity against human monocytic leukemia cells by arrest of G₂/M phase and induction of apoptosis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 8, p. 2213-2217, Apr. 2004.

IQBAL, S.; BHANGER, M. I.; ANWAR, F. Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. **Food Chemistry**, Oxford, v. 93, n. 2, p. 265-272, Nov. 2005.

ITANI, T. et al. A comparative study on antioxidative activity and polyphenol content of colored kernel rice. **Journal of the Japan Society for Food Science and Technology**, Tokyo, v. 49, n. 8, p. 540-543, Aug. 2002.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemical. **Journal of the American Dietetic Association**, New York, v. 99, n. 2, p. 213-218, Feb. 1999.

KONG, J. et al. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, Oxford, v. 64, n. 4, p. 923-933, Oct. 2003.

KRIS-ETHERTON, P. M. et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **American Journal of Medicine**, Oxford, v. 113, n. 9, p. 71S-88S, Dec. 2002.

LING, W. H. et al. Red and black rice decrease atherosclerotic plaque formation and increase antioxidant status in rabbits. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 131, n. 5, p. 1421-1426, May. 2001.

MANACH, C. et al. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 81, n. 1, p. 230S-242S, Jan. 2005.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 54, n. 2, p. 149-154, Jun. 2004.

MEMELINK, J. The use of genetics to dissect plant secondary pathways. **Current Opinion in Plant Biology**, Amsterdam, v. 8, n. 3, p. 230-235, Jun. 2005.

MORAN, J. F. et al. Complexes of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissues: prooxidant and antioxidant properties. **Free Radical Biology and Medicine**, Amsterdam, v. 22, n. 5, p. 861-870, Jul. 1997.

MORIMITSU, Y. et al. Inhibitory effect of anthocyanins and colored rice on diabetic cataract formation in the rat lenses. **International Congress Series**, Oxford, v. 1245, p. 503-508, Nov. 2002.

NAM, S. H. et al. Antioxidative, antimutagenic, and anticarcinogenic activities of rice bran extracts in chemical and cell assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 3, p. 816-822, Feb. 2005.

OKI, T. et al. Polymeric procyanidins as radical-scavenging components in red-hulled rice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 26, p. 7524-7529, Dec. 2002.

PARR, A. J.; BOLWELL, G. P. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Hoboken, v. 80, n. 7, p. 985-1012, May. 2000.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 8, p. 3396-3402, Aug. 2000.

ROSSI, J. A.; KASUM, C. M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 22, n. 1, p. 19-34, Jul. 2002.

SANTOS-BUELGA, C.; SCALBERT, A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Hoboken, v. 80, n. 7, p. 1094-1117, May. 2000.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre; Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS; Ed. da UFSC, 2001.

STANNER, S. A. et al. A review of the epidemiological evidence for the ‘antioxidant hypothesis’. **Public Health Nutrition**, New York, v. 7, n. 3, p. 407-422, May. 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TIAN, S.; NAKAMURA, K.; KAYAHARA, H. Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice, and germinated brown rice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 15, p. 4808-4813, Jul. 2004.

TIAN, S. et al. High-performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in rice. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1063, n. 1, p. 121-128, Jan. 2005.

WANG, Q. et al. Supplementation of black rice pigment fraction improves antioxidant and anti-inflammatory status in patients with coronary heart disease. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, Taiwan, v. 16, n. 2, p. 295-301, Jun. 2007.

XIA, M. et al. Supplementation of diets with the black rice pigment fraction attenuates atherosclerotic plaque formation in apolipoprotein E deficient mice. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 133, n. 3, p. 744-751, Mar. 2003.

YAWADIO, R.; TANIMORI, S.; MORITA, N. Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. **Food Chemistry**, Oxford, v. 101, n. 3, p. 1616-1625, Mar. 2007.

ZHANG, M. et al. Separation, purification and identification of antioxidant compositions in black rice. **Agricultural Sciences in China**, Amsterdam, v. 5, n. 6, p. 431-440, Jun. 2006.

ZHAO, Z.; MOGHADASIN, M. H. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: a review. **Food Chemistry**, Oxford, v. 109, n. 4, p. 691-702, Aug. 2008.

ZHOU, Z. et al. The distribution of phenolic acids in rice. **Food Chemistry**, Oxford, v. 87, n. 3, p. 401-406, Sep. 2004.

CAPÍTULO 3

MULTIPLICAÇÃO DE MATERIAL GENÉTICO E CARACTERIZAÇÃO DE GENÓTIPOS DE ARROZ COM PERICARPO MARROM-CLARO, VERMELHO E PRETO¹

Objetivos

Multiplicar o material genético a ser utilizado nas análises laboratoriais e caracterizar os genótipos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto.

Materiais e métodos

Material experimental

Para atingir os objetivos do projeto, foram utilizados 10 ecótipos de arroz com pericarpo vermelho coletados por pesquisadores do Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) em lavouras de diferentes regiões do Rio Grande do Sul, denominados Ec1A, Ec1B, Ec2A, Ec2B, Ec2C, Ec2D, Ec3A, Ec3B, Ec3C e Ec4A; cinco variedades de arroz com pericarpo vermelho de cultivo tradicional na região Nordeste do Brasil, coletadas pela Embrapa Meio-Norte, denominadas PB1, PB4, PB5, PB11 e PB13; uma variedade com pericarpo vermelho desenvolvida pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), denominada Epagri; uma variedade de arroz com pericarpo preto desenvolvida pelo Instituto Agrônomo Campinas (IAC), denominada IAC 600; e uma variedade de arroz com pericarpo marrom-claro do IRGA, denominada Irga 417.

Neste trabalho, foram utilizados os termos “genótipo” para designar todos os materiais genéticos avaliados, “ecótipo” para designar apenas o material de arroz com pericarpo vermelho coletado em áreas de arroz, e “variedade” para designar o material genético utilizado para cultivo.

Cultivo e manejo cultural

Inicialmente, na safra 2006/07, foi conduzido ensaio de campo a fim de multiplicar sementes, sob condições iguais de cultivo, utilizadas para as análises posteriores. Para avaliar as características agrônomicas das variedades utilizadas no trabalho, foi conduzido novo ensaio na safra 2007/08. O cultivo foi realizado em área de várzea sistematizada do Departamento de Fitotecnia, localizada na Universidade Federal de Santa Maria, Depressão

¹ O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasil.

Central do Rio Grande do Sul. O solo é classificado como Planossolo hidromórfico eutrófico arênico (Unidade de Mapeamento Vacacaí), de textura média, relevo plano e suavemente ondulado, substrato de sedimentos aluviais recentes (EMBRAPA, 1999). O local caracteriza-se por apresentar clima subtropical úmido, de fórmula climática Cfa, segundo a classificação de Köppen, com precipitação pluviométrica de 1.616mm ao ano, e altitude de 95m.

Na safra 2006/07, a semeadura foi realizada no dia 12/11/2006, utilizando-se 120kg ha⁻¹ de sementes das variedades, com semeadora de 10 linhas espaçadas em 0,17m, com parcelas de 5m. Para os ecótipos, devido à pequena quantidade de sementes disponível, foram semeadas 100 sementes em duas linhas de 5m, com espaçamento de 0,30m. Na safra 2007/08, a semeadura foi realizada no dia 16/11/2007, utilizando-se 120kg ha⁻¹ de sementes, com semeadora de 10 linhas espaçadas em 0,17m, com parcelas de 5m.

A cultura foi implantada no sistema convencional de semeadura. A adubação de base foi aplicada junto à semeadura, constituída de 15kg ha⁻¹ de nitrogênio (N), 60kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 90kg ha⁻¹ de K₂O. A emergência ocorreu nos dias 20/11/2006 e 24/11/2007 para as safras 2006/07 e 2007/08, respectivamente. O controle de plantas daninhas foi realizado com aplicação das doses recomendadas de Nominee 400SC[®] no primeiro ano e Cyhalofop-butyl no segundo ano, com adição de 0,5% v.v.⁻¹ e 1,2% v.v.⁻¹ de óleo mineral emulsionável, respectivamente. Foi realizado o controle 14 dias após a emergência (DAE), quando as plantas de arroz encontravam-se no estágio V4. A aplicação foi realizada com pulverizador costal pressurizado com CO₂ munido de pontas leque 11002, com vazão de 125L ha⁻¹.

Um dia após o controle das plantas daninhas a área foi inundada, mantendo-se lâmina d'água constante de aproximadamente 5cm de altura. O nitrogênio foi aplicado na forma de uréia e parcelado em três épocas: na safra 2006/07, utilizou-se 15kg ha⁻¹ de N na semeadura, 30kg ha⁻¹ de N no estágio V4, um dia antes da inundação, e 15kg ha⁻¹ de N na iniciação da panícula (R0); na safra 2007/08, utilizou-se 15kg ha⁻¹, 30kg ha⁻¹ e 20kg ha⁻¹, respectivamente. Aos 5 DAE determinou-se o estande inicial através da contagem da população de plantas em um metro de comprimento da linha de semeadura.

Colheita

A colheita foi realizada manualmente, em área de 4,76m² (4,0 x 1,019m), quando os grãos apresentavam umidade média de 20%. Após a trilha e limpeza, os grãos foram secos até 13% de umidade, com temperatura da massa de grãos não ultrapassando 40°C. No caso dos ecótipos, devido ao maior degrane observado nesses materiais, a colheita foi realizada assim que iniciou o degrane, evitando dessa forma a perda de grãos na lavoura.

Caracterização e avaliação de plantas e grãos

Os materiais foram submetidos à caracterização e avaliação, utilizando-se descritores pertinentes à planta e ao grão, de acordo com Fonseca et al. (2002):

- Ciclo: número de dias transcorridos da emergência à colheita. Classificação: muito precoce (<105 dias), precoce (106 a 120 dias), médio (121 a 135 dias), tardio (136 a 150 dias), muito tardio (>150 dias) (SOSBAI, 2007);

- Número de colmos/planta: após a emergência, foram contadas e marcadas as plantas contidas em 1 m linear, sendo contado o número de colmos no mesmo local até 67 dias após a emergência;

- Estatura das plantas: distância média, em centímetros, medida da superfície do solo ao ápice da panícula;

- Acamamento: suscetibilidade ao acamamento de plantas, determinado por avaliação visual com base na porcentagem de plantas acamadas na época da colheita. Classificação: 1 – sem acamamento; 2 – até 25% de plantas acamadas; 3 – de 25 a 50%; 4 – de 50 a 75%; 5 – acima de 75% de plantas acamadas;

- Degrane da panícula: avaliação feita por ocasião da colheita, considerando-se a quantidade de grãos debulhados após pressionar levemente a panícula com as mãos. Classificação: fácil (mais de 50% dos grãos degranados), intermediário (de 25 a 50%) e difícil (menos de 25%);

- Ângulo da folha bandeira: refere-se ao ângulo formado pela folha bandeira e o colmo. Classificação: ereto (menor do que 30°), intermediário (entre 31 e 60°) e horizontal (entre 61 a 90°);

- Pubescência da folha: determinada através de leve contato digital, no sentido da extremidade até a base da folha. Classificação: ausente (glabra) ou presente (pilosa);

- Arista: definida como o segmento filamentoso que ocorre no ápice da espiguetta ou do grão. Classificação: grão aristado, grão semiaristado e grão mútico (sem arista);

- Coloração das glumelas (casca): determinada de acordo com a escala: amarelo-palha, dourada, manchas marrons, estrias marrons, marrom, avermelhada, manchas púrpuras, estrias púrpuras, púrpura ou preta;

- Produtividade: determinada através da colheita manual, em área de 4,76m² (4,0 x 1,019 m), quando os grãos apresentavam umidade média de 20%. Após a trilha, limpeza e pesagem dos grãos com casca, os dados foram corrigidos para 13% de umidade e convertidos em kg ha⁻¹;

- Incidência de doenças: avaliação visual, considerando: sem incidência, incidência muito baixa, baixa e intermediária;
- Cor do pericarpo: avaliação do grão descascado, sem polimento. Classificação: marrom-claro, vermelho ou preto;
- Comprimento e largura do grão sem casca (cariopse): medida em milímetros, em uma amostra de 30 grãos, sem polimento, com auxílio de paquímetro;
- Relação comprimento/largura (C/L) do grão sem casca e forma do grão (cariopse): classificado com base na relação comprimento/largura dos grãos descascados, sem polimento, considerando-se a escala: arredondada (C/L menor do que 1,50), semi-arredondada (C/L entre 1,50 e 2,00), meio-alongada (C/L entre 2,01 e 2,75), alongada (C/L entre 2,76 e 3,50) e muito alongada (C/L maior do que 3,50);
- Teor de amilose: determinado por reação iodométrica (MARTÍNES & CUEVAS, 1989) e expresso em % de amilose no amido, em base seca. Classificação: baixo (< 22%), intermediário (23-27%) e alto (28-32%);
- Temperatura de gelatinização: determinada indiretamente através do grau de dispersão e clarificação do arroz (MARTÍNES & CUEVAS, 1989). Classificação: alta (74 a 80°C), intermediária (69 a 73°C) e baixa (63 a 68°C).

Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi conduzido no delineamento blocos ao acaso, com quatro repetições. Os dados de estatura, produtividade e teor de amilose foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Resultados e discussão

Diferença foi observada entre as variedades avaliadas para o ciclo (Tabela 1), sendo que quatro apresentaram ciclo precoce (Irga 417, Epagri, PB 13 e IAC 600), duas ciclo médio (PB 1 e PB 5) e duas ciclo tardio (PB 4 e PB 11). Não foi observada diferença significativa no número de colmos por planta para as variedades, sendo que todas apresentaram perfil semelhante de perfilhamento (Figura 1). Essas duas avaliações não foram realizadas para os ecótipos devido à grande variabilidade observada durante o desenvolvimento das plantas, dificultando sua determinação.

Normalmente, plantas de arroz com pericarpo vermelho, principalmente aquelas consideradas daninhas à lavoura, são associadas a algumas características, como maior estatura do que as cultivares modernas, colmos finos, folhas decumbentes, alto vigor e alta

capacidade de perfilhamento, alto percentual de degrane e sementes com dormência (DIARRA et al., 1985; NOLDIN et al., 1999), sendo algumas dessas características observadas nos genótipos avaliados neste trabalho.

A estatura das plantas diferiu para os materiais avaliados, de 84,2 a 142,1cm (Tabela 1), sendo que, de forma geral, os ecótipos apresentaram as maiores estaturas, com exceção do Ec2D (95,1cm), e as variedades apresentaram as menores estaturas, com exceção de Epagri (113,9 cm) e PB 1 (141,5 cm). Em geral, plantas altas são mais propensas ao acamamento, entretanto esse também é influenciado por outros fatores, como diâmetro e resistência do colmo, intensidade dos ventos, adubação nitrogenada e disponibilidade de água (FONSECA et al., 2007). Quanto a essa característica, os ecótipos avaliados, com maior estatura, apresentaram maior índice de acamamento de plantas (Tabela 1). Baixo índice de acamamento (até 25% de plantas acamadas) foi observado para a variedade PB 1, com alta estatura, sendo que as outras variedades não sofreram acamamento. Resultado similar foi observado para o degrane, sendo as variedades resistentes ao degrane e os ecótipos suscetíveis (Tabela 1).

Em relação às características da folha bandeira (Tabela 1), as variedades apresentaram ângulo da folha bandeira ereto, com exceção da Epagri, de ângulo intermediário. Para os ecótipos foi observada grande variação, sendo Ec1B, Ec2A, Ec2C, Ec2D, Ec3B e Ec4A com ângulo ereto, Ec1A e Ec2B com ângulo intermediário, e Ec3A e Ec4A com folhas decumbentes. Todos os materiais apresentaram folhas pilosas, com exceção do genótipo Epagri, com folha glabra.

Foi observada variação entre os materiais quanto à presença de aristas (Tabela 1). A maioria deles não apresentou arista (Epagri, PB 1, PB 4, PB 5, PB 11, IAC 600, Ec1B, Ec2A, Ec2C, Ec2D, Ec3B, Ec3C e Ec4A), sendo semi-aristados os grãos da variedades Irga 417 e PB 13, e aristados os ecótipos Ec1A, Ec2B e Ec3A. Dos 18 genótipos avaliados, 13 apresentaram glumelas amarelo-palha, com os materiais IAC 600, Ec2A, Ec3A e Ec3B apresentando manchas marrons nas glumelas (Tabela 1).

A produtividade dos genótipos avaliados variou de 3.087 a 10.897 kg ha⁻¹ (Tabela 1), sendo a produtividade da variedade IRGA 417 significativamente maior do que a dos outros materiais. Alta produtividade também foi observada para as variedades PB 11 (7.725 kg ha⁻¹), PB 5 (7.594 kg ha⁻¹), PB 13 (7.200 kg ha⁻¹) e PB 4 (6.864 kg ha⁻¹), com menores produtividades obtidas para Epagri (5.971 Kg ha⁻¹), PB 1 (3.703 Kg ha⁻¹) e IAC 600 (3.087 Kg ha⁻¹), sendo que não foi avaliada a produtividade dos ecótipos. Como pode-se observar, existem genótipos com pericarpo vermelho com boa produtividade a campo, viabilizando sua

produção comercial. Além disso, sob as condições deste ensaio, todos os materiais apresentaram baixa incidência de doenças (Tabela 1).

Em relação às características dos grãos (Tabela 2), os genótipos apresentaram variabilidade no comprimento e largura do grão descascado integral, com valores de 5,66 a 7,63mm de comprimento e 1,90 a 3,09mm de largura (Tabela 2). A relação entre esses dois parâmetros é utilizada para determinar a forma do grão. A maioria dos grãos enquadraram-se nas formas meio-alongada (C/L entre 2,01 e 2,75) (PB 1, PB 5, PB 11, IAC 600, Ec1A, Ec3A, Ec3B, Ec3C, Ec4A) e alongada (C/L entre 2,76 e 3,50) (Epagri, PB 13, Ec1B, Ec2A, Ec2B, Ec2C, Ec2D), com exceção do IRGA 417 (muito alongada; C/L > 3,5) e do PB 4 (semi-arredondada; C/L entre 1,50 e 2,00). A forma do grão pode ser relacionada a sua posterior classificação para consumo, a qual considera as dimensões do grão polido. Essas características variam bastante entre países e regiões, sendo que no Brasil a preferência é pelo consumo de grãos mais alongados.

A qualidade de cocção do arroz também é importante para o mercado, sendo relacionada principalmente às propriedades do amido, como teor de amilose e temperatura de gelatinização (Tabela 2). Dos genótipos avaliados, somente o IAC 600 apresentou baixo teor de amilose (17,82%), com todos os outros apresentando teores intermediários a altos (24,94 a 28,04%). Em relação à temperatura de gelatinização, essa foi alta para os genótipos Epagri, PB 1, PB 11, PB 13, Ec3A, Ec3B e Ec3C; intermediária para PB 4, PB 5, Ec1A, Ec2A, Ec2B, Ec2C, Ec2D e Ec4A; e baixa para IRGA 417, IAC 600 e Ec1B. De forma geral, grãos com baixo teor de amilose apresentam-se aquosos e pegajosos com o cozimento; com alto teor apresentam-se secos e soltos com o cozimento, endurecendo após o resfriamento; enquanto grãos com teor intermediário apresentam-se pouco aquosos, soltos e macios, mesmo após o resfriamento. Já para a temperatura de gelatinização, grãos com alta temperatura requerem mais água e tempo para cozinhar, enquanto aqueles com temperatura intermediária e baixa requerem menos tempo e água para o cozimento (FONSECA et al., 2007). Dessa forma, considerando o mercado brasileiro, cuja preferência é por grãos com rápido cozimento, que fiquem secos e soltos após cozidos e que permaneçam macios mesmo após o resfriamento (CASTRO et al., 1999), os grãos mais adequados são aqueles com teor de amilose intermediário a alto e com temperatura de gelatinização intermediária a baixa, características observadas para a maioria dos grãos avaliados neste trabalho.

Dessa forma, pelos resultados obtidos pode-se concluir que existe variabilidade entre os genótipos para a maioria das características avaliadas, tanto aquelas relacionadas à planta

como ao grão. Essa variabilidade poderia ser utilizada no melhoramento genético para a obtenção de novas variedades com características diferenciadas, em adição às já existentes.

Tabela 1 - Caracterização dos genótipos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto avaliados

	Ciclo (dias) ¹	Estat. (cm) ^{2,11}	Acam. ³	Degr. ⁴	AFB ⁵	Pubesc. ⁶	Arista ⁷	CG ⁸	Prod. (kg ha ⁻¹) ^{9,11}	Doenças ¹⁰
Irga 417	P (107)	84,2 ± 2,4 ^e	1	D	E	P	S	AP	10.897 ± 66 ^a	MP (b)
Epagri	P (102)	113,9 ± 9,4 ^c	1	D	I	A	M	AP	5.971 ± 538 ^c	MP (b)
PB 1	M (123)	141,5 ± 10,4 ^a	2	D	E	P	M	AP	3.703 ± 888 ^d	MP (b)
PB 4	T (136)	94,0 ± 3,7 ^d	1	D	E	P	M	AP	6.864 ± 542 ^{bc}	MP (mb)
PB 5	M (123)	95,7 ± 2,5 ^d	1	D	E	P	M	AP	7.594 ± 850 ^b	MP (mb)
PB 11	T (136)	96,1 ± 2,0 ^d	1	D	E	P	M	AP	7.725 ± 535 ^b	MP (mb)
PB 13	P (114)	94,9 ± 3,0 ^d	1	D	E	P	S	AP	7.200 ± 279 ^{bc}	SMF
IAC 600	P (94)	84,3 ± 4,4 ^e	1	D	E	P	M	MM	3.087 ± 261 ^d	RZ (b)
Ec1A	- ¹²	115,9 ± 5,8 ^c	4	F	I	P	A	AP	- ¹²	MP (b)
Ec1B	-	141,1 ± 1,6 ^a	4	F	E	P	M	AP	-	MP (b)
Ec2A	-	113,4 ± 2,5 ^c	4	F	E	P	M	MM	-	MP (b)
Ec2B	-	123,6 ± 4,6 ^b	4	F	I	P	A	AP	-	MP (b)
Ec2C	-	127,8 ± 3,8 ^b	4	F	E	P	M	AP	-	MP (b)
Ec2D	-	95,1 ± 3,0 ^d	2	F	E	P	M	AP	-	MP (b)
Ec3A	-	134,6 ± 12,3 ^a	4	F	D	P	A	MM	-	MP (i)
Ec3B	-	142,1 ± 12,4 ^a	4	F	E	P	M	MM	-	MP (b)
Ec3C	-	140,5 ± 4,5 ^a	4	F	D	P	M	AP	-	MP (i)
Ec4A	-	140,1 ± 0,8 ^a	4	F	E	P	M	AP	-	MP (b)

¹ Ciclo: P = precoce (106 a 120 dias), M = médio (121 a 135 dias), T = tardio (136 a 150 dias); ² estatura; ³ acamamento de plantas: 1 – sem acamamento, 2 – até 25% de plantas acamadas, 3 – de 25 a 50%, 4 – de 50 a 75%, 5 – acima de 75%; ⁴ degrane: F = fácil, M = médio, D = difícil; ⁵ ângulo da folha bandeira: E = ereto, I = intermediário, D = decumbente; ⁶ pubescência da folha bandeira: A = ausente (glabra), P = presente (pilosa); ⁷ presença de arista nos grãos: A = aristado, S = semiaristado, M = mútico (sem arista); ⁸ cor das glumelas: AP = amarelo-palha, MM = palha com manchas marrons; ⁹ produtividade; ¹⁰ Doenças: MP = mancha-parda, RZ = rizoctônia, SMF = sem manchas foliares – Incidência: i = intermediária, b = baixa, mb = muito baixa; ¹¹ resultados expressos como média ± desvio padrão, sendo que médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro; ¹² as avaliações de ciclo e produtividade não foram realizadas para os ecótipos.

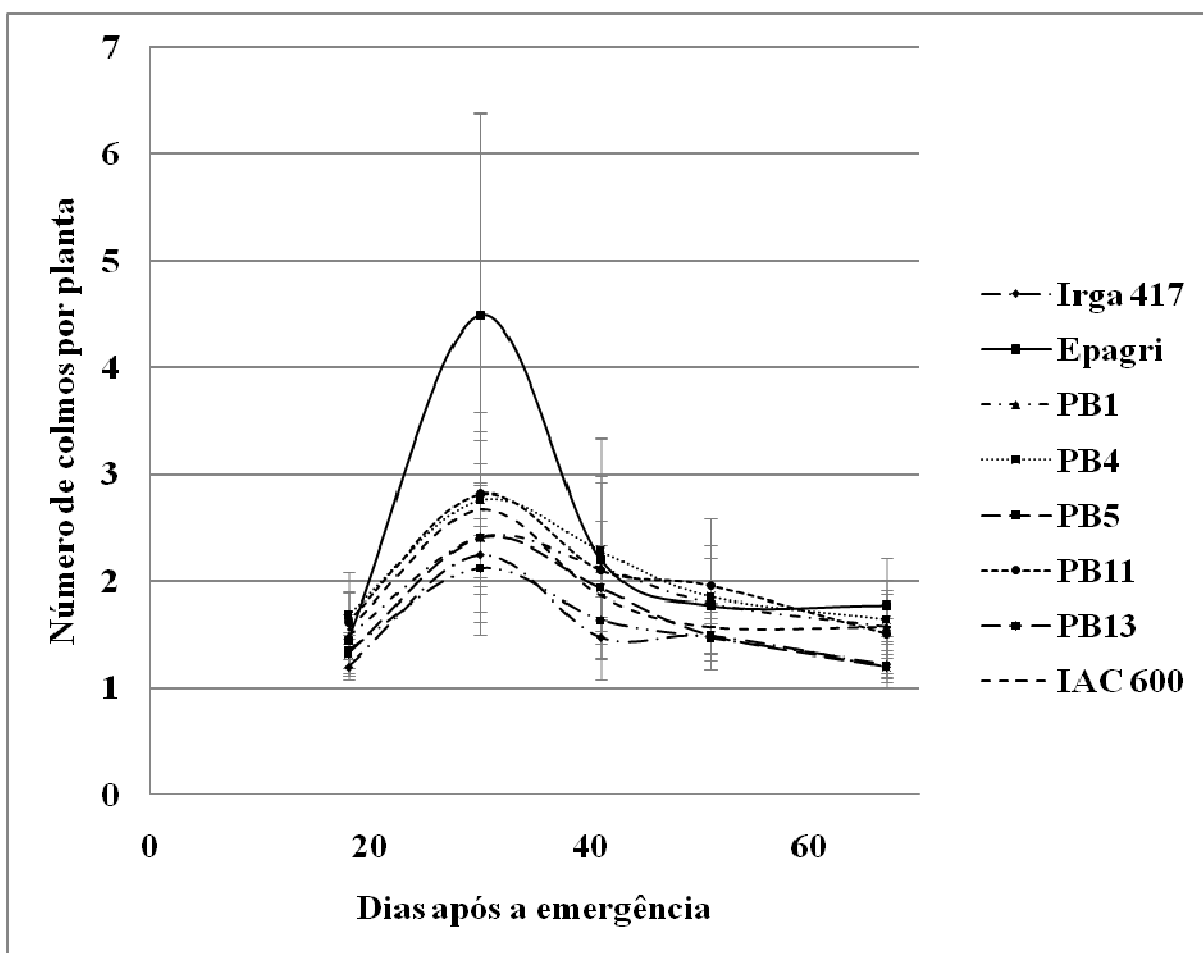


Figura 1 - Evolução do número de colmos por planta para as variedades de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto avaliadas. Barras de erro representam o intervalo de confiança a 5% de probabilidade de erro.

Tabela 2 - Características dos grãos e características relacionadas à qualidade culinária dos genótipos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto avaliados

	CP ¹	C (mm) ^{2,7}	L (mm) ^{3,7}	C/L ⁴	Amilose (%) ^{5,7,8}	TG ⁶
Irga 417	MC	7,09 ± 0,32	1,90 ± 0,15	3,74	26,81 ± 0,03 ^a (I)	B
Epagri	V	7,63 ± 0,38	2,51 ± 0,13	3,02	23,21 ± 0,14 ^c (I)	A
PB 1	V	6,66 ± 0,31	3,00 ± 0,25	2,22	26,72 ± 0,83 ^a (I)	A
PB 4	V	5,94 ± 0,20	3,09 ± 0,14	1,92	27,56 ± 1,07 ^a (I/A)	I
PB 5	V	5,66 ± 0,26	2,65 ± 0,17	2,14	25,68 ± 0,65 ^b (I)	I
PB 11	V	6,06 ± 0,23	2,82 ± 0,13	2,15	24,70 ± 0,17 ^b (I)	A
PB 13	V	7,07 ± 0,26	2,47 ± 0,11	2,86	25,98 ± 0,16 ^b (I)	A
IAC 600	P	5,73 ± 0,37	2,58 ± 0,15	2,22	17,82 ± 0,21 ^d (B)	B
Ec1A	V	6,82 ± 0,46	2,54 ± 0,18	2,68	27,62 ± 0,35 ^a (I/A)	I
Ec1B	V	6,79 ± 0,47	2,43 ± 0,28	2,80	27,06 ± 0,06 ^a (I/A)	B
Ec2A	V	6,75 ± 0,36	2,24 ± 0,18	3,01	26,56 ± 0,46 ^a (I)	I
Ec2B	V	7,07 ± 0,33	2,26 ± 0,25	3,13	27,20 ± 0,37 ^a (I/A)	I
Ec2C	V	6,81 ± 0,30	2,31 ± 0,17	2,95	24,94 ± 0,16 ^b (I)	I
Ec2D	V	6,78 ± 0,48	2,33 ± 0,16	2,91	25,92 ± 1,31 ^b (I)	I
Ec3A	V	5,93 ± 0,38	2,61 ± 0,16	2,27	28,04 ± 0,71 ^a (A)	A
Ec3B	V	6,36 ± 0,27	2,68 ± 0,25	2,38	26,52 ± 1,17 ^a (I)	A
Ec3C	V	6,47 ± 0,27	2,85 ± 0,21	2,27	25,86 ± 0,13 ^b (I)	A
Ec4A	V	6,25 ± 0,30	2,72 ± 0,26	2,30	24,96 ± 0,25 ^b (I)	I

¹ cor do pericarpo: MC = marrom-claro, V = vermelho, P = preto; ² comprimento do grão sem casca; ³ largura do grão sem casca; ⁴ relação comprimento/largura do grão sem casca; ⁵ teor de amilose do grão: B = baixo (< 22%), I = intermediário (23-27%), A = alto (28-32%); ⁶ temperatura de gelatinização: A = alta (74 a 80°C), I = intermediária (69 a 73°C), B = baixa (63 a 68°C); ⁷ resultados expressos como média ± desvio padrão; ⁸ médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Referências bibliográficas

CASTRO, E. M. et al. **Qualidade de grãos em arroz**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. (Embrapa Arroz e Feijão, Circular Técnica, n. 34).

DIARRA, A.; SMITH Jr, R. J.; TALBERT, R. E. Growth and morphological characteristics of red rice (*Oryza sativa*) biotypes. **Weed Science**, Lawrence, v. 33, n. 1, p. 310-314, Jan. 1985.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). **Sistema brasileiro de classificação dos solos**. Brasília: Embrapa-SPI, 1999.

FONSECA, J. R.; CUTRIM, V. A.; RANGEL, P. H. N. **Descritores morfo-agronômicos e fenológicos de cultivares comerciais de arroz de várzeas**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002.

FONSECA, J. R. et al. **Descrição morfológica, agronômica, fenológica e culinária de alguns tipos especiais de arroz (*Oryza sativa* L.)**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2007.

MARTÍNEZ, C.; CUEVAS, F. **Evaluación de la calidad culinária y molinera del arroz**: guía de estudio para ser usada como complemento de la unidad audiotutorial sobre el mismo tema. Cali, Colômbia: CIAT, 1989.

NOLDIN, J. A.; CHANDLER, J. M., McCAULEY, G. N. Red rice (*Oryza sativa*) biology. I. Characterization of red rice ecotypes. **Weed Technology**, Lawrence, v. 13, n. 1, p. 12-18, Jan. 1999.

SOSBAI – Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Pelotas: SOSBAI, 2007.

CAPÍTULO 4

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE GRÃOS DE ARROZ COM PERICARPO MARROM-CLARO, VERMELHO E PRETO¹

Chemical composition of rice grains with light-brown, red and black pericarp color

Resumo

Grãos de arroz com pericarpa vermelho e preto, além das características organolépticas, podem apresentar diferenças na composição química comparados àqueles com pericarpa marrom-claro. Dessa forma, o presente trabalho foi desenvolvido para avaliar a composição química de grãos integrais de genótipos de arroz com pericarpa marrom-claro, vermelho e preto. Foram avaliados grãos integrais de 10 ecótipos e seis variedades de arroz com pericarpa vermelho, uma com pericarpa preto e uma com pericarpa marrom-claro, cultivados em ensaio de campo na safra 2006/07, sob iguais condições de cultivo, em área de várzea da Universidade Federal de Santa Maria, RS. Foram determinados os teores de carboidratos totais, amilose, fibra alimentar (total, solúvel e insolúvel), proteína, lipídios, matéria mineral e minerais. Observou-se diferença significativa na composição química entre grãos com pericarpa marrom-claro, vermelho e preto, principalmente no teor de fibra e minerais, indicando variabilidade entre os materiais na composição química. Além disso, alguns genótipos de arroz vermelho e preto se destacaram por possuírem maior concentração de certos componentes avaliados, como proteína, fósforo, cálcio, magnésio, potássio, ferro, manganês ou zinco.

Palavras-chave: arroz integral, proteína, minerais, arroz vermelho, arroz preto

Abstract

Rice grains with red and black pericarp color, besides their organoleptic characteristics, may present differences in the chemical composition compared to those with light-brown pericarp color. So, the present research aimed at evaluating the chemical composition of brown rice grains from genotypes with light-brown, red and black pericarp color. Brown grains of 10 rice ecotypes and six cultivars with red pericarp, one with black pericarp and one with light-brown pericarp color were evaluated. The grains were obtained in

¹ O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasil.

the 2006/07 growing season, under equal growing conditions, in the experimental area of Universidade Federal de Santa Maria, RS. The contents of total carbohydrates, amylose, fiber, protein, lipids, mineral matter and minerals were determined. Significant difference was observed in the chemical composition among rice grains with light-brown, red and black pericarp color, especially for the content of fiber and minerals, indicating variability among genotypes in the chemical composition. Besides, some red and black pericarp genotypes stood out with higher concentration of some of the components evaluated, like protein, phosphorus, calcium, magnesium, potassium, iron, manganese or zinc.

Key words: brown rice, protein, minerals, red rice, black rice

Introdução

O arroz (*Oryza sativa*) é considerado um dos principais componentes da dieta de grande parte da população mundial, e por isso sua composição pode afetar a saúde humana. Ele é excelente fonte de energia, devido à alta concentração de amido, apresentando quantidades menores de proteínas, lipídios, fibras e minerais. Entretanto, a composição química do grão está sujeita a influências varietais, variações ambientais, de manejo, de processamento e de armazenamento (ZHOU et al., 2002), originando um alimento com características nutricionais diferenciadas.

Dentre os fatores que influenciam a composição química do arroz, as diferenças entre variedades tornam-se importantes, podendo ser utilizadas no processo de melhoramento genético para a obtenção de genótipos com características nutricionais diferenciadas. A variabilidade rotineiramente observada entre genótipos com pericarpo marrom-claro, cujos grãos são considerados padrão para consumo na maioria dos países, também é observada para grãos com pericarpo vermelho e preto.

O arroz com pericarpo vermelho e preto é utilizado na alimentação em diversos países, principalmente na Ásia, mas também na região Nordeste do Brasil, onde o consumo de arroz vermelho é um hábito alimentar da população local, sendo relacionado principalmente as suas características sensoriais diferenciadas. Porém, pesquisas demonstram que alguns genótipos com pericarpo vermelho e preto também podem apresentar diferenças nas características nutricionais em relação ao arroz com pericarpo marrom-claro, como maior teor de proteínas (GOTO et al., 1996; MATSUE & OGATA, 1998) e minerais (GOTO et al., 1996; ZHANG et al., 2004; MENG et al., 2005; YANG et al., 1998).

Dessa forma, o presente trabalho foi desenvolvido a fim de avaliar a composição química de grãos integrais de genótipos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto.

Material e métodos

Material experimental

Os grãos utilizados no presente trabalho foram multiplicados em ensaio de campo na safra 2006/07, sob iguais condições de cultivo, na área de várzea sistematizada do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, RS.

Para semeadura foram utilizados 10 ecótipos de arroz com pericarpo vermelho coletados por pesquisadores do Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) em lavouras de diferentes regiões do Rio Grande do Sul, denominados Ec1A, Ec1B, Ec2A, Ec2B, Ec2C, Ec2D, Ec3A, Ec3B, Ec3C e Ec4A; cinco variedades de arroz com pericarpo vermelho de cultivo tradicional na região Nordeste do Brasil, coletadas pela Embrapa Meio-Norte, denominadas PB1, PB4, PB5, PB11 e PB13; uma variedade com pericarpo vermelho desenvolvida pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), denominada Epagri; uma variedade de arroz com pericarpo preto desenvolvida pelo Instituto Agrônomo Campinas (IAC), denominada IAC 600; e uma variedade de arroz com pericarpo marrom-claro do IRGA, denominada Irga 417. Esses materiais genéticos compuseram os tratamentos.

Após a colheita, os grãos foram secos até 13% de umidade, com temperatura da massa de grãos não ultrapassando 40°C.

Beneficiamento dos grãos

Para as avaliações laboratoriais foram utilizados grãos integrais, beneficiados em provador de arroz Zaccaria (PAZ-1), observando a ausência de estrias durante a descascagem, indicando que não houve perda de farelo no processo. Posteriormente, os grãos foram moídos a fim de obter tamanho de partícula adequado para as análises.

Composição química

Os teores de umidade, matéria mineral, proteína e fibra alimentar (fibra total, solúvel e insolúvel) foram determinados segundo metodologias descritas na AOAC (1995), o teor de lipídios pelo método de Bligh & Dyer (1959), o teor de amilose por reação iodométrica (MARTÍNEZ & CUEVAS, 1989), o teor de carboidratos totais foi determinado por diferença

(100 – umidade – cinzas – gordura – proteína – fibra) e o teor de minerais por metodologia descrita por Tedesco et al. (1995).

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o completamente casualizado. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Resultados e discussão

Os grãos de arroz avaliados apresentaram teores de carboidratos totais entre 75,97 e 81,01% (variação de 6,2%) (Tabela 1). Esses resultados são semelhantes aos de Frei et al. (2003), que obtiveram teores entre 72 e 82% avaliando grãos integrais com pericarpo marrom-claro. Esses dados indicam que fatores genéticos, além dos ambientais, influenciam a concentração de carboidratos no grão. O arroz, assim como outros cereais, é rico em carboidratos, principalmente amido, sendo por isso utilizado como fonte de energia na alimentação. Diferenças no conteúdo de carboidratos entre genótipos podem afetar a quantidade de energia fornecida pelos grãos na alimentação. Entretanto, deve-se ressaltar que, além das variações na concentração, são observadas diferenças na taxa e extensão da digestão do amido, que podem ser influenciadas pela variação na proporção amilose:amilopectina, processamento do grão, propriedades físico-químicas, tamanho de partícula e presença de complexos lipídio-amilose (GODDARD et al., 1984), afetando algumas respostas metabólicas importantes no organismo. Dessa forma, o teor de carboidratos não pode ser utilizado como único indicador dos efeitos metabólicos do amido do arroz, sendo importantes também outros fatores, como o teor de amilose.

O amido é composto por cadeias de amilose e amilopectina, e a proporção em que estas cadeias aparecem difere entre genótipos, podendo-se classificar os grãos como conteúdo de amilose baixo (< 22%), intermediário (23-27%) e alto (28-32%) (MARTÍNES & CUEVAS, 1989). Nos grãos avaliados, os valores variaram entre 17,82 e 28,04% (variação de 36,4%) (Tabela 1), com a maioria apresentando teor de amilose de intermediário a alto, com exceção da variedade IAC 600 (teor de amilose baixo). Além da importância do conteúdo de amilose para a qualidade tecnológica e de consumo do arroz (grãos com maior teor de amilose apresentam-se mais soltos após o cozimento), este também afeta a resposta metabólica ao grão consumido. O maior teor de amilose no arroz, assim como em outros alimentos amiláceos, resulta em menor resposta glicêmica e insulinêmica (GODDARD et al., 1984;

MILLER et al., 1992) e reduz os lipídios séricos em indivíduos hiperlipidêmicos (JENKINS et al., 2002), auxiliando na prevenção e tratamento de doenças como o diabetes (VELANGI et al., 2005) e problemas cardiovasculares (JENKINS et al., 2002).

Os polissacarídeos não digeridos pelas enzimas no trato gastrointestinal, como celulose, hemiceluloses, amido resistente e pectinas, fazem parte da fração fibra alimentar, que pode ser dividida em solúvel e insolúvel. Foi observada diferença significativa nos teores de fibra total nos grãos avaliados, com valores entre 6,78 e 10,68% (variação de 36,5%) (Tabela 1). Embora seja importante, o teor de fibra total não pode ser considerado de forma isolada, uma vez que seus efeitos fisiológicos estão relacionados à proporção das frações solúvel e insolúvel. Essa proporção apresentou grande variação, com teores de fibra insolúvel entre 2,62 e 6,29% (variação de 58,3%) e de fibra solúvel entre 1,48 e 7,09% (variação de 79,1%). A diferença na proporção entre as frações da fibra é importante, pois apresentam diferentes efeitos no organismo humano. De forma geral, a fibra insolúvel aumenta o bolo fecal e reduz o tempo de trânsito intestinal (MOORE et al., 1998), podendo auxiliar na prevenção da constipação. Já a fibra solúvel aumenta o tempo de trânsito através do trato gastrointestinal, retarda o esvaziamento gástrico, diminui a absorção de glicose (MOORE et al., 1998) e altera o metabolismo hepático do colesterol (GUILLON & CHAMP, 2000). Além disso, por não ser digerida pelas enzimas do trato gastrointestinal, a fibra torna-se disponível para fermentação pela microflora do intestino grosso, originando ácidos graxos de cadeia curta, com diferentes efeitos no organismo (GUILLON & CHAMP, 2000). Portanto, os efeitos dessas frações irão depender não só da quantidade ingerida, mas também da predominância de uma fração em relação à outra e do sinergismo que pode ocorrer entre elas.

O teor de proteína nos grãos variou de 7,50 a 9,36% (variação de 19,9%) (Tabela 1), valores próximos ao teor médio (8%) em grãos integrais de arroz. Entretanto, são relatadas grandes variações nesse nutriente, com valores entre 4,3 e 18,2% (LUMEN & CHOW, 1995), devido a características genótípicas, adubação nitrogenada, radiação solar e temperatura durante o desenvolvimento do grão (JULIANO & BECHTEL, 1985; GRAHAM et al., 1999). No presente trabalho, a variedade PB 4, de pericarpo vermelho, destacou-se pelo teor de proteína significativamente maior do que os outros grãos avaliados. Entretanto, os outros genótipos com pericarpo vermelho e preto apresentaram teor de proteína igual ou inferior àquele da variedade com pericarpo marrom-claro. Devido à importância do arroz na dieta de grande parte da população, torna-se importante a avaliação de genótipos e identificação de materiais com maior teor de proteína, a fim de aumentar a quantidade deste nutriente, visando tanto propriedades nutricionais como tecnológicas, já que grãos com maior teor de proteína

apresentam-se mais soltos após o cozimento (ONG & BLANSHARD, 1995), característica desejada no arroz consumido no País.

O arroz apresenta baixo teor de lipídios, sendo observados teores entre 2,62 e 3,54% (variação 25,8%) nos grãos avaliados no presente trabalho (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Taira & Itani (1988) e Storck (2004) que, avaliando grãos integrais com pericarpo marrom-claro, obtiveram valores entre 2,3-3,2% e 1,2-3,4%, respectivamente. Pode-se observar que, dos 17 materiais com pericarpo vermelho ou preto avaliados, nove apresentaram teor de lipídios significativamente maior do que o genótipo com pericarpo marrom-claro, entretanto dentro da variação observada para diferentes genótipos em outros trabalhos. Esses lipídios, localizados principalmente nas camadas externas do grão, diminuem a estabilidade do arroz integral durante o armazenamento, sendo necessárias medidas adequadas de conservação para retardar o processo oxidativo, que altera as características organolépticas do grão, e aumentar sua vida de prateleira.

O teor de matéria mineral dos grãos variou de 1,09 a 2,08% (variação de 47,6%) (Tabela 1). Alguns pesquisadores observaram maior conteúdo de matéria mineral em grãos de arroz com pericarpo vermelho e preto comparado àqueles com pericarpo marrom-claro (GOTO et al., 1996). Entretanto o mesmo não foi observado no presente trabalho, onde o teor de matéria mineral foi significativamente igual ou menor para os materiais com pericarpo vermelho e preto. Apesar da grande variação observada para o teor de matéria mineral, esse não é um bom preditor do valor nutricional, pois não revela a quantidade de cada mineral isoladamente.

Portanto, foram avaliados os teores de fósforo, cálcio, magnésio, potássio, ferro, manganês e zinco (Tabela 2). Pode-se observar grande variabilidade no conteúdo de minerais entre os genótipos, com variação de 70,4% para fósforo, 96,3% para cálcio, 52,6% para magnésio, 47,7% para potássio, 76,3% para ferro, 62,5% para manganês e 55,1% para zinco. Para todos os minerais avaliados, pode-se observar que alguns genótipos de arroz com pericarpo vermelho e preto apresentam concentração significativamente maior do que o genótipo com pericarpo marrom-claro. Outros pesquisadores também relataram maior concentração de alguns minerais em grãos com pericarpo vermelho e preto, como ferro (ZHANG et al., 2004; MENG et al., 2005), zinco (YANG et al., 1998; ZHANG et al., 2004), manganês e fósforo (ZHANG et al., 2004). Entretanto, deve-se lembrar que a maior concentração de minerais não significa necessariamente maior quantidade de minerais absorvidos pelo organismo, visto que a biodisponibilidade pode ser afetada pela presença de outros compostos no grão, como fibra e ácido fítico (HUNT et al., 2002). Essa variabilidade

na concentração de alguns minerais, principalmente ferro e zinco (principais deficiências de micronutrientes da população mundial), é importante no desenvolvimento de pesquisas para melhorar a qualidade nutricional do grão de arroz.

Pelos resultados obtidos pode-se concluir que existe diferença significativa na composição química entre grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto, principalmente no teor de fibra e minerais, sendo que alguns genótipos de arroz com pericarpo vermelho e preto se destacaram por possuírem maior concentração de certos componentes avaliados, como proteína, fósforo, cálcio, magnésio, potássio, ferro, manganês e zinco. Essa variabilidade pode ser utilizada tanto com benefícios na alimentação, assim como fonte de variabilidade para o melhoramento genético para a obtenção de genótipos com características diferenciadas.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro, e ao Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) e à Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) pelo fornecimento do material genético.

Tabela 1 - Composição química (% na matéria seca) de grãos integrais de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto

	CT ¹	Aml ²	FT ³	FI ⁴	FS ⁵	Ptn ⁶	Lip ⁷	MM ⁸
Irga 417	79,05 ± 0,50 ^a	26,81 ± 0,03 ^a	8,03 ± 0,11 ^c	3,66 ± 0,03 ^b	4,37 ± 0,09 ^b	8,30 ± 0,11 ^b	2,81 ± 0,34 ^b	1,84 ± 0,01 ^a
Epagri	77,88 ± 0,02 ^b	23,21 ± 0,14 ^c	9,25 ± 0,21 ^b	6,29 ± 0,68 ^a	2,96 ± 0,46 ^d	8,26 ± 0,33 ^b	3,35 ± 0,07 ^a	1,26 ± 0,06 ^c
PB 1	78,96 ± 0,82 ^a	26,72 ± 0,83 ^a	9,20 ± 0,59 ^b	4,21 ± 0,23 ^b	4,98 ± 0,37 ^b	7,86 ± 0,04 ^c	2,90 ± 0,22 ^b	1,09 ± 0,03 ^c
PB 4	79,20 ± 0,14 ^a	27,56 ± 1,07 ^a	7,23 ± 0,28 ^d	5,75 ± 0,01 ^a	1,48 ± 0,27 ^e	9,36 ± 0,08 ^a	2,92 ± 0,09 ^b	1,29 ± 0,04 ^c
PB 5	79,37 ± 0,01 ^a	25,68 ± 0,65 ^b	8,52 ± 0,04 ^b	4,00 ± 0,73 ^b	4,52 ± 0,69 ^b	7,75 ± 0,24 ^c	3,21 ± 0,07 ^a	1,14 ± 0,13 ^c
PB 11	78,30 ± 0,36 ^b	24,70 ± 0,17 ^b	9,03 ± 0,58 ^b	5,28 ± 0,20 ^a	3,74 ± 0,37 ^c	7,86 ± 0,01 ^c	3,32 ± 0,27 ^a	1,49 ± 0,04 ^b
PB 13	76,78 ± 0,01 ^b	25,98 ± 0,16 ^b	10,14 ± 0,49 ^a	5,00 ± 0,25 ^a	5,14 ± 0,25 ^b	8,66 ± 0,49 ^b	2,62 ± 0,11 ^b	1,80 ± 0,11 ^a
IAC 600	75,97 ± 0,13 ^b	17,82 ± 0,21 ^d	9,94 ± 0,24 ^a	4,99 ± 0,55 ^a	4,94 ± 0,31 ^b	7,50 ± 0,18 ^c	3,54 ± 0,07 ^a	1,78 ± 0,16 ^a
Ec1A	81,01 ± 0,18 ^a	27,62 ± 0,35 ^a	7,19 ± 0,18 ^d	5,08 ± 0,30 ^a	2,10 ± 0,12 ^e	7,78 ± 0,01 ^c	2,86 ± 0,13 ^b	1,16 ± 0,13 ^c
Ec1B	78,71 ± 1,30 ^a	27,06 ± 0,06 ^a	7,96 ± 0,83 ^c	3,92 ± 0,18 ^b	4,04 ± 0,65 ^c	8,16 ± 0,16 ^b	3,30 ± 0,24 ^a	1,88 ± 0,08 ^a
Ec2A	79,22 ± 0,87 ^a	26,56 ± 0,46 ^a	7,80 ± 0,74 ^c	4,22 ± 0,29 ^b	3,58 ± 0,45 ^c	8,51 ± 0,01 ^b	2,68 ± 0,05 ^b	1,78 ± 0,08 ^a
Ec2B	77,00 ± 0,61 ^b	27,20 ± 0,37 ^a	10,68 ± 0,30 ^a	3,60 ± 0,12 ^b	7,09 ± 0,18 ^a	7,61 ± 0,35 ^c	2,96 ± 0,01 ^b	1,74 ± 0,04 ^a
Ec2C	80,46 ± 0,07 ^a	24,94 ± 0,16 ^b	6,92 ± 0,21 ^d	3,05 ± 0,34 ^c	3,88 ± 0,14 ^c	7,70 ± 0,08 ^c	3,10 ± 0,14 ^a	1,82 ± 0,09 ^a
Ec2D	79,56 ± 1,13 ^a	25,92 ± 1,31 ^b	6,78 ± 0,18 ^d	4,48 ± 0,50 ^b	2,76 ± 0,32 ^d	8,20 ± 0,09 ^b	2,92 ± 0,05 ^b	2,08 ± 0,16 ^a
Ec3A	79,87 ± 0,25 ^a	28,04 ± 0,71 ^a	7,32 ± 0,33 ^d	5,50 ± 0,73 ^a	1,84 ± 0,40 ^e	7,84 ± 0,19 ^c	3,19 ± 0,08 ^a	1,78 ± 0,01 ^a
Ec3B	77,36 ± 0,80 ^b	26,52 ± 1,17 ^a	9,60 ± 0,58 ^b	2,62 ± 0,55 ^c	6,98 ± 0,02 ^a	7,79 ± 0,44 ^c	3,26 ± 0,08 ^a	1,99 ± 0,15 ^a
Ec3C	77,98 ± 1,27 ^b	25,86 ± 0,13 ^b	9,50 ± 0,63 ^b	5,96 ± 0,23 ^a	3,56 ± 0,40 ^c	7,60 ± 0,45 ^c	3,07 ± 0,10 ^a	1,84 ± 0,08 ^a
Ec4A	78,78 ± 0,12 ^a	24,96 ± 0,25 ^b	8,56 ± 0,02 ^b	5,31 ± 0,27 ^a	3,25 ± 0,25 ^d	8,27 ± 0,07 ^b	2,74 ± 0,08 ^b	1,65 ± 0,11 ^a

¹ carboidratos totais; ² amilose; ³ fibra total; ⁴ fibra insolúvel; ⁵ fibra solúvel; ⁶ proteína (N x 5,95); ⁷ lipídios; ⁸ matéria mineral; resultados expressos como média ± desvio padrão; médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Tabela 2 - Teor de fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) (mg 100g⁻¹, em base seca) de grãos integrais de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto

	P	Ca	Mg	K	Fe	Mn	Zn
Irga 417	426,6 ± 39,7 ^c	15,3 ± 2,4 ^h	61,1 ± 6,4 ^c	299,2 ± 13,2 ^b	4,4 ± 0,8 ^b	2,9 ± 0,4 ^b	5,8 ± 1,1 ^b
Epagri	385,0 ± 59,6 ^c	18,4 ± 1,6 ^h	72,4 ± 8,1 ^c	271,8 ± 17,9 ^b	4,8 ± 0,9 ^b	2,8 ± 0,5 ^b	6,0 ± 1,2 ^b
PB 1	176,2 ± 20,1 ^e	34,6 ± 2,4 ^g	67,6 ± 8,8 ^c	297,2 ± 14,1 ^b	5,2 ± 0,6 ^b	2,5 ± 0,3 ^c	7,8 ± 1,1 ^a
PB 4	349,5 ± 24,1 ^d	26,1 ± 0,8 ^h	77,8 ± 3,3 ^b	347,2 ± 28,9 ^a	3,8 ± 0,8 ^c	3,4 ± 0,1 ^a	3,5 ± 0,3 ^b
PB 5	274,4 ± 37,5 ^d	15,4 ± 2,4 ^h	100,2 ± 5,7 ^a	272,6 ± 20,5 ^b	6,5 ± 1,1 ^a	2,6 ± 0,6 ^b	4,4 ± 0,8 ^b
PB 11	360,3 ± 33,8 ^d	18,4 ± 1,6 ^h	92,5 ± 8,9 ^b	286,4 ± 2,7 ^b	3,0 ± 0,6 ^c	1,6 ± 0,5 ^c	4,7 ± 0,5 ^b
PB 13	495,0 ± 28,7 ^b	22,0 ± 1,6 ^h	111,3 ± 8,2 ^a	390,2 ± 10,8 ^a	2,9 ± 0,3 ^c	4,0 ± 0,5 ^a	4,0 ± 0,3 ^b
IAC 600	325,4 ± 1,6 ^d	208,6 ± 2,5 ^a	82,4 ± 5,8 ^b	382,4 ± 2,7 ^a	2,6 ± 0,8 ^c	1,5 ± 0,1 ^c	4,1 ± 0,9 ^b
Ec1A	308,2 ± 16,6 ^d	17,5 ± 2,4 ^h	87,6 ± 12,0 ^b	395,2 ± 31,6 ^a	5,2 ± 0,5 ^b	3,0 ± 0,4 ^b	4,6 ± 0,8 ^b
Ec1B	405,1 ± 36,7 ^c	14,8 ± 3,2 ^h	91,7 ± 14,4 ^b	296,4 ± 28,2 ^b	4,0 ± 0,7 ^c	2,6 ± 0,4 ^b	5,2 ± 0,7 ^b
Ec2A	295,8 ± 12,0 ^d	7,8 ± 1,6 ^h	79,8 ± 4,8 ^b	361,4 ± 13,1 ^a	2,8 ± 0,4 ^c	2,1 ± 0,2 ^c	4,4 ± 0,1 ^b
Ec2B	188,0 ± 17,6 ^e	13,4 ± 3,2 ^h	105,5 ± 4,8 ^a	206,8 ± 30,6 ^c	7,6 ± 0,8 ^a	3,3 ± 0,4 ^b	5,8 ± 0,7 ^b
Ec2C	595,0 ± 18,2 ^a	42,4 ± 4,0 ^g	82,6 ± 6,4 ^b	359,1 ± 39,6 ^a	5,0 ± 0,4 ^b	3,1 ± 0,3 ^b	4,4 ± 0,7 ^b
Ec2D	462,5 ± 49,2 ^b	57,6 ± 1,6 ^f	83,1 ± 0,8 ^b	347,0 ± 44,0 ^a	5,7 ± 0,7 ^b	4,0 ± 0,5 ^a	7,4 ± 1,1 ^a
Ec3A	316,3 ± 57,0 ^d	113,4 ± 14,3 ^e	65,0 ± 4,8 ^c	326,6 ± 19,2 ^a	4,2 ± 1,2 ^b	3,0 ± 0,3 ^b	7,8 ± 1,3 ^a
Ec3B	304,4 ± 49,3 ^d	137,2 ± 1,6 ^d	52,8 ± 8,0 ^c	331,5 ± 56,0 ^a	4,5 ± 0,8 ^b	2,9 ± 0,3 ^b	5,2 ± 0,6 ^b
Ec3C	256,3 ± 4,5 ^e	174,5 ± 4,0 ^c	87,0 ± 5,6 ^b	373,4 ± 16,6 ^a	1,8 ± 0,3 ^c	1,8 ± 0,1 ^c	5,1 ± 0,7 ^b
Ec4A	230,0 ± 12,0 ^e	192,2 ± 4,0 ^b	85,8 ± 4,0 ^b	342,2 ± 21,8 ^a	3,0 ± 0,7 ^c	2,2 ± 0,3 ^c	5,4 ± 0,7 ^b

Resultados expressos como média ± desvio padrão; médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Referências bibliográficas

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 16th ed. Washington: AOAC, 1995.

BLIGH, E. C.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v. 37, n. 8, p. 911-917, Aug. 1959.

FREI, M. et al. Studies on in vitro starch digestibility and the glycemic index of six different indigenous rice cultivars from the Philippines. **Food Chemistry**, Oxford, v. 83, n. 3, p. 395-402, Nov. 2003.

GODDARD, M. S. et al. The effect of amylose content on insulin and glucose responses to ingested rice. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 39, n. 3, p. 388-392, Mar. 1984.

GOTO, M.; MURAKAMI, Y.; YAMANAKA, H. Comparison of palatability and physicochemical properties of boiled rice among red rice, Koshihikari and Minenishiki. **Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology**, Tokyo, v. 43, n. 7, p. 821-824, Jul. 1996.

GRAHAM, R. et al. Breeding for micronutrient density in edible portions of staple food crops: conventional approaches. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 60, n. 1-2, p. 57-80, Jan. 1999.

GUILLON, F.; CHAMP, M. Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. **Food Research International**, Oxford, v. 33, n. 3-4, p. 233-245, Apr. 2000.

HUNT, J. R.; JOHNSON, L. K.; JULIANO, B. O. Bioavailability of zinc from cooked Philippine milled, undermilled, and brown rice, as assessed in rats by using growth, bone zinc and zinc-65 retention. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 18, p. 5229-5235, Aug. 2002.

JENKINS, D. J. A. et al. Glycemic index: overview of implications in health and disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 76, n. 1, p. 266S-273S, Jul. 2002.

JULIANO, B. O.; BECHTEL, D. B. The rice grain and its gross composition. In: JULIANO, B. O. (Ed.). **Rice: chemistry and technology**. Minnesota: American Association of Cereal Chemists, 1985. Cap. 2, p. 17-57.

LUMEN, B. O.; CHOW, H. Nutritional quality of rice endosperm. In: LUH, B. S. (Ed.). **Rice utilization** - vol II. 2nd ed. New York: Van Nostrand Reinhold Pub., 1995. Cap. 15, p. 363-395.

MARTÍNEZ, C.; CUEVAS, F. **Evaluación de la calidad culinária y molinera del arroz:** guía de estudio para ser usada como complemento de la unidad audiotutorial sobre el mismo tema. Cali, Colômbia: CIAT, 1989.

MATSUE, Y.; OGATA, T. Physicochemical and mochi-making properties of the native red and black-kerneled glutinous rice cultivars. **Plant Production Science**, Tokyo, v. 1, n. 2, p. 126-133, Apr. 1998.

MENG, F.; WEI, Y.; YANG, X. Iron content and bioavailability in rice. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Oxford, v. 18, n. 4, p. 333-338, Jun. 2005.

MILLER, J. B. et al. Rice: a high or low glycemic index food? **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 56, n. 6, p. 1034-1036, Dec. 1992.

MOORE, M. A.; PARK, C. B.; TSUDA, H. Soluble and insoluble fiber influences on cancer development. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, Oxford, v. 27, n. 3, p. 229-242, Apr. 1998.

ONG, M. H.; BLANSHARD, J. M. V. Texture determinants in cooked, parboiled rice I: rice starch amylose and the fine structure of amylopectin. **Journal of Cereal Science**, Oxford, v. 21, n. 3, p. 251-260, May. 1995.

STORCK, C. R. **Variação na composição química em grãos de arroz submetidos a diferentes beneficiamentos**. 2004. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

TAIRA, H.; ITANI, T. Lipid content and fatty acid composition of brown rice of cultivars of the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 36, n. 3, p. 460-462, May. 1988.

TEDESCO, M. J. et al. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995.

VELANGI, A. et al. Evaluation of a glucose meter for determining the glycemic responses of foods. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 356, n. 1-2, p. 191-198, Jun. 2005.

YANG, X. et al. Genotypic differences in concentrations of iron, manganese, copper, and zinc in polished rice grains. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 21, n. 7, p. 1453-1462, Jul. 1998.

ZHANG, M. W.; GUO, B. J.; PENG, Z. M. Genetic effects on Fe, Zn, Mn and P contents in *Indica* Black pericarp rice and their genetic correlations with grains characteristics. **Euphytica**, Amsterdam, v. 135, n. 3, p. 315-323, Mar. 2004.

ZHOU, Z. et al. Composition and functional properties of rice. **International Journal of Food Science and Technology**, Chester, v. 37, n. 8, p. 849-868, Dec. 2002.

CAPÍTULO 5

CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES DE GRÃOS DE ARROZ COM PERICARPO MARROM-CLARO, VERMELHO E PRETO, E EFEITO DO PROCESSAMENTO¹

Characterization of the antioxidant properties of rice grains with light-brown, red and black pericarp color, and the effect of processing

Resumo

A concentração de compostos fenólicos no arroz pode ser afetada por diferentes fatores, como genótipo, cor do pericarpo e processamento do grão. Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a concentração de compostos fenólicos solúveis totais e a atividade antioxidante de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto, bem como, o efeito do processamento sobre a concentração de compostos fenólicos no grão. Foram avaliados grãos de 10 ecótipos e seis variedades de arroz com pericarpo vermelho, uma com pericarpo preto e uma com pericarpo marrom-claro, cultivados em ensaio de campo na safra 2006/07, sob iguais condições de cultivo, em área de várzea da Universidade Federal de Santa Maria, RS. Foram determinadas a concentração de compostos fenólicos solúveis totais e a atividade antioxidante dos grãos submetidos a diferentes processamentos (integral, polido, parboilizado integral e parboilizado polido), sendo a concentração de compostos fenólicos solúveis totais também avaliada comparando grãos crus e cozidos. Foi observada diferença significativa na concentração de compostos fenólicos solúveis totais e na atividade antioxidante entre genótipos, sendo os maiores valores encontrados nos grãos com pericarpo vermelho e preto, com correlação positiva e significativa entre estes parâmetros. A parboilização reduziu a concentração de compostos fenólicos solúveis totais nos grãos devido à perda de parte desses compostos na água de processamento, decomposição térmica e, possivelmente, interação com outros componentes, sendo essa redução relacionada à menor atividade antioxidante nesses grãos. De forma semelhante, o cozimento também reduziu a concentração de compostos fenólicos, principalmente nos grãos integrais e polidos.

Palavras-chave: compostos fenólicos, atividade antioxidante, arroz integral, arroz parboilizado, arroz polido

¹ O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasil.

Abstract

The concentration of phenolic compounds in rice is affected by different factors, like genotype, pericarp color and grain processing. So, the present work aimed at evaluating the concentration of total soluble phenolic compounds and the antioxidant activity of rice grains with light-brown, red and black pericarp color, and the effect of processing on the concentration of phenolic compounds in the grain. Brown rice grains of 10 ecotypes and six cultivars with red pericarp, one with black pericarp and one with light-brown pericarp color were evaluated. The grains were obtained in the 2006/07 growing season, under equal growing conditions, in the experimental area of Universidade Federal de Santa Maria, RS. The concentration of total soluble phenolic compounds and the antioxidant activity of rice grains with different processing (brown, polished, parboiled brown and parboiled polished) were determined, and the concentration of total soluble phenolic compounds was also determined in raw and cooked grains. Significant difference was observed in the concentration of total soluble phenolic compounds and in the antioxidant activity among genotypes, with the higher values obtained for grains with red and black pericarp color, with a positive and significant correlation between these parameters. Parboiling reduced the concentration of total soluble phenolic compounds in the grains due to the loss of part of them in the processing water, thermal decomposition and, possibly, interaction with other components, and this reduction is related to the lower antioxidant activity in these grains. In a similar way, cooking also reduced the concentration of phenolic compounds, especially in brown and polished grains.

Key words: phenolic compounds, antioxidant activity, brown rice, parboiled rice, polished rice

Introdução

Os compostos fenólicos (polifenóis) são encontrados em ampla variedade de alimentos, incluindo frutas, verduras e grãos, sendo que a concentração e o tipo de compostos variam entre os diferentes alimentos devido a fatores genéticos e ambientais, bem como, condições de processamento (KRIS-ETHERTON et al., 2002). Dessa forma, a quantidade de polifenóis na dieta é bastante variada, dependendo do tipo e quantidade de alimento consumido.

Nesse sentido, o arroz, sendo um dos principais alimentos na dieta de grande parte da população, pode apresentar papel importante na concentração de antioxidantes ingerida

diariamente. Vários compostos fenólicos já foram identificados nesse cereal, principalmente ácidos fenólicos e antocianinas (HUDSON et al., 2000; OKI et al., 2002; HU et al., 2003; GOFFMAN & BERGMAN, 2004; TIAN et al., 2004; ZHOU et al., 2004; CHEN et al., 2006; YAWADIO et al., 2007), e pesquisas têm demonstrado correlação positiva entre a concentração de fenólicos no grão e a atividade antioxidante (GOFFMAN & BERGMAN, 2004; ZHANG et al., 2006), como já observado para outros alimentos ricos nesses compostos.

O tipo e a concentração de polifenóis no grão variam entre genótipos, sendo relacionados principalmente à cor do pericarpo. Normalmente, grãos com pericarpo vermelho e preto apresentam maior concentração de compostos fenólicos do que aqueles com pericarpo marrom-claro (TIAN et al., 2004; ZHOU et al., 2004). Além disso, a concentração desses compostos também é afetada pelo processamento. No arroz, os polifenóis estão associados principalmente ao pericarpo, que é removido durante o processo para obtenção do grão polido, principal forma de consumo de arroz no País, reduzindo a concentração desses compostos no grão (HU et al., 2003; ZHOU et al., 2004). O arroz também pode passar pela parboilização, processo hidrotérmico através do qual se obtém o arroz parboilizado; e obrigatoriamente pelo cozimento, previamente ao seu consumo, sendo que pouco se sabe sobre o impacto desses dois processos sobre os polifenóis presentes no grão.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a concentração de compostos fenólicos solúveis totais e a atividade antioxidante de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto, bem como estudar o efeito do processamento sobre a concentração de compostos fenólicos no grão.

Material e métodos

Material experimental

Os grãos utilizados no presente trabalho foram multiplicados em ensaio de campo na safra 2006/07, sob iguais condições de cultivo, na área de várzea sistematizada do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, RS.

Para semeadura foram utilizados 10 ecótipos de arroz com pericarpo vermelho coletados por pesquisadores do Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) em lavouras de diferentes regiões do Rio Grande do Sul, denominados Ec1A, Ec1B, Ec2A, Ec2B, Ec2C, Ec2D, Ec3A, Ec3B, Ec3C e Ec4A; cinco variedades de arroz com pericarpo vermelho de cultivo tradicional na região Nordeste do Brasil, coletadas pela Embrapa Meio-Norte, denominadas PB1, PB4, PB5, PB11 e PB13; uma variedade com pericarpo vermelho desenvolvida pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina

(Epagri), denominada Epagri; uma variedade de arroz com pericarpo preto desenvolvida pelo Instituto Agrônomo Campinas (IAC), denominada IAC 600; e uma variedade de arroz com pericarpo marrom-claro do IRGA, denominada Irga 417. Esses materiais genéticos compuseram os tratamentos.

Após a colheita, os grãos foram secos até 13% de umidade, com temperatura da massa de grãos não ultrapassando 40°C.

Beneficiamento dos grãos

Para as avaliações laboratoriais, os grãos foram submetidos a diferentes tipos de processamento: integral, polido, parboilizado integral e parboilizado polido, avaliados na forma crua e cozida. Para a obtenção dos grãos integrais, os mesmos foram descascados em provador de arroz Zaccaria (PAZ-1), observando a ausência de estrias nos grãos, indicando que não houve perda de farelo no processo. Para o arroz polido, os grãos descascados foram submetidos a polimento, para remoção das camadas externas do grão. A parboilização das amostras foi realizada conforme metodologia adaptada de Elias et al. (1996). Os grãos com casca foram submetidos à encharcamento (razão massa de grãos:água de 1:1,5) em água aquecida a $65\pm 2^{\circ}\text{C}$, por 300min, e autoclavados a $116\pm 1^{\circ}\text{C}$ (pressão de $0,6\pm 0,05$ KPa), por 10 min. Após esse processo as amostras foram secas até $13\pm 1\%$ de umidade, com temperatura da massa de grãos não ultrapassando 40°C. Para a obtenção do arroz parboilizado integral, os grãos foram descascados, e para o arroz parboilizado polido, eles foram descascados e polidos. Para a avaliação do arroz cozido, os grãos foram cozidos em proporção massa de grãos:água de 1:2,5 por aproximadamente 30min, e posteriormente foi realizada secagem em estufa com circulação de ar a 50°C. Os grãos foram moídos a fim de obter tamanho de partícula adequado para as análises.

Análises laboratoriais

Para a avaliação da concentração de compostos fenólicos solúveis totais e da atividade antioxidante, foi realizada a extração das amostras seguindo metodologia modificada de Iqbal et al. (2005) e Pérez-Jiménez & Saura-Calixto (2005). Um grama de amostra foi homogeneizado com 20mL de metanol 80% em tubo tipo Falcon de 50mL e colocado em agitador por 1h, a temperatura ambiente. Após esse período, as amostras foram centrifugadas por 10min a 3.000rpm e o sobrenadante foi separado. Ao resíduo foi adicionado 20mL de metanol 80% pH 2,0 e realizado o mesmo procedimento de agitação, centrifugação e separação do sobrenadante. Adicionou-se 20mL de acetona 70% ao resíduo, seguindo

novamente os mesmos passos de agitação, centrifugação e separação do sobrenadante. Os três sobrenadantes foram misturados e posteriormente utilizados para as análises de compostos fenólicos solúveis totais e atividade antioxidante. As extrações foram conduzidas em triplicada.

A concentração de compostos fenólicos solúveis totais foi avaliada pela metodologia de Folin-Ciocalteu (SINGLETON et al., 1999; IQBAL et al., 2005). Uma alíquota de 80µL de extrato (amostra) foi diluída com 2.000µL de água destilada, adicionou-se 200µL de reagente Folin-Ciocalteu 0,25N e esperou-se 3min antes de adicionar 1.000µL de carbonato de sódio 7,5%. A mistura de reação foi incubada por 2h a temperatura ambiente, no escuro, para completar a reação. A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 765nm. Para o branco, foram utilizados os mesmos reagentes, mas utilizando metanol ao invés de amostra. Uma curva padrão de ácido gálico foi utilizada e os resultados foram calculados como equivalente ácido gálico (mg EAG) por 100g de grão (em base seca). As reações foram conduzidas em triplicada, obtendo-se média desses resultados.

A atividade antioxidante foi avaliada através da atividade seqüestrante de radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). Antes do início da análise, o espectrofotômetro foi zerado com metanol e a solução de DPPH foi diluída com metanol até atingir absorbância de $1,1 \pm 0,02$ a 515nm. 100µL de extrato (amostra) foi combinado com 1900µL de solução de DPPH. Um branco foi conduzido simultaneamente contendo metanol no lugar da amostra. A mistura de reação foi incubada por 24h a temperatura ambiente, no escuro, para completar a reação. A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 515nm. Quando a absorbância foi inferior a 0,2 as amostras foram diluídas e analisadas novamente. A atividade antioxidante foi estimada como equivalente Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) (mmol ET) por g de grão (em base seca), por comparação com uma curva padrão. As reações foram conduzidas em triplicada, obtendo-se média desses resultados.

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o completamente casualizado. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Resultados e discussão

A concentração de compostos fenólicos solúveis totais diferiu significativamente entre os genótipos (Tabela 1), com variação de 93%. As maiores concentrações de compostos fenólicos solúveis totais foram observadas para os grãos com pericarpo vermelho e preto, as quais foram 7 a 15 vezes maiores do que para aqueles com pericarpo marrom-claro. Resultados semelhantes foram obtidos por Goffman & Bergman (2004), com concentração de polifenóis entre 25 e 535mg EAG 100g⁻¹, e por Shen et al. (2008), com valores entre 108,1 e 1244,9mg EAG 100g⁻¹, sendo também as maiores concentrações observadas em grãos com pericarpo vermelho e preto.

Além da diferença na concentração de fenólicos solúveis totais relacionada à cor do pericarpo, observou-se também variação na concentração destes compostos em grãos com a mesma cor do pericarpo. Por exemplo, para os grãos com pericarpo vermelho, a concentração variou de 478,72 a 972,99 mg EAG 100g⁻¹, sugerindo grande variação nessa característica dentro do grupo.

Diversas pesquisas têm demonstrado a atividade antioxidante de compostos fenólicos de diferentes fontes. No presente trabalho, a atividade antioxidante, expressa como equivalente Trolox (ET), diferiu significativamente entre os genótipos avaliados (Tabela 1), com variação de 93%. A menor atividade antioxidante foi observada para o arroz com pericarpo marrom-claro, de 8 a 14 vezes menor do que aquela observada para os grãos com pericarpo vermelho e preto, indicando diferença na atividade antioxidante dos grãos relacionada à cor do pericarpo. Maior atividade antioxidante de grãos com pericarpo vermelho e preto também foi observada por Shen et al. (2008) utilizando ensaio ABTS.

Assim como na concentração de compostos fenólicos solúveis totais, também foi observada diferença na atividade antioxidante em grãos com a mesma cor do pericarpo, variando de 37,19 a 68,83mmol ET g⁻¹ grão naqueles com pericarpo vermelho, demonstrando variabilidade nessa característica dentro do grupo.

A atividade antioxidante dos extratos obtidos está correlacionada positiva e significativamente ($R^2=0,9099$) com a concentração de compostos fenólicos solúveis totais (Figura 1), indicando que esses compostos são os principais responsáveis pela atividade antioxidante nos extratos de grãos de arroz avaliados. Correlação semelhante para grãos de arroz foi observada por Goffman & Bergman (2004) e Shen et al. (2008), sendo também observada para outros alimentos, como amora, mirtilo, linhaça, trigo, aveia e ginseng, entre outros (VELIOGLU et al., 1998; ADOM & LIU, 2002; CHOI et al., 2007; CÉSPEDES et al., 2008). Ensaios *in vitro* e *ex vivo* têm demonstrado correlação entre a atividade antioxidante e

a redução do estresse oxidativo de extratos obtidos de grãos de arroz com pericarpo vermelho e preto, com diferentes efeitos, como auxílio na prevenção ao câncer (HUDSON et al., 2000; HU et al., 2003; HYUN & CHUNG, 2004; CHEN et al., 2006), no controle dos lipídios sanguíneos e doenças relacionadas (LING et al., 2001) e na prevenção das complicações do diabetes (MORIMITSU et al., 2002; YAWADIO et al., 2007), sugerindo que grãos de arroz com maior concentração de compostos fenólicos, assim como observado para outros alimentos ricos em polifenóis, poderiam apresentar efeitos benéficos à saúde. Entretanto, ainda são necessários mais estudos para comprovar esse possível efeito benéfico do arroz *in vivo*.

Para avaliar o efeito do processamento na concentração de compostos fenólicos no arroz, foram realizadas avaliações em grãos integrais, polidos, parboilizados integrais e parboilizados polidos (Tabela 2).

O polimento reduziu significativamente a concentração de compostos fenólicos solúveis totais para todos os genótipos pesquisados (Tabela 2). Avaliando a distribuição dos polifenóis no grão de arroz, observou-se que no genótipo com pericarpo marrom-claro 62% dos compostos fenólicos estão presentes no pericarpo, enquanto nos grãos com pericarpo vermelho e preto esse valor variou entre 92% e 97% (Figura 2). Esses resultados demonstram que, no arroz, os compostos fenólicos estão principalmente associados ao pericarpo. Por isso, o processo de polimento, ao remover as camadas mais externas do grão, reduz significativamente a concentração destes compostos no arroz polido.

Outro processo utilizado na industrialização do arroz é a parboilização. Nesse processo, os grãos com casca são submetidos à encharcamento em água aquecida ($65\pm 2^{\circ}\text{C}$, 300min), autoclavados ($116\pm 1^{\circ}\text{C}$, 10 min) e secos (40°C), e posteriormente beneficiados para obtenção do arroz parboilizado integral e parboilizado polido. Para o arroz parboilizado integral, comparado ao arroz integral, foi observada redução significativa na concentração de compostos fenólicos solúveis totais (Tabela 2), com redução de 48,6% para grãos com pericarpo marrom-claro, de 73,0 a 87,0% para grãos com pericarpo vermelho e de 32,8% para grãos com pericarpo preto. Essa redução na concentração de polifenóis nos grãos parboilizados integrais pode estar relacionada à perda de fenólicos na água de parboilização, decomposição térmica ou interação com outros componentes do grão.

Os polifenóis, devido a suas características químicas, são solúveis em água e, dessa forma, parte dos compostos pode ser solubilizada na água de parboilização. Concentrações de compostos fenólicos entre 10,77 e 39,24mg EAG (provenientes da parboilização de 100g de

arroz com casca) foram observadas na água de parboilização, demonstrando que pequena parte da redução na concentração de polifenóis nos grãos parboilizados deve-se a esse fato.

Além disso, por se tratar de um processo térmico, deve-se considerar o efeito da temperatura da parboilização sobre os polifenóis. Diversos trabalhos têm demonstrado que compostos fenólicos de diferentes alimentos podem sofrer decomposição sob altas temperaturas, sendo esse efeito dependente das condições de temperatura, do tempo de processamento, do tipo de compostos na amostra, entre outros (LARRAURI et al., 1997; PIGA et al., 2003). Essa decomposição leva à redução na concentração de polifenóis, como observado no presente trabalho para os grãos parboilizados.

Deve-se considerar também a possibilidade de interação dos compostos fenólicos com outros componentes do arroz. O processo de parboilização resulta em reorganização da estrutura interna do grão, principalmente de amido e proteínas, mas os polifenóis também podem ser afetados através da formação de complexos, especialmente com proteínas. Dessa forma, esses compostos tornam-se indisponíveis e, conseqüentemente, observa-se redução em sua concentração no grão parboilizado, visto que a metodologia utilizada quantifica compostos fenólicos solúveis.

Diferentemente dos grãos parboilizados integrais, para os grãos parboilizados polidos, quando comparados aos grãos polidos, não foi observada diferença significativa na concentração de compostos fenólicos solúveis totais na maioria dos genótipos avaliados (Tabela 2). Considerando que a maior parte (62 a 97%) dos polifenóis no arroz está localizada nas camadas externas do grão, que são removidas durante o polimento, com pequena concentração desses compostos no grão polido, explica-se a semelhança nos valores encontrados. Entretanto, uma exceção foi o genótipo com pericarpo preto (IAC 600), o qual apresentou concentração de polifenóis significativamente maior nos grãos parboilizados polidos comparados aos grãos polidos. Esse resultado diferenciado em relação aos outros genótipos foi obtido, pois durante o processo de polimento desses grãos parboilizados não foi possível remover totalmente as camadas externas contendo os polifenóis, permanecendo uma leve coloração roxa no grão, indicativo da presença de polifenóis no grão parboilizado polido.

Os diferentes processamentos dos grãos afetaram também a atividade antioxidante dos mesmos (Tabela 3), de forma semelhante ao efeito sobre os compostos fenólicos solúveis totais, observando-se correlação significativa entre a concentração de compostos fenólicos solúveis totais no grão e a atividade antioxidante ($R^2=0,9458$). Portanto, independente da forma de beneficiamento, a atividade antioxidante dos extratos obtidos a partir dos grãos de arroz está correlacionada à presença de compostos fenólicos.

Além dos processamentos durante a industrialização, deve-se também considerar o cozimento realizado previamente ao consumo do grão. Dessa forma, realizou-se a avaliação da concentração de polifenóis em grãos crus e cozidos de alguns dos genótipos pesquisados (Figura 3). Os grãos integrais e polidos foram os mais afetados pelo processo de cozimento, com redução de 20,9 a 72,0% na concentração de compostos fenólicos solúveis totais nos grãos integrais cozidos comparados aos crus, e de 39,6 a 62,2% para os grãos polidos cozidos. Para os grãos parboilizados, o efeito do cozimento foi menor, com redução entre 12,0 e 32,6% para grãos parboilizados integrais cozidos e entre 15,1 e 27,8% para grãos parboilizados polidos cozidos. Essa redução na concentração de polifenóis após o cozimento dos grãos está relacionada à decomposição térmica, visto que compostos fenólicos são afetados por temperaturas elevadas, como discutido anteriormente (LARRAURI et al., 1997; PIGA et al., 2003). A redução na concentração de polifenóis após o cozimento não foi tão pronunciada nos grãos parboilizados (integrais e polidos) provavelmente porque esses já haviam passado por processo hidrotérmico anterior (parboilização), com perda de parte dos compostos fenólicos.

Pelos resultados obtidos pode-se concluir que existe diferença significativa na concentração de compostos fenólicos solúveis totais e na atividade antioxidante entre genótipos, sendo os maiores valores encontrados nos grãos com pericarpo vermelho e preto, com correlação positiva e significativa entre estes dois parâmetros. A parboilização reduz a concentração de compostos fenólicos solúveis totais nos grãos devido à perda de parte desses compostos na água, decomposição térmica e, possivelmente, interação com outros componentes, e essa redução está relacionada à menor atividade antioxidante nesses grãos. Além disso, o cozimento também reduz a concentração de compostos fenólicos, principalmente nos grãos integrais e polidos, devido à decomposição térmica.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro, e ao Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) e à Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) pelo fornecimento do material genético.

Tabela 1 - Concentração de compostos fenólicos solúveis totais e atividade antioxidante de grãos integrais de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto

	CFST (mg EAG 100g ⁻¹) ¹	AAO (mmol ET g ⁻¹) ²
Irga 417	65,14 ± 0,95 ^j	4,70 ± 0,38 ^f
Epagri	794,88 ± 4,67 ^{de}	62,57 ± 2,61 ^{abc}
PB 1	761,30 ± 7,42 ^f	64,13 ± 4,13 ^{abc}
PB 4	825,00 ± 6,14 ^{cd}	65,65 ± 2,93 ^{abc}
PB 5	684,63 ± 13,15 ^g	60,24 ± 0,70 ^{bc}
PB 11	771,23 ± 8,82 ^{ef}	66,58 ± 1,35 ^{ab}
PB 13	837,65 ± 10,05 ^c	61,55 ± 2,96 ^{bc}
Ec1A	972,99 ± 4,67 ^a	68,83 ± 3,96 ^a
Ec1B	478,72 ± 13,29 ⁱ	37,19 ± 1,44 ^e
Ec2A	531,49 ± 5,88 ^h	44,42 ± 2,03 ^d
Ec2B	529,48 ± 10,43 ^h	44,31 ± 2,59 ^{de}
Ec2C	664,55 ± 6,10 ^g	50,36 ± 3,08 ^d
Ec2D	677,54 ± 8,52 ^g	49,89 ± 1,36 ^d
Ec3A	926,70 ± 3,21 ^b	66,37 ± 2,75 ^{ab}
Ec3B	787,09 ± 10,54 ^{ef}	58,65 ± 1,10 ^c
Ec3C	818,71 ± 4,13 ^{cd}	63,71 ± 0,86 ^{abc}
Ec4A	664,68 ± 13,34 ^g	49,70 ± 0,19 ^d
IAC 600	943,98 ± 25,46 ^{ab}	60,04 ± 2,07 ^{bc}

¹ compostos fenólicos solúveis totais, expresso como mg de equivalente ácido gálico -EAG- por 100g de grão, base massa seca; ² atividade antioxidante, expresso como mmol de equivalente Trolox -ET- por g de grão, base massa seca; resultados expressos como média ± desvio padrão; médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

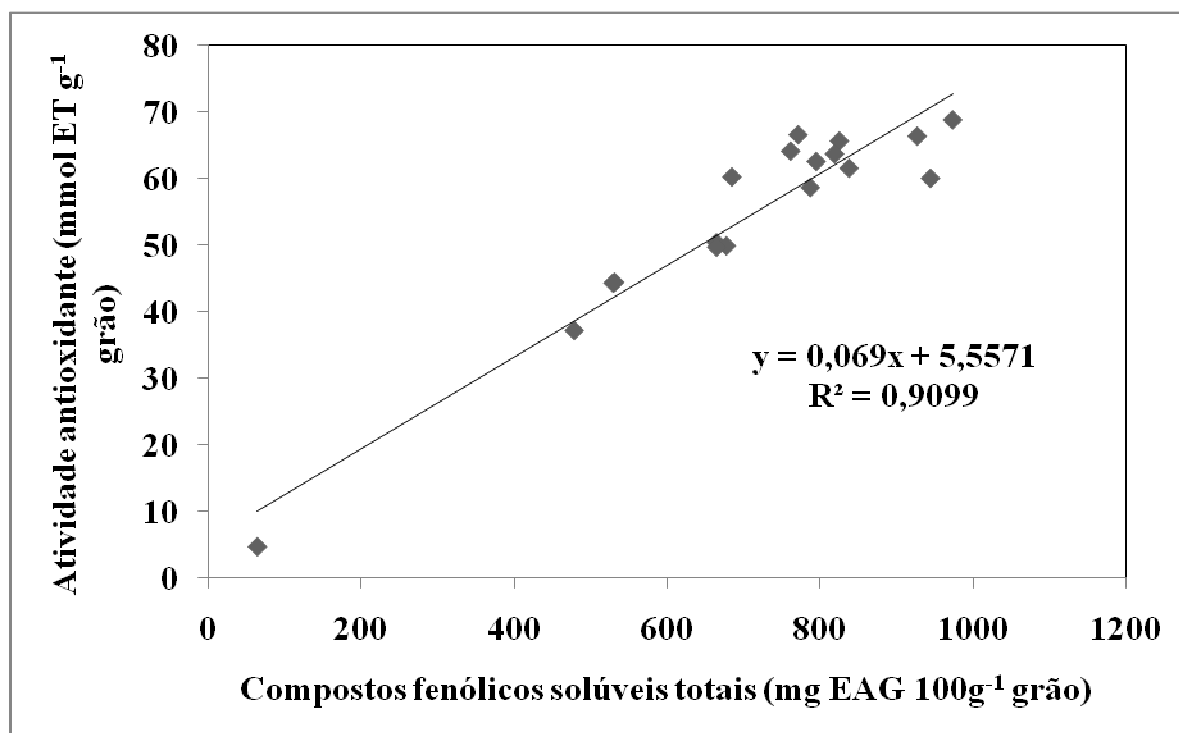


Figura 1 - Correlação entre a atividade antioxidante e a concentração de compostos fenólicos solúveis totais nos grãos integrais de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto avaliados. Compostos fenólicos solúveis totais expressos como mg de equivalente ácido gálico -EAG- por 100g de grão, base massa seca. Atividade antioxidante expressa como mmol de equivalente Trolox -ET- por g de grão, base massa seca.

Tabela 2 - Concentração de compostos fenólicos solúveis totais de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto submetidos a diferentes beneficiamentos

	Integral	Polido	Parboilizado integral	Parboilizado polido
Irga 417	^A 65,14 ± 0,95 ^g	^C 24,79 ± 0,05 ^f	^B 33,46 ± 0,08 ^f	^C 25,69 ± 0,40 ^e
Epagri	^A 794,88 ± 4,67 ^{cd}	^C 63,85 ± 0,87 ^a	^B 214,38 ± 10,69 ^b	^C 63,13 ± 0,08 ^b
PB 1	^A 761,30 ± 7,42 ^e	^C 36,58 ± 1,04 ^e	^B 173,20 ± 19,62 ^c	^C 35,47 ± 1,31 ^{de}
PB 4	^A 825,00 ± 6,14 ^{bc}	^C 42,40 ± 0,72 ^c	^B 179,53 ± 9,28 ^c	^C 40,94 ± 0,95 ^{cd}
PB 5	^A 684,63 ± 13,15 ^f	^C 24,77 ± 0,93 ^f	^B 89,14 ± 5,32 ^e	^C 29,50 ± 0,73 ^{de}
PB 11	^A 771,23 ± 8,82 ^{de}	^C 39,40 ± 0,93 ^d	^B 154,44 ± 5,45 ^{cd}	^C 36,79 ± 0,10 ^{de}
PB 13	^A 837,65 ± 10,05 ^b	^C 57,93 ± 1,63 ^b	^B 143,97 ± 1,36 ^d	^C 51,36 ± 0,38 ^{bc}
IAC 600	^A 943,98 ± 25,46 ^a	^D 40,03 ± 0,77 ^{cd}	^B 634,75 ± 3,15 ^a	^C 137,87 ± 11,73 ^a

Compostos fenólicos solúveis totais expresso como mg de equivalente ácido gálico -EAG- por 100g de grão, base massa seca; resultados expressos como média ± desvio padrão; médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

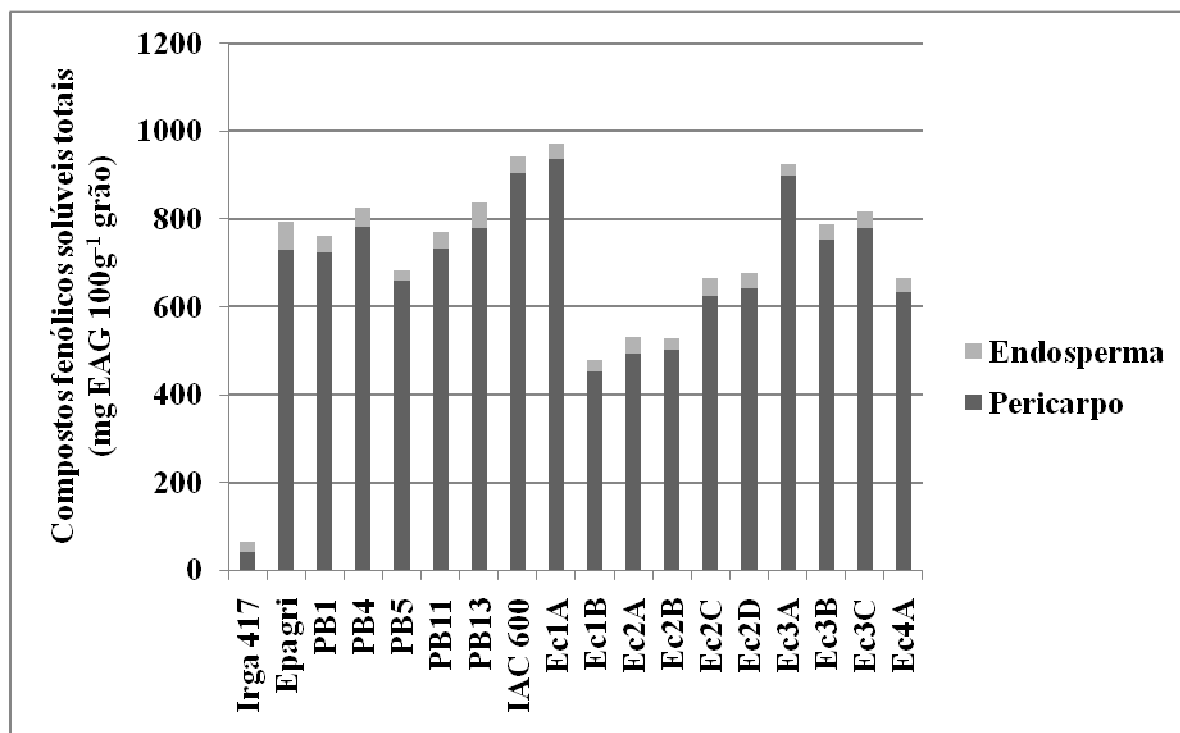


Figura 2 - Distribuição dos compostos fenólicos solúveis totais de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto. Compostos fenólicos solúveis totais expressos como mg de equivalente ácido gálico -EAG- por 100g de grão, base massa seca.

Tabela 3 - Atividade antioxidante de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto submetidos a diferentes beneficiamentos

	Integral	Polido	Parboilizado integral	Parboilizado polido
Irga 417	^A 4,70 ± 0,38 ^b	^B 3,78 ± 0,02 ^g	^B 3,88 ± 0,03 ^e	^B 3,80 ± 0,04 ^f
Epagri	^A 62,57 ± 2,61 ^a	^C 6,41 ± 0,07 ^b	^B 34,25 ± 1,95 ^b	^C 4,82 ± 0,18 ^e
PB 1	^A 64,13 ± 4,13 ^a	^C 4,82 ± 0,04 ^e	^B 31,22 ± 0,62 ^b	^C 5,01 ± 0,04 ^{de}
PB 4	^A 65,65 ± 2,93 ^a	^C 5,08 ± 0,05 ^d	^B 31,72 ± 0,47 ^b	^C 5,08 ± 0,01 ^{cde}
PB 5	^A 60,24 ± 0,70 ^a	^D 4,34 ± 0,01 ^f	^B 25,76 ± 0,08 ^c	^C 5,63 ± 0,03 ^b
PB 11	^A 66,58 ± 1,35 ^a	^C 4,65 ± 0,05 ^e	^B 18,93 ± 0,24 ^d	^C 5,20 ± 0,05 ^{cd}
PB 13	^A 61,55 ± 2,96 ^a	^C 5,66 ± 0,04 ^c	^B 18,02 ± 0,55 ^d	^C 5,35 ± 0,06 ^{bc}
IAC 600	^A 60,04 ± 2,07 ^a	^D 6,95 ± 0,03 ^a	^B 50,04 ± 1,45 ^a	^C 13,92 ± 0,02 ^a

Atividade antioxidante expressa como mmol de equivalente Trolox -ET- por g de grão, base massa seca; resultados expressos como média ± desvio padrão; médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

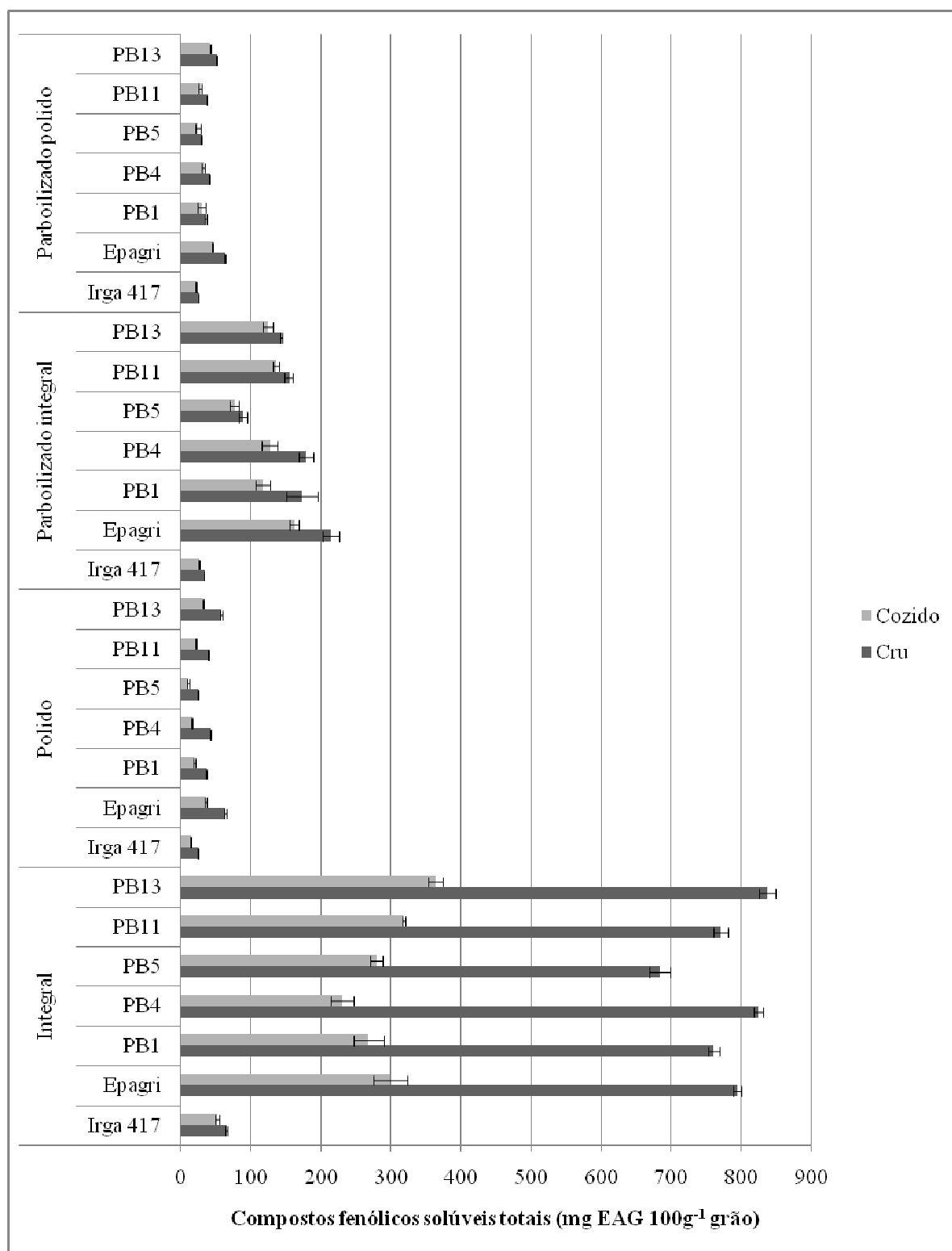


Figura 3 - Efeito do cozimento sobre a concentração de compostos fenólicos solúveis totais de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro e vermelho submetidos a diferentes beneficiamentos. Compostos fenólicos solúveis totais expressos como mg de equivalente ácido gálico -EAG- por 100g de grão, base massa seca.

Referências bibliográficas

ADOM, K. K.; LIU, R. H. Antioxidant activity of grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 21, p. 6182-6187, Oct. 2002.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 28, n. 1, p. 25-30, Jan. 1995.

CÉSPEDES, C. L. et al. Antioxidant and cardioprotective activities of phenolic extracts from fruits of Chilean blackberry *Aristotelia chilensis* (Elaeocarpaceae), Maqui. **Food Chemistry**, Oxford, v. 107, n. 2, p. 820-829, Mar. 2008.

CHEN, P. et al. Black rice anthocyanins inhibit cancer cells invasion via repressions of MMPs and u-PA expression. **Chemico-Biological Interactions**, New York, v. 163, n. 3, p. 218-229, Nov. 2006.

CHOI, Y.; JEONG, H. S.; LEE, J. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. **Food Chemistry**, Oxford, v. 103, n. 1, p. 130-138, Jan. 2007.

ELIAS, M. C. et al. **Secagem e armazenamento de grãos: sistemas, métodos e processos**. Pelotas: UFPel-FAEM-DCTA, 1996.

GOFFMAN, F. D.; BERGMAN, C. J. Rice kernel phenolic content and its relationship with antiradical efficiency. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Hoboken, v. 84, n. 10, p. 1235-1240, Aug. 2004.

HU, C. et al. Black rice (*Oryza sativa* L. *indica*) pigmented fraction suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide in chemical and biological model systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 18, p. 5271-5277, Aug. 2003.

HUDSON, E. A. et al. Characterization of potentially chemopreventive phenols in extracts of brown rice that inhibit the growth of human breast and colon cancer cells. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, Philadelphia, v. 9, n. 11, p. 1163-1170, Nov. 2000.

HYUN, J. W.; CHUNG, H. S. Cyanidin and malvidin from *Oryza sativa* cv. Heugjinjubyeo mediate cytotoxicity against human monocytic leukemia cells by arrest of G₂/M phase and induction of apoptosis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 8, p. 2213-2217, Apr. 2004.

IQBAL, S.; BHANGER, M. I.; ANWAR, F. Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. **Food Chemistry**, Oxford, v. 93, n. 2, p. 265-272, Nov. 2005.

KRIS-ETHERTON, P. M. et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **American Journal of Medicine**, Oxford, v. 113, n. 9, p. 71S-88S, Dec. 2002.

LARRAURI, J. A.; RUPRES, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 45, n. 4, p. 1390-1393, Apr. 1997.

LING, W. H. et al. Red and black rice decrease atherosclerotic plaque formation and increase antioxidant status in rabbits. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 131, n. 5, p. 1421-1426, May. 2001.

MORIMITSU, Y. et al. Inhibitory effect of anthocyanins and colored rice on diabetic cataract formation in the rat lenses. **International Congress Series**, Oxford, v. 1245, p. 503-508, Nov. 2002.

OKI, T. et al. Polymeric procyanidins as radical-scavenging components in red-hulled rice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 26, p. 7524-7529, Dec. 2002.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Literature data may underestimate the actual antioxidant capacity of cereals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 12, p. 5036-5040, Jun. 2005.

PIGA, A.; DEL CARO, A.; CORDA, G. From plums to prunes: influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 12, p. 3675-3681, Jun. 2003.

SHEN, Y. et al. Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. **Journal of Cereal Science**, Oxford, v. 49, n. 1, p. 106-111, Jan. 2009.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, Oxford, v. 299, n. 1, p. 152-178, Jan. 1999.

TIAN, S.; NAKAMURA, K.; KAYAHARA, H. Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice, and germinated brown rice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 15, p. 4808-4813, Jul. 2004.

VELIOGLU, Y. S. et al. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. 10, p. 4113-4117, Oct. 1998.

YAWADIO, R.; TANIMORI, S.; MORITA, N. Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. **Food Chemistry**, Oxford, v. 101, n. 3, p. 1616-1625, Mar. 2007.

ZHANG, M. et al. Separation, purification and identification of antioxidant compositions in black rice. **Agricultural Sciences in China**, Amsterdam, v. 5, n. 6, p. 431-440, Jun. 2006.

ZHOU, Z. et al. The distribution of phenolic acids in rice. **Food Chemistry**, Oxford, v. 87, n. 3, p. 401-406, Sep. 2004.

CAPÍTULO 6

EFEITOS FISIOLÓGICOS DE GRÃOS DE ARROZ COM PERICARPO MARROM-CLARO, VERMELHO E PRETO NA ALIMENTAÇÃO DE RATOS¹

Physiological effects of rice grains with light-brown, red and black pericarp color in the diet of rats

Resumo

O arroz, sendo um dos principais alimentos da dieta, pode apresentar papel importante no aporte de antioxidantes, auxiliando na manutenção do equilíbrio entre oxidantes e antioxidantes no organismo. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos fisiológicos de grãos integrais de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto na alimentação através de estudo *in vivo* com ratos. Foram utilizados ratos machos Wistar saudáveis, alimentados com rações contendo grãos integrais de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho ou preto, ou ração controle, durante um período experimental de 18 dias. As seguintes avaliações foram realizadas: ganho de peso, consumo de ração, peso da gordura epididimal, concentração sanguínea de glicose, triglicerídeos, colesterol total e colesterol HDL, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase no fígado, e peroxidação lipídica no sangue e no fígado. Não foi observado efeito significativo das rações contendo grãos de arroz para a maioria dos parâmetros avaliados, observando-se efeito somente sobre o peso da gordura epididimal e a atividade da enzima SOD no fígado, mas sem diferença entre os tipos de arroz. Esse aumento na atividade da enzima SOD pode indicar possível redução no estresse oxidativo no organismo, entretanto, maiores estudos são necessários.

Palavras-chave: compostos fenólicos, atividade antioxidante, superóxido dismutase

Abstract

Rice, one of the main components of the diet, may present an important role as an antioxidant source, helping in the maintenance of the equilibrium between oxidants and antioxidants in the organism. So, the present work aimed at evaluating the physiological effects of brown rice grains with light-brown, red and black pericarp color through an *in vivo*

¹ O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasil.

study with rats. Healthy male Wistar rats were used, and they were fed diets containing brown rice grains with light-brown, red or black pericarp color, or a control diet, during an experimental period of 18 days. The evaluations were: body weight gain, feed intake, epididymal fat pad weight, blood concentration of glucose, triglycerides, total cholesterol and HDL cholesterol, activity of the enzymes superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase in the liver, and lipid peroxidation in the blood and liver. No significant effect of the diets containing rice grains was observed for most of the evaluated parameters, with effect only on the weight of the epididymal fat pads and in the activity of SOD in the liver, but with no difference among rice types. This increase in the activity of SOD may indicate possible reduction in the oxidative stress in the organism, but more research is necessary.

Key words: phenolic compounds, antioxidant activity, superoxide dismutase

Introdução

Estudos têm demonstrado que uma dieta saudável está relacionada à redução no risco de desenvolvimento de algumas doenças crônicas, como câncer e problemas cardiovasculares (BIRT et al., 2001; KRIS-ETHERTON et al., 2002; STANNER et al., 2004; HOUSTON, 2005), devido à presença de diferentes compostos bioativos nos alimentos, entre eles antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos (polifenóis) (CHOI et al., 2007).

Os polifenóis são encontrados em ampla variedade de alimentos, tais como maçã, amora, cereja, uva, framboesa, frutas cítricas, cebola, espinafre, pimenta, aveia, trigo, arroz, chá preto, vinho, chocolate, entre outros (HOLDEN et al., 2005; DIMITRIOS, 2006). Esses compostos têm demonstrado maior capacidade antioxidante *in vitro* do que outros antioxidantes usuais, como o ácido ascórbico e o α -tocoferol (PULIDO et al., 2000), enfatizando a importância dos polifenóis como antioxidantes na dieta.

Dentre os alimentos que possuem polifenóis, o arroz pode apresentar papel importante no aporte de antioxidantes na dieta devido a sua importância na alimentação de grande parte da população. Pesquisas têm demonstrado relação positiva entre a concentração de compostos fenólicos no grão e a atividade antioxidante (ITANI et al., 2002; GOFFMAN & BERGMAN, 2004; ZHANG et al., 2006), indicando que o consumo de grãos com maior concentração desses compostos poderia ter efeitos benéficos à saúde, assim como já observado para outros alimentos ricos em polifenóis. Alguns pesquisadores, trabalhando com extratos obtidos a partir de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho ou preto, observaram possíveis efeitos benéficos à saúde, como redução do estresse oxidativo (LING et al., 2001;

HU et al., 2003), auxílio na prevenção ao câncer (HUDSON et al., 2000; HU et al., 2003; HYUN & CHUNG, 2004; CHEN et al., 2006), no controle dos lipídios sanguíneos e doenças relacionadas, o que pode ajudar na prevenção de problemas cardiovasculares (LING et al., 2001) e na prevenção das complicações do diabetes (MORIMITSU et al., 2002; YAWADIO et al., 2007). Entretanto, ainda são necessários mais estudos para avaliar os efeitos do consumo do grão de arroz na dieta.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos fisiológicos da utilização de grãos integrais de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto na alimentação através de estudo *in vivo* com ratos.

Material e métodos

Rações experimentais e tratamentos

Foram formuladas quatro rações (Tabela 1), de acordo com as recomendações do American Institute of Nutrition (AIN) (REEVES, 1993), com substituição total da fibra e parcial do amido de milho, caseína e óleo de soja por grãos integrais cozidos de arroz com pericarpo marrom-claro (IRGA 417), vermelho (PB13) e preto (IAC 600), obtidos na área de várzea do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) na safra 2006/07.

Essas rações formaram os tratamentos:

- Controle: ração padrão do AIN, não contendo grãos de arroz;
- AMC: ração contendo grãos de arroz com pericarpo marrom-claro;
- AV: ração contendo grãos de arroz com pericarpo vermelho;
- AP: ração contendo grãos de arroz com pericarpo preto.

Os grãos foram cozidos em proporção massa de grãos:água de 1:2,5 por aproximadamente 40min, e posteriormente foi realizada secagem em estufa com circulação de ar a 50°C.

A concentração de compostos fenólicos solúveis totais nos grãos foi avaliada pela metodologia de Folin-Ciocalteu (SINGLETON et al., 1999; IQBAL et al., 2005), e a concentração de ácido fítico foi determinada a partir da concentração de fósforo (TEDESCO et al., 1995), considerando que a molécula contém 28,2% de fósforo em sua constituição (AOAC, 1995).

Animais experimentais e condução do experimento

Para a realização do experimento, aprovado pelo Comitê de Ética e Bem Estar Animal

da UFSM (nº 23081.009642/2008-82), foram utilizados 32 ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus* albino) ($49,7 \pm 3,8$ g; 21 dias de idade) sadios, obtidos no Biotério Central da UFSM. Os animais foram distribuídos aleatoriamente entre os tratamentos (8 animais/tratamento), e alojados em gaiolas metabólicas individuais, com acesso livre à ração e à água. O período de adaptação dos animais às rações foi de cinco dias. Na sequência, teve início o período experimental (18 dias), no qual foi realizada, diariamente, a determinação da quantidade de ração consumida e a coleta de fezes. O peso corporal dos animais foi obtido a cada três dias. No último dia experimental, após jejum de 12h, os animais foram pesados, anestesiados e sacrificados por incisão cardíaca, sendo realizada a coleta de sangue para as análises posteriores. Nesta ocasião, fígado e gordura epididimal foram removidos e pesados para determinação de seu peso. O fígado foi homogeneizado em solução salina (proporção 1:5) para a análise da atividade das enzimas.

Durante todo o período do ensaio biológico a temperatura foi mantida a $22 \pm 2^\circ\text{C}$, com umidade relativa entre 45 e 75%, e a luminosidade controlada alternando 12 horas de luz/escuro.

Foram realizadas as seguintes avaliações:

- Consumo e ganho de peso: determinados a partir das pesagens de sobra diária de ração e do registro do peso corporal dos animais;
- Concentração sanguínea de glicose, triglicerídeos, colesterol total e HDL: foram determinadas através dos kits enzimáticos Glicose Enzimática Líquida, Triglicérides Enzimático Líquido, Colesterol Enzimático Líquido e Colesterol HDL, respectivamente, todos da marca Doles.
- Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD): avaliada nas amostras de fígado por espectrofotometria, utilizando-se epinefrina, conforme descrito por McCord & Fridovich (1969).
- Atividade da enzima glutathione peroxidase (GPx): avaliada nas amostras de fígado por espectrofotometria utilizando-se glutathione redutase e NADPH, conforme descrito por Paglia & Valentine (1967).
- Peroxidação lipídica: determinada nas amostras de sangue e fígado utilizando-se o método de Ohkawa et al. (1979), através da dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, com 8

repetições por tratamento. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de significância.

Resultados e discussão

Não foi observada diferença no consumo de ração e no ganho de peso entre os animais consumindo ração contendo arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho ou preto comparado ao controle (Tabela 2), com média de 15,62g de ração dia⁻¹ e 101,12g de ganho de peso durante o período experimental. Outros trabalhos avaliando a adição de extrato ou farelo de arroz com pericarpo preto à ração de camundongos e ratos, respectivamente, também não observaram efeito nestes dois parâmetros (CHIANG et al., 2006; GUO et al., 2007).

Embora não tenha sido observado efeito das diferentes rações sobre o ganho de peso, os animais consumindo ração contendo grãos de arroz apresentaram peso da gordura epididimal significativamente menor do que o controle (Tabela 2). Estudos *in vitro* com adipócitos têm demonstrado que flavonóides e ácidos fenólicos podem afetar a adipogênese, resultando em possível efeito antiobesidade desses compostos *in vivo* (HSU & YEN, 2007). Entretanto, no presente trabalho essa redução no peso da gordura epididimal não pode ser relacionada aos compostos fenólicos, visto que foi observada para as três rações contendo arroz, independente do consumo desses compostos (Tabela 2), mas provavelmente está relacionada ao tipo de fibra das rações. A ração controle continha somente fibra insolúvel (celulose), já os outros tratamentos apresentaram fibra solúvel e insolúvel (Tabela 1). Considerando que a fibra insolúvel está relacionada principalmente a alterações no trânsito intestinal, enquanto a fração solúvel atua mais a nível metabólico, afetando a absorção de certos nutrientes e o metabolismo glicêmico e lipídico (MOORE et al., 1998; GUILLON & CHAMP, 2000), esta pode estar relacionada à redução no peso da gordura epididimal nos tratamentos contendo grãos de arroz.

A concentração sanguínea em jejum de glicose, colesterol total, colesterol HDL e triglicerídeos não diferiu entre os tratamentos (Tabela 3). Resultados variados foram observados em outras pesquisas avaliando o consumo de frações concentradas de arroz com pericarpo preto sobre esses parâmetros. No trabalho desenvolvido por Chiang et al. (2006), não foi observada diferença nos níveis plasmáticos de triglicerídeos e colesterol total entre camundongos consumindo ração controle ou contendo extrato de arroz com pericarpo preto, mas os níveis de colesterol HDL foram significativamente maiores para o último grupo. Já Guo et al. (2007) relataram efeito significativo da inclusão de farelo de arroz preto nos lipídios plasmáticos e nos níveis de glicose, entretanto os ratos avaliados no experimento

foram induzidos a uma situação de hiperlipidemia e hiperglicemia. De forma semelhante, Ling et al. (2001), em ensaio com coelhos hipercolesterolêmicos, concluíram que a adição de arroz com pericarpo vermelho ou preto à ração aumenta significativamente a concentração de colesterol HDL. Portanto, os efeitos do arroz com pericarpo vermelho ou preto podem variar dependendo da forma em que estes são adicionados à dieta e da ocorrência de alterações no organismo.

A inclusão de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho ou preto na dieta não afetou a concentração de TBARS no soro e no fígado dos animais (Tabela 4). Os níveis de TBARS são marcadores de peroxidação lipídica, sendo utilizados como indicadores de estresse oxidativo. Diversos trabalhos têm observado redução no estresse oxidativo pelos compostos fenólicos do arroz em ensaios *in vitro*, indicado por outros marcadores, como a redução na produção de óxido nítrico e na concentração de espécies reativas de oxigênio (HU et al., 2003; WANG et al., 2007). Em ensaios *in vivo*, foi observada redução na concentração de TBARS no sangue pela adição de farelo de arroz preto à ração de ratos hiperglicêmicos e hiperlipidêmicos (GUO et al., 2007), e de extrato de arroz preto à ração de camundongos (CHIANG et al., 2006). Redução na concentração de TBARS no fígado, coração, rins e aorta de ratos hiperlipidêmicos também foi observada com a adição de extrato de folhas de oliva ricos em compostos fenólicos à dieta (JEMAI et al., 2008).

A atividade da enzima SOD foi significativamente maior no fígado dos animais submetidos aos tratamentos contendo grãos de arroz, comparado ao controle (Figura 1), mas não foi observada diferença na atividade da enzima GPx (Figura 2). A medida de mudanças na atividade de enzimas antioxidantes endógenas é considerada um biomarcador relativamente sensível da resposta ao estresse oxidativo (CHIANG et al. 2006), sendo a SOD e a GPx duas das principais enzimas que protegem as células dos danos causados pelas espécies reativas de oxigênio. Em estudo desenvolvido por Chiang et al. (2006), a adição de extrato de arroz preto à ração de camundongos aumentou significativamente a atividade da enzima SOD, sem efeitos sobre a atividade da GPx. Esse aumento observado na atividade da enzima SOD no fígado sugere diminuição no estresse oxidativo, por reduzir a concentração de espécies reativas de oxigênio.

Deve-se ressaltar, entretanto, que o efeito observado na atividade da enzima SOD foi semelhante para os três tratamentos contendo grãos de arroz, independente da quantidade de compostos fenólicos consumida pelos animais. Esse resultado pode estar relacionado à presença de ácido fítico nas rações. Esse composto é encontrado em grãos de arroz, principalmente nas camadas externas do grão, e apresenta diferentes efeitos, entre eles, ação

antioxidante, com efeitos biológicos semelhantes aos compostos fenólicos (GRAF & EATON, 1990; SHAMSUDDIN et al., 1997; LEE et al., 2006; VERGHESE et al., 2006). Nas rações utilizadas nesse experimento, a concentração de ácido fítico foi maior para aquelas contendo grãos de arroz com pericarpo marrom-claro e vermelho, comparadas àquela com grãos com pericarpo preto (Tabela 1). Dessa forma, a maior concentração de ácido fítico nestas rações pode ter resultado em maior efeito antioxidante no organismo desses animais, mascarando o efeito das diferentes concentrações de compostos fenólicos nas rações.

Pode-se observar que alguns resultados obtidos no presente trabalho diferem de dados publicados por outros pesquisadores. Isso pode ter ocorrido devido a algumas diferenças na condução do ensaio. Em primeiro lugar, este trabalho avaliou o efeito da adição de grãos de arroz na ração de ratos, enquanto a maioria dos trabalhos publicados avalia o efeito do farelo de arroz ou de extratos obtidos dos grãos, que apresentam maior concentração de compostos fenólicos. Também se pode observar que em muitas pesquisas os animais foram induzidos a apresentar alterações metabólicas, como hiperlipidemias e hiperglicemias, enquanto neste estudo foram utilizados ratos saudáveis, a fim de estudar o efeito preventivo, o que pode afetar os resultados obtidos, visto que o organismo desses animais com alterações metabólicas pode apresentar maior nível de estresse oxidativo. Aliado a isso, o período experimental deste estudo foi menor do que o de outras pesquisas, entretanto foi semelhante ao utilizado em outros trabalhos avaliando efeitos metabólicos do consumo de grãos de arroz (DENARDIN et al., 2007).

Pelos resultados apresentados, pode-se concluir que o consumo de grãos integrais cozidos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto durante um período de 18 dias (período experimental) não afeta a maioria dos parâmetros avaliados nos animais experimentais, influenciando somente no peso da gordura epididimal e aumentando a atividade da enzima SOD no fígado, mas sem diferença entre os diferentes tipos de arroz. Esse aumento na atividade da enzima SOD pode indicar uma possível redução no estresse oxidativo no organismo, entretanto maiores estudos são necessários para avaliar se o consumo diário de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho ou preto, por um período maior, pode reduzir o estresse oxidativo em animais e humanos em condições normometabólicas.

Tabela 1 - Composição (g/kg) das rações experimentais fornecidas aos ratos

	Controle ¹	AMC ²	AV ³	AP ⁴
Amido de milho	529,5	34,0	138,2	107,7
Arroz	0	641,4	523,3	557,8
Caseína	200,0	135,1	144,1	147,2
Sacarose	100,0	91,1	91,6	90,5
Óleo de soja	70,0	47,9	52,3	46,3
Celulose purificada	50,0	0	0	0
Mix mineral ⁵	35,0	35,0	35,0	35,0
Mix vitamínico ⁶	10,0	10,0	10,0	10,0
Metionina	3,0	3,0	3,0	3,0
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5	2,5
TBHQ ⁷	0,014	0,014	0,014	0,014
Carboidratos (%)	62,9	63,2	63,2	62,2
Proteína (%)	17,0	16,8	16,8	16,7
Gordura (%)	7,0	6,6	6,6	6,6
Fibra insolúvel (%)	5,0	2,3	2,6	2,8
Fibra solúvel (%)	0	2,8	2,7	2,8
Energia bruta (kcal 100g ⁻¹)	382,8	379,4	379,4	375,0
Compostos fenólicos solúveis totais na ração (mg EAG 100g ⁻¹) ⁸	0	33,1	190,3	229,6
Ácido fitico (mg 100g ⁻¹)	0	970,0	918,5	640,0

¹ Controle: ração padrão AIN; ² AMC: ração contendo grãos de arroz com pericarpo marrom-claro; ³ AV: ração contendo grãos de arroz com pericarpo vermelho; ⁴ AP: ração contendo grãos de arroz com pericarpo preto; ⁵ Mix mineral (g/kg mix): Ca 142,94g; P 44,61g; Na 29,11g; K 102,81g; Cl 44,89g; S 8,57g; Mg 14,48g; Fe 1,00g; Zn 0,86g; Si 0,14g; Mn 0,30g; Cu 0,17g; Cr 0,03g; B 14,26mg; F 28,73mg; Ni 14,3mg; Li 2,85mg; Se 4,28mg; I 5,93mg; Mo 4,32mg; V 2,87mg; ⁶ Mix vitamínico (g ou mg/kg mix): ácido nicotínico 3,00g; pantotenato de cálcio 1,60g; piridoxina-HCl 0,70g; tiamina-HCl 0,60g; riboflavina 0,60g; ácido fólico 0,20g; biotina 0,02g; vitamina B12 (0,1% em manitol) 2,50g; vitamina E 7.500UI; vitamina A 400.000UI; vitamina D3 100.000UI; vitamina K1 0,075g; ⁷ Butilhidroquinona terciária; ⁸ EAG - equivalente ácido gálico.

Tabela 2 - Consumo de ração, de compostos fenólicos solúveis totais (CFST), ganho de peso e peso da gordura epididimal de ratos alimentados com ração controle, ou contendo grãos de arroz com pericarpo marrom-claro (AMC), vermelho (AV) ou preto (AP)

	Controle	AMC	AV	AP
Consumo médio (g dia ⁻¹)	15,85±1,23 ^{ns}	15,18±1,04 ^{ns}	16,21±1,14 ^{ns}	15,25±0,79 ^{ns}
Consumo médio de CFST (mg EAG dia ⁻¹) ¹	0	5,04±0,35 ^c	30,36±2,42 ^b	34,98±1,80 ^a
Ganho de peso (g)	99,34±8,50 ^{ns}	101,45±7,58 ^{ns}	104,86±5,78 ^{ns}	98,85±9,04 ^{ns}
Gordura epididimal (g 100g ⁻¹ de peso animal)	1,12±0,11 ^a	0,84±0,11 ^b	0,97±0,08 ^b	0,89±0,10 ^b

¹ EAG - equivalente ácido gálico; resultados expressos como média ± desvio padrão; médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro; ns = não significativo.

Tabela 3 - Concentração sanguínea em jejum de glicose, colesterol total, colesterol HDL e triglicerídeos de ratos alimentados com ração controle, ou contendo grãos de arroz com pericarpo marrom-claro (AMC), vermelho (AV) ou preto (AP)

	Controle	AMC	AV	AP
Glicose (mg dl ⁻¹)	141,02±22,78 ^{ns}	121,19±24,67 ^{ns}	134,86±13,89 ^{ns}	121,26±16,26 ^{ns}
Colesterol total (mg dl ⁻¹)	111,63±22,32 ^{ns}	99,46±13,28 ^{ns}	100,67±12,66 ^{ns}	96,71±12,66 ^{ns}
Colesterol HDL (mg dl ⁻¹)	76,06±15,07 ^{ns}	66,58±8,75 ^{ns}	73,82±16,34 ^{ns}	64,96±13,80 ^{ns}
Triglicerídeos (mg dl ⁻¹)	109,91±27,18 ^{ns}	99,21±29,71 ^{ns}	87,40±20,82 ^{ns}	95,61±25,35 ^{ns}

Resultados expressos como média ± desvio padrão; médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro; ns = não significativo.

Tabela 4 - Concentração de TBARS no soro e no fígado de ratos alimentados com ração controle, ou contendo grãos de arroz com pericarpo marrom-claro (AMC), vermelho (AV) ou preto (AP)

	Controle	AMC	AV	AP
TBARS soro (nmol MDA ml ⁻¹)	5,42±0,92 ^{ns}	4,85±1,15 ^{ns}	4,78±1,03 ^{ns}	4,51±0,94 ^{ns}
TBARS fígado (nmol MDA mg proteína ⁻¹)	0,20±0,03 ^{ns}	0,18±0,04 ^{ns}	0,17±0,03 ^{ns}	0,17±0,04 ^{ns}

Resultados expressos como média ± desvio padrão; médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro; ns = não significativo.

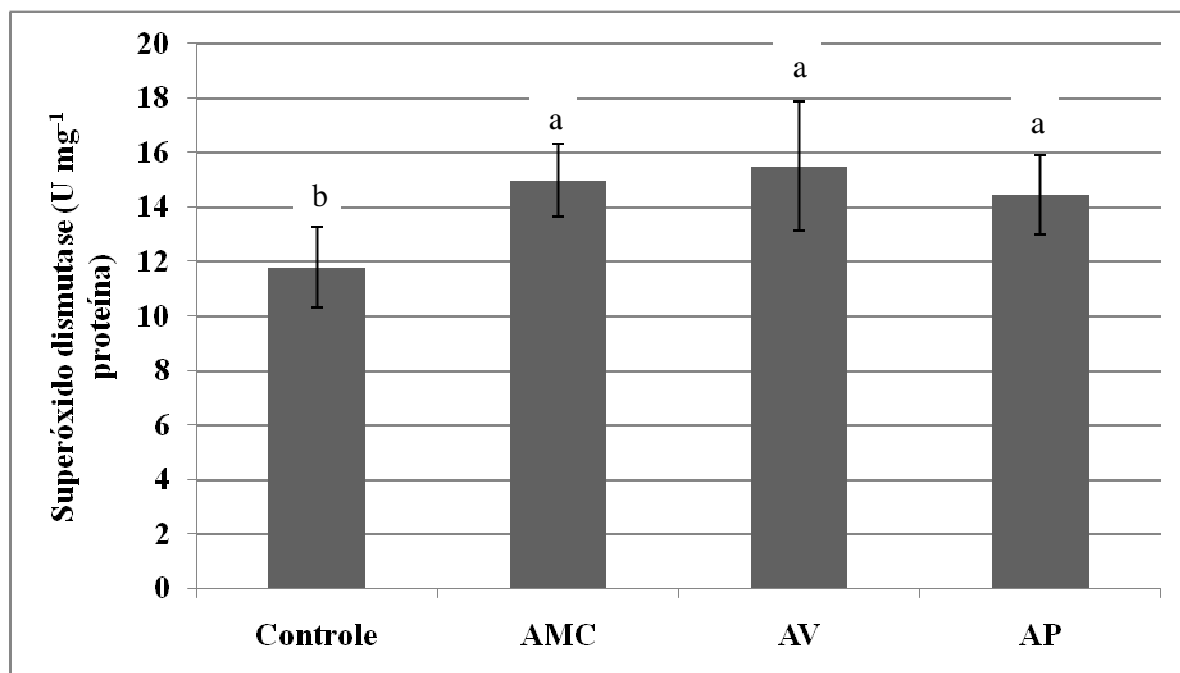


Figura 1 - Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) no fígado de ratos alimentados com ração controle, ou contendo grãos de arroz com pericarpo marrom-claro (AMC), vermelho (AV) ou preto (AP). Barras de erro representam o intervalo de confiança a 5% de probabilidade de erro. Letras diferentes indicam que as médias diferem significativamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

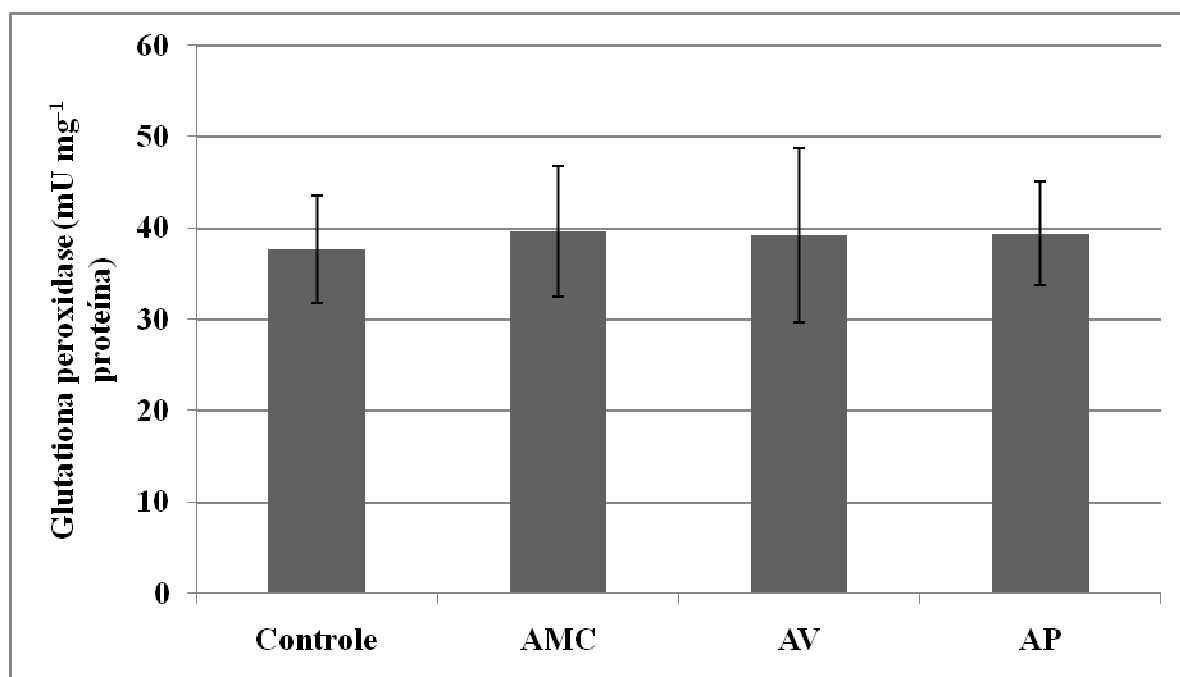


Figura 2 - Atividade da enzima glutathione peroxidase (GPx) no fígado de ratos alimentados com ração controle, ou contendo grãos de arroz com pericarpo marrom-claro (AMC), vermelho (AV) ou preto (AP). Barras de erro representam o intervalo de confiança a 5% de probabilidade de erro. Médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro, ao Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) pelo fornecimento de variedades de arroz, e à Doles pelo fornecimento dos kits enzimáticos.

Referências bibliográficas

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 16th ed. Washington: AOAC, 1995.

BIRT, D. F.; HENDRICH, S.; WANG, W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, Amsterdam, v. 90, n. 2-3, p. 157-177, May-Jun. 2001.

CHEN, P. et al. Black rice anthocyanins inhibit cancer cells invasion via repressions of MMPs and u-PA expression. **Chemico-Biological Interactions**, New York, v. 163, n. 3, p. 218-229, Nov. 2006.

CHIANG, A. et al. Antioxidant effects of black rice extract through the induction of superoxide dismutase and catalase activities. **Lipids**, New York, v. 41, n. 8, p. 797-803, Aug. 2006.

CHOI, Y.; JEONG, H. S.; LEE, J. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. **Food Chemistry**, Oxford, v. 103, n. 1, p. 130-138, Jan. 2007.

DENARDIN, C. C. et al. Effect of amylose content of rice varieties on glycemic metabolism and biological responses in rats. **Food Chemistry**, Oxford, v. 105, n. 4, p. 1474-1479, Oct. 2007.

DIMITRIOS, B. Sources of natural phenolic antioxidants. **Trends in Food Science and Technology**, Oxford, v. 17, n. 9, p. 505-512, Sep. 2006.

GOFFMAN, F. D.; BERGMAN, C. J. Rice kernel phenolic content and its relationship with antiradical efficiency. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Hoboken, v. 84, n. 10, p. 1235-1240, Aug. 2004.

GRAF, E.; EATON, J. W. Antioxidant functions of phytic acid. **Free Radical Biology and Medicine**, Amsterdam, v. 8, n. 1, p. 61-69, Jan. 1990.

GUILLON, F.; CHAMP, M. Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. **Food Research International**, Oxford, v. 33, n. 3-4, p. 233-245, Apr. 2000.

GUO, H. et al. Effect of anthocyanin-rich extract from black rice (*Oryza sativa* L. *indica*) on hyperlipidemia and insulin resistance in fructose-fed rats. **Plant Foods for Human Nutrition**, New York, v. 62, n. 1, p. 1-6, Mar. 2007.

HOLDEN, J. M. et al. Development of a database of critically evaluated flavonoids data: application of USDA's data quality evaluation system. **Journal of Food Composition and Analysis**, Oxford, v. 18, n. 8, p. 829-844, Dec. 2005.

HOUSTON, M. C. Nutraceuticals, vitamins, antioxidants, and minerals in the prevention and treatment of hypertension. **Progress in Cardiovascular Diseases**, New York, v. 47, n. 6, p.396-449, May-Jun. 2005.

HU, C. et al. Black rice (*Oryza sativa* L. *indica*) pigmented fraction suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide in chemical and biological model systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 18, p. 5271-5277, Aug. 2003.

HUDSON, E. A. et al. Characterization of potentially chemopreventive phenols in extracts of brown rice that inhibit the growth of human breast and colon cancer cells. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, Philadelphia, v. 9, n. 11, p. 1163-1170, Nov. 2000.

HSU, C. L.; YEN, G. C. Effects of flavonoids and phenolic acids on the inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, n. 21, p.8404-8410, Oct. 2007.

HYUN, J. W.; CHUNG, H. S. Cyanidin and malvidin from *Oryza sativa* cv. Heugjinjubyeo mediate cytotoxicity against human monocytic leukemia cells by arrest of G₂/M phase and induction of apoptosis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 8, p. 2213-2217, Apr. 2004.

IQBAL, S.; BHANGER, M. I.; ANWAR, F. Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. **Food Chemistry**, Oxford, v. 93, n. 2, p. 265-272, Nov. 2005.

ITANI, T. et al. Distribution of amylose, nitrogen, and minerals in rice kernels with various characters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 19, p. 5326-5332, Sep. 2002.

JEMAI, H. et al. Hypolipidimic and antioxidant activities of oleuropein and its hydrolysis derivative-rich extracts from Chemlali olive leaves. **Chemico-Biological Interactions**, New York, v. 176, n. 2-3, p. 88-98, Nov. 2008.

KRIS-ETHERTON, P. M. et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **American Journal of Medicine**, Oxford, v. 113, n. 9, p. 71S-88S, Dec. 2002.

LEE, S. H. et al. Dietary phytic acid lowers the blood glucose level in diabetic KK mice. **Nutrition Research**, St. Louis, v. 26, n. 9, p. 474-479, Sep. 2006.

LING, W. H. et al. Red and black rice decrease atherosclerotic plaque formation and increase antioxidant status in rabbits. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 131, n. 5, p. 1421-1426, May. 2001.

MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 244, n. 22, p. 6049-6055, Nov. 1969.

MOORE, M. A.; PARK, C. B.; TSUDA, H. Soluble and insoluble fiber influences on cancer development. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, Oxford, v. 27, n. 3, p. 229-242, Apr. 1998.

MORIMITSU, Y. et al. Inhibitory effect of anthocyanins and colored rice on diabetic cataract formation in the rat lenses. **International Congress Series**, Oxford, v. 1245, p. 503-508, Nov. 2002.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, Amsterdam, v. 95, n. 2, p. 351-358, Jun. 1979.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, Oxford, v. 70, n. 1, p. 158-169, Jul. 1967.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 8, p. 3396-3402, Aug. 2000.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY Jr., G. C. AIN-93 purified diets for laboratory

rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 23, n. 11, 1939-1951, Nov. 1993.

SHAMSUDDIN, A. M. et al. IP6: a novel anti-cancer agent. **Life Sciences**, Amsterdam, v. 61, n. 4, p. 343-354, Jun. 1997.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, Oxford, v. 299, n. 1, p. 152-178, Jan. 1999.

STANNER, S. A. et al. A review of the epidemiological evidence for the 'antioxidant hypothesis'. **Public Health Nutrition**, New York, v. 7, n. 3, p. 407-422, May. 2004.

TEDESCO, M. J. et al. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995.

VERGHESE, M. et al. Anticarcinogenic effect of phytic acid (IP6): apoptosis as a possible mechanism of action. **LWT Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 39, n. 10, p. 1093-1098, Dec. 2006.

WANG, Q. et al. Supplementation of black rice pigment fraction improves antioxidant and anti-inflammatory status in patients with coronary heart disease. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, Taiwan, v. 16, n. 2, p. 295-301, Jun. 2007.

YAWADIO, R.; TANIMORI, S.; MORITA, N. Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. **Food Chemistry**, Oxford, v. 101, n. 3, p. 1616-1625, Mar. 2007.

ZHANG, M. et al. Separation, purification and identification of antioxidant compositions in black rice. **Agricultural Sciences in China**, Amsterdam, v. 5, n. 6, p. 431-440, Jun. 2006.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em diferentes locais, grãos de arroz com pericarpo vermelho e preto são utilizados na alimentação, em adição aos grãos com pericarpo marrom-claro normalmente consumidos. Além das características sensoriais, estes grãos podem apresentar diferenças em alguns componentes em relação àqueles com pericarpo marrom-claro.

A composição química dos grãos apresentou diferença significativa entre os genótipos avaliados, sendo que alguns grãos com pericarpo vermelho e preto se destacaram por apresentarem maior concentração de alguns componentes, como proteína, fósforo, cálcio, magnésio, potássio, ferro, manganês ou zinco. Entretanto, não se deve generalizar afirmando que grãos com pericarpo vermelho e preto apresentam maior concentração desses componentes, visto que foram observados genótipos com concentrações significativamente menores comparados aos grãos com pericarpo marrom-claro.

Além das diferenças na composição química, foi observada variação nas características antioxidantes dos genótipos, sendo os maiores valores de compostos fenólicos solúveis totais e atividade antioxidante observados para os grãos com pericarpo vermelho e preto. Esses parâmetros apresentaram correlação positiva e significativa, indicando que a atividade antioxidante nos extratos obtidos de grãos de arroz está relacionada principalmente aos polifenóis.

Além do efeito varietal, essas medidas foram afetadas pelo processamento do grão. Com a remoção das camadas externas pelo polimento, houve redução significativa na concentração de compostos fenólicos e na atividade antioxidante. Redução também foi observada após parboilização e cozimento, indicando que o tratamento térmico também afeta a concentração desses compostos. Dessa forma, para maior concentração de compostos fenólicos, recomenda-se o consumo de grãos integrais.

Os compostos fenólicos de diferentes fontes têm sido relacionados a ações antioxidantes e, dessa forma, esperam-se efeitos no equilíbrio oxidante-antioxidante do organismo pelo consumo de grãos integrais de arroz, principalmente aqueles com maior concentração de compostos fenólicos. Entretanto, no bioensaio realizado, a adição de grãos integrais de arroz à dieta de ratos afetou somente o peso da gordura epididimal e a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) no fígado, sem ser observada diferença entre os grãos com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto, independente da quantidade de compostos fenólicos consumida. Embora esse aumento na atividade da enzima SOD indique possível

redução no estresse oxidativo no organismo, maiores estudos são necessários para avaliar se o consumo diário de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho ou preto, por um período maior, pode reduzir o estresse oxidativo em animais e humanos em condições normometabólicas.

REFERÊNCIAS

ADOM, K. K.; LIU, R. H. Antioxidant activity of grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 21, p. 6182-6187, Oct. 2002.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 16th ed. Washington: AOAC, 1995.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plant and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, Oxford, v. 99, n. 1, p. 191-203, Jan. 2006.

BEHALL, K. M. et al. Whole-grain diets reduce blood pressure in mildly hypercholesterolemic men and women. **Journal of the American Dietetic Association**, New York, v. 106, n. 9, p. 1445-1449, Sept. 2006.

BENZIE, I. F. F.; SZETO, Y. T. Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, n. 2, p. 633-636, Feb. 1999.

BEYER, P. et al. Golden rice: introducing the β -carotene biosynthesis pathway into rice endosperm by genetic engineering to defeat vitamin A deficiency. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 132, n. 3, p. 506S-510S, Mar. 2002.

BIRT, D. F.; HENDRICH, S.; WANG, W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, Amsterdam, v. 90, n. 2-3, p. 157-177, May/Jun. 2001.

BLIGH, E. C.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v. 37, n. 8, p. 911-917, Aug. 1959.

BOUDET, A. M. Evolution and current status of research in phenolic compounds. **Phytochemistry**, Oxford, v. 68, n. 22-24, p. 2722-2735, Nov./Dec. 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 28, n. 1, p. 25-30, Jan. 1995.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, Hoboken, v. 56, n. 11, p. 317-333, Nov. 1998.

CASTRO, E. M. et al. **Qualidade de grãos em arroz**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. (Embrapa Arroz e Feijão, Circular Técnica, n. 34).

CÉSPEDES, C. L. et al. Antioxidant and cardioprotective activities of phenolic extracts from fruits of Chilean blackberry *Aristotelia chilensis* (Elaeocarpaceae), Maqui. **Food Chemistry**, Oxford, v. 107, n. 2, p. 820-829, Mar. 2008.

CHEN, P. et al. Black rice anthocyanins inhibit cancer cells invasion via repressions of MMPs and u-PA expression. **Chemico-Biological Interactions**, New York, v. 163, n. 3, p. 218-229, Nov. 2006.

CHIANG, A. et al. Antioxidant effects of black rice extract through the induction of superoxide dismutase and catalase activities. **Lipids**, New York, v. 41, n. 8, p. 797-803, Aug. 2006.

CHOI, Y.; JEONG, H. S.; LEE, J. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. **Food Chemistry**, Oxford, v. 103, n. 1, p. 130-138, Jan. 2007.

CHUNG, M. J.; WALKER, P. A.; HOGSTRAND, C. Dietary phenolic antioxidants, caffeic acid and Trolox, protect rainbow trout gill cells from nitric oxide-induced apoptosis. **Aquatic Toxicology**, Oxford, v. 80, n. 4, p. 321-328, Dec. 2006.

COLLINS, A. R. Assays for oxidative stress and antioxidant status: applications to research into the biological effectiveness of polyphenols. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 81, n. 1, p. 261S-267S, Jan. 2005.

DENARDIN, C. C. et al. Effect of amylose content of rice varieties on glycemic metabolism and biological responses in rats. **Food Chemistry**, Oxford, v. 105, n. 4, p. 1474-1479, Oct. 2007.

DIARRA, A.; SMITH Jr, R. J.; TALBERT, R. E. Growth and morphological characteristics of red rice (*Oryza sativa*) biotypes. **Weed Science**, Lawrence, v. 33, n. 1, p. 310-314, Jan. 1985.

DIMITRIOS, B. Sources of natural phenolic antioxidants. **Trends in Food Science and Technology**, Oxford, v. 17, n. 9, p. 505-512, Sept. 2006.

ELIAS, M. C. et al. **Secagem e armazenamento de grãos: sistemas, métodos e processos**. Pelotas: UFPel-FAEM-DCTA, 1996.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). **Sistema brasileiro de classificação dos solos**. Brasília: Embrapa-SPI, 1999.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Statistical databases**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 15 abr. 2008.

FOGLIANO, V. et al. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, n. 3, p. 1035-1040, Mar. 1999.

FONSECA, J. R.; CUTRIM, V. A.; RANGEL, P. H. N. **Descritores morfo-agronômicos e fenológicos de cultivares comerciais de arroz de várzeas**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002.

FONSECA, J. R. et al. **Descrição morfológica, agronômica, fenológica e culinária de alguns tipos especiais de arroz (*Oryza sativa* L.)**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2007.

FREI, M. et al. Studies on in vitro starch digestibility and the glycemic index of six different indigenous rice cultivars from the Philippines. **Food Chemistry**, Oxford, v. 83, n. 3, p. 395-402, Nov. 2003.

GODDARD, M. S. et al. The effect of amylose content on insulin and glucose responses to ingested rice. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 39, n. 3, p. 388-392, Mar. 1984.

GOFFMAN, F. D.; BERGMAN, C. J. Rice kernel phenolic content and its relationship with antiradical efficiency. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Hoboken, v. 84, n. 10, p. 1235-1240, Aug. 2004.

GOTO, M.; MURAKAMI, Y.; YAMANAKA, H. Comparison of palatability and physicochemical properties of boiled rice among red rice, Koshihikari and Minenishiki. **Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology**, Tokyo, v. 43, n. 7, p. 821-824, Jul. 1996.

GRAF, E.; EATON, J. W. Antioxidant functions of phytic acid. **Free Radical Biology and Medicine**, Amsterdam, v. 8, n. 1, p. 61-69, Jan. 1990.

GRAHAM, R. et al. Breeding for micronutrient density in edible portions of staple food crops: conventional approaches. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 60, n. 1-2, p. 57-80, Jan. 1999.

GUILLON, F.; CHAMP, M. Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. **Food Research International**, Oxford, v. 33, n. 3-4, p. 233-245, Apr. 2000.

GUO, H. et al. Effect of anthocyanin-rich extract from black rice (*Oryza sativa* L. *indica*) on hyperlipidemia and insulin resistance in fructose-fed rats. **Plant Foods for Human Nutrition**, New York, v. 62, n. 1, p. 1-6, Mar. 2007.

HALLIWELL, B. Dietary polyphenols: good, bad, or indifferent for your health? **Cardiovascular Research**, Oxford, v. 73, n. 2, p. 341-347, Jan. 2007.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Oxford, v. 13, n. 9, p. 527-584, Sept. 2002.

HEINEMANN, R. J. B. et al. Comparative study of nutrient composition of commercial brown, parboiled and milled rice from Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, Oxford, v. 18, n. 4, p. 287-296, Jun. 2005.

HOLDEN, J. M. et al. Development of a database of critically evaluated flavonoids data: application of USDA's data quality evaluation system. **Journal of Food Composition and Analysis**, Oxford, v. 18, n. 8, p. 829-844, Dec. 2005.

HOUSTON, M. C. Nutraceuticals, vitamins, antioxidants, and minerals in the prevention and treatment of hypertension. **Progress in Cardiovascular Diseases**, New York, v. 47, n. 6, p.396-449, May/Jun. 2005.

HSU, C. L.; YEN, G. C. Effects of flavonoids and phenolic acids on the inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, n. 21, p.8404-8410, Oct. 2007.

HU, C. et al. Black rice (*Oryza sativa* L. *indica*) pigmented fraction suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide in chemical and biological model systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 18, p. 5271-5277, Aug. 2003.

HUDSON, E. A. et al. Characterization of potentially chemopreventive phenols in extracts of brown rice that inhibit the growth of human breast and colon cancer cells. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, Philadelphia, v. 9, n. 11, p. 1163-1170, Nov. 2000.

HUNT, J. R.; JOHNSON, L. K.; JULIANO, B. O. Bioavailability of zinc from cooked Philippine milled, undermilled, and brown rice, as assessed in rats by using growth, bone zinc and zinc-65 retention. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 18, p. 5229-5235, Aug. 2002.

HURRELL, R. F. et al. Degradation of phytic acid in cereal porridges improves iron absorption by human subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 77, n. 5, p. 1213-1219, May 2003.

HYUN, J. W.; CHUNG, H. S. Cyanidin and malvidin from *Oryza sativa* cv. Heugjinjubyeo mediate cytotoxicity against human monocytic leukemia cells by arrest of G₂/M phase and induction of apoptosis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 8, p. 2213-2217, Apr. 2004.

IQBAL, S.; BHANGER, M. I.; ANWAR, F. Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. **Food Chemistry**, Oxford, v. 93, n. 2, p. 265-272, Nov. 2005.

ITANI, T. et al. A comparative study on antioxidative activity and polyphenol content of colored kernel rice. **Journal of the Japan Society for Food Science and Technology**, Tokyo, v. 49, n. 8, p. 540-543, Aug. 2002.

ITANI, T. et al. Distribution of amylose, nitrogen, and minerals in rice kernels with various characters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 19, p. 5326-5332, Sept. 2002.

JEMAI, H. et al. Hypolipidemic and antioxidant activities of oleuropein and its hydrolysis derivative-rich extracts from Chemlali olive leaves. **Chemico-Biological Interactions**, New York, v. 176, n. 2-3, p. 88-98, Nov. 2008.

JENKINS, D. J. A. et al. Glycemic index: overview of implications in health and disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 76, n. 1, p. 266S-273S, Jul. 2002.

JULIANO, B. O. Polysaccharides, proteins, and lipids of rice. In: JULIANO, B. O. (Ed.). **Rice: chemistry and technology**. Minnesota: American Association of Cereal Chemists, 1985. Cap. 3, p.59-174.

JULIANO, B. O. **Rice in human nutrition**. Rome: FAO, 1993. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 01 dez. 2006.

JULIANO, B. O.; BECHTEL, D. B. The rice grain and its gross composition. In: JULIANO, B. O. (Ed.). **Rice: chemistry and technology**. Minnesota: American Association of Cereal Chemists, 1985. Cap. 2, p. 17-57.

KATSUBE, T. et al. Accumulation of soybean glycinin and its assembly with the glutelins in rice. **Plant Physiology**, Rockville, v. 120, n. 4, p. 1063-1073, Aug. 1999.

KENNEDY, G. et al. Nutrient impact assessment of rice in major rice-consuming countries. **International Rice Commission Newsletter**, Rome, v. 51, n. 1, p. 33-42, Jan. 2002.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemical. **Journal of the American Dietetic Association**, New York, v. 99, n. 2, p. 213-218, Feb. 1999.

KOIDE, T. et al. Antitumor effect of hydrolyzed anthocyanin from grape rinds and red rice. **Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals**, New Rochelle, v. 11, n. 4, p. 273-277, Aug. 1996.

KONG, J. et al. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, Oxford, v. 64, n. 4, p. 923-933, Oct. 2003.

KRIS-ETHERTON, P. M. et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **American Journal of Medicine**, Oxford, v. 113, n. 9, p. 71S-88S, Dec. 2002.

LAI, V. M. F. et al. Non-starch polysaccharide compositions of rice grains with respect to rice variety and degree of milling. **Food Chemistry**, Oxford, v. 101, n. 3, p. 1205-1210, Mar. 2007.

LARRAURI, J. A.; RUPRES, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 45, n. 4, p. 1390-1393, Apr. 1997.

LEE, S. H. et al. Effects of dietary phytic acid on serum and hepatic lipid levels in diabetic KK mice. **Nutrition Research**, St. Louis, v. 25, n. 9, p. 869-876, Sept. 2005.

LEE, S. H. et al. Dietary phytic acid lowers the blood glucose level in diabetic KK mice. **Nutrition Research**, St. Louis, v. 26, n. 9, p. 474-479, Sept. 2006.

LEE, T. T. T. et al. Enhanced methionine and cysteine levels in transgenic rice seeds by the accumulation of sesame 2S albumin. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Tokyo, v. 67, n. 8, p. 1699-1705, Aug. 2003.

LI, J. et al. Long-term effects of high dietary fiber intake on glucose tolerance and lipid metabolism in GK rats: comparison among barley, rice, and cornstarch. **Metabolism**, New York, v. 52, n. 9, p. 1206-1210, Sept. 2003.

LING, W. H. et al. Red and black rice decrease atherosclerotic plaque formation and increase antioxidant status in rabbits. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 131, n. 5, p. 1421-1426, May. 2001.

LIU, Z. H. et al. Grain phytic acid content in japonica rice as affected by cultivar and environment and its relation to protein content. **Food Chemistry**, Oxford, v. 89, n. 1, p. 49-52, Jan. 2005a.

LIU, Z. H. et al. Positional variations in phytic acid and protein content within a panicle of japonica rice. **Journal of Cereal Science**, Oxford, v. 41, n. 3, p. 297-303, May. 2005b.

LUMEN, B. O.; CHOW, H. Nutritional quality of rice endosperm. In: LUH, B. S. (Ed.). **Rice utilization** - vol II. 2nd ed. New York: Van Nostrand Reinhold Pub., 1995. Cap. 15, p. 363-395.

MANACH, C. et al. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 81, n. 1, p. 230S-242S, Jan. 2005.

MANO, Y. et al. Comparative composition of brown rice lipids (lipid fractions) of indica and japonica rices. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Tokyo, v. 63, n. 4, p. 619-626, Apr. 1999.

MARTÍNEZ, C.; CUEVAS, F. **Evaluación de la calidad culinaria y molinera del arroz: guía de estudio para ser usada como complemento de la unidad audiotutorial sobre el mismo tema.** Cali, Colombia: CIAT, 1989.

MATSUE, Y.; OGATA, T. Physicochemical and mochi-making properties of the native red and black-kerneled glutinous rice cultivars. **Plant Production Science**, Tokyo, v. 1, n. 2, p. 126-133, Apr. 1998.

MATSUO, T. et al. **Science of the rice plant. Vol. II - Physiology**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1995.

McCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 244, n. 22, p. 6049-6055, Nov. 1969.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 54, n. 2, p. 149-154, Jun. 2004.

MEMELINK, J. The use of genetics to dissect plant secondary pathways. **Current Opinion in Plant Biology**, Amsterdam, v. 8, n. 3, p. 230-235, Jun. 2005.

MENG, F.; WEI, Y.; YANG, X. Iron content and bioavailability in rice. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Oxford, v. 18, n. 4, p. 333-338, Jun. 2005.

MILLER, J. B. et al. Rice: a high or low glycemic index food? **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 56, n. 6, p. 1034-1036, Dec. 1992.

MOORE, M. A.; PARK, C. B.; TSUDA, H. Soluble and insoluble fiber influences on cancer development. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, Oxford, v. 27, n. 3, p. 229-242, Apr. 1998.

MORAN, J. F. et al. Complexes of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissues: prooxidant and antioxidant properties. **Free Radical Biology and Medicine**, Amsterdam, v. 22, n. 5, p. 861-870, Jul. 1997.

MORIMITSU, Y. et al. Inhibitory effect of anthocyanins and colored rice on diabetic cataract formation in the rat lenses. **International Congress Series**, Oxford, v. 1245, p. 503-508, Nov. 2002.

NAM, S. H. et al. Antioxidative, antimutagenic, and anticarcinogenic activities of rice bran extracts in chemical and cell assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 3, p. 816-822, Feb. 2005.

NOLDIN, J. A.; CHANDLER, J. M., McCAULEY, G. N. Red rice (*Oryza sativa*) biology. I. Characterization of red rice ecotypes. **Weed Technology**, Lawrence, v. 13, n. 1, p. 12-18, Jan. 1999.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, Amsterdam, v. 95, n. 2, p. 351-358, Jun. 1979.

OKI, T. et al. Polymeric procyanidins as radical-scavenging components in red-hulled rice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 26, p. 7524-7529, Dec. 2002.

ONG, M. H.; BLANSHARD, J. M. V. Texture determinants in cooked, parboiled rice I: rice starch amylose and the fine structure of amylopectin. **Journal of Cereal Science**, Oxford, v. 21, n. 3, p. 251-260, May 1995.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, Oxford, v. 70, n. 1, p. 158-169, Jul. 1967.

PAINE, J. A. et al. Improving the nutritional value of Golden Rice through increased pro-vitamin A content. **Nature Biotechnology**, New York, v. 23, n. 4, p. 482-487, Apr. 2005.

PARR, A. J.; BOLWELL, G. P. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Hoboken, v. 80, n. 7, p. 985-1012, May 2000.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Literature data may underestimate the actual antioxidant capacity of cereals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 12, p. 5036-5040, Jun. 2005.

PIGA, A.; DEL CARO, A.; CORDA, G. From plums to prunes: influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 12, p. 3675-3681, Jun. 2003.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 8, p. 3396-3402, Aug. 2000.

QURESHI, A. A. et al. Novel tocotrienols of rice bran modulate cardiovascular disease risk parameters of hypercholesterolemic humans. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Oxford, v. 8, n. 5, p. 290-298, May 1997.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY Jr., G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 23, n. 11, 1939-1951, Nov. 1993.

RONG, N. et al. Oryzanol decreases cholesterol absorption and aortic fatty streaks in hamsters. **Lipids**, New York, v. 32, n. 3, p. 303-309, Mar. 1997.

ROSSI, J. A.; KASUM, C. M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 22, n. 1, p. 19-34, Jul. 2002.

SAIKUSA, T. et al. Distribution of free amino acids in the rice kernel and kernel fractions and the effect of water soaking on the distribution. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 42, n. 5, p. 1122-1125, May. 1994.

SANTOS-BUELGA, C.; SCALBERT, A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Hoboken, v. 80, n. 7, p. 1094-1117, May 2000.

SHAMSUDDIN, A. M. et al. IP6: a novel anti-cancer agent. **Life Sciences**, Amsterdam, v. 61, n. 4, p. 343-354, Jun. 1997.

SHEN, Y. et al. Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. **Journal of Cereal Science**, Oxford, v. 49, n. 1, p. 106-111, Jan. 2009.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre; Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS; Ed. da UFSC, 2001.

SINDHU, A. S. et al. The pea seed storage protein legumin was synthesized, processed, and accumulated stably in transgenic rice endosperm. **Plant Science**, Amsterdam, v. 130, n. 2, p. 189-196, Dec. 1997.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, Oxford, v. 299, n. 1, p. 152-178, Jan. 1999.

SOSBAI – Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Pelotas: SOSBAI, 2007.

STANNER, S. A. et al. A review of the epidemiological evidence for the ‘antioxidant hypothesis’. **Public Health Nutrition**, New York, v. 7, n. 3, p. 407-422, May. 2004.

STORCK, C. R. **Variação na composição química em grãos de arroz submetidos a diferentes beneficiamentos**. 2004. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

TAIRA, H.; ITANI, T. Lipid content and fatty acid composition of brown rice of cultivars of the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 36, n. 3, p. 460-462, May. 1988.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TEDESCO, M. J. et al. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174p.

TIAN, S.; NAKAMURA, K.; KAYAHARA, H. Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice, and germinated brown rice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 15, p. 4808-4813, Jul. 2004.

TIAN, S. et al. High-performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in rice. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1063, n. 1, p. 121-128, Jan. 2005.

TRAN, T. U. et al. Analysis of the tastes of brown rice and milled rice with different milling yields using a taste sensing system. **Food Chemistry**, Oxford, v. 88, n. 4, p. 557-566, Dec. 2004.

VASCONCELOS, M. et al. Enhanced iron and zinc accumulation in transgenic rice with the ferritin gene. **Plant Science**, Amsterdam, v. 164, n. 3, p. 371-378, Mar. 2003.

VELANGI, A. et al. Evaluation of a glucose meter for determining the glycemic responses of foods. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 356, n. 1-2, p. 191-198, Jun. 2005.

VELIOGLU, Y. S. et al. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. 10, p. 4113-4117, Oct. 1998.

VERGHESE, M. et al. Anticarcinogenic effect of phytic acid (IP6): apoptosis as a possible mechanism of action. **LWT Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 39, n. 10, p. 1093-1098, Dec. 2006.

VISSERS, M. N. et al. Effect of plant sterols from rice bran oil and triterpene alcohols from sheanut oil on serum lipoprotein concentrations in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 72, n. 6, p. 1510-1515, Dec. 2000.

WANG, Q. et al. Supplementation of black rice pigment fraction improves antioxidant and anti-inflammatory status in patients with coronary heart disease. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, Taiwan, v. 16, n. 2, p. 295-301, Jun. 2007.

WARNER, A. C. I. Rate of passage of digesta through the gut of mammals and birds. **Nutrition Abstracts and Reviews**, Oxfordshire, v. 51, n. 12, p. 789-975, Dec. 1981.

XIA, M. et al. Supplementation of diets with the black rice pigment fraction attenuates atherosclerotic plaque formation in apolipoprotein E deficient mice. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 133, n. 3, p. 744-751, Mar. 2003.

YANG, X. et al. Genotypic differences in concentrations of iron, manganese, copper, and zinc in polished rice grains. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 21, n. 7, p. 1453-1462, Jul. 1998.

YAWADIO, R.; TANIMORI, S.; MORITA, N. Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. **Food Chemistry**, Oxford, v. 101, n. 3, p. 1616-1625, Mar. 2007.

ZHANG, M. W.; GUO, B. J.; PENG, Z. M. Genetic effects on Fe, Zn, Mn and P contents in *Indica* Black pericarp rice and their genetic correlations with grains characteristics. **Euphytica**, Amsterdam, v. 135, n. 3, p. 315-323, Mar. 2004.

ZHANG, M. et al. Separation, purification and identification of antioxidant compositions in black rice. **Agricultural Sciences in China**, Amsterdam, v. 5, n. 6, p. 431-440, Jun. 2006.

ZHAO, Z.; MOGHADASIN, M. H. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: a review. **Food Chemistry**, Oxford, v. 109, n. 4, p. 691-702, Aug. 2008.

ZHENG, Z. et al. The bean seed storage protein β -phaseolin is synthesized, processed, and accumulated in the vacuolar type-II protein bodies of transgenic rice endosperm. **Plant Physiology**, Rockville, v. 109, n. 3, p. 777-786, Nov. 1995.

ZHOU, Z. et al. Composition and functional properties of rice. **International Journal of Food Science and Technology**, Chester, v. 37, n. 8, p. 849-868, Dec. 2002.

ZHOU, Z. et al. The distribution of phenolic acids in rice. **Food Chemistry**, Oxford, v. 87, n. 3, p. 401-406, Sept. 2004.