

ANÁLISE QUANTITATIVA DA PROTEÍNA TOTAL DE RESERVA DO GRÃO EM ACESSOS DE ARROZ IRRIGADO DA COLEÇÃO NUCLEAR DA EMBRAPA (CNAE)

Ricardo Diógenes Dias Silveira¹, Karina Freire d'Eça Nogueira Santos², Claudia Cristina Garcia Martim Didonet³, Claudio Brondani⁴

Palavras-chave: *Oryza sativa L.*, variabilidade, qualidade.

INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa L.*) é um alimento primordial para mais de 50% da população mundial, fornecendo 20% da energia e 15% da proteína “per capita” necessária ao homem. A proteína deste cereal é considerada de boa qualidade, pois contém os oito aminoácidos essenciais ao homem e, quando combinada com proteínas derivadas de leguminosas, como o feijão, proporciona uma combinação de alto valor protéico. Adicionalmente, o arroz é uma excelente fonte de carboidratos complexos, contendo quantidades desprezíveis de gordura e livre de colesterol (CASTRO et. al., 1999).

Apesar do fato de apresentar, entre os cereais, o menor teor protéico, o grão de arroz possui uma proteína de melhor qualidade, a glutelina (fração mais abundante do grão de arroz). A maioria das proteínas da fração glutelina apresenta alto teor do aminoácido essencial lisina, possuindo alta digestibilidade, e conseqüentemente alta qualidade nutricional (NALIVKO et. al., 1975; HUEBNER et. al., 1990). Além disto, SOUZA et. al. (1993) observaram que o aumento do teor de proteína bruta em arroz é acompanhado por um aumento na fração glutelina, ou seja, aumentos no teor de proteína são acompanhados por aumentos na qualidade nutricional do grão (ARAUJO, et. al., 2003).

Porém, apesar do apelo nutricional, muito pouco se conhece a respeito das quantidades protéicas do grão de arroz. Isto se deve, principalmente, ao fato de o grão de arroz ser mais conhecido por ser uma importante fonte de carboidratos. Contudo, pelo grande consumo per capita no Brasil, a quantidade ingerida de proteína proveniente do grão de arroz passa a ser relevante (CASTRO et. al., 1999). Por este motivo, torna-se fundamental a inclusão de avaliações referentes ao teor e a qualidade das proteínas de reserva em genótipos de arroz.

As coleções de germoplasma podem ser consideradas como um ponto de partida para a avaliação das variações encontradas para valores de teor de proteína de reserva no grão de arroz. Entretanto, devido à dimensão das coleções de germoplasma de arroz, o ponto de partida para avaliar esta característica pode ser derivada de uma amostragem destas coleções. Desta maneira, sugere-se a utilização de coleções nucleares, que conceitualmente, representam o máximo da variabilidade genética, reunindo o mínimo de indivíduos (FRANKEL, 1984). A Coleção Nuclear de Arroz da Embrapa (CNAE) foi estabelecida em 2002, e conta com 550 acessos de arroz divididos em três estratos: variedades tradicionais, linhagens e cultivares brasileiras, e linhagens e cultivares estrangeiras (ABADIE et. al., 2005). A CNAE foi elaborada a partir de uma coleção de aproximadamente 10.000 acessos de arroz, armazenados no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão. Este trabalho objetivou quantificar a proteína total de reserva de 186 acessos com sistema de cultivo irrigado da CNAE e observar se estes acessos apresentam variabilidade em relação ao teor protéico.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras de grão de arroz descascadas e polidas de 186 acessos com sistema irrigado da CNAE. Os grãos foram obtidos do ensaio conduzido em blocos aumentados de Federer em Goianira (GO), no ano de 2004. Estes acessos estão divididos em três estratos de acordo com a origem

1. Mestrando(a) em Biologia Celular e Molecular – Instituto de Ciências Biológicas / Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia Caixa Postal 13174001-970 - Goiânia – GO. E-mail: ricardo_biolgia@hotmail.com

2. Universidade Federal de Goiás – UFG.

3. Universidade Estadual de Goiás – UEG.

4. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

do material: 77 Variedades Tradicionais (VT), 37 Linhagens e Cultivares Brasileiras (LCB) e 72 Linhagens e Cultivares Introduzidas (LCI).

As amostras protéicas foram obtidas dos grãos secos, descascados, moídos e desengordurados com acetona (P.A), deste processo o produto passou a ser denominado de farinha. A partir de 10 mg da farinha foi possível realizar a extração de proteína total de cada acesso, adicionando-se 250 µL de NaOH 0,1M com posterior agitação por 1 hora. Após este período, conduziu-se centrifugação por 8 minutos a 13.000 rpm. Este procedimento foi realizado por duas vezes, a fim de extrair a maior quantidade de proteína total. Foram realizadas quatro extrações independentes por amostra de farinha de cada acesso. Ao final do procedimento as amostras com os extratos protéicos foram armazenadas à -20 ° C.

A dosagem de proteínas dos extratos foi realizada pelo método de BRADFORD (1976). A partir de cada uma das três repetições de cada acesso, foram preparadas triplicatas das amostras para quantificação por espectrofotometria (595 nm). Para tanto, utilizaram-se 10 µL do extrato protéico e 90 µL de água destilada. A curva de calibração foi obtida com a leitura de BSA (soro albumina bovina) nas concentrações de 2,5 a 40 µg/µL.

A concentração das proteínas totais foi calculada pelos valores de densidade óptica obtidos pelo espectrofotômetro, a partir de triplicatas de repetições de cada amostra. Assim os dados de quantificação dos extratos de proteínas, para cada estrato de acessos, foram submetidos à análise de variância utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado com três repetições por amostra, através do programa Genes (CRUZ, 2001). O teste de comparação de médias entre os diferentes estratos de acessos foi realizado pelo método de Scott-Knott a 5% de probabilidade, também utilizando o programa Genes (CRUZ, 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do teor de proteína total de reserva de grão de arroz, por meio da análise de variância, apresentaram uma diferença altamente significativa ($P < 0,01$) entre os 186 genótipos da CNAE. Entretanto no teste de comparação de médias (Scott-Knott) verificou-se que não houve diferença significativa na comparação da média obtida para os diferentes estratos (VT, LCB e LCI). Isto indica que os genótipos pertencentes a estes estratos não possuem um padrão de variação no teor de proteína de reserva. Portanto, as diferenças existentes no teor de proteína independem das divisões estabelecidas na CNAE.

O teor de proteína total do grão dos 186 acessos da CNAE (Tabela 1) apresentou uma média de 10,51% e desvio-padrão de 2,12%, com variação de 6,44 a 20,25%. O maior valor observado para teor protéico foi identificado no acesso CNA0007408, oriundo de um programa de melhoramento da Colômbia. Este acesso pode apresentar grande potencial para programas de melhoramento genético de arroz, pois pode ser utilizado em cruzamentos visando à obtenção de genótipos contendo altos teores de proteína total. Em contraposição, o menor valor foi observado no acesso CNA0002246, uma linhagem de arroz irrigado do Laos.

Os acessos LCI apresentaram uma média de 10,71%, com variação de 6,44 a 20, 25% e os acessos LCB apresentaram uma média de 10,50%, com variação de 7,02 a 14,37%. Entre as 77 variedades tradicionais irrigadas da CNAE a média foi de 10,26% e a variação foi de 6,62 a 13,96%, demonstrando que este grupo de acessos, também, apresenta uma grande variação entre os teores protéicos.

Desta forma, os acessos identificados como superiores para essa característica já estão sendo utilizados pelo programa de melhoramento da Embrapa Arroz e Feijão para o desenvolvimento de cultivares comerciais de alto valor nutricional. Contribuindo, desta forma, para o aumento da segurança alimentar brasileira, a qual é fortemente baseada no consumo de grão de arroz.

Tabela 1. Relação dos 186 acessos irrigados da CNAE com os respectivos teores protéicos

| Genótipo | Teor Protéico | Genótipo | Teor Protéico | Genótipo | Teor Protéico | Genótipo | Teor Protéico | Genótipo | Teor Protéico | Genótipo | Teor Protéico |
|-------------|---------------|----------------|---------------|-------------------|---------------|-------------|---------------|------------------|---------------|--------------|---------------|
| CNA0007408 | 20,25 | CA840018 | 12,22 | CA780103 | 11,39 | CNA0000754 | 10,26 | CNA0001107 | 9,64 | CNA0004482 | 8,59 |
| CICA 7 | 16,59 | CA960030 | 12,17 | CA870182 | 11,39 | CA810045 | 10,24 | CNA0001414 | 9,64 | CA800112 | 8,54 |
| CNA0000923 | 15,64 | CEYSVONI | 12,16 | BASMANTI 370 | 11,36 | CA780134 | 10,23 | CNA0003411 | 9,61 | CA780175 | 8,53 |
| ORYZICA 1 | 14,43 | CA790116 | 12,07 | CA810032 | 11,32 | EPAGRI 107 | 10,23 | CA810012 | 9,53 | CA780108 | 8,51 |
| CNA0000798 | 14,40 | SCS BRS 112 | 12,04 | CA790012 | 11,26 | CA810030 | 10,22 | RS16PL1-34-4-B | 9,53 | CA840182 | 8,47 |
| CNA0006130 | 14,38 | CNA0003196 | 12,04 | CNA0001472 | 11,20 | CNA0000692 | 10,20 | CA980004 | 9,49 | CA820071 | 8,39 |
| CNA0003417 | 14,13 | BRS JABURU | 11,98 | CNA0002253 | 11,19 | CNA0004576 | 10,16 | CNA0001419 | 9,49 | CNA0001118 | 8,39 |
| CNA0003195 | 14,06 | CNA0006943 | 11,96 | CA780300 | 11,17 | CNA0000586 | 10,15 | HUAN-SEN-GO | 9,48 | CNAi 9920 | 8,38 |
| ELONI | 14,04 | CNA0002480 | 11,96 | CA840063 | 11,10 | CNA0003403 | 10,09 | CNA0003490 | 9,47 | CNA0001467 | 8,37 |
| CNA0005853 | 14,03 | CA810049 | 11,95 | CNA0004629 | 11,04 | CA810036 | 10,09 | BRS BOJURU | 9,39 | CNA0001006 | 8,30 |
| CA810017 | 13,96 | CA810028 | 11,89 | CNA0001407 | 11,02 | CNA0001337 | 10,09 | CA800131 | 9,35 | CNA0001413 | 8,28 |
| CNA0008416 | 13,92 | BRS AGRISUL | 11,81 | CA840099 | 10,94 | CA800125 | 10,06 | CA960013 | 9,34 | CNA0000950 | 8,15 |
| BR IRGA 413 | 13,91 | CA790300 | 11,80 | CA960023 | 10,86 | CA810007 | 10,05 | MOGAMI CHIKANARI | 9,31 | CA780109 | 8,10 |
| CNA0006955 | 13,85 | CA800027 | 11,76 | CNA0003446 | 10,79 | MARAJÓ | 10,01 | CA800057 | 9,26 | CNA0003602 | 8,05 |
| CNA0006961 | 13,73 | LEBONET | 11,76 | CNA0002123 | 10,78 | CA980001 | 9,97 | CNA0005477 | 9,25 | CICA 9 | 7,96 |
| CNA0001165 | 13,67 | CA800123 | 11,74 | CA840009 | 10,71 | CA960024 | 9,97 | IAC 202 | 9,17 | CNA0001350 | 7,66 |
| CA960010 | 13,58 | CNA0001109 | 11,68 | CA800120 | 10,71 | EPAGRI 108 | 9,92 | CA810046 | 9,10 | CNA0003668 | 7,52 |
| CNA0005478 | 13,37 | CA810041 | 11,67 | CNA0001339 | 10,66 | CA960041 | 9,87 | IAC 202 | 8,99 | CNA0005015 | 7,50 |
| CNA0006910 | 13,17 | CA820062 | 11,64 | CNA0005326 | 10,64 | CA840032 | 9,85 | CA960035 | 8,96 | IRGA 420 | 7,31 |
| CNA0000482 | 13,07 | BRS FORMOSO | 11,64 | CNA0004625 | 10,59 | CA780176 | 9,76 | CA960027 | 8,96 | DIAMANTE | 7,28 |
| CNA0000482 | 12,97 | CA780125 | 11,61 | CA790011 | 10,58 | TOMOE MOCHI | 8,73 | CA780101 | 8,90 | CNA0001420 | 7,22 |
| CNA0003665 | 12,68 | CNA0001416 | 11,61 | SCS BRS 111 | 10,57 | CNA0001476 | 8,72 | CNA0002258 | 8,90 | CNA0004552 | 7,18 |
| CA780174 | 12,67 | CNA0004566 | 11,60 | MINAMI HATA MOCHI | 10,57 | CNA0006565 | 8,71 | CA840045 | 8,87 | CNA0005014 | 7,10 |
| CA800122 | 12,57 | CNA0001423 | 11,54 | CA840159 | 10,55 | RAMTULASI | 9,75 | RS16PL12-10-1-B | 8,82 | NOURIN MOCHI | 7,03 |
| CA800109 | 12,54 | CA780105 | 11,52 | CIWINI | 10,52 | CA800029 | 9,74 | CA800013 | 8,76 | CNA0003591 | 6,76 |
| CA800172 | 12,50 | CNA0004579 | 11,47 | CNA0000082 | 10,50 | CA850015 | 9,72 | ORYZICA LHANOS4 | 8,74 | CNA0003569 | 6,70 |
| CA810043 | 12,47 | RIO GRANDE | 11,46 | CNA0006940 | 10,42 | CNA0002416 | 9,72 | CA810044 | 8,69 | CA800117 | 6,63 |
| IRGA 418 | 12,37 | CA790376 | 11,44 | CNA0000009 | 10,41 | CA970013 | 9,71 | CNA0002222 | 8,67 | CA780171 | 6,62 |
| IRGA 419 | 12,31 | CNA0006035 | 11,41 | CNA0002524 | 10,30 | CNA0000089 | 9,70 | CNA0006129 | 8,63 | CNA0005016 | 6,49 |
| IAC 201 | 12,29 | RS16PL5-12-6-B | 11,40 | CA810011 | 10,29 | CA800108 | 9,69 | CNA0002672 | 8,61 | CNA0003005 | 6,48 |
| CNA0002387 | 12,25 | CNA0000994 | 11,40 | CA780392 | 10,27 | CA820041 | 9,68 | CNA0004308 | 8,60 | CNA0002246 | 6,44 |

CONCLUSÃO

Comprovou-se, pela análise quantitativa da proteína total de reserva do grão, a existência de variabilidade entre 186 acessos irrigados da CNAE. Porém, não foi observado um padrão para esta característica relacionado ao estrato da CNAE (VT, LCI ou LCB). Destaca-se o acesso CNA0007408, oriundo de um programa de melhoramento da Colômbia, que apresentou 20,25% de proteína total de reserva, sendo o maior valor encontrado neste grupo de acessos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIE, T; CORDEIRO, CMT.; FONSECA, JR.; ALVES, RBN.; BURLE, ML; BRONDANI, C; RANGEL, PHN.; CASTRO, EM; SILVA, HT; FREIRE, MS; ZIMMERMANN, FJP; MAGALHÃES, JR. Construção de uma coleção nuclear de arroz para o Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, p.129-136, 2005.

ARAÚJO, ES; SOUZA, SR; FERNANDES, MS. Características morfológicas e moleculares e acúmulo de proteína em grãos de variedades de arroz do Maranhão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 11, p. 1281-1288, nov. 2003.

BRADFORD, MM. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248 – 254, 1976.

CASTRO, EM; VIEIRA, NRA; RABELO, RR; SILVA, SA. Qualidade de grãos em arroz. Santo Antônio de Goiás: **Embrapa Arroz e Feijão**, 30 p. 1999.

CRUZ, CD. Programa Genes: Aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: Editora UFV. 442p. 1997.

FRANKEL, OH. Genetic perspectives of germplasm conservation. In: ARBER, WK; LLIMENSEE, K; PEACOCK, WJ; STARLINGER, P (Ed.) **Genetic manipulation: Impact on man and society**. Cambridge University Press, p. 161-170. 1984.

HUEBNER, FR; BIETZ, JA; JULIANO, BO. Rice cultivar identification by high-performance liquid chromatography of endosperm proteins. **Cereal Chemistry**. v. 67, p. 129 - 135, 1990.

NALIVKO, GY; PETIOSKAYA, VS; DZYUBA, O. Variability of protein and amino acid content in rice grain. **Applied. Biochemistry. Microbiology**. v. 2, p. 506 - 510, 1975.

SOUZA, SR.; STARK, EML.; FERNANDES, ML. Effects of supplemental-N on the quality of rice proteins. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 9, p. 40-49, 1993.