UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Avaliação da captação e acúmulo de arsênio em diferentes cultivares de arroz do Brasil

Ana Carolina Cavalheiro Paulelli

Ribeirão Preto
2015

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Avaliação da captação e acúmulo de arsênio em diferentes cultivares de arroz do Brasil

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências
Área de Concentração: Toxicologia.

Orientada: Ana Carolina Cavalheiro Paulelli

Orientador: Prof. Dr. Fernando Barbosa Junior

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia em 06/08/2015. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP

Ribeirão Preto
2015

PAULELLI, A. C. C.	**Avaliação da captação e acúmulo de arsênio em diferentes cultivares de arroz do Brasil**		**MESTRADO FCFRPUSP 2015**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Paulelli, Ana Carolina Cavalheiro
Avaliação da captação e acúmulo de arsênio em diferentes cultivares de arroz do Brasil. Ribeirão Preto, 2015.
58 p.: il.; 30 cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Toxicologia.
Orientador: Barbosa Junior, Fernando.

1. Arroz *(Oryza sativa L.)*. 2. Arsênio. 3. ICP-MS. 4. Especiação química. 5. Cultivares brasileiros.

FOLHA DE APROVAÇÃO

PAULELLI, Ana Carolina Cavalheiro.

Avaliação da captação e acúmulo de arsênio em diferentes cultivares de arroz do Brasil

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Toxicologia.
Orientador: Prof. Dr. Fernando Barbosa Junior

Aprovado em: ___/___/_____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura:_____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura:_____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura:_____

DEDICATÓRIA

A Deus, por sempre guiar meus caminhos,

Aos meus queridos pais, José Maria e Mariza, e meus irmãos, Thiago, Fabiano e Giovanna,

E a todos meus amigos e pesquisadores que de uma certa forma ajudaram neste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar meu caminho e minhas decisões e por me fazer acreditar que minha vida está em Seus planos.

Aos meus pais José Maria Paulelli e Mariza Paulelli, exemplos de fé, amor, companheirismo, simplicidade e dedicação. Fonte de todo apoio incondicional durante minha caminhada.

Aos meus queridos irmãos, Thiago, Fabiano e Giovanna pelos abraços, sorrisos, conselhos, força e compreensão.

À minha amada avó, Rafaela, que mesmo não estando mais presente fisicamente é uma das minhas maiores lembranças de amor.

Ás minhas tias Zenaide (Ati) e Mariene (Má) pela amizade e apoio em todos momentos de minha vida

Áo meu padrinho Dinis e minhas tias e primas que sempre estão por perto, pela amizade e apoio.

Ao meu Orientador Dr. Fernando Barbosa Junior pela dedicação, confiança, amizade e pela grande oportunidade de trabalhar em seu grupo de pesquisa.

Ao meu querido amigo Bruno Lemos, pelos ensinamentos, amizade, conselhos e sorrisos.

A Vanessa pela amizade, sugestões, atenção, auxílio nos experimentos e dedicação ao Laboratório de Toxicologia e Essencialidade de Metais.

A todos os meus especiais amigos, Airton, Bruno, Andréia, Vania, Juliana, Isadora, Carol, Rafa, Lara, Nara, Marília, Bruna, Alessandra, Melina, Nathália, Marina, Isabella, pelas risadas, por me apoiarem e sempre estarem presentes.

A todos (antigos e novos) integrantes do Laboratório de Toxicologia e Essencialidade de Metais, Airton, Aline, Ana Paula, Andréia, Bruno Lemos, Bruno Rocha, Camila, Denise, Eloísa, Giovanna, Gustavo, Joseph, Juliana, Katia, Lara, Letícia, Maria Fernanda, Marília, Mateus, Nara, Renan, Rodolfo, Samuel, Vanessa, Vania, Vinicius, Vívian.

Aos funcionários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, em especial à Rosemary, Rosana, Cidinha, Ana Lúcia, Dona Nadir e Regina.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), CNPq e Fapesp pelo apoio financeiro às pesquisas desenvolvidas no laboratório.

E a todos que não estão presentes nestas linhas mas que, direta ou indiretamente, participaram da minha caminhada desde a graduação até a defesa desta dissertação de mestrado.

"Os sonhos não determinam o lugar aonde iremos chegar, contudo, fornecem coragem para nos retirar de onde estamos. Os sonhos não constroem vitórias, mas nos retiram do conformismo, não nos fazem heróis, transformam-nos em seres essencialmente humanos. Uma vida sem sonhos é uma mente sem criatividade, uma emoção sem aventuras, uma história sem conteúdo."

Augusto Curi

RESUMO

PAULELLI, A. C. C. **Avaliação da captação e acúmulo de arsênio em diferentes cultivares de arroz do Brasil.** 2015. 58f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

O arsênio (As) é um elemento não essencial ao homem, encontrado na natureza nas formas inorgânicas (As-i) e orgânicas (As-o). As espécies inorgânicas, arsenito e arsenato (As^{3+} e As^{5+}), são as mais tóxicas, podendo interferir em reações bioquímicas, estado redox das células, formação de trifosfato de adenosina (ATP) e gerar danos oxidativos, ocasionando proliferação celular e câncer. O As-i pode sofrer metilação no organismo e no ambiente, gerando metabólitos que são menos reativos com componentes do tecido e mais facilmente excretados na urina, principalmente ácido monometilarsônico (MMA) e ácido dimetilarsínico (DMA). O As-i é encontrado no arroz (*Oryza sativa* L.), principalmente quando o cultivo ocorre pelo método irrigado, que leva a uma maior mobilização de elementos presentes no solo. Neste estudo, foram avaliadas 6 diferentes cultivares brasileiras de arroz quanto à predileção pela captação de As (EPAGRI 109, EPAGRI 108, SCS BRS Tiotaka, SCS 114 Andosan, Maranhão e Cáqui). Para cada cultivar foram plantados grupos controles (não expostos, n=4) e expostos (n=4). No grupo exposto, para cada kg de solo, foram adicionados 10 mg de As^{5+}. Nos grupos controle não adicionou-se As^{5+}, sendo submetidos às mesmas condições de solo, irrigação, temperatura e umidade. Após a completa maturação das plantas foram feitas determinações de As total (As-t) em raízes, solo, colmos e grãos por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e a especiação química de As nos grãos foi feita por HPLC-ICP-MS. Uma elevada capacidade de captação do As foi observada na seguinte ordem crescente: grãos<colmos<solo<raízes, sendo as concentrações médias dos grupos controle de 0,06; 0,32; 3,29 e 0,65 mg kg^{-1} e nos grupos expostos com médias de 0,54; 5,96; 13,5 e 95,48 mg kg^{-1}. EPAGRI 108 foi a cultivar que menos acumulou As-t nos grãos, tanto nos grupos controle (0,05±0,005 mg kg^{-1}) quanto nos grupos expostos (0,36±0,08 mg kg^{-1}) apresentando também menores fatores de transferência ($FT_{solo\text{-}grão}$, $FT_{raíz\text{-}grão}$, $FT_{colmo\text{-}grão}$) e concentrações de As-o nos grupos controle (0,015 mg kg^{-1}) e expostos (0,13 mg kg^{-1}). Entre as cultivares de arroz branco, Andosan (exposto) foi a que acumulou maiores quantidades de As-t (0,515±0,15 mg kg^{-1}) e de Aso (0,37 mg kg^{-1} ou 72% do As-t) nos grãos. Esta mesma cultivar, entre os grupos controle, foi uma das que apresentou maiores porcentagens de As-i (65%) em relação ao As-t. EPAGRI 109 (controle) foi a cultivar de arroz branco com maior As-t e As-i no grãos (0,07±0,008 e 0,04 mg kg^{-1} respectivamente) e maior $FT_{solo\text{-}grãos}$ (0,216). Nas plantas expostas a 10 mg Kg^{-1} As^{5+} no solo foi observada uma correlação positiva entre As-t (solo) x As-t e As-o (grãos) evidenciando o aumento da captação de As e transporte de As-o para as partes aéreas. Os elementos essenciais Co e Mn diminuíram significativamente em alguns cultivares sob alta exposição apresentando correlação negativa As-t (raíz) x Co (grãos). Os elementos tóxicos Cd e Pb, sob alta exposição ao As foram em geral menos captados pela planta.

Palavras chave: Arroz (*Oryza sativa* L.), arsênio, ICP-MS, especiação químca, cultivares brasileiros.

ABSTRACT

PAULELLI, A. C. C. **Uptake and accumulation evaluation of arsenic in different Brazilian rice cultivars.** 2015. 58p. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

Arsenic (As) is a nonessential element to man, found in the environment in inorganic (As-i) and organic forms (As-o). Inorganic species, arsenite and arsenate (As^{3+} and As^{5+}) are the most toxic, and may interfere in biochemical reactions, cellular redox status, formation of adenosine triphosphate (ATP) and generate oxidative damage leading to cell proliferation and cancer. As-i can be methylated in the body and in the environment generating metabolites which are less reactive with components of organisms and more easily excreted in the urine, mainly monomethylarsonous acid (MMA) and dimethylarsinous acid (DMA). As-i is found in rice (*Oryza sativa* L.), especially when the crop is flooded, which leads to greater mobilization of elements present in the soil. In this study, Brazilian rice varieties were evaluated and the predilection for As uptake in 6 different cultivars (EPAGRI 109, EPAGRI 108, BRS Tiotaka SCS, SCS 114 Andosan, Maranhão and Cáqui). For each cultivar it were planted controls (untreated, n = 4) and exposed (n = 4). In the group exposed, for each kg of soil was added 10 mg of As^{5+}. Control groups were not added As^{5+}, being submitted to the same conditions of soil, irrigation, temperature and humidity. After complete plant maturation were made determinations of the total Arsenic (As-t) in soil, roots, shoots and grains were performed by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) and the chemical speciation of the grains was performed by HPLC-ICP-MS. A high As uptake ability was observed in the following order: grain<shoot<soil<roots, and the average concentrations of control groups were 0.06; 0.32; 3.29 and 0.65 mg kg^{-1} and the average exposed groups were 0.54; 5.96; 13.5 and 95.48 mg kg^{-1}. EPAGRI 108 was the cultivar less accumulated As-t both control groups (0.05 ± 0.005 mg kg^{-1}) as the exposed group (0.36 ± 0.08 mg kg^{-1}) also presenting the lowest $FT_{soil\text{-}grain}$, $FT_{root\text{-}grain}$, $FT_{shoot\text{-}grain}$, concentrations of As-o in the control (0.015 mg kg^{-1}) and exposed group (0.13 mg kg^{-1}). Among the white rice cultivars, Andosan (exposed) accumulated larger amounts of As-t (0.515 ± 0.15 mg kg^{-1}) and As-o (0.37 mg kg^{-1} or 72% As-t) in grains. This same cultivar was the one who had higher percentages of As-i (65%) compared to As-t, between the control group. EPAGRI 109 (control) was the white rice cultivar with high As-t and As-i in grain (0.07±0,008 and 0,04 mg kg^{-1} respectively) between the control group and higher $FT_{soil\text{-}grain}$ (0,216). In high As exposure, it was observed a positive correlation between As-t (soil) x As-t and As-o(grains) highlighting the increased As uptake and the transport of As-o to the aerial parts. The essential elements Co and Mn decreased significantly in some cultivars under high exposure and showed negative correlation between As-t (root) x Co (grain). Toxic elements, Cd and Pb under high As exposure were generally less uptake by plant.

Keywords: Rice (*Oryza sativa* L.), arsenic, ICP-MS, chemical speciation, Brazilian cultivars

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Morfologia do arroz. a) raízes ramificadas e com pelos radiculares b) caule, colmos primário e secundários c) panícula contendo os grãos e precedida da folha bandeira. 6

Figura 2. Mapa da produção agrícola de arroz (CONAB, 2015) 6

Figura 3. Captação e metabolismo de As pelas células das raízes do arroz (adaptado de Zhao et al., 2009). A seta vermelha indica que as espécies são mais susceptíveis ao transporte nos tecidos condutores e a seta verde indica efluxo mais lento 9

Figura 4. Solo de cultivo a) solo superficial, b) areia e c) matéria orgânica 2:2:1 13

Figura 5. Etapas do plantio a) casa de vegetação b) bandeja para crescimento das mudas c) semeadura d) mudas e) transplante da muda para o vaso f) cultivares plantados em vasos simulando o cultivo de arroz irrigado 15

Figura 6. Diferença na altura da cultivar de arroz vermelho Cáqui entre os outras cultivares. 19

Figura 7. Média ± DP das concentrações de As no A) solo, B) raíz, C) colmo e D) grãos em diferentes cultivares brasileiros, E9, EPAGRI 109; E8 EPAGRI 108; T, TIO TAKA; A, Andosan; M, Maranhão; C, Cáqui; (□): grupo controle (n=4), (■): grupo exposto (n=4). Anova uma via seguido do teste de Tukey; * estatisticamente diferentes dos demais cultivares expostos (p<0,05); (⌒): Cáqui é estatisticamente diferente de ANDOSAN e MARANHÃO 23

Figura 8. Fatores de transferência do As entre o solo e as partes da planta das cultivares brasileiros. Resultados apresentados como média ± desvio padrão. E9, EPAGRI 109; E8, EPAGRI 108; T, TIO TAKA; A, ANDOSAN; M, MARANHÃO; C, CÁQUI, *p<0,05, (■): grupo controle (n=4), (□): grupo exposto (n=4). 25

Figura 9. Cromatograma das espécies de As, intensidade x tempo (min) a) cromatograma típico obtido por uma solução estoque de espécies de arsênio 10 µg L^{-1} (expresso como arsênio, *m/z*=75); b) cromatograma do material de referência 1568a *Rice Flour* da NIST; c) cromatograma do um cultivar EPGRAI 109; d) cromatograma da cultivar EPAGRI 109 exposto a As. O tempo de retenção, em minutos, está acima de cada pico. 29

Figura 10. Concentração de As total (As-t), arsênio inorgânico (As-i), arsênio orgânico (As-o) em grãos de cultivares brasileiros de arroz controle (A) e expostos a As (B). O percentual de As-i e As-o em relação ao As total está acima das barras. (- - -): indica o limite de 200 µg kg^{-1} de As-i (FAO/WHO, 2014) 32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros agronômicos observados em cada cultivar, representados como média ± DP (n=4). 19

Tabela 2. Análise descritiva da concentração de As presente nos grupos controle e exposto em diferentes partes do arroz (raízes, colmos e grãos) e no solo. Resultados apresentados como média ± desvio padrão (mínimo – máximo), concentração de As em mg kg^{-1} das amostras secas (n=4)..... 22

Tabela 3. Concentração de Se, Pb, Cd, Co, Zn, Mn, Cu, Mg e P presente nos 3 compartimentos do arroz (grão, colmo e raíz) e no solo, das cultivares controle (c) e expostas a uma maior concentração de As (e). E9, EPAGRI 109; E8, EPAGRI 108; T, Tio taka; A, Andosan; M, Maranhão; C, Cáqui; ND, não detectado. Resultados representados como média ± desvio padrão. Teste t, não pareado. *P<0,05, **P<0,01 27

Tabela 4. Correlações entre As-t (no solo, raíz colmo e grão), As-i no grão, As-o grão, Se, Zn, Pb, Cd, Mn, Co, Cu, Mg e P presentes nos grãos das cultivares expostas. As-t: arsênio total, As-i: arsênio inorgânico (As^{3+} e As^{5+}), As-o: arsênio orgânico (DMA e MMA), *p<0,05; **p<0,01..... 28

Tabela 5. Determinação das espécies de arsênio no material de referência Rice Flour NIST 1568a. 30

Tabela 6. Concentração de As-t, espécies de As e soma das espécies nos grãos de arroz das cultivares brasileiras de arroz e recuperação em relação ao As-t. Os valores encontrados estão representados (em ng g^{-1}) como média ± desvio padrão (n=4). 31

Tabela 7. Principais variáveis estudadas, AP, altura da planta, As-t (grãos), [Co], concentração de Co; [Cd], concentração de Cd; [Pb], concentração de Pb; $FT_{solo\text{-}grãos}$, fator de transferência solo-grão; As-i (-), As-o (-), As (+) e As (+). 44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A: cultivar Andosan

ANOVA: análise de variância

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AP: altura da planta

AsB: arsenobetaína

AsC: arsenocolina

As-i: arsênio inorgânico

AsLip: arsenolipídeos

As-o: arsênio orgânico

AsSug: arsênio açúcar

As-t: arsênio total

ATP: trifosfato de adenosina

ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry

BMDL: Benchmark dose lower confidence limit

BGS: Britsh Geological Survey

C: cultivar Cáqui

CAMA: praguicida metanoarsenato ácido de cálcio

DMA: ácido dimetilarsínico

DSMA: praguicida metanoarsenato dissódico

E8: cultivar EPAGRI 108

E9: cultivar EPAGRI 109

EFSA: European Food Safety Authority

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EPA: Environmental Protection Agency

EPAGRI: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina

FAO: Food and Agriculture Organization

FDA: United States Food and Drug Administration

FT: fator de transferência

GSH: glutationa

GPx: glutationa peroxidase

HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência

HPLC-ICP-MS: cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado

IARC: International Agency for Research on Cancer

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICP-MS: espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado

IOM: Institute of Medicine

JECFA: Comitê de Especialistas da FAO/WHO em aditivos alimentares e contaminantes

Lis: lisina

M: cultivar Maranhão

MG: massa dos grãos

MMA: ácido monometilarsônico

MP: massa das plantas

MSMA: praguicida metanoarsenato monossódico

m/z: razão massa / carga

NIP: nodulin 26-like intrinsic proteins

NIST: National Institute of Standards and Technology

PCs: fitoquelatinas

pH: potencial hidrogeniônico

POF: Pesquisa de orçamentos familiares

PTWI: Provisional tolerable weekly intake

ROL: perda de oxigênio radial

rpm: rotações por minuto

T: cultivar SCS BRS TIO TAKA

WHO: World Health Organization

TMAO: óxido de trimetilarsina

LISTA DE SÍMBOLOS

As: arsênio

As^{3+}: arsenito

As^{5+}: arsenato

As_2O_3: trióxido de arsênio

As_2O_5: pentóxido arsênico

Cd: cádmio

Cu: cobre

Fe^{2+}: íon ferroso

Fe^{3+}: íon férrico

Ga: gálio

Ge: germânio

HCl: ácido clorídrico

HNO_3: ácido nítrico

H_2O_2: peróxido de hidrogênio

H_3PO_4: ácido fosfórico

H_3AsO_4: ácido arsênico

MeOH: metanol

Mg: magnésio

Mn: manganês

$NaAsO_2$: arsenito de sódio

Na_2AsO_4: arsenato de sódio

NaOH: hidróxido de sódio

NO: óxido nítrico

P: fósforo

Pb: chumbo

Rh: ródio

Se: selênio

Si: Silício

Zn: zinco

SUMÁRIO

RESUMO i
ABSTRACT iii
Lista de figuras iv
Lista de tabelas v
Lista de abreviaturas e siglas vi
Lista de símbolos viii

1. INTRODUÇÃO 1
1.1. Arsênio e seus efeitos tóxicos 1
1.2. Fontes de exposição ao Arsênio 2
1.3. O arroz 5
1.4. Metabolismo de As no arroz (*Oryza sativa L.)* 8

2. OBJETIVOS 11

3. MATERIAL E MÉTODOS 12
3.1. Equipamento, reagentes, soluções e acessórios: 12
3.2. Avaliação das cultivares de arroz brasileiros quanto à predileção pelo As presente no solo e as espécies químicas presentes nos grãos 13
3.2.1. Solo: preparo e caracterização (presença de elementos químicos) 13
3.2.2. Seleção de cultivares de arroz 13
3.2.3. Plantio das mudas e transplante para os vasos 14
3.2.4. Coleta e preparo para análises 15
3.2.5. Determinação de As total, elementos essenciais, tóxicos e espécies de As 16
3.2.6. Avaliação do fator de transferência do As nas cultivares de arroz 16
3.2.7. Análises dos resultados 16

4. RESULTADOS 17
4.1. Cultivares de arroz brasileiro e parâmetros agronômicos 17
4.2. Concentração de As total presente em solo e nos diversos tecidos das cultivares de arroz do Brasil 20
4.3. Fator de transferência 24
4.4. Elementos essenciais e tóxicos presentes nas partes do arroz e no solo e correlações entre As-t, espécies de As e os outros elementos 26
4.4. Especiação química de arsênio 29

5. DISCUSSÃO 33
5.1. Concentração de As-t no solo, raízes, colmos e grãos 33
5.2. Concentração de elementos essenciais e tóxicos, no arroz, no solo e correlação entre os elementos 36
5.2.1 Elementos essenciais 36
5.2.2 Elementos tóxicos 37
5.2.3 Correlações 38
5.3. Fator de transferência do As 39
5.4. Especiação química de As 41
5.5. Considerações finais 43

6. CONCLUSÕES 45

REFERÊNCIAS 46

1. INTRODUÇÃO

1.1. Arsênio e seus efeitos tóxicos

O As é um elemento químico de massa atômica 75, considerado como um semimetal por possuir características físico-químicas tanto de metais quanto de ametais (WATANABE e HIRANO, 2013). Ele é amplamente distribuído no ambiente e se encontra na atmosfera, água, solos, sedimentos e organismos (FARIAS et al. 2012). Na natureza é encontrado como espécies químicas orgânicas (As-o) e inorgânicas (As-i). Espécies inorgânicas de As podem se apresentar na forma trivalente como trióxido de As (As_2O_3) ou arsenito de sódio ($NaAsO_2$) e na forma pentavalente como arsenato de sódio (Na_2AsO_4), pentóxido arsênico (As_2O_5) ou ácido arsênico (H_3AsO_4) (KLAASSEN, 2008). Já na forma orgânica ele pode se apresentar como MMA, DMA, ácido arsenílico, óxido de trimetilarsina (TMAO), arsenoaçúcares, arsenobetaína (AsB), arsenocolina (AsC) e arsenolipídeos (AsLip) (DEMBITSKY e LEVITSKY, 2004; KLAASSEN, 2008).

O ser humano pode estar exposto ao As pela inalação e de 80 a 90% pela ingestão. A absorção cutânea também ocorre, mas em menor grau (ROSSMAN, 2007). Após a ingestão de alimentos contendo As, a maior parte é absorvida via trato gastrointestinal, sendo que são absorvidos mais de 90% do As-i e entre 75 e 85% do As-o (ROSSMAN, 2007; WHO 2000).

A distribuição do As é feita pelas proteínas plasmáticas, acumulando-se nos rins e no fígado em exposições agudas e em pelos e unhas em exposições crônicas (APOSHIAN e APOSHIAN, 2006 e KLAASSEN, 2008).

Existem diferenças marcantes no metabolismo do As entre humanos e outros mamíferos. Os processos básicos de metabolismo do As ocorrem por meio de reações de óxido/redução e reações de metilação. O As^{5+} por ação da enzima arsenatoredutase é rapidamente reduzido a As^{3+}, sendo esta forma mais tóxica que o anterior. Por sua vez o As^{3+} sofre metilação formando ácido metilarsonato (MMA^{5+}) com auxílio das enzimas As metiltransferase (As_3MT) ou arsenito metiltransferase. O MMA^{5+} com auxílio das enzimas As_3MT e glutationa S-transferase omega-1 (GSTO1) dá origem ao intermediário ácido metilarsonoso (MMA^{3+}) que por auxílio de As_3MT ou arsenito metiltransferase origina o DMA^{5+}. O DMA^{5+} dá origem ao intermediário ácido dimetilarsinoso (DMA^{3+}) com auxílio da enzima GSTO1 ou As3MT (APOSHIAN e APOSHIAN, 2006; KLAASSEN, 2008). Durante este processo são gerados metabólitos intermediários (MMA^{3+} e DMA^{3+}) que são mais tóxicos do que os compostos inorgânicos de As (KLAASSEN, 2008).

A ordem decrescente de toxicidade das formas do As é a seguinte: arsina>arsenito>arsenato>ácidos alquil arsênicos>compostos organo-arsenicais. Esses

compostos possuem respectivamente uma DL_{50} em ratos de: AsH_3 = 3 mg kg^{-1}, As^{3+} = 14 mg kg^{-1}, As^{+5} = 20 mg kg^{-1}, MMA = 700-1800 mg kg^{-1} e DMA = 700-2600 mg kg^{-1}, AsC e AsB = 10 g kg^{-1} (SHIBATA, MORITA e FUWA, 1992; MA e LE, 1998; HSUEH et al., 2002). Sendo assim, a toxicidade dos compostos inorgânicos de As é bem maior do que os organo-arsenicais.

A meia-vida biológica das espécies metiladas de As na corrente sanguínea é de cerca de 30 horas, já a do As-i é de cerca de 10 horas. De uma forma geral, na urina são excretados de 60 a 80 % de DMA, 10 a 20% de MMA e 10 a 20% de As-i em indivíduos que foram expostos ao As-i (FELDMANN et al., 1999; APOSHIAN e APOSHIAN, 2006). Os metabólitos metilados são menos reativos com os componentes do tecido, menos tóxicos e mais facilmente excretados na urina que o As-i (VAHTER, CONCHA e NERMELL, 2000), Porém as espécies intermediárias MMA^{3+} e DMA^{3+} podem conferir maior toxicidade por fazerem ligação com a hemoglobina e outras proteínas do sangue (APOSHIAN e APOSHIAN, 2006; THOMAS et al., 2007). Algumas espécies encontradas em alimentos de origem marinha são excretadas inalteradas na urina, como é o caso da arsenobetaína (AsB) e arsenocolina (AsC) que não sofrem biotransformação. Outras sofrem biotransformação como os arseno-açúcares, principalmente a DMA (KLAASSEN, 2008).

Quanto aos mecanismos de toxicidade do As, sabe-se que o As^{3+} interage com grupamento sufidrila (SH) alterando reações bioquímicas dependentes de enzimas e estado redox das células (NRC, 2001). Já o As^{5+} devido a sua semelhança com fosfato altera fosforilação oxidativa interferindo na formação de trifosfato de adenosina (BISWAS et al., 2008; NRC, 2001). Além disso, o As e seus metabólitos são capazes de causar dano oxidativo, alteração no estado de metilação do DNA, instabilidade genômica, comprometimento do reparo de danos ao DNA e aumento da proliferação celular (NRC, 2001; ROSSMAN, 2003). A Agência Internacional de Pesquisa Contra o Câncer (IARC) classifica o As no grupo 1, ou seja é considerado como cancerígeno aos seres humanos. Os efeitos da exposição ao As vão desde gastrenterites e letalidade em exposições agudas até aparecimento de câncer de pele, pulmão, bexiga e rim assim como alterações na pele como hiperqueratose e alterações na pigmentação em exposições crônicas (WHO, 2001).

1.2. Fontes de exposição ao Arsênio

O As era conhecido no passado como o “veneno” dos reis ou o rei dos “venenos” (KLAASSEN, 2008). Apesar de sua elevada toxicidade, o As teve grande aplicação

terapêutica no passado, sendo muito utilizado para tratamentos de sífilis, tripanossomíase e doenças de pele (SOIGNET et al., 2001). Atualmente é utilizado no tratamento da leucemia promielocítica aguda, por induzir apoptose de células cancerígenas levando a remissão da doença (ZHU et al., 1997; YOSHIDA et al., 2004)

O As é liberado ao ambiente através de processos naturais como reações de intemperismo, atividade biológica, emissões vulcânicas (SMEDLEY E KINNIBURGH 2002). A atividade humana tem importante contribuição devido às atividades de mineração, queima de combustíveis fósseis, o uso de praguicidas arsenicais, herbicidas, dessecantes de culturas, aditivo para ração animal (principalmente aves), entre outros (SMEDLEY e KINNIBURGH, 2002). Os principais praguicidas organo-arsenicais são metanoarsenato monossódico (MSMA), metanoarsenato dissódico (DSMA), metanoarsenato ácido de cálcio (CAMA) e ácido cacodilico. A finalidade destes praguicidas é eliminar as ervas daninhas que podem afetar negativamente na agricultura (EPA, 2013). Embora a maioria destes praguicidas terem sido retirados do mercado, com exceção do MSMA, ainda existem regiões contaminadas com altas concentrações de resíduos organo-arsenicais (EPA, 2013). No Brasil, o herbicida MSMA, é utilizado em culturas de algodão, café, cana-de-açúcar e citros expondo vários trabalhadores ao As (ANVISA, 2013). Além da exposição ocupacional ao praguicida, em alguns lugares os produtores fazem alternância de cultivo de algodão e arroz, o que também pode contribuir para a contaminação de arroz com As (WILLIAMS et al. 2007b). Outros compostos organo-arsenicais (roxarsone, ácido arsanílico e seus derivados) são usados como aditivos alimentares para aves e suínos para aumentar a taxa de ganho de peso, melhorar a eficiência de alimentação, pigmentação, e tratamento e prevenção de doenças, expondo a população que se alimenta de produtos de origem animal e plantações que utilizam de estercos como adubos (EPA, 2000 e 2006; FDA, 2008a, b).

A exposição não ocupacional ao As ocorre principalmente por ingestão de água e alimentos contaminados. Na água o As se apresenta quase que totalmente na forma inorgânica (ABERNATHY, et al. 1999; BATISTA et al., 2011). Os efeitos tóxicos ao homem decorrentes da exposição ao As presente na água são amplamente conhecidos, principalmente pela contaminação de As ocorrida em Bangladesh. Naquele país asiático o governo local e a Organização Mundial de Saúde (WHO), para diminuírem a incidência de doenças transmitidas pela água de beber como a cólera e verminoses, decidiram construir poços artesianos, porém não contavam com a presença natural de As no subsolo desta região (BGS, 2001). A exposição a elevadas doses em milhões de pessoas tomou lugar não apenas pela água de beber contaminada, mas também pela utilização desta água na irrigação,

contaminando também os alimentos (HUQ et al., 2001). Atualmente mais de 60 milhões de pessoas estão expostas a água com concentrações superiores a 0,01 mg L^{-1} de As, limite recomendável para água potável (WHO, 2008). Em relação à legislação no Brasil referente à concentração de As em águas, a Portaria nº 2914 (MS, 2011), a Resolução nº 357 (CONAMA, 2005) e a Resolução nº 396 (CONAMA, 2008) estabelecem a concentração de 0,01 mg L^{-1} de As-t em água de classe I para consumo humano. Além disso, a resolução nº 357 (CONAMA, 2005) preconiza valores de 0,03 mg L^{-1} de As em águas de classe III destinadas a irrigação de cerealíferos, porém a resolução 396 (CONAMA 2008) não estabelece valores para irrigação destes.

Os alimentos podem conter tanto As-o como As-i. Dentre os alimentos que possuem quantidades consideráveis de As estão os alimentos marinhos como os peixes, crustáceos, e outros frutos do mar. Embora estes alimentos possuam concentrações elevadas de As, a maioria está presente na forma orgânica menos tóxica, como AsB, AsC e AsSug (SHIBATA et al., 1992; HSUEH et al., 2002). AsB é a espécie de As mais abundante em alimentos marinhos. No entanto uma vez ingerida pelos humanos esta forma de arsênio é rapidamente excretada na urina (FRANCESCONI, 2010).

Mais recentemente, uma importante fonte de exposição ao As tem sido destacada, o arroz. Diferentemente dos alimentos de origem marinha, onde predominam espécies orgânicas de As (As-o), no arroz, predominam-se espécies de As-i ou de DMA (SUN et al , 2008a; MEHARG et al, 2009).

O arroz é o primeiro alimento sólido dado ao ser humano devido a sua suavidade, ausência de reações alérgicas e propriedades que conferem um mingau palatável (MEHARG, et al., 2008a). Foram encontradas em média altas concentrações de As-t (0,13; 0,25; 0,23; 0,18 mg kg^{-1}) e As-i (0,11; 0,12; 0,16; 0,085 mg kg^{-1}) em papinhas de arroz de crianças da China, Estados Unidos, Reino Unido e Espanha (CARBONELL-BARRACHINA et al., 2012). Além da presença de As no arroz, existe uma grande preocupação também em indivíduos que consomem derivados do arroz. Foram encontradas elevadas concentrações de As-t e As-i (0,13 e 0,07 mg kg^{-1} respectivamente) em alimentos infantis espanhóis livres de glúten (a base de arroz) comparado a outros alimentos que contem glúten (trigo, cevada e aveia) (As-t=0,03 e As-i=0,026 mg kg^{-1}), isto é importante especialmente porque crianças com doença celíaca são obrigadas a consumir alimentos sem glúten à base de arroz. Neste mesmo estudo foi encontrada também elevada concentração de As-t em alimentos para crianças a base de peixe, porém 95% estava presente como AsB (CARBONELL-BARRACHINA et al., 2012). Isto implica dizermos que as crianças que consomem este

alimento estão expostas a concentrações maiores do que um adulto consumindo água no valor máximo permitido pela Organização Mundial da Saúde de 0,01 mg kg^{-1} As-t (WHO, 2008).

1.3. O arroz

O arroz é uma monocotiledônea da família *Poaceae* (gramíneas). A morfologia da planta do arroz se divide em quatro partes principais: raízes, folhas, caule e panículas (Figura 1). As raízes são adventícias, produzidas a partir de nós inferiores dos caules jovens, são fibrosas e possuem muitas ramificações e pelos radiculares. O caule é composto por um colmo principal e um número variável de colmos primários e secundários, ou perfilhos. A partir do colmo principal originam-se de 8 a 14 folhas, conforme o ciclo da cultivar. A folha primária é cilíndrica e não apresenta lâmina diferente da segunda folha e as demais que são dispostas de forma alternada no colmo e a última folha a surgir em cada colmo denomina-se folha-bandeira. E por fim, a panícula é uma inflorescência particular desta planta onde se formam os grãos, sendo localizada sobre o último entrenó do caule e precedida pela folha-bandeira, é composta pela ráquis principal, que possui nós dos quais saem as ramificações primárias que, por sua vez, dão origem às ramificações secundárias de onde surgem as espiguetas (EMBRAPA, 2013).

O arroz consumido na maior parte do mundo pertence à espécie *Oryza sativa* L. Este alimento é consumido especialmente nos países asiáticos, contribuindo com aproximadamente 70% da energia para as funções diárias de uma pessoa (PHUONG et al., 1999; TORRES-ESCRIBANO et al , 2008). O Brasil é o nono maior produtor de arroz do mundo (MAPA). No Brasil, o arroz é o terceiro grão (6,1%) mais produzido, perdendo apenas para soja (47%) e o milho (39%) conforme dados estatísticos da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2014/2015). Além disso, é o maior produtor de arroz não Asiático e sua maior produção se encontra na região Sul, principalmente Rio Grande do Sul e Santa Catarina, atingindo cerca de 50% da produção total brasileira (EMBRAPA, 2013). Este fato também pode ser observado na Figura 2. Em maio deste ano a estimativa da produção de arroz foi de 12399,5 mil toneladas com importação de 48,8 mil toneladas (CONAB, 2015), sendo assim temos um consumo per capita de arroz de 60,3 kg ao ano.

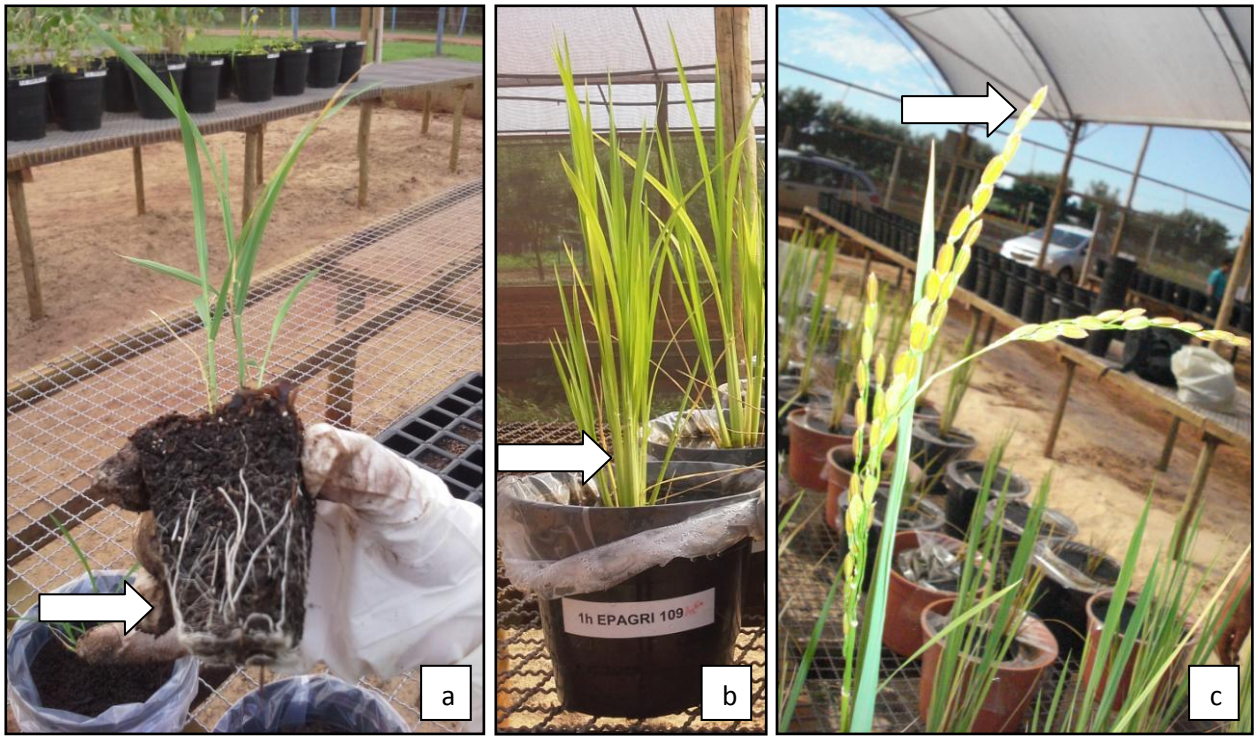

Figura 1: Morfologia do arroz. a) raízes ramificadas e com pelos radiculares b) caule, colmos primário e secundários c) panícula contendo os grãos e precedida da folha bandeira.

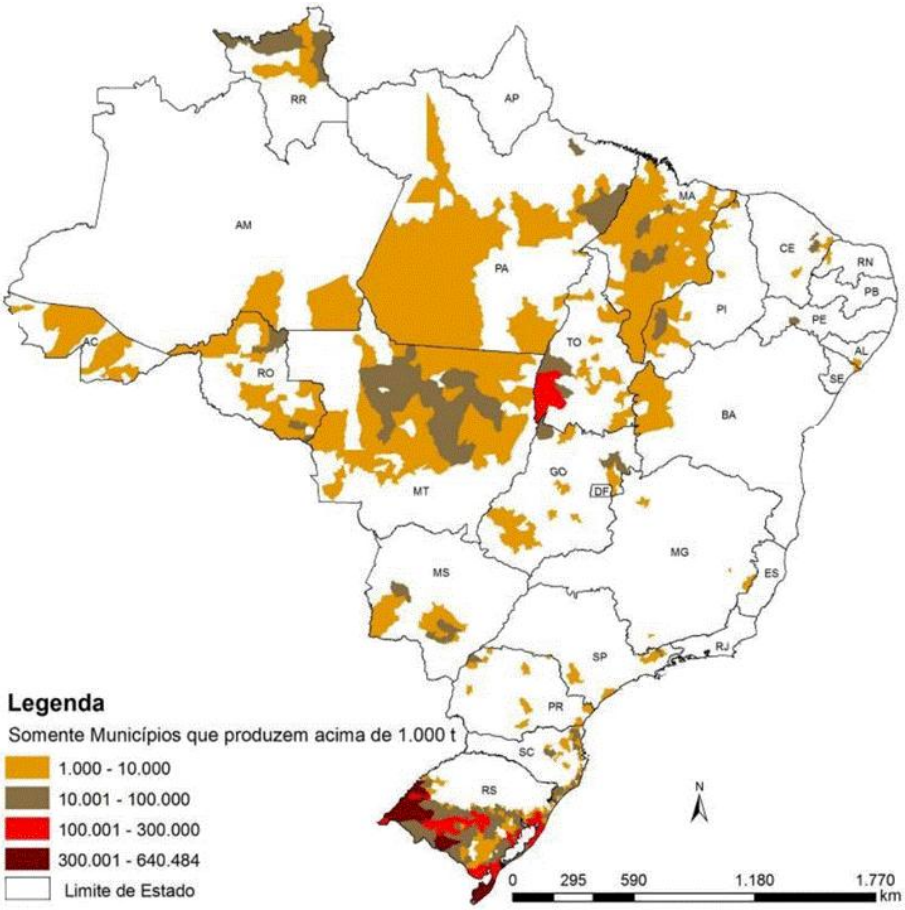

Figura 2. Mapa da produção agrícola de arroz (CONAB, 2015)

O arroz pode ser cultivado nas formas de sequeiro (sem solo inundado com lamina de água) e principalmente na forma irrigada (com solo inundado com lâmina de água) (GOMES e MAGALHÃES JÚNIOR, 2004). As condições anaeróbicas do cultivo de arroz irrigado aumentam sua produtividade, pois influenciam positivamente no crescimento do arroz, como também na captação de nutrientes e manejo do solo (EMBRAPA, 2013).

O consumo de arroz no Brasil se dá principalmente por grãos inteiros, descascados e polidos, diferente do milho e trigo que são transformados (em farinha ou pães, por exemplo) antes de serem consumidos (CASTRO et al., 1999). No entanto, existem diferentes tipos de grãos de arroz dependendo do beneficiamento que este sofre. O arroz branco, ou arroz polido, sofre o processo de polimento (retirada da parte que vai do pericarpo até a aleurona). O arroz integral é o que não sofreu polimento. Já o arroz parbolizado é o que foi cozido parcialmente com casca para absorver nutrientes (dentre eles elementos químicos). Posteriormente este arroz é descascado e polido, gerando o arroz parbolizado polido, ou então não sofre o polimento gerando o arroz parbolizado integral (EMBRAPA, 2011).

No Brasil, assim como em praticamente todo o mundo, o arroz produzido nas regiões tradicionais, como na região Sul do Brasil, é o arroz branco. Em algumas regiões do Nordeste, o predomínio da produção e da preferência do consumidor é pelo arroz-vermelho que possui o pericarpo vermelho devido ao acúmulo de tanino ou de antocianina (PEREIRA, 2005; OGAWA, 1992; PANTONE e BEKER, 1991).

Williams e colaboradores (2007a) amostraram grãos de arroz integral de diversas lavouras cultivadas comercialmente e encontraram concentrações médias de 0,32 e 0,16 mg kg^{-1} As em grão de Carmargue (França) e Doñana (Espanha) respectivamente, 0,13 mg kg^{-1} As em grão de Cadiz (Espanha), 0,13 mg kg^{-1} As em grão da Califórnia (EUA), e 0,20 mg kg^{-1} As em grão de Arkansas (EUA). Pouco se conhece a respeito das concentrações de As em amostras de arroz do Brasil. Pioneiro neste estudo no Brasil, Batista et al. (2011) encontraram concentrações em média de 0,2 mg kg^{-1} de As em grãos de arroz (branco, parbolizado branco, integral e parbolizado integral) de 44 amostras de arroz de supermercado de diferentes regiões brasileiras. O arroz integral apresentou-se com maior concentração de As (0,3 mg kg^{-1}) em comparação com o arroz branco (0,2 mg kg^{-1}). Além disso, foi observado que a espécie química predominante no arroz integral foi As^{3+} (0,1 mg kg^{-1}) e no arroz branco foi DMA (0,09 mg kg^{-1}).

As concentrações de As no grão de arroz podem ser influenciadas pela biogeoquímica do solo, tipo de cultivo (irrigado ou sequeiro), água de irrigação, pelo beneficiamento que este sofre, cozimento e tipo de cultivar (MEHARG e ZHAO, 2012; BATISTA et al., 2011;

GOMES e MAGALHÃES JÚNIOR, 2004). Com isso, nos últimos anos vários estudos estão sendo realizados no sentido de entender as variáveis que contribuem para a alta concentração de As no arroz.

1.4. Metabolismo de As no arroz (*Oryza sativa L.)*

De acordo com o trabalho de Williams e colaboradores (2007a), o arroz possui elevada capacidade de captação de As e acúmulo no caule e nos grãos, muito maior que outros cereais, como a cevada e o trigo. Isto se deve principalmente ao seu método de cultivo irrigado, que aumenta a mobilização dos elementos químicos devido a anaerobiose (MEHARG et al., 2009; WILLIAMS et al., 2007a).

O As^{3+} é a espécie mais tóxica do As, tem elevada solubilidade e mobilidade em modo de cultivo irrigado sendo, portanto, facilmente captado pelas raízes do arroz chegando aos grãos (MA et al., 2008). Sendo assim, torna-se importante o estudo da especiação de As para se conhecer a real concentração das espécies mais tóxicas de As (As-i) nos grãos.

A Figura 3, adaptada de Zhao et al. (2010), mostra um esquema da captação e metabolismo de As na raíz do arroz. A captação de As^{3+} e As^{5+} pelo arroz segue uma equação de Michaelis-Menten sugerindo a presença de transportadores (ABEDIN et al., 2002a). A principal via de captação de As^{3+} e As^{5+} ocorre através de transportadores de silicato (também chamados de aquaporinas ou Lis1) e fosfato respectivamente, provavelmente devido às similaridades com a sílica e o fosfato (MEHARG e ZHAO, 2012; MA et al. 2006; MEHARG et al. 1994; ZHAO et al., 2010). Após entrar nas células As^{5+} é convertido em As^{3+} e expelido para os tecidos condutores através dos canais de Lis2 (MA et al., 2008; ZHAO et al., 2010). As espécies orgânicas DMA e MMA são captadas mais lentamente do que As^{3+} e As^{5+} porém, são mais suscetíveis ao transporte dentro da planta através dos tecidos condutores (ASHER e REAY, 1979; MA et al., 2006; MEHARG, NAYLOR e MACNAIR, 1994; MA et al., 2008; ABEDIN et al., 2002a), aonde a condução de As^{3+} até os grãos é feita principalmente através do floema, e o DMA é transportado em semelhantes concentrações tanto no xilema como no floema (CAREY et al., 2010). O arroz possui alguns sistemas de detoxificação na raíz, como efluxo de As^{3+} (mecanismo mais importante no controle do efluxo de Si e As^{3+} das raízes), rápida redução de As^{5+} em As^{3+} e complexação com compostos tiólicos conhecidos como fitoquelatinas (PCs) dependentes de glutationa (GSH) com conseqüente sequestro para dentro de vacúolos nas células das raízes (BATISTA et al., 2014; XU et al., 2007; SONG et al., 2010; RAAB et al., 2005). Além disso, sabe-se que o As^{5+}, assim como seu análogo (fosfato),

tem elevada afinidade pela placa de ferro que se forma na superfície da raíz, reagindo com Fe^{3+} gerando o complexo ferro-arsenato altamente insolúvel (MEHARG e HARTLEY-WHITAKER, 2002), dificultando a captação deste pela planta.

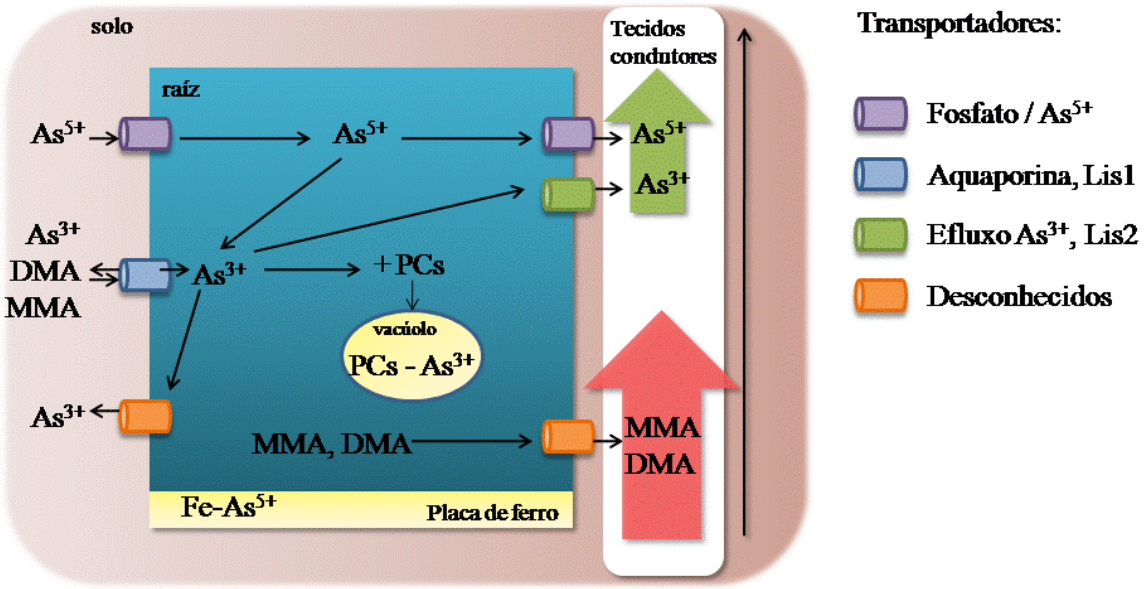

Figura 3. Captação e metabolismo de As pelas células das raízes do arroz (adaptado de Zhao et al., 2009). A seta vermelha indica que as espécies são mais susceptíveis ao transporte nos tecidos condutores e a seta verde indica efluxo mais lento

Em relação aos efeitos tóxicos do As, sabe-se que as formas inorgânicas de As são conhecidas por interferirem em várias vias metabólicas na célula da planta como interação com grupos sufidrilas, substituição de fosfato do ATP e peroxidação lipídica, levando a um comprometimento da produtividade com diminuição do crescimento da planta e decaimento no rendimento dos grãos (SHRI et al. 2009; CARBONELL-BARRACHINA et al., 1995; CARBONELL-BARRACHINA et al., 1998a; ZHANG et al., 2002).

Em um estudo com amostras de arroz adquiridas em mercados brasileiros, Batista et al. (2011) encontraram na maioria das amostras várias espécies de As, em ordem decrescente: DMA, As^{3+}, As^{5+} e MMA, indicando uma variedade na metabolização desse elemento pelas cultivares nacionais.

Em 2009, a Autoridade Européia de Segurança Alimentar (EFSA, 2009) do Painel dos Contaminantes da Cadeia Alimentar avaliou os riscos para a saúde humana relacionado com a presença de As nos alimentos. Suas principais conclusões foram: (i) há uma necessidade urgente para os dados de especiação, (ii) deve ser reduzida as ingestões de As^{3+} e As^{5+} na dieta, (iii) crianças com menos de três anos de idade são as mais expostas a As^{3+} e As^{5+} (iv) e

a exposição dietética para As^{3+} e As^{5+} está diretamente relacionada com a ingestão de produtos à base de arroz.

O Comitê de Especialistas sobre Aditivos Alimentares FAO / WHO (JECFA, 2010) também observou que são necessárias informações mais precisas sobre a concentração de As-i em alimentos para reduzir as exposições alimentares de espécies inorgânicas do elemento. A Organização Mundial da Saúde retirou o PTWI (do inglês Provisional tolerable weekly intake) de 15 µg kg^{-1} (equivalente a 2,1 µg kg^{-1} d^{-1}) estabelecido pelo Comitê de Especialistas sobre Aditivos Alimentares FAO / WHO, pois foram identificados cânceres de pele, bexiga urinária e pulmão, bem como lesões cutâneas com valores de referência - $BMDL_{0.5}$ (do inglês Benchmark Dose Level) de 2 - 8 µg de As-i kg^{-1} de peso corporal por dia. Desta forma, deve ser utilizado os valores para limite de confiança inferior ao $BMDL_{0,5}$ para avaliação e caracterização dos riscos relacionados a exposição (JECFA, 2010; EFSA, 2009).

Considerando o consumo de arroz no Brasil (60,3 kg/ano) e a concentração média de 0,223 mg kg^{-1} As-t no arroz (BATISTA et al., 2011), pode-se dizer que a ingestão de As-t através do consumo de arroz por um brasileiro por dia é de 32 µg. Sabendo-se que o As-i (As^{3+} e As^{5+}) está presente no arroz brasileiro por volta de 57,5%, a ingestão de As-i através do arroz por um brasileiro é de cerca de 18,4 µg dia^{-1}, limite acima ao estabelecido para água de 10 µg L^{-1} As-t (WHO, 2008). Recentemente, foi adotado pelo comitê *Codex Alimentarius* (FAO, 2014) o valor de 200 µg kg^{-1} de As-i no grão de arroz polido como valor limite, indicando que o arroz brasileiro contem concentrações médias de As-i próximas (128 µg kg^{-1}) a este limite (BATISTA et al., 2011).

A capacidade de captação do As do solo e o metabolismo do elemento em diferentes cultivares do Brasil é pouco conhecido e de grande importância, tendo em vista que uma maior captação de As pela planta levaria a uma maior exposição da população. Além disso, diferentes cultivares podem apresentar diferentes distribuições nas concentrações das espécies químicas de As.

2. OBJETIVOS

Geral:

Avaliar cultivares brasileiras de arroz (*Oryza sativa* L.) quanto à predileção pela captação de As, distribuição de diferentes espécies químicas e sua possível correlação com outros elementos essenciais e tóxicos.

Específicos:

- Determinar os parâmetros agronômicos das plantas (altura e massa)
- Determinar as concentrações totais de As, Pb, Cd, Se, P, Mg, Mn, Cu e Zn na raíz, colmo e grãos das plantas, no solo e na água de irrigação;
- Determinar fatores de transferência e correlações entre os elementos;
- Determinar as espécies de As presentes nos grãos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Equipamento, reagentes, soluções e acessórios:

Em todo trabalho foi utilizada água deionizada de alta pureza (resistividade 18,2 MΩ.cm) obtida pelo sistema Milli-Q (Millipore®). O ácido nítrico utilizado em todos os experimentos foi destilado em destilador de quartzo da KürnerAnalysentechnik em temperatura inferior à de ebulição. Todos os reagentes utilizados foram de grau de pureza analítica. As soluções e amostras foram armazenadas em frascos de polietileno após prévio tratamento para eliminação de contaminantes (20% v/v HNO_3 por 24 h, lavados 5 vezes com água Milli-Q e secos em capela de fluxo laminar classe 100). Todas as operações para preparo das soluções foram realizadas em sala limpa classe 1000.

Como padrão interno foi utilizado o ródio (10 mg L^{-1}). Foram utilizadas soluções estoque multi-elementares (10 mg L^{-1}) PerkinElmer (Shelton, CT, EUA) contendo As para o preparo da curva analítica e análise dos elementos totais.

Para a adição de As no solo foi utilizado uma solução de arsenato ($As_2O_5.H_2O$, Aldrich, St. Louis, EUA).

Na determinação de As total e outros elementos foi utilizado um espectrômetro de massas com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS ELAN, PerkinElmer, SCIEX, Norwalk, CT, EUA), equipado com cone de amostragem e *skimmer* de platina e operando com argônio de alta pureza (99.999%, Praxaair, Brasil). O sistema de introdução de amostra foi composto por uma câmara de nebulização de quartzo tipo ciclônica e um nebulizador de Meinhard® conectados por tubos Tygon® a bomba peristáltica do ICP-MS.

Para especiação de As foi utilizado o acoplamento entre cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (PerkinElmer, modelo L-200, SCIEX, EUA) e ICP-MS, hifenados por um injetor de seis saídas (Rheodyne 9725). A coluna de troca aniônica Hamilton PRP-X100 (Hamilton, Reno, NV, EUA), nas dimensões 5 μm, 150 mm x 4,6 mm, foi utilizada para as separações cromatográficas em temperatura de 25°C, sob condições isocráticas. As amostras foram injetadas com seringa em um *loop* de 100 μL. O eluente proveniente do HPLC foi introduzido diretamente no nebulizador do ICP-MS através de tubos *peek* (1,59 mm o.d.) e de conectores *peek* de baixo volume morto (BATISTA et al., 2011).

Para controle de qualidade dos resultados, o material de referência certificado SRM 1568a Rice Flour (Arroz) proveniente do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST, EUA) foi analisado em cada dia de análise.

3.2. Avaliação das cultivares de arroz brasileiros quanto à predileção pelo As presente no solo e as espécies químicas presentes nos grãos

3.2.1. Solo: preparo e caracterização (presença de elementos químicos)

O solo de cultivo foi preparado com as proporções de solo superficial, areia e matéria orgânica 2:2:1 (Figura 4). Após esta etapa foi realizada uma amostragem para caracterização dos elementos químicos presentes (As-t, Pb, Cd, Se, P, Mg, Mn, Cu e Zn). Aproximadamente 10 g de solo foram secas, moídas, peneiradas (< 0,5 mm) e digeridas em microondas (descrito no item *3.2.5.*) e as concentrações foram determinadas por ICP-MS.

Foram consideradas as concentrações de As-t no solo de cultivo para adição de As. A solução de As (As^{5+}) foi preparada dissolvendo-se 1,2 g de pentóxido de As ($As_2O_5.H_2O$, Aldrich, St. Louis, EUA) primeiro em hidróxido de amônio 0,18 mol L^{-1} e após em ácido nítrico 0,3 mol L^{-1}.

Para o plantio das mudas foi utilizado substrato orgânico BIOPLANT PRATA HT, da Bioplant que tem em sua composição Casca de Pinus (principal matéria prima), agregantes como Fibra de coco, vermiculita e nutrientes em pH de 5,5 a 6,0.

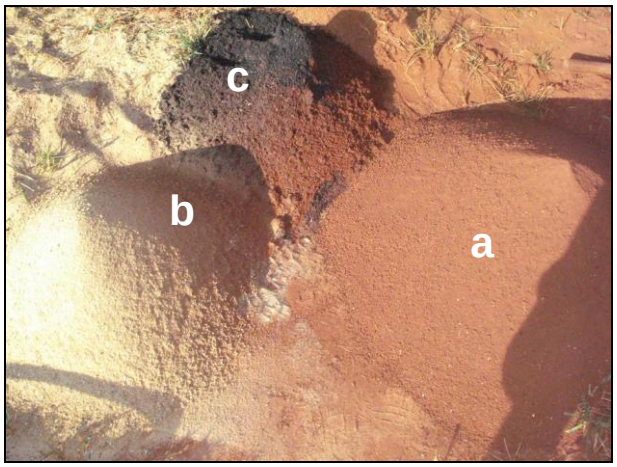

Figura 4. Solo de cultivo a) solo superficial, b) areia e c) matéria orgânica 2:2:1

3.2.2. Seleção de cultivares de arroz

As cultivares foram adquiridos da:

i) Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) de Itajaí, Santa Catarina, cultivares: EPAGRI 109, EPAGRI 108, SCS BRS Tiotaka, SCS 114 Andosan;

ii) Centro de Ciências Agrárias da Faculdade Federal da Paraíba (CCA/UFPB), cultivares: Maranhão ou amarelão (arroz vermelho), Cáqui (arroz vermelho)

3.2.3. Plantio das mudas e transplante para os vasos

Esta etapa foi realizada na casa de vegetação da Fazenda Experimental da Ouro Fino (Figura 5a), na cidade de Guatapará-SP. A semeadura foi feita em outubro de 2013, época considerada ideal para semeadura pela EMBRAPA. Para cada cultivar selecionado foram preparadas 10 mudas sendo oito replantadas (controle n=4 e expostas n=4) e duas extras. Em bandeja para crescimento de mudas de 7 cm de profundidade (Figura 5b) foi adicionado substrato orgânico, aguado, adicionados 2 sementes da cultivar (Figura 5c) e identificado. A bandeja foi acondicionada em um ambiente úmido (60%) com temperatura variando entre 15 a 25 ºC por 15 dias. Depois deste prazo as mudas (Figura 5d) foram replantadas (com todo o conteúdo do pequeno vaso que a muda estava contida) em vasos maiores.

Os vasos plásticos utilizados no plantio foram de 2 L com 15 cm de profundidade. Em cada vaso foi colocado um saco plástico de densidade elevada para simular o plantio irrigado (evitar o extravasamento do solo ou da água de irrigação e a contaminação do ambiente com As). Em seguida foi colocado 1,5 kg de solo pré-selecionado (solo superficial : areia: matéria orgânica 2:2:1). Esse solo foi revolvido e uma muda foi transplantada (Figura 5e) para cada um dos diferentes cultivares devidamente identificados. Após o transplante a muda ficou em aclimatação por uma semana. Finalmente após esse período, de 2 - 3 cm do caule foi encoberto com uma lâmina de água (sistema de inundação) e, além da água, os vasos expostos receberam 100 ml de uma solução de As^{5+} a 150 mg kg^{-1}de forma que a concentração final ficasse ao redor de 10 mg de As kg^{-1} solo (Figura 5f). Os vasos foram regados diariamente pela manhã para manter o caule encoberto de 2 – 3 cm de água. A temperatura e a umidade médias da casa de vegetação foram de 21,7 ºC e 58,3% respectivamente.

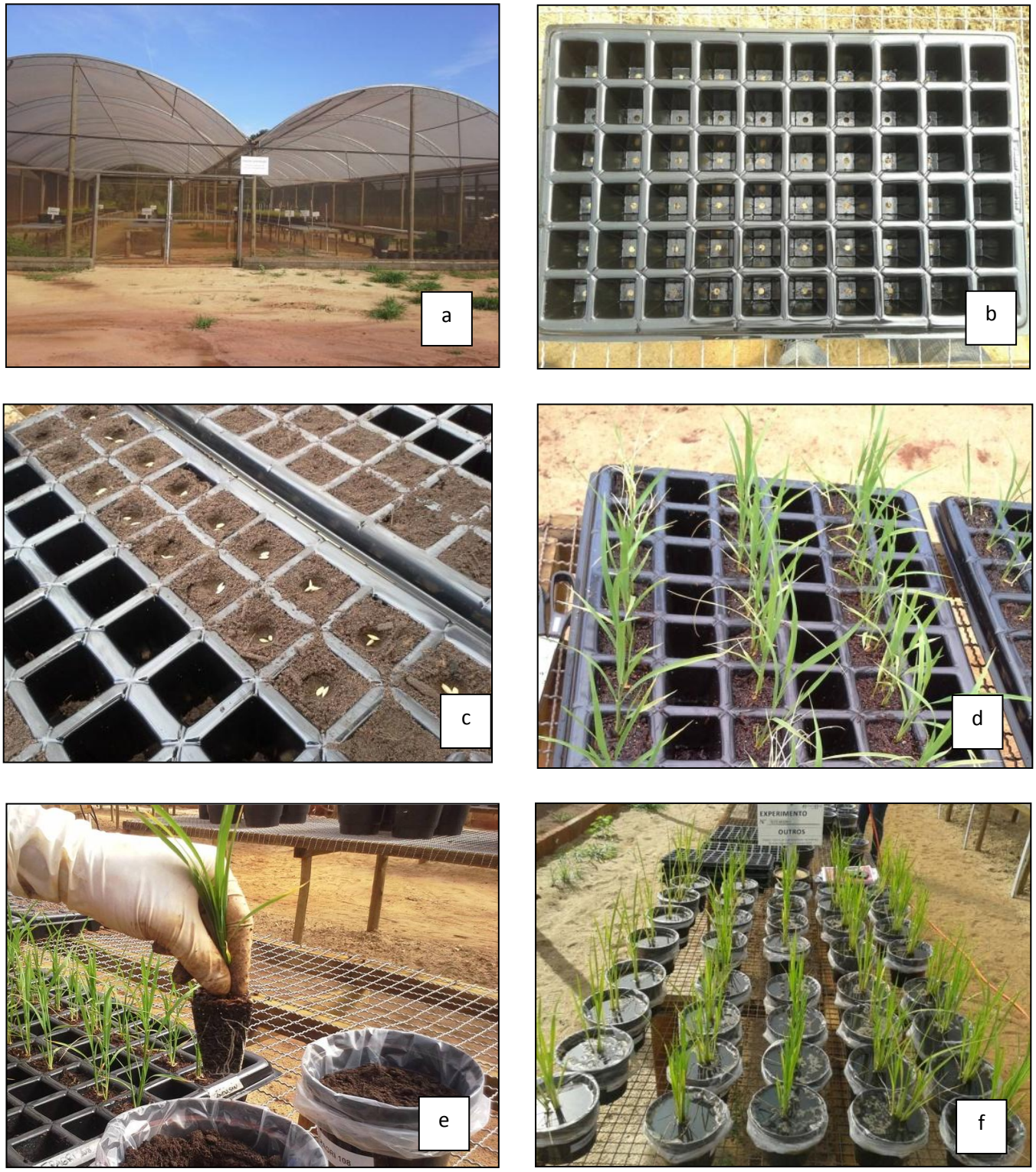

Figura 5. Etapas do plantio a) casa de vegetação b) bandeja para crescimento das mudas c) semeadura d) mudas e) transplante da muda para o vaso f) cultivares plantados em vasos simulando o cultivo de arroz irrigado

3.2.4. Coleta e preparo para análises

Após a completa maturação dos grãos foi medido a altura das plantas e coletados: i-) água do vaso (5mL); ii-) solo (5 a 10 g); iii-) raíz (completa); iv-) caule (completo) e; v-) panícula (todas). A água foi coletada em tubos falcon de 15ml, o solo foi coletado em sacos

plásticos (20 x 30 cm). O solo, as raízes (após lavagem exaustiva com água de torneira), caules e grãos foram secos a 50 ^{o}C por 72 h em estufa de circulação de ar e pesados para aferição da produtividade (massa total da planta e dos grãos em g – MP e MG).

Após isso, os grãos foram descascados, moídos e tamizados (0,25 mm) em um moinho elétrico ultra centrífugo (Retsch ZM200 com auto-amostrador DR100) a 6000 rpm. Em seguida os caules e as raízes foram também moídos, sendo todas as partes rotuladas e armazenadas separadamente até as análises.

3.2.5. Determinação de As total, elementos essenciais, tóxicos e espécies de As

O procedimento de digestão das amostras de arroz (raízes, colmos e grãos) e solo em triplicatas foi feito de acordo com Nardi et al. (2009) para a determinação de As total, elementos essenciais e tóxicos utilizando 5 ml de HNO_3 20% v/v + 2 ml de H_2O_2 30% v/v + 250 mg de amostra e colocados em sistema de micro-ondas (MILESTONE ETHOS D, Itália).

O preparo de amostras para especiação química de As foi feito de acordo com Batista et al., (2011). Foi utilizado 5ml de HNO_3 20% (v/v), 2ml de H_2O_2 30% (v/v). A amostra foi aquecida de 25 a 95ºC, filtradas em filtros de celulose de 0,20µlm.

O procedimento de preparo dos materiais de referência foi o mesmo para determinação de As-t e para especiação química de As.

3.2.6. Avaliação do fator de transferência do As nas cultivares de arroz

Este estudo foi conduzido de acordo com Raab et al. (2005). Os FT do As solo-raíz, raíz-colmo, colmo-grão, solo-grão, raíz-grão, solo-colmo foram calculados dividindo a concentração de As-t das partes superiores pelas inferiores (massas secas) como $[As]_{raíz}$ / $[As]_{solo}$, $[As]_{colmo}$ / $[As]_{raíz,}$ $[As]_{grão}$ / $[As]_{colmo}$, $[As]_{grão}$ / $[As]_{solo}$, $[As]_{grão}$ / $[As]_{raíz}$ e $[As]_{colmo}$ / $[As]_{solo}$.

3.2.7. Análises dos resultados

O tratamento estatístico dos dados foi feito utilizando o programa estatístico Prism 5.0 para análise dos resultados. Os testes aplicados foram *t* de Student para diferenciação intra cultivar (grupos controles e expostos) e Análise de Variância (ANOVA - Tukey) para diferenciação entre as cultivares controles e expostos ($p<0,05$).

Para a correlação entre As-t, espécies de As e outros elementos essenciais e tóxicos foi feito por meio da correlação não-paramétrica (Spearman, $p<0,05$)

4. RESULTADOS

4.1. Cultivares de arroz brasileiro e parâmetros agronômicos

Os estudos preliminares deste projeto se detiveram na avaliação da concentração de As presente em diferentes partes do arroz (raízes, colmos e grãos), no solo, na predileção das cultivares pelo As e no papel do As nos parâmetros agronômicos.

Antes do plantio foi realizado previamente a análise do solo utilizado para o plantio e determinação da concentração de arsênio. Foi encontrada concentração média de As presente no solo de cultivo de 0,65 ± 0,25 mg de As kg^{-1} de solo. Esta concentração foi considerada para o preparo da solução de As, utilizada no estudo, de forma que a solução final (solo+água do vaso) ficasse em torno de 10 mg de As kg^{-1} de solo.

Cultivares são espécies de plantas que foram melhoradas devido à alteração ou introdução, pelo homem, de uma característica que antes não possuíam e se distinguem das outras cultivares da mesma espécie por sua homogeneidade, estabilidade e novidade (Lei n.° 9.456/1997 de proteção as cultivares). As cultivares desenvolvidas em território nacional depois de cadastradas junto ao Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), passam a compor o Patrimônio Genético Nacional. As cultivares brasileiras de arroz branco tradicional utilizadas neste estudo possuem características diferentes e são originários de melhoramento genético (EPAGRI, 2013). No Brasil, na escolha da cultivar ideal para cada região deve-se levar em consideração se este possui uma recomendação oficial, que garante que está dentro das condições de clima, solo e exigências de mercado (EPAGRI, 2013).

SCS 114 Andosan foi a primeira cultivar de arroz brasileira resultante de trabalhos com mutação induzida. Foi lançada e protegida como cultivar em 2005. A cultivar SCSBRS Tio taka é oriunda do intercruzamento de dez cultivares através do método de seleção recorrente. Ambas cultivares são do tipo moderno e destacam-se pelo excelente potencial em produtividade tendo alta capacidade de perfilhamento, excelente qualidade de grãos, alto rendimento industrial e ciclo longo. São atualmente as cultivares mais cultivadas em todo estado de Santa Catarina com excelente aceitação pelos agricultores e indústrias (EPAGRI, 2013).

As cultivares EPAGRI 108 e 109 são oriundas de cruzamento entre outras cultivares. São cultivares de tipo moderno e destacam-se pela boa qualidade dos grãos, excelente potencial em produtividade pelo fato de ter alta capacidade de perfilhamento e ciclo longo. Além disso EPAGRI 109 possui boa qualidade de grãos e alto rendimento industrial (EPAGRI, 2013). SCS 114 Andosan, SCSBRS Tio taka, EPAGRI 108 e 109 possuem as mesmas características com ciclo tardio da planta, resistência ao acamamento (queda das

hastes de gramíneas provocada pelo vento), resistência a toxidez por ferro e por brusone na panícula (EPAGRI, 2013).

As cultivares Maranhão (ou amarelão) e Cáqui também utilizadas neste estudo são tradicionais cultivadas nas pequenas propriedades na Paraíba (Vale do Piancó) e foram obtidas diretamente dos produtores rurais do município de Santana dos Garrotes - PB. A cultivar Cáqui é a menos cultivada, e na maioria das vezes está misturada com a cultivar Maranhão, mais cultivada por estes produtores.

Primeiramente foi realizado o plantio das mudas. Após o plantio das mudas, foram cultivadas as plantas que apresentaram sementes viáveis (plantio em vasos até completa maturação dos grãos) e feito os estudos com (expostos) e sem (controles) adição de As no solo.

A Tabela 1 mostra os parâmetros agronômicos adquiridos no dia da coleta (altura da planta - AP) e após 72 h de secagem em estufa (massa da planta - MP e massa dos grãos - MG). A altura da planta (AP) foi medida do começo do colmo (final da raíz) até a extremidade da planta (folha, colmo ou panícula). Esta mesma tabela apresenta a análise do teste *t* de Student, com diferença significativa ($p<0,05$) na altura das plantas entre os grupos controle As (-) e grupos expostos As (+) das cultivares EPAGRI 109, SCS 114 Andosan e Maranhão, indicando que essas cultivares foram sensíveis a presença de As no solo, interferindo negativamente no crescimento da planta. A sensibilidade do arroz em vista da presença do As também foi observada em outros estudos, como a interferência negativa do As no crescimento do arroz, em concentrações em torno de 15 mg kg^{-1} de As presente no solo (KHAN et al. 2010; SULTANA, KOBAYASHI e KIM, 2015; BATISTA et al., 2014).

O arroz vermelho é a forma espontânea da espécie Oryza sativa L., considerada como planta invasora, por causar consideráveis prejuízos à lavoura de arroz branco (FONSECA et al., 2006) competindo por luz, água e nutrientes (PEREIRA, 2005). Na região Nordeste, principalmente Estados da Paraíba e Ceará, o arroz vermelho é cultivado e constitui, principalmente na Paraíba, um dos principais pratos da culinária regional (FONSECA et al., 2006).

A maior altura foi observada nas plantas da cultivar de arroz vermelho Cáqui, tanto para o grupo controle (80.6±3,6 cm) quanto para o grupo exposto (78.5±2,5 cm). A altura das plantas teve diferença significativa entre os grupos As (-) e As (+) para EPAGRI 109 (66,8 e 62,2 cm) e para SCS 114 Andosan (66,1 e 62,8 cm), como mostrado a Figura 6.

Não houve diferença significativa na massa da planta e dos grãos (com casca) entre os grupos controles e expostos, porém foi observada menor massa dos grãos nos grupos controle

(3,6±1,2 g) em vista dos grupos exposto (2,0±1,2) da cultivar Maranhão. A mesma cultivar foi a que apresentou maiores concentrações de As nos colmos e nos grãos dos grupos expostos.

Tabela 1. Parâmetros agronômicos observados em cada cultivar, representados como média ± DP (n=4).

Cultivar	Tratamento	AP (cm)	MP (g)	MG (g)
EPAGRI 109	As (-)	67±1,6	27,3±2,1	7,6±0,6
	As (+)	62±2,5*	27,1±1,1	7,2±0,8
EPAGRI 108	As (-)	65±3,9	30,5±3,8	8,5±1,3
	As (+)	65±3,4	28,6±3,6	9,1±1,2
SCSBRS Tiotaka	As (-)	65±2,5	29,3±4,4	9,2±1,3
	As (+)	62±3,2	29,0±4,8	9,4±2,7
SCS 114 Andosan	As (-)	66±1,7	26,1±6,3	7,4±2,1
	As (+)	63±1,7*	26,6±3,6	7,0±1,3
Maranhão	As (-)	75±3,1	19,5±3,7	3,6±1,2
	As (+)	64±8,0*	15,6±2,4	2,0±1,2
Cáqui	As (-)	81±3,6	34,8±5,6	8,3±2,7
	As (+)	78±2,5	30,2±2,3	7,0±0,4

AP: altura da planta; MP: massa da planta; MG: massa dos grãos com casca
*: diferenças significativas entre controles e expostos (p<0,05)

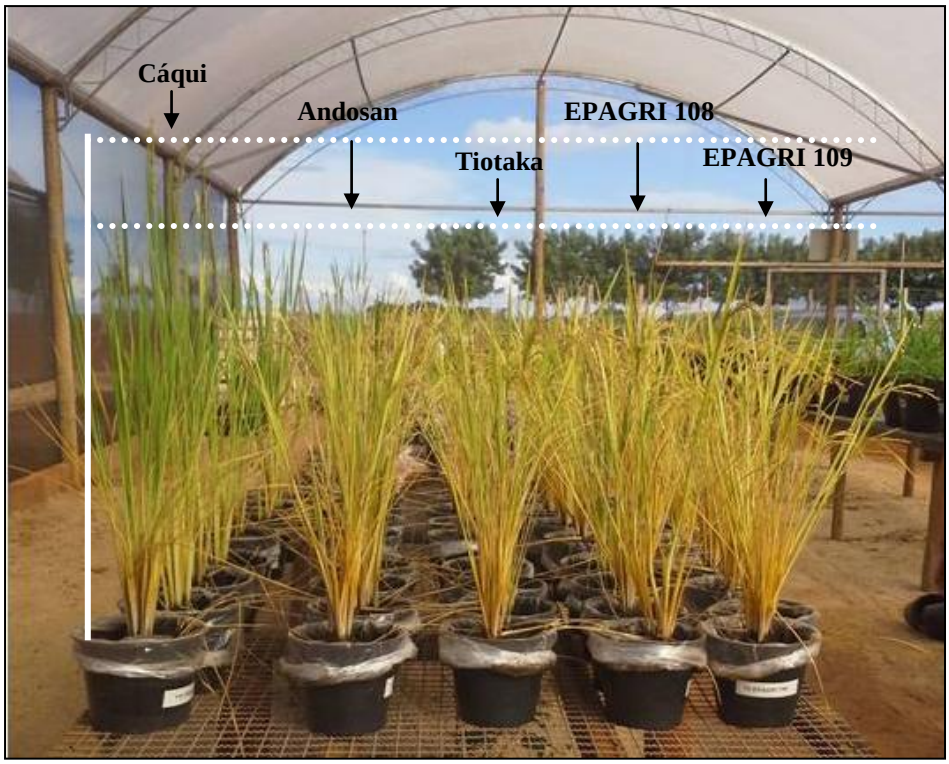

Figura 6. Diferença na altura da cultivar de arroz vermelho Cáqui entre os outras cultivares.

4.2. Concentração de As total presente em solo e nos diversos tecidos das cultivares de arroz do Brasil

Para avaliação da exatidão do método de preparo das amostras foi analisado o material de referência 1568a Rice Flour (Arroz), onde a recuperação de As foi de 94,7%.

A Tabela 2 mostra as diferentes concentrações de As presentes nas partes do arroz (raíz, colmo e grão), bem como no solo. Analisando a Tabela 2 percebe-se que a concentração de As encontrada foi em ordem decrescente raízes>solo>colmos>grãos tanto nos grupos controle com médias de 3,29; 0,65; 0,32 e 0,06 mg kg^{-1} quanto nos grupos expostos com médias de 95,48; 12,15; 5,96 e 0,54 mg kg^{-1} respectivamente.

Entre as cultivares de arroz branco tradicional, a cultivar com maior concentração de As no grão foi a Andosan (0,51±0,15 mg kg^{-1}). Já a cultivar com menor concentração de As no grão foi EPAGRI 108 (0,36±0,08 mg kg^{-1}).

Foi observada maior concentração de As na raíz, 5 a 10 vezes mais que as concentrações observadas no solo, indicando que a raíz do arroz possui elevada capacidade de captar e acumular o As presente no solo. As cultivares que mais acumularam As na raíz foram aquelas que mais captaram As, consequentemente transportando mais As para as partes aéreas da planta.

A Figura 7a apresenta as concentrações de As no solo dos grupos controles e expostos. Não foi observada diferença significativa ($p<0,05$) entre os grupos controles e entre os grupos expostos, indicando que todos os grupos foram expostos à mesma concentração de As. A média e o desvio padrão para os grupos controles e expostos foram de 0,65±0,25 e 12,15±2,30 mg kg^{-1}, respectivamente.

As Figuras 7b e 7c tratam-se das concentrações de As no colmo e raíz entre os grupos expostos e controle.

As concentrações de As nas raízes dos grupos expostos da cultivar Maranhão (Figura 7b) apresentou-se elevada, assim como nos seus grãos. A maior concentração de As nas raízes foi observada na cultivar (Andosan). Houve diferença significativa entre as médias ($p<0,05$) das concentrações de As nas raízes das cultivares Cáqui x Andosan e Cáqui x Maranhão.

A cultivar Maranhão (exposta) apresentou maiores concentrações de As no colmo (Figura 7c) com diferença significativa ($p<0,05$) entre todas as outras cultivares expostas, apresentando média e desvio de 15,81 ± 0,21 mg kg^{-1} diferindo da média entre as outras cultivares expostas (4,44 ± 1,73 mg kg^{-1}).

As concentrações de As nos grãos dos grupos controle e expostos ao As dos 6 cultivares estudados estão apresentados na Figura 7d. Observa-se que a cultivar de arroz

vermelho Maranhão foi o que mais acumulou As no grão com diferença significativa ($p<0,05$) quando comparado a todos as outras cultivares. Esta mesma cultivar também apresentou as maiores concentrações de As no grão.

As concentrações de As nos grãos das cultivares controle foram menores que as expostas e não houve diferença significativa da concentração de As entre grupos controle. A concentração mínima e máxima nas cultivares controle foi de 0,05 e 0,07 mg kg^{-1}, respectivamente, diferindo das cultivares expostas onde a mínima e máxima foi de 0,36 e 0,76 mg kg^{-1}, respectivamente.

Tabela 2. Análise descritiva da concentração de As presente nos grupos controle e exposto em diferentes partes do arroz (raízes, colmos e grãos) e no solo. Resultados apresentados como média ± desvio padrão (mínimo – máximo), concentração de As em mg kg^{-1} das amostras secas (n=4)

Cultivares	Tratamento	Água (µg L^{-1})	Solo (mg kg^{-1})	Raízes (mg kg^{-1})	Colmos (mg kg^{-1})	Grãos (mg kg^{-1})
E9	As (-)	1,4±0,32 (0,96–1,6)	0,55±0,15 (0,37-0,69)	2,9±0,71 (2,5-3,9)	0,21±0,02 (0,19-0,24)	0,07±0,008 (0,06-0,08)
	As (+)	17,3±2,44 (13,6-18,9)	10,0±2,26 * (8,4-11,6)	68±21 * (44-87)	4,9±2,2 * (2,2-7,2)	0,49±0,045 * (0,45-0,56)
E8	As (-)	2,2±0,54 (1,6-2,4)	0,60±0,51 (0,32-1,4)	5,2±0,52 (4,7-5,9)	0,17±0,038 (0,14-0,23)	0,055±0,005 (0,05-0,06)
	As (+)	21,3±3,87 (16,9-24,0)	10,1±1,54 * (9,01-11,2)	111±1,24 * (110-112)	4,6±0,89 * (3,9-5,2)	0,36±0,08 * (0,32-0,46)
T	As (-)	1,8±0,25 (1,7-2,2)	0,74±0,17 (0,62-0,99)	2,9±0,44 (2,4-3,5)	0,45±0,21 (0,32-0,77)	0,07±0,005 (0,07-0,08)
	As (+)	22,9±4,88 (18,4-25,3)	12,3±2,44 * (10,5-14,0)	97±26 * (78-115)	4,8±0,32 * (4,5-5,0)	0,45±0,09 * (0,36-0,54)
A	As (-)	1,2±0,45 (0,63-1,6)	0,68±0,23 (0,43-0,88)	3,5±0,59 (2,9-4,1)	0,15±0,02 (0,13-0,18)	0,06±0,008 (0,05-0,07)
	As (+)	19,0±2,2 (15,9-20,2)	12,9±2,63 * (11,1-14,8)	144±41,8 * (114-174)	2,5±0,98 * (1,8-3,2)	0,51±0,15 * (0,29-0,62)
M	As (-)	1,7±0,66 (1,1-2,5)	0,58±0,08 (0,50-0,67)	2,7±0,83 (2,1-3,9)	0,67±0,21 (0,53-0,98)	0,057±0,009 (0,05-0,07)
	As (+)	24,0±18,6 (13,6-36,1)	14,5±2,21 * (12,9-16,1)	132±47,7 * (91-184)	15,8±5,01 * (11,2-22,9)	0,76±0,52 * (0,93-1,14)
C	As (-)	0,89±0,12 (0,84-1,04)	0,78±0,24 (0,48-1,06)	2,4±0,43 (2,1-3,0)	0,24±0,06 (0,18-0,30)	0,065±0,013 (0,05-0,08)
	As (+)	17,4±4,38 (13,4-22,5)	13,0±1,23 * (12,2-13,9)	53±9,3 * (47-64)	4,6±2,2 * (2,3-7,5)	0,61±0,14 * (0,49-0,81)
Média	**As (-)**	**1,5±0,57 (0,63-2,8)**	**0,65±0,25 (0,32-1,36)**	**3,3±1,1 (2,1-5,9)**	**0,32±0,22 (0,13-0,98)**	**0,06±0,01 (0,05-0,08)**
	As (+)	**24,9±13,4 (10,9-36,1)**	**12,1±2,30 (8,44-16,1)**	**95±43 (43,8-184)**	**5,9±5,5 (1,8-22,9)**	**0,54±0,24 (0,29-1,14)**

E9, EPAGRI 109; E8 EPAGRI 108; T, TIO TAKA; A, Andosan; M, Maranhão; C, Cáqui;
*: diferenças significativas entre controles e expostos ($p<0,05$)

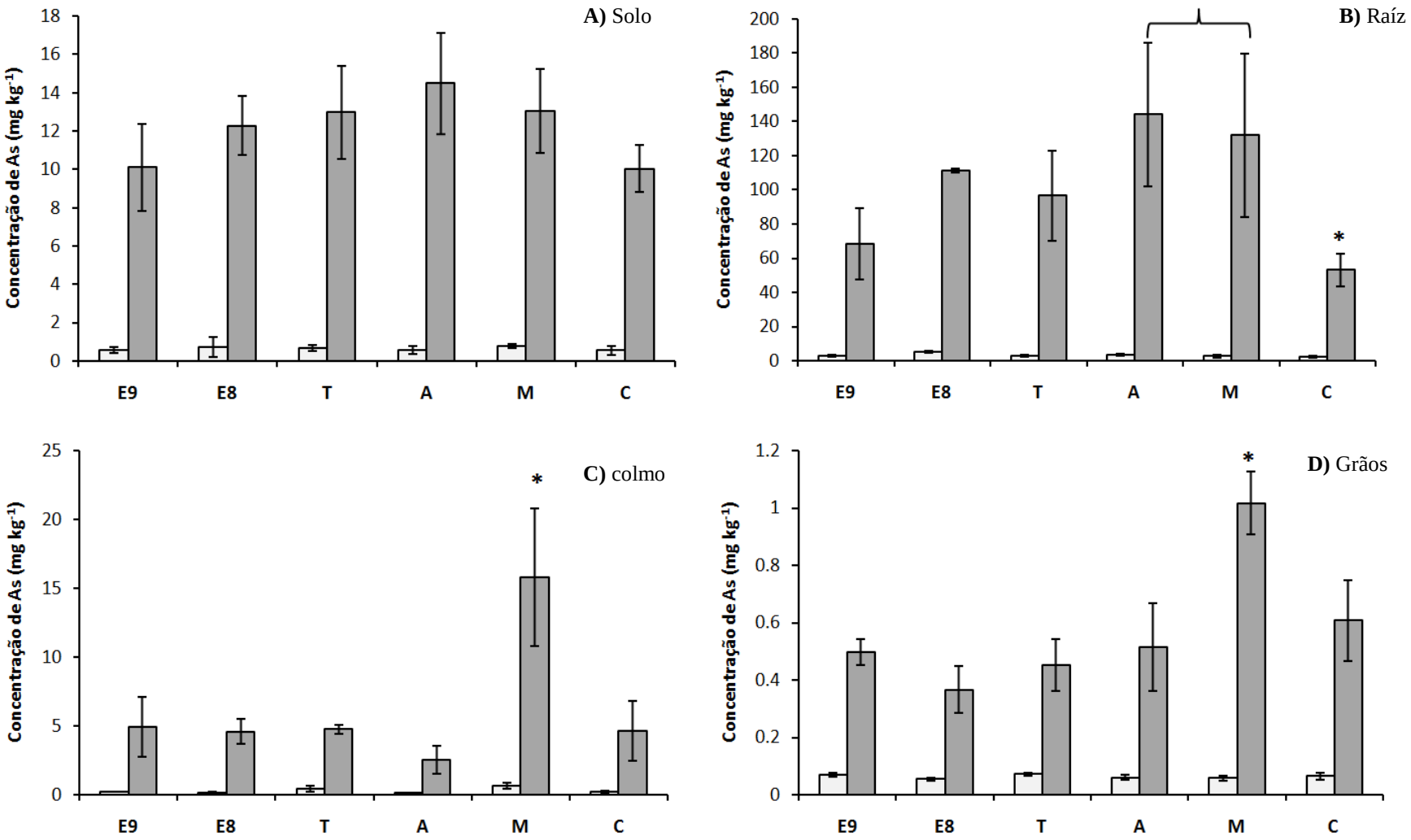

Figura 7. Média ± DP das concentrações de As no A) solo, B) raíz, C) colmo e D) grãos em diferentes cultivares brasileiros, E9, EPAGRI 109; E8 EPAGRI 108; T, TIO TAKA; A, Andosan; M, Maranhão; C, Cáqui; (□): grupo controle (n=4), (■): grupo exposto (n=4). Anova uma via seguido do teste de Tukey; * estatisticamente diferentes das demais cultivares expostas ($p<0,05$); (⌒): Cáqui é estatisticamente diferente de ANDOSAN e MARANHÃO

4.3. Fator de transferência

A maior variação entre a transferência mínima e máxima nos grupos controle e expostos, foi observada para $FT_{solo\text{-}raíz}$, variando de 2,02 a 16,05. Em geral, o $FT_{solo\text{-}raíz}$ aumentou em todas as cultivares com uma maior exposição ao As, com exceção da cultivar EPAGRI 108. Entre as cultivares controle, EPAGRI 108 teve o maior $FT_{solo\text{-}raíz}$ com diferença significativa em relação as cultivares Tio taka, Maranhão e Cáqui (Figura 8a). A cultivar Cáqui teve o menor $FT_{solo\text{-}raíz}$ nos grupos controle e expostos.

O $FT_{raíz\text{-}colmo}$ variou de 0,02 a 0,36 com mínimo e máximo observado para as cultivares Andosan (exposto) e Maranhão (controle) respectivamente, sendo esta última diferente significativamente entre EPAGRI 109 (controle e exposto), EPAGRI 108 (controle e exposto), Tio taka (exposto), Andosan (controle e exposto) e Maranhão (controle) (Figura 8b).

Todas as cultivares, não expostas a As apresentaram um maior $FT_{colmo\text{-}grão}$ destacando a cultivar Andosan (controle) que obteve o maior $FT_{colmo\text{-}grão}$ e EPAGRI 108 e Maranhão (expostos) com menores $FT_{colmo\text{-}grão}$ (Figura 8c). O $FT_{colmo\text{-}grão}$ variou de 0,05 a 047. Com exceção a cultivar Cáqui (exposto), todas as cultivares apresentaram diferença significativa entre as demais (Figura 8c).

Na Figura 8d também pode ser observado que todas as cultivares não expostas a As apresentaram um maior $FT_{solo\text{-}grão}$ sem diferença significativa entre as cultivares, variando de 0,02 a 0,22 mg kg^{-1}.

Ocorreu também uma maior transferência da raíz para os grãos ($FT_{raíz\text{-}grãos}$) em todos as cultivares controle, destacando as cultivares EPAGRI 108 (controle e exposto), EPAGRI 109 (controle e exposto) e Andosan (controle) com diferença significativa entre a maioria das cultivares (Figura 8e). A menor variação de FT ocorreu para $FT_{raíz\text{-}grãos}$, com mínimo e máximo de 0,0025 a 0,0365 respectivamente

Houve diferença significativa no $FT_{solo\text{-}colmo}$ da cultivar Maranhão (controle e exposto) em relação as demais cultivares (Figura 8f). O $FT_{solo\text{-}colmo}$ variou de 0,10 a 1,46.

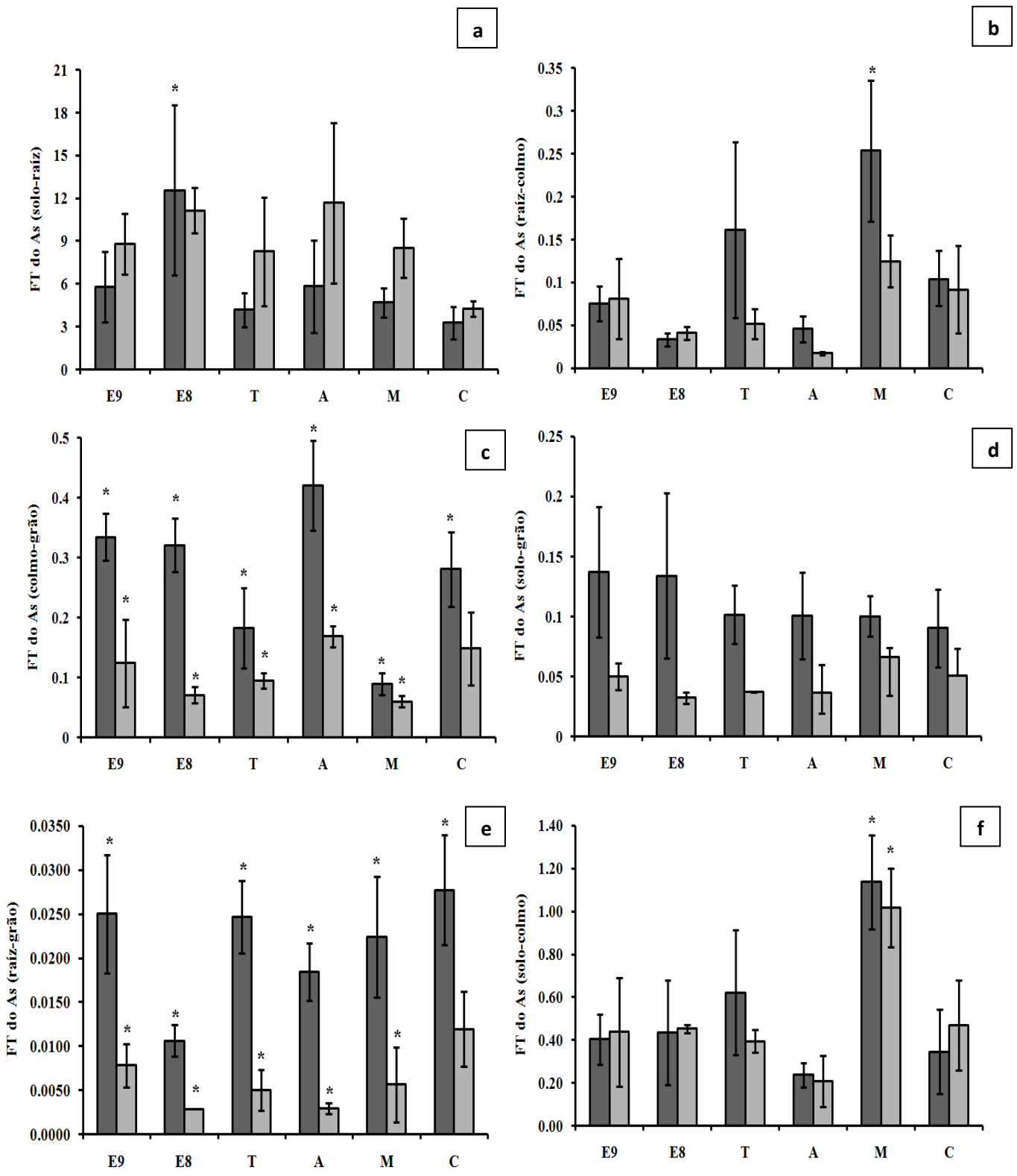

Figura 8. Fatores de transferência do As entre o solo e as partes da planta das cultivares brasileiras. Resultados apresentados como média ± desvio padrão. E9, EPAGRI 109; E8, EPAGRI 108; T, TIO TAKA; A, ANDOSAN; M, MARANHÃO; C, CÁQUI, *p<0,05, (■): grupo controle (n=4), (□): grupo exposto (n=4).

4.4. Elementos essenciais e tóxicos presentes nas partes do arroz e no solo e correlações entre As-t, espécies de As e os outros elementos

Foram determinadas concentrações de Se, Zn, Pb, Cd, Mn, Co, Cu, Mg e P em 3 compartimentos do arroz (raíz, colmo, grão) e no solo (Tabela 3) e feitas correlações entre As-t (no solo, raízes, colmos e grãos), As-i e As-o (nos grãos), e os elementos Se, Zn, Pb, Cd, Mn, Co, Cu, Mg e P presentes nos grãos (Tabela 4).

Houve diferença significativa para o Pb nas raízes entre os grupos controles e expostos das cultivares Tio taka (186±35 x 561±376), Cáqui (330±40 x 217±41) $p<0,01$, e nos colmos ($p<0,05$) da cultivar Tio taka (24±11 x 81±40). Para o Cd houve diferença significativa no colmo da cultivar Maranhão (9,3±0,9 x 7,0±2,4; $p<0,05$) e nas raízes da cultivar Cáqui (10±15 x 7,8±1,3; $p<0,05$). Observou-se diferença estatística para Co entre os grupos controle e expostos das cultivares Epagri 108 nos grãos (8,9±0,8 x 7,5±0,5; $p<0,05$), Maranhão nos colmos (241±2,1 x 185±81; $p<0,05$) e nas raízes (1388±510 x 1155±76; $p<0,01$) e Cáqui nas raízes (1370±177 x 892±170; $p<0,01$). Nota-se correlação significativa entre grupos controles e expostos para Zn da cultivar EPAGRI 109 nos grãos (18±1,8 x 14±0,6; $p<0,01$). Para o Mn houve diferença significativa na cultivar Maranhão nos grãos (13±1,0 x 16±1,0; $p<0,05$) e nas raízes (74±13 x 56±4,0; $p<0,05$) e na cultivar Cáqui (71±5,1 x 52±14; $p<0,05$). Houve diferença significativa ($p<0,05$) na cultivar Cáqui entre os grupos controle e expostos para Cu (2,8±0,4 x 2,1±0,2) e P (1,1±0,17 x 0,82±0,32) nas raízes. Mg teve correlação significativa nas raízes para a cultivar Maranhão entre os grupos controle e expostos (0,51±0,01 x 0,36±0,11; $p<0,05$).

Em relação a tabela de correlações, nota-se forte correlação ($p<0,01$) positiva entre As-t x As-o nos grãos e As-i x As-o nos grãos (0,666 e 0,761), moderada correlação positiva ($p<0,05$) entre As-i x Cu nos grãos, As-t(solo) x As-t(grãos), As-t(colmo) x Co (0,475; 0,546 e 0,169), e moderada correlação ($p<0,05$) negativa entre As-t(raíz) x Co (-0,512). Entre os outros elementos houve correlação positiva ($p<0,01$) forte para ZnxMn (0,675), CuxCd (0,660) e SexCd (0,671), e moderada ($p<0,05$) para MnxMg (0,562) e MnxP (0,633). ZnxP (0,434), CuxSe (0,456) e MnxMg (0,562) tiveram correlação positiva ($p<0,05$) moderada.

Tabela 3. Concentração de Se, Pb, Cd, Co, Zn, Mn, Cu, Mg e P presente nos 3 compartimentos do arroz (grão, colmo e raíz) e no solo, das cultivares controle (c) e expostas a uma maior concentração de As (e). E9, EPAGRI 109; E8, EPAGRI 108; T, Tio taka; A, Andosan; M, Maranhão; C, Cáqui; ND, não detectado. Resultados representados como média ± desvio padrão. Teste t, não pareado. *P<0,05, **P<0,01

		Cultivares											
		E9 (c)	**E9 (e)**	**E8 (c)**	**E8 (e)**	**T (c)**	**T (e)**	**A (c)**	**A (e)**	**M (c)**	**M (e)**	**C (c)**	**C (e)**
Se	**Grão**	47±11	44±16	45±6	44±11	25±5,5	36±11	32±5,0	42±7,0	42±3,8	45±9,2	23±10	31±10
(ng g^{-1})	**Colmo**	360±53	427±140	142±34	157±26	185±32	167±54	235±55,6	176±95	301±93	356±14,2	380±199	244±153
	Raízes	182±25	129±46	103±49	209±174	40±7,5	195±178	121±83,8	182±122	83±24	66±16	57±14	53±15
	Solo	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pb	**Grão**	10±15	5,3±3,6	2,5±1,5	2,1±2,3	3,1±1,2	5,4±8,0	1,5±1,2	1,4±1,1	0,8±0,4	5,7±6,1	7,7±11	1,1±0,8
(ng g^{-1})	**Colmo**	37±24	12±8,5	23±15	47±29	24±11	81±40*	52±25	29±12	240±203	97±0,7	95±54	85±38
	Raízes	474±153	369±42	335±84	505±261	186±35	561±376**	307±86	423±97	209±53,5	204±35	330±40	217±41**
	Solo	1855±304	1983±304	1911±161	2273±92	2202±273	2311±159	2127±544	2557±2522	1862±462	1936±197	2085±527	2353±618
Cd	**Grão**	5,0±0,8	9,6±9,7	6,0±0,9	4,6±1,0	4,0±1,1	4,1±0,8	3,8±0,4	4,3±0,9	2,3±0,3	3,4±1,9	3,6±1,9	3,0±0,4
(ng g^{-1})	**Colmo**	7,4±1,5	6,6±3,2	3,7±0,9	4,2±1,9	6,5±2,5	7,4±4,7	4,5±2,6	4,8±4,7	9,3±0,9	7,0±2,4*	2,5±1,9	4,5±3,1
	Raízes	22±8,3	17±3,6	13±3,1	19±9,7	8,1±1,1	20±14	15±5,5	23±12	6,2±1,3	5,2±0,7	10±1,5	7,8±1,3*
	Solo	38±4,9	46±11	31±5,3	40±0,5	37±2,4	39±0,9	43±12	56±57	40±11	44±5,5	41±12	46±11
Co	**Grão**	8,8±1,0	14±10	8,9±0,8	7,5±0,5*	7,5±0,6	7,5±0,6	6,6±1,0	7,3±2,2	15±3,2	19±1,7	16±6,0	10±4,0
(ng g^{-1})	**Colmo**	60±37	58±45	43±4,9	57±28	87±21	74±10	51±18	61±40	241±2,1	185±81*	75±37	61±23
	Raízes	1139±489	1123±165	1153±223	1659±841	647±128	1878±1321	1199±529	2315±1358	1388±510	1155±76**	1370±177	892±170**
	Solo	1456±128	1633±214	1278±199	1855±127	1676±290	1738±18,3	1764±494	2794±2794	1607±397	1704±150	1952±621	2235±665
Zn	**Grão**	18±1,8	14±0,6**	19±3,2	17±3,8	16±1,1	15±2,9	16±0,3	17±2,6	16±1,3	16±0,4	18±4,1	19±2,0
(µg g^{-1})	**Colmo**	15±7,5	9,4±3,2	7,9±1,5	12±3,5	19±3,8	14±3,4	14±4,1	12±2,7	28±5,5	23±1,0	23±5,9	19±4,5
	Raízes	13±1,3	13±2,9	36±25	30±10	19±3,7	32±17	23±18	33±18	14±4,3	13±2,9	11±2,3	11±2,8
	Solo	14±1,9	16±3,7	15±1,8	19±1,4	19±3,8	18±0,8	18±6,1	23±21	15±3,5	15±1,3	19±4,7	21±5,7
Mn	**Grão**	16±1,0	15±1,0	17±1,3	17±1,4	13±1,1	14±0,9	14±1,9	15±4,0	13±1,0	16±1,0*	16±2,6	16±1,2
(µg g^{-1})	**Colmo**	134±57	122±73	79±6,8	92±48	128±54	117±81	69±43	108±77	141±4,3	131±10	96±62	68±18
	Raízes	52±21	55±13	70±5,0	92±39	36±8,4	115±86	81±42	113±58	74±13	56±4,0*	71±5,1	52±14*
	Solo	62±1,9	66±9,0	80±18	106±10	82±26	89±7,2	94±40	117±119	79±18	82±9,4	144±66	166±54
Cu	**Grão**	3,4±0,4	3,1±0,3	4,7±0,4	3,6±1,6	2,7±0,5	2,8±0,4	2,2±0,7	3,3±1,1	1,6±0,6	1,2±0,4	1,2±0,3	1,4±0,6
(µg g^{-1})	**Colmo**	2,7±1,7	1,4±0,6	2,3±1,5	1,2±0,5	2,1±0,7	4,5±4,7	1,1±0,3	1,6±1,3	4,4±5,6	1,0±0,9	0,8±0,3	0,5±0,4
	Raízes	5,2±1,7	4,6±0,6	3,4±0,7	6,8±4,5	2,2±0,2	6,0±4,6	3,1±1,6	6,1±3,7	2,1±0,5	1,8±0,4	2,8±0,4	2,1±0,2*
	Solo	11±1,3	12±2,0	12±1,3	14±0,9	16±3,8	14±0,8	14±4,4	16±16	12±3,1	14±1,2	14±3,7	16±4,7
Mg	**Grão**	1,7±0,16	1,6±0,15	1,7±0,14	1,5±0,16	1,5±0,14	1,5±0,05	1,5±0,21	1,4±0,31	1,5±0,16	1,5±0,10	1,5±0,14	1,6±0,04
(mg g^{-1})	**Colmo**	2,2±0,37	1,6±1,2	1,5±0,10	2,1±1,07	3,2±0,75	2,7±1,3	1,8±0,87	3,0±1,9	4,3±1,2	3,3±0,28	1,8±0,74	2,1±0,90
	Raízes	0,35±0,05	0,32±0,08	0,85±0,18	0,73±0,08	0,86±0,10	0,62±0,20	0,65±0,16	0,73±0,13	0,51±0,01	0,36±0,11*	0,45±0,04	0,45±0,08
	Solo	0,53±0,22	0,47±0,13	0,51±0,12	0,80±0,01	0,65±0,19	0,74±0,06	0,65±0,36	0,81±0,83	0,53±0,13	0,48±0,10	0,99±0,34	1,1±0,37
P	**Grão**	3,6±0,47	3,3±0,38	3,7±0,33	3,2±0,43	3,3±0,31	3,2±0,17	3,2±0,38	3,2±0,64	3,1±0,38	3,2±0,28	3,3±0,40	3,4±0,20
(mg g^{-1})	**Colmo**	0,96±0,14	0,56±0,40	0,50±0,03	0,76±0,28	0,95±0,11	0,91±0,18	0,96±0,18	0,95±0,13	1,2±0,49	2,6±1,4	1,1±0,17	0,82±0,32*
	Raízes	1,2±0,13	1,2±0,20	2,0±0,25	1,8±0,08	1,09±0,31	2,1±1,23	1,9±0,70	1,8±0,36	1,2±0,15	1,1±0,23	1,3±0,12	1,2±0,20
	Solo	0,74±0,04	0,82±0,13	1,1±0,14	1,1±0,02	1,8±0,30	1,0±0,07	0,89±0,25	1,2±1,15	0,81±0,19	0,86±0,07	1,1±0,33	1,2±0,15

Tabela 4. Correlações entre As-t (no solo, raíz colmo e grão), As-i no grão, As-o grão, Se, Zn, Pb, Cd, Mn, Co, Cu, Mg e P presentes nos grãos das cultivares expostas. As-t: arsênio total, As-i: arsênio inorgânico (As^{3+} e As^{5+}), As-o: arsênio orgânico (DMA e MMA), *p<0,05; **p<0,01

	As-t solo	As-t raíz	As-t colmo	As-t grão	As-i grão	As-o grão	Se	Zn	Pb	Cd	Mn	Co	Cu	Mg	P
As-t solo		-0,220	-0,032	0,546*	0,321	0,489	0,121	0,545	-0,188	-0,413	0,361	0,304	-0,404	-0,089	-0,005
As-t raíz			-0,122	-0,131	0,422	0,384	0,264	-0,016	-0,169	0,110	-0,086	-0,512*	0,411	-0,182	-0,077
As-t colmo				0,139	0,032	0,160	-0,077	-0,212	0,027	-0,024	-0,119	0,169*	-0,167	0,102	0,150
As-t grão					0,230	0,666**	-0,068	0,406	0,115	-0,200	0,283	0,410	-0,221	0,380	0,369
As-i grão						0,761**	0,396	0,361	-0,134	0,246	0,191	-0,066	0,475*	0,304	0,302
As-o grão							0,184	0,500*	-0,057	-0,112	0,125	0,039	0,140	0,199	0,249
Se								0,227	-0,027	0,671**	0,286	0,183	0,456*	0,111	0,015
Zn									-0,337	-0,069	0,675**	-0,132	0,061	0,270	0,434*
Pb										0,291	-0,366	0,396	-0,014	-0,210	-0,349
Cd											0,192	0,027	0,660**	0,292	0,230
Mn												0,038	0,149	0,562**	0,633**
Co													-0,225	0,210	-0,063
Cu														0,238	0,288
Mg															0,901**

4.4. Especiação química de arsênio

Com o propósito de definir quais espécies químicas são predominantes nos grãos das cultivares brasileiras, realizou-se análise de especiação química nos grãos de arroz por HPLC-ICP-MS.

O primeiro cromatograma (Figura 9a) representa a separação cromatográfica de 4 padrões analíticos de As na concentração de 10,0 µg L^{-1}, sendo, respectivamente, As^{3+}, DMA, MMA e As^{5+}. Já o segundo (Figura 9b), corresponde ao material de referência certificada 1568a, *Rice Flour*, NIST, cuja soma da concentração das espécies de As apresentam concordância com os valores certificados com eficiência de extração (~92%) (Tabela 5) e quantificação das espécies, que foi similar a outros estudos da literatura (BATISTA et al., 2011, BATISTA et al., 2014).

Os cromatogramas 8c e 8d são de uma amostra controle e uma amostra exposta respectivamente, da cultivar EPAGRI 109, evidenciando a maior concentração das espécies As^{3+} e DMA (172 e 218 ng g^{-1}) nas amostras expostas em comparação com amostra controle (40,4 e 17,7 ng g^{-1}).

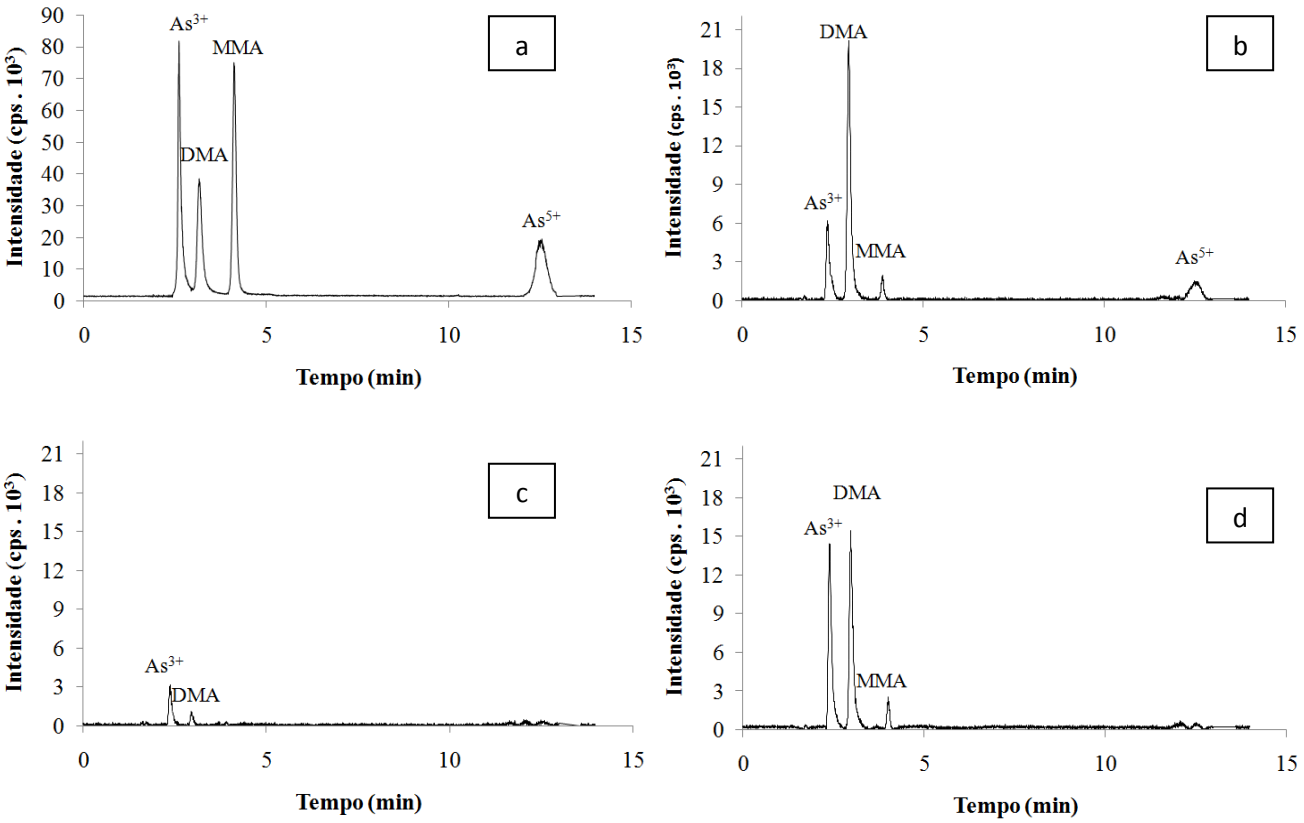

Figura 9. Cromatograma das espécies de As, intensidade x tempo (min) a) cromatograma típico obtido por uma solução estoque de espécies de arsênio 10 µg L^{-1} (expresso como arsênio, *m/z*=75); b) cromatograma do material de referência 1568a *Rice Flour* da NIST; c) cromatograma para a cultivar EPGRAI 109; d) cromatograma para a cultivar EPAGRI 109 exposta a As. O tempo de retenção, em minutos, está acima de cada pico.

Tabela 5. Determinação das espécies de arsênio no material de referência Rice Flour NIST 1568a.

Analito	Concentração média ± desvio padrão (ng g^{-1})	Recuperação (%)
As-i	86±29	
DMA	166±16,8	
MMA	16,1±3,26	
Soma	**268±49,4**	**92**

*: valor certificado 290±30 ng g^{-1}

De acordo com a tabela 6 podemos observar que a recuperação das espécies de As em relação ao As-t foi eficiente, em torno de 86%. Foram encontradas as espécies de As-i (As^{3+} e As^{5+}) e As-o (DMA e MMA) nos grãos das cultivares brasileiros de arroz (Tabela 6). A maioria das espécies de As encontradas nos grãos das cultivares controle foi As-i, principalmente As^{3+}. Em contrapartida, nas cultivares que foram expostas a uma maior quantidade de As foi encontrado a maior parte do arsênio como As-o, principalmente DMA. Apesar das cultivares controle possuírem maior quantidade de As-i, essas quantidades foram bem menores do que as encontradas nas cultivares expostas a uma maior concentração de As.

Em relação as cultivares controle, a EPAGRI 108 apresentou as menores concentrações de As-t (55±5,5 ng g^{-1}), As^{3+} (12,2±2,52 ng g^{-1}), DMA (7,3±2,3 ng g^{-1}) e As-o (15,7 ng g^{-1}), porém juntamente com Maranhão apresentou as maiores porcentagens de As-i (68 e 67%) em relação ao As-t (Figura 10a). A EPAGRI 108 também apresentou as menores concentrações de As-t (360±82 ng g^{-1}), DMA (103±27,1 ng g^{-1}) e As-o (128 ng g^{-1}) nos grupos expostos. EPAGRI 109 (controle) apresentou as maiores concentrações de As-t (71±8,1 ng g^{-1}), As^{3+} (27,2±8,17 ng g^{-1}) e As-i (40,4 ng g^{-1}). Esta mesma cultivar apresentou as maiores concentrações de As^{3+} (152±31,2 ng g^{-1}) nos grupos expostos.

As cultivares expostas a As que apresentaram maior concentração de As-t no grão, Maranhão (760±52 ng g^{-1}) e Andosan (515±15,5 ng g^{-1}) também se apresentaram com maior concentração da forma orgânica menos tóxica 443 e 372 ng g^{-1}, respectivamente, sendo que Andosan foi a cultivar que apresentou maior porcentagem de As-o (72% do As-t) (Figura 10b). Andosan (exposto) apresentou também as maiores concentrações de DMA (351±94 ng g^{-1}) e menores concentrações de As^{3+} (114±71,3 ng g^{-1}) e As-i (125 ng g^{-1}) nos grupos expostos. Andosan e Maranhão apresentaram menores porcentagens de As-i 24 e 21%, respectivamente (Figura 10b).

A linha traceja na Figura 10b indica a concentração limite de As-i no grão de arroz estabelecida pela FAO/WHO em 2014. Os grãos de arroz deste estudo expostos a As estão próximos do limite de 200 mg kg^{-1}.

Tabela 6. Concentração de As-t, espécies de As e soma das espécies nos grãos de arroz das cultivares brasileiras de arroz e recuperação em relação ao As-t. Os valores encontrados estão representados (em ng g^{-1}) como média ± desvio padrão (n=4).

							Soma das espécies		
Cultivar		**As-t**	**As^{3+}**	**DMA**	**MMA**	**As^{5+}**	**As-i**	**As-o**	**R(%)**
E9	As (-)	71±8,1	27,2±8,2	11,9±3,6	5,8±1,9	13,2±6,0	40,4	17,7	81,8
	As (+)	490±45	152±31,2	193±19,8	24,8±12,8	20,1±4,0	172	218	79,6
E8	As (-)	55±5,5	12,2±2,5	7,3±2,3	8,4±0,64	25,1±11,2	37,3	15,7	96,4
	As (+)	360±82	129±88	103±27,1	25,4±20,2	25,9±4,7	155	128	78,7
T	As (-)	70±5	17,6±2,2	8,7±2,2	12±0,1	16±0,1	33,6	20,7	77,6
	As (+)	453±87	145±80	221±89	32,6±22,5	27,8±18,0	173	254	94,1
A	As (-)	57±8,4	21,1±7,1	12,6±4,7	6,5±1,5	15,9±6,9	37,0	19,1	98,4
	As (+)	515±15,5	114±71	351±94	20,7±26,2	11,3±6,6	125	372	96,5
M	As (-)	57,2±9,4	20,3±4,3	10,6±3,1	4,5±1,1	17,9±7,5	38,2	15,1	93,2
	As (+)	760±52	117±2,0	394±10,1	49,5±10,6	40,4±4,4	157	443	79,1
C	As (-)	65±13	20,3±3,3	11,9±1,2	4,6±1,5	19,1±7,5	39,4	16,5	86,0
	As (+)	610±140	134±2,9	299±44,8	23,9±1,81	29,8±7,2	164	323	79,8

E9, EPAGRI 109; E8, EPAGRI 108; T, Tio taka; A, Andosan; M, Maranhão; C, Cáqui; T, tratamento; R, Recuperação

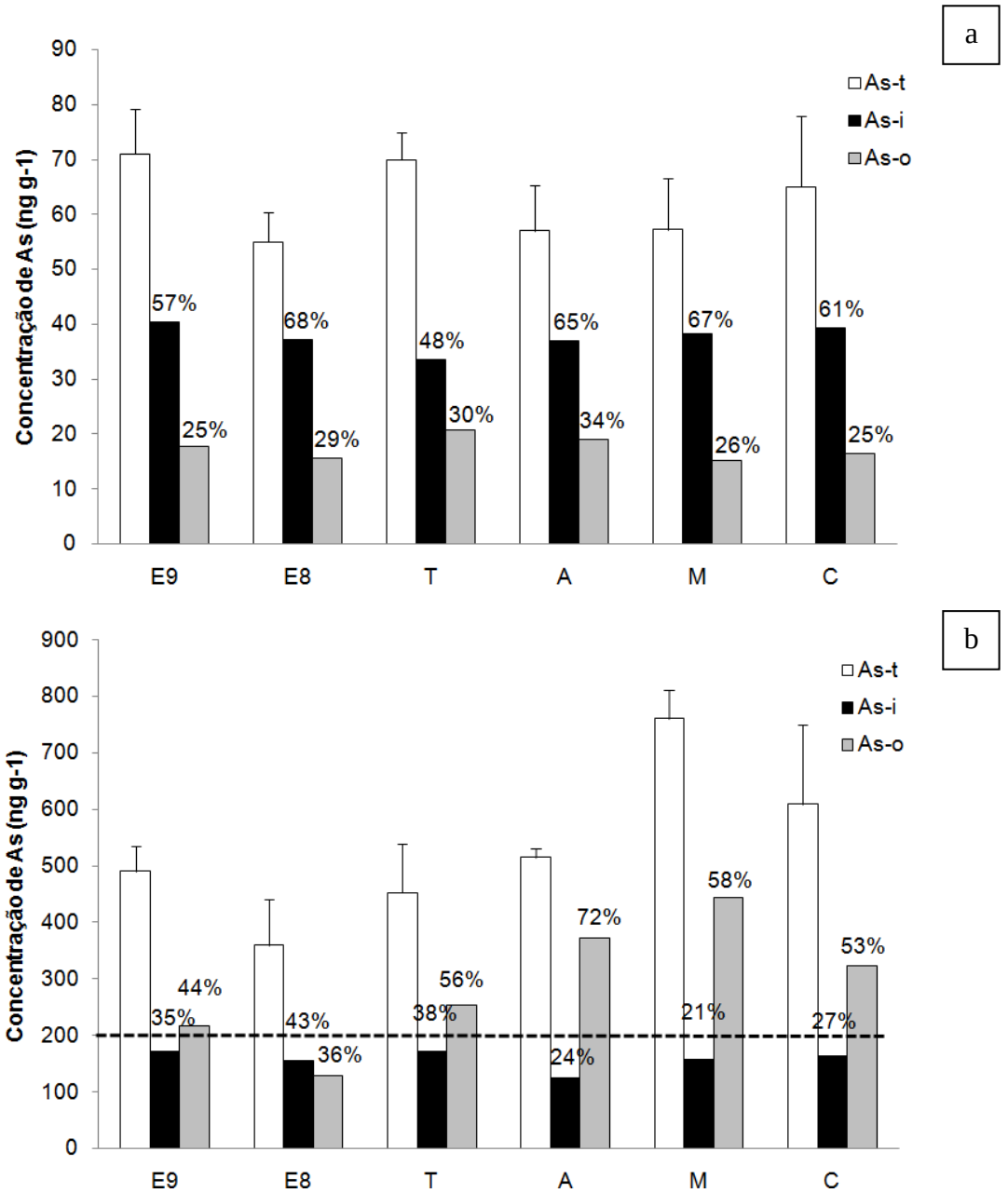

Figura 10. Concentração de As total (As-t), arsênio inorgânico (As-i), arsênio orgânico (As-o) em grãos de cultivares brasileiros de arroz controle (A) e expostos a As (B). O percentual de As-i e As-o em relação ao As total está acima das barras. (- - -): indica o limite de 200 µg kg^{-1} de As-i (FAO/WHO, 2014)

5. DISCUSSÃO

Este é o primeiro trabalho que relata a concentração de As-t, fatores de transferência de As-t, suas espécies e possíveis correlações entre elementos essenciais e tóxicos em diferentes cultivares brasileiras de arroz.

Uma série de abordagens têm sido propostas para reduzir o acúmulo de As em grãos de arroz e uma das formas mais simples e baratas seria selecionar cultivares de arroz que biologicamente limitam a acumulação de As em grãos (CARBONELL-BARRACHINA et al., 2009; ZHAO et al., 2010; DAUM et al, 2002). Isto poderia ser feito pela seleção de cultivares que têm baixa captação de As do solo, e/ou cultivares que restringem a transferência de As para as partes aéreas (NORTON et al., 2012). Estes cultivares poderiam ser utilizados em regiões com elevadas concentrações de As, bem como sendo estoque genético para programas de melhoramento genético para a produção moderna de arroz comercial (NORTON et al., 2012).

5.1. Concentração de As-t no solo, raízes, colmos e grãos

Houve diferença significativa ($p<0,05$) intra-cultivar nas partes do arroz e no solo entre todos os grupos expostos a As (As +) em vista do grupo controle (As -), indicando que quanto maior a concentração de As no solo, maior será sua captação. Batista et al. (2014) também observaram que a comparação entre baixas (7 mg kg^{-1}) e altas (14,9 mg kg^{-1}) concentrações de As no solo mostrou diferenças significativas entre a concentração de As total nas raízes, colmos e grãos da maioria das cultivares estudadas. Em outros estudos também foram observadas diferenças significativas entre as cultivares controle e as expostas evidenciando a capacidade de captação de As pelo arroz (YE et al. 2012; WILLIAMS et al., 2007a).

A concentração de As encontrada foi em ordem decrescente raízes>solo>colmos>grãos tanto nos grupos controle com médias de 3,29; 0,65; 0,32 e 0,06 mg kg^{-1} quanto nos grupos expostos com médias de 95,48; 12,15; 5,96 e 0,54 mg kg^{-1} respectivamente. O As não é essencial e sua captação pelas plantas ocorre via transportadores de nutrientes ou de substâncias que são importantes para o seu crescimento (MEHARG e ZHAO, 2012). A captação de As pelas plantas de arroz e consequentemente aumento da concentração deste no grão depende de fatores como cultivo irrigado por inundação, irrigação com água contaminada com As, assim como o solo naturalmente contaminado com As (SAHA e ALI, 2007; LU et al, 2009; MEHARG et al., 2009).

A avaliação da concentração do As no solo é um fator importante, uma vez que o grão do arroz pode acumular grandes quantidades de As mesmo em solos com baixas concentrações de As (DAUM et al., 2001). A concentração média de As-t no solo encontrada no presente estudo foi de 0,65±0,25 mg kg^{-1} nos grupos controle e 12,1±2,3 mg kg^{-1} nos grupos expostos.

Foi observada maior concentração de As na raíz, maior até mesmo que as concentrações observadas no solo, indicando que a raíz do arroz é o compartimento da planta com elevada capacidade de captar e acumular o As presente no solo, consequentemente transportando mais As para as partes aéreas da planta. O arroz possui elevada capacidade de captação de As. Em comparação com cevada e trigo cultivados em solos contaminados com As (200 mg kg^{-1}) no sudoeste da Inglaterra, a concentração de As nos grãos não passaram de 0,55 mg kg^{-1} (WILLIAMS et al. 2007a), concentração essa encontrada em grãos de arroz de nosso estudo cultivados em solos contendo 10 mg kg^{-1}. Outros estudos com plantas de arroz também mostraram que independente da concentração de As no solo, a raíz é o tecido que mais acumula As (MARIN et al.1992, MARIN et al., 1993; ABEDIN et al., 2002b). Nas raízes, o oxigênio transportado pelo aerênquima radicular é consumido pelas células dos tecidos adjacentes ou difundida em direção ao ápice das raízes ou rizosfera (COLMER, 2003a, 2003b). Essa transferência de oxigênio do aerênquima para a rizosfera pode alterar o pH do solo e é chamada de perda de oxigênio radial (ROL) que pode ocasionar oxidação dos elementos presentes no solo da rizosfera (como Fe^{2+} para Fe^{3+}) e causar precipitação de metais tóxicos no solo da rizosfera ou na superfície das raízes alterando a mobilidade dos metais e impedindo a translocação de As das raízes para as partes aéreas do arroz (OTTE et al. 1989; SMOLDERS E ROELOFS, 1996; CHEN et al, 1980; LIU et al., 2004a, 2004b).

Alguns estudos têm demonstrado que o arroz tem uma capacidade considerável de assimilar o As pelas partes aéreas (como o colmo). Abedin et al. (2003) observaram concentrações em torno de 100 mg kg^{-1} em um experimento onde os autores irrigaram continuamente o arroz com água contendo 8 mg L^{-1} de As. Tsutsumi (1980) observou concentrações de 149 mg kg^{-1} em colmos de plantas de arroz que cresceram em solos contendo 312 mg kg^{-1} de As. Smith e colaboradores (2008) observaram concentrações nos colmos de 19±3,8 mg L^{-1} em plantas de arroz mantidas com agua de cultivo de 1,2 a 1,8 mg L^{-1} As.

Entre as cultivares expostas de arroz branco tradicional, a cultivar com maior concentração de As no grão em nosso estudo foi a Andosan (0,51±0,15 mg kg^{-1}). Já a cultivar de arroz branco com menor concentração de As no grão foi a EPAGRI 108 (0,36±0,08 mg kg^{-}

^{1}). Zhang et al. (2013) encontraram diferenças na concentração de As (0,42; 0,85 e 1,09 mg kg^{-1}) em grãos de arroz, provavelmente devido a variação no pH (6,5; 5,2 e 4,3), e na concentração de Fe (68,7; 47,36; 62,36 g kg^{-1}) e As no solo (65; 82 e 102 mg kg^{-1}). Williams e colaboradores (2007a) encontraram concentrações ao redor de 0,60 mg kg^{-1} em cultivares que cresceram em solo com concentração de As ao redor de 10 mg kg^{-1}, semelhante ao encontrado no presente estudo. Outro estudo (HUANG et al., 2006) encontrou concentrações de 0,12 mg kg^{-1} em grãos de arroz do sudoeste da China (Província de Fujian) que cresceram em solo contendo 6,04 mg kg^{-1} As. Através da análise de fluorescência de micro-raios-x, Smith et al. (2009) observaram que o As foi distribuído principalmente ao longo dos tecidos vasculares da folha, desta forma, o As no grão provavelmente é derivado do transporte direto do xilema a partir das raízes ou da remobilização do As presente nos colmos através do floema durante amadurecimento dos grãos (NORTON et al., 2010).

Em um estudo da influência do medicamento Roxarsone (composto organoarsenical utilizado como aditivo para ração animal) em plantação de arroz, foi observado no grupo controle 8±0,52 > 2,35±0,07 > 0,17±0,01 mg kg^{-1} de As-t (nas raízes > colmos > grãos) e no grupo que recebeu 100 mg Roxarsone kg^{-1} de solo, concentrações de 395±12,9 > 72,57±6,62 > 1,09±0,05 mg kg^{-1} de As-t (nas raízes > colmos > grãos) (LIU et al., 2009).

A variação genética das plantas em resposta ao As, em termos de captação e metabolismo, fornece potencial para desenvolver cultivares mais adequados à plantação em solos com alta concentração de As. Um exemplo disso é o desenvolvimento de cultivares que assimilam menos As ou que restringem a translocação de As para as sementes, levando a uma redução da exposição alimentar ao As (MEHARG e HARTLEY-WHITAKER, 2002) pelo consumo de arroz. Desta forma, as cultivares de arroz possuem diferenças significativas, e mesmo cultivadas sob similares condições, apresentam importantes diferenças na captação do As (NORTON et al., 2012; TRIPATHI et al. 2012).

Recentemente (2014), foi adotado pelo comitê Codex Alimentarius (FAO, 2014) o valor de 0,2 mg kg^{-1}de As-i no grão de arroz polido como valor limite. Diante do exposto, deve ser feita especiação química para se conhecer a real concentração de As-i no grão de cultivares de arroz do Brasil, que será útil na escolha da cultivar de arroz ideal, reduzindo as concentrações de As nos grãos e consequentemente o risco associado à ingestão de arroz com As.

5.2. Concentração de elementos essenciais e tóxicos, no arroz, no solo e correlação entre os elementos

5.2.1 Elementos essenciais

A principal fonte de elementos essenciais ao organismo humano é a ingestão de alimentos, sendo assim, é muito importante compreender a transferência de elementos do solo para os alimentos de cultivo e a interferência do As nessa transferência, principalmente para o arroz, parte da dieta de grande parte da população mundial.

Cobalto e Mn foram os elementos essenciais que mais apresentaram variação significativa ($p<0,05$) intra cultivar, entre grupos controle e expostos.

Para o Mn houve diferença significativa ($p<0,05$) intra-cultivar entre os grupos controle e exposto nas raízes, apresentando uma maior concentração de Mn nos grupos controle Maranhão e Cáqui (74±13 µg g^{-1}) e (71±5,1 µg g^{-1}) em vista dos grupos expostos (56±4,0 µg g^{-1}) e (52±14 µg g^{-1}). O Mn é o principal elemento associado (adsorvido e co-precipitado) a placas nas raízes de plantas aquáticas, perdendo apenas para o Fe (CHRISTENSEN e SAND-JENSEN, 1998). Em contrapartida, em geral os grupos expostos do presente estudo, apresentaram-se com maior concentração de Mn nos colmos indicando que quanto maior a exposição ao As, mais Mn é transportado para as partes aéreas. Sabe-se que a distribuição e localização do As em grãos de arroz, é amplamente associada com deposição Mn e estes são translocados facilmente das raízes para as folhas através do xilema, e muito pouco são translocados para os grãos (MEHARG et al., 2008b; SMITH et al., 2009). O Mn é essencial ao nosso organismo, sendo necessário para o metabolismo normal de aminoácidos, proteínas, lipídeos e carboidratos. Atua como cofator de enzimas, destacando-se Mn superóxido dismutase (Mn-SOD) que participa da defesa antioxidante do organismo, porém, seu excesso pode causar neurotoxicidade (KLAASSEN, 2008; ASCHNER et al., 2005).

Três cultivares tiveram redução significativa de Co quando expostos a maiores concentrações de As. Isto foi observado nas raízes das cultivares Maranhão (1388±510 x 1155±76 ng g^{-1}; $p<0,01$) e Cáqui (1370±177 x 892±170 ng g^{-1}; $p<0,01$), nos colmos da cultivar Maranhão (241±2.1 x 185±81 ng g^{-1}; $p<0,05$) e nos grãos da cultivar EPAGRI 108 (8,9±0,8 x 7,5±0,5 ng g^{-1}; $p<0,05$). Não há estudos a respeito da interação entre As e Co em plantas de arroz, mas sabe-se que a inibição da captação de Co não é desejável, já que este elemento é considerado essencial ao nosso organismo, sendo componente principal da cobalamina ou vitamina B_{12} (KOBAYASHI e SHIMIZU, 1999). A cobalamina pode ser

encontrada em carne, queijo, peixe, ovos e leite (GUGGISBERG E RISSE, 2012). Sua deficiência pode levar a uma anemia perniciosa e seu excesso pode levar a efeitos tóxicos como aumento de pressão e cardiomiopatias em seres humanos e animais (KLAASEN, 2008; SELZER e ANCEL, 1983).

Não houve diferença significativa entre a concentração de Se nas plantas controle e expostas a As. As concentrações de Se no grão foram bem próximas, variando em média de 23 a 47 ng g^{-1}. Em outro estudo foi observado em plantas de *Nicotiana tabacum* L. que cresceram em hidroponia, que concentrações baixas de Se (0,1 mg L^{-1}) atenuaram a toxicidade de altas concentrações de As (5 mg L^{-1}) elevando sua capacidade antioxidante e reduzindo o conteúdo de As nas plantas (HAN et al., 2015). Como componente de selenoproteinas, o Se é um elemento essencial ao nosso organismo. Possui funções estruturais e enzimáticas como, antioxidantes, catalisadores da produção de hormônio tireoidiano e necessário para o bom funcionamento do sistema imunológico. Uma ingestão elevada de Se pode estar associada com a redução do risco de câncer. O Se é essencial para enzimas antioxidantes como glutationa peroxidase (GPx), na manutenção da integridade da membrana, e na redução da propagação de novos danos oxidativos em biomoléculas (lipídeos, lipoproteínas e DNA) (RAYMAN, 2000; ALLAN et al., 1999; DIPLOCK, 1994; NÉVE, 1996).

5.2.2 Elementos tóxicos

A contaminação ambiental e principalmente agrícola envolvendo elementos potencialmente tóxicos tem atraído grande atenção principalmente devido a preocupações para a saúde humana. Plantas exibem uma capacidade diferente de absorver e translocar metais a partir do solo para as partes aéreas (NADIMI-GOKI et al., 2014). Sabe-se que o método de cultivo em alternância de soja-arroz-arroz é o sistema mais ativo na translocação de metais para as partes aéreas (NADIMI-GOKI et al., 2014).

No presente estudo, para o Cd houve diferença significativa entre os grupos controle e expostos ao As no colmo da cultivar Maranhão (9,3±0,9 x 7,0±2,4 ng g^{-1}; $p<0,05$) e nas raízes da cultivar Cáqui (10±15 x 7,8±1,3 ng g^{-1}; $p<0,05$), aonde a concentração diminuiu a medida que aumentou a concentração de As no solo. Um dos mecanismos de defesa mais conhecidos envolvidos na desintoxicação do Cd é o sequestro intracelular de Cd por PCs, que pode ter ocorrido devido à maior produção de PCs induzida pelo aumento de As e pela presença de Cd (BATISTA et al., 2014; BIANUCCI et al., 2010). Ao contrário do As que se concentra na camada externa, o Cd se distribui uniformemente no grão do arroz (MEHARG et al., 2008b),

estando localizado principalmente no endosperma (MORIYAMA et al., 2003), sendo assim não é eliminado pelo polimento que o grão de arroz branco é submetido. O Cd é um elemento tóxico reconhecido pela IARC como carcinogênico humano (IARC, 1993). É introduzido em solos agrícolas principalmente por fertilizantes (BIANUCCI et al., 2012), podendo ser absorvido pelos humanos através da ingestão de alimentos e água contaminados. Uma vez absorvido, se distribuem e se acumulam principalmente no fígado e rim ligado a metalotioneína, aonde exerce seu efeito tóxico (KLAASSEN, 2008; SWIERGOSZ-KOWALEWSKA, 2001).

Neste estudo observou-se diferença significativa para o Pb nas raízes entre os grupos controles e expostos da cultivar Cáqui (330±40 x 217±41 ng g^{-1}) $p<0,01$. A maior concentração de Pb no grupo controle em vista do grupo exposto pode ser devido ao aumento de PCs devido a um aumento na concentração de As, que assim como o Cd, este é um dos mecanismos de defesa para Pb (MISHRA et al., 2006). O Pb é um elemento tóxico e pode ser introduzido no organismo através da água e alimentos contaminados. Possui como principal mecanismo de toxicidade a inibição de enzimas, principalmente ácido delta aminolevulínico desitratase (ALA-D), interferindo na formação dos eritrócitos podendo desenvolver anemia em indivíduos expostos (KLAASSEN, 2008). Em uma exposição aguda, ele pode induzir encefalopatia aguda com insuficiência renal, sintomas gastrointestinais graves e hemólise (HAYES, 2001).

5.2.3 Correlações

Em relação a tabela de correlações, nota-se moderada correlação positiva entre As-t(solo) x As-t(grãos) (0,546; $p<0,05$), indicando que o aumento da concentração de As no solo aumentam as concentrações de As-t nos grãos, evidenciando o aumento da captação de As pelo arroz quando as plantas são expostas a maiores concentrações de As, concordando com outros estudos (YE et al. 2012; WILLIAMS et al., 2007a; HUANG et al., 2006). Observamos também forte correlação ($p<0,01$) e positiva entre As-t x As-o nos grãos e (0,666), indicando que a medida em que a concentração de As-t no grão aumenta, aumentam-se também As-o. Zavala et al. (2008) reportaram que a relação entre concentração de As e concentração de DMA é positiva, indicando que quando aumentam-se as concentrações de As em solos de arrozais, há um predomínio da espécie DMA, embora a concentração das espécies de As presentes nos grãos seja dependente da cultivar do arroz (MEHARG et al., 2009; BATISTA et al., 2014).

A inibição da captação de Co, frente a maiores concentrações de As se enfatiza na correlação moderada negativa e significativa para As-t(raíz) x Co(grão) (-0,512), ou seja, quando a planta foi exposta a uma maior concentração de As, menor foi o Co transferido das raízes para os grãos.

A distribuição e localização do As em grãos de arroz, é amplamente associada com deposição de Cu, Mn e Zn e estes são translocados facilmente das raízes para as folhas através do xilema, e muito pouco é translocado para os grãos (MEHARG et al., 2008b; SMITH et al., 2009). A localização destes elementos é na superfície do grão do arroz integral, que vai do pericarpo até aleurona (células ricas em lipídeo e proteína), sendo assim, a retirada desta camada gerando o arroz branco, diminui a concentração de As e destes elementos no grão de arroz (MEHARG et al., 2008b).

Smith et al. (2009) observaram que a distribuição de Cu em folhas da planta do arroz foi semelhante a distribuição de As ao longo dos tecidos vasculares da folha, provavelmente devido a uma certa predileção de ambos pelos tecidos vasculares da folha. Cu é um micronutriente essencial que está envolvido em muitos processos fisiológicos da planta. Em nosso estudo foi observado uma correlação positiva significativa entre Cu e As-i (r=0,475) nos grãos.

5.3. Fator de transferência do As

O fator de transferência (FT) é definido como o transporte a longa distância de um composto específico de uma parte para outra sob condição específica de cultivo (CARBONELL-BARRACHINA et al., 1998b; RAAB et al., 2007). FTs variam consideravelmente entre a espécie da planta e entre cultivares dentro de uma única espécie (ZHAO et al.,2010).

A transferência de As do solo para as partes comestíveis de plantas é um passo fundamental na via de entrada de As na cadeia alimentar humana (HUANG et al., 2006). As plantas variam consideravelmente na sua habilidade de acumular o As. Existem dois extremos de plantas em se tratando de acumulação de As, as plantas com baixos FTs (ou *excluders*) que possuem limitada absorção e translocação de As a partir das raízes para a parte aérea e as hiperacumuladoras, como *Pteris vitatta*, que acumulam grandes quantidade de As na planta (ZHAO et al., 2010). O arroz é um caso especial, estando entre as *excluders* e as hiperacumuladoras, sendo mais eficiente em acumular As do que outros cereais como o trigo e cevada, e seu $FT_{solo\text{-}grãos}$ se aproximando de 1, devido principalmente a biodisponibilidade

aumentada de As de acordo com as condições anaeróbias de cultivo e a absorção e transporte de arsenito da via de Si, que é altamente eficiente no arroz (SU et al., 2010; ZHAO et al., 2010).

O FT mais importante do arroz em relação a nutrição do ser humano é a $FT_{solo\text{-}grãos}$ (Figura 8d) também conhecido como FT_{total} ($CAs_{grãos}/CAs_{solo}$) (ZHANG et al., 2013), sendo este bem maior do que em outros cereais como cevada e trigo (WILLIAMS et al., 2007). O $FT_{solo\text{-}grãos}$ variou neste estudo de 0,02 a 0,22. EPAGRI 108 e TIO TAKA (expostos) apresentaram-se com menores FTs (0,028 e 0,037), EPAGRI 109 e EPAGRI 108 (controles) apresentaram os maiores FTs (0,216 e 0,187). As plantas desenvolvem tolerância a elevadas concentrações de As no solo, sendo a transformação de As um mecanismo constitutivo ou um mecanismo adaptativo para suportar altos níveis de As (MEHARG, 1994). A transferência de As do solo para os grãos neste estudo foi semelhante aos estudos de Huang et al. (2006) que observaram em arroz do sudoeste da China, valores $TF_{solo\text{-}grão}$ de 0,006 a 0,036, com uma média de 0,020 e de Zhang et al. (2013) que também estudaram $TF_{solo\text{-}grão}$ em arroz da China e observaram TF variando de 0,006 a 0,074.

O maior FT foi observado entre o solo e raíz, apresentando-se com variação de 2,02 a 16,05. O menor FT foi observado entre raíz e grãos variando de 0,0025 a 0,0365. Outros estudos também encontraram que o maior FT é observado entre solo e raíz como no estudo de Batista et al., (2014) variando de 2,7 a 28,5 e de Nadimi-Goki et al. (2014) com FT de 3,05. Outro estudo que avaliou os efeitos do aditivo arsenical Roxarsone na plantação de arroz e observou um $FT_{solo\text{-}raíz}$ de 1,2 a 4,3; $FT_{raíz\text{-}folha}$ de 0,25 e $FT_{colmo\text{-}grão}$ de 0,03 em cultivares de arroz de Taiwan (LIU et al., 2009).

Em geral as cultivares expostas apresentaram menores $FT_{colmo\text{-}grão}$, $FT_{solo\text{-}grão}$ e $FT_{raíz\text{-}grão}$ indicando que uma maior exposição ao As diminui significativamente o FT entre todos as cultivares. Isto pode ser devido à estimulação da produção de PCs que reduz, conseqüentemente, o transporte para partes aéreas da planta. Destaca-se a cultivar EPAGRI 108 (exposto) que se apresentou com os menores $FT_{solo\text{-}grão}$, $FT_{raíz\text{-}grão}$ e $FT_{colmo\text{-}grão}$. Em um experimento com plantas de arroz irrigadas com água contendo As foi observado redução do $FT_{colmo\text{-}grão}$ quando a concentração de As no colmo aumentou de 2,29 para 6,53 $\mu g\ g^{-1}$ (ISLAM et al., 2004).

5.4. Especiação química de As

A determinação de espécies de As no arroz é importante para o entendimento do metabolismo do As na planta e para avaliar a toxicidade da planta quanto aos consumidores nos níveis tróficos superiores (ZHAO et al., 2010).

Este estudo mostrou a predominância de duas espécies de As (As^{3+} e DMA) nas cultivares brasileiras de arroz estudadas. Este perfil também foi observado no estudo de Batista et al. (2011), que avaliou 44 amostras de grãos de arroz do mercado brasileiro, adquiridos de várias regiões do Brasil.

Alguns pesquisadores classificam o arroz de acordo com a espécie química predominante neste, como tipo-As-i e tipo-DMA (ZAVALA et al., 2008). Sendo assim as cultivares avaliadas neste estudo seriam classificadas como arroz tipo-As-i para os grupos controle ou tipo-DMA para os grupos expostos. Em relação ao grupo controle, EPAGRI 108 apresentou as menores concentrações de As-t (55±5,5 ng g^{-1}), DMA (7,3±2,3 ng g^{-1}) e As-o (15,7 ng g^{-1}), porém juntamente com Maranhão apresentou as maiores porcentagens de As-i (68 e 67%) em relação ao As-t (Figura 10a). EPAGRI 109 apresentou as maiores concentrações de As-t (71±8,1 ng g^{-1}), As^{3+} (27,2±8,17 ng g^{-1}) e As-i (40,4 ng g^{-1}). Embora tenha existido um predomínio de espécies inorgânicas de As nas cultivares controle, as maiores concentrações de As-i foram observadas nas cultivares expostas, como SCS BRS TIO TAKA (173 ng g^{-1}) e EPAGRI 109 (172 ng g^{-1}). Em um estudo de amostras de arroz obtidas em mercados de diferentes regiões do Brasil, Batista e colaboradores (2011) encontraram a espécie inorgânica de As na maioria das amostras, principalmente naquelas da região sul, maior região produtora. O arroz integral apresentou-se com altos valores de As-i e As^{3+} nos grãos de arroz do Rio Grande do sul (190,5 ng g^{-1} e 155,7 ng g^{-1}, respectivamente). Estes valores ultrapassaram as maiores concentrações observadas no presente estudo nos grupos expostos da cultivar SCS BRS TIO TAKA (As-i = 173 ng g^{-1}) e EPAGRI 109 (152 ng g^{-1}).

Assim como nos seres humanos, a espécie de As mais tóxica para as plantas em vista da germinação das sementes é o As-i, principalmente As^{3+}, inibindo até 83% da germinação quando as sementes são expostas a um solução de 8 mg L^{-1} de As^{3+} em cultivares de arroz de Bangladesh (ABEDIN e MEHARG, 2002c).

A maior parte do As-i apresentou-se como As^{3+} nas cultivares avaliadas, espécie de As-i que está mais disponível para ser captada pela planta em solos anaeróbicos, devido à elevada captação e transporte de As^{3+} pelos eficientes transportadores de Si (Lis1). Além disso, o As^{3+} pode ser captado por canais de aquagliceroporina presentes na planta do arroz,

também conhecidos como NIP (*nodulin 26-like intrinsic proteins*) (MA et al., 2008). As placas de ferro que são formadas ao redor da raíz possuem elevada afinidade por As^{5+}, dificultando sua captação para as partes aéreas, e alta capacidade de redução de As^{5+} pelos microorganismos (ZHAO et al., 2010; CHEN et al., 2005).

A cultivar de arroz vermelho e a cultivar de arroz branco que apresentaram maiores concentrações de As-t no grão, Maranhão (760±52 ng g^{-1}) e Andosan (515±15,5 ng g^{-1}) também se apresentaram com maior concentração da forma orgânica DMA, 443 e 372 ng g^{-1}, respectivamente (72 e 58% do As-t) e também foram os que apresentaram menores concentrações de As-i 21 e 24%, respectivamente (Figura 10b) entre as cultivares expostas. Isto pode ser explicado devido a tolerância desenvolvida pelas plantas a elevadas concentrações de As no solo, sendo a transformação de As um mecanismo constitutivo ou um mecanismo adaptativo para suportar altas concentrações de As (MEHARG, 1994). O predomínio das espécies orgânicas de As também foi visto em outros estudos (RAAB e al., 2007; LI et al., 2009; BATISTA et al., 2014). Smith e colaboradores (2008) observaram em plantas de arroz que cresceram em solo contendo entre 1,2 e 1,8 mg kg^{-1} de As, o predomínio da espécie DMA nos grãos na proporção de 85 a 95% respectivamente do As-t, ficando o restante com a espécie As^{3+}. Em contrapartida, Liu e colaboradores (2009) não encontraram espécies de As-o nos compartimentos de arroz estudados nos grupos controle e nos grupos expostos a 25, 50 e 100 mg de um composto arsenical (Roxarsone) por kg de solo, sendo a espécie As^{3+} predominante nas raízes, colmos e grãos com concentrações de 0,89 mg kg^{-1} de As nos grãos sob o maior tratamento com Roxarsone provavelmente devido ao ritmo lento de absorção de DMA e MMA (ABEDIN et al., 2002a).

Nosso estudo avaliou o comportamento de As e suas espécies em cultivares brasileiras frente a baixa e alta exposição ao As, com média de 0,65±0,25 mg kg^{-1} e 12,1±2,30 mg kg^{-1} respectivamente. Porém sabe-se que a biogeoquímica do solo exerce influência na capacidade de captação de As, onde a biodisponibilidade do As pode estar relacionada ao local geográfico, propriedades do solo, condições redox e pH (exercem influência na especiação e solubilização de As), época da colheita, conteúdo de argila e a deficiência de cristais de óxido de ferro (MARIN et al., 1993; SHEPPARD 1992; TAKAHASHI et al., 2004; BOGDAN e SCHENK, 2009).

A fito-disponibilidade e fito-toxicidade do As em arroz que cresce em hidroponia (apenas com nutrientes necessários, sem interferência de solo heterogêneo) segue a ordem DMA < As^{5+} < MMA < As^{3+}, sendo que há uma maior translocação das espécies orgânicas de As comparado as inorgânicas (MARIN et al., 1992). Não está claro se as espécies metiladas

de As são captadas pela raíz e levadas para as partes aéreas ou ocorre biometilação na planta, no entanto, estudos indicam que a metilação do As é realizada por bactérias associada a rizosfera (ARAO et al., 2011).

A elevada concentração de As-o no grão pode ser devido a vários fatores. Sabe-se que os canais de Lis2 responsáveis pelo efluxo de As^{3+} não estão envolvidos no efluxo de MMA e DMA, provavelmente porque estes estão dissociados no citoplasma (LI et al., 2009) e apesar da baixa captação de MMA e DMA pelas raízes, estes possuem elevada translocação das raízes para os colmos (ZHAO et al., 2010; LI e al., 2009; RAAB et al., 2007; MARIN et al., 1992). A baixa captação de As-o pelas raízes pode ser devido as suas constantes de dissociação menores do que As^{3+} (pka=4,2 e 6,1 respectivamente), fazendo com que os canais de Lis1, apenas em condições aonde o ph é diminuído e o pka dessas espécies orgânicas aumenta, é que se aumenta a captação pelas células das raízes (LI e al., 2009).

A presença de diferentes espécies de As dependendo do tipo da cultivar e da exposição a baixas e altas concentrações ao As mostra uma variedade no metabolismo da planta.

5.5. Considerações finais

A Tabela 7 apresenta um resumo das principais variáveis estudadas neste trabalho. Podemos observar que o As exerceu influência na AP para as cultivares E9, A e M. As maiores concentrações de As-t (grãos) foram observadas nas cultivares expostas A e M. Em contrapartida, a menor concentração de As-t (grãos) foi observada na cultivar E8. A concentração do elemento essencial Co diminuiu nas cultivares expostas E8, M e C quando comparadas ao grupo controle. Foi observada ainda, menor concentração dos elementos tóxicos Cd e Pb nos grupos expostos em relação aos grupos controle das cultivares M e C. O $FT_{solo\text{-}grãos}$, apresentou-se com maior valor para E9 e menor para E8. Nos grupos controle (-), o As-i apresentou maior valor para E9 e menor para T e o As-o apresentou maior e menor valor para T e M, respectivamente. Nos grupos expostos (+) a maior e menor concentração de As-i foram encontradas nas cultivares T e A, respectivamente e o As-o apresentou maior e menor valor para M e E8, respectivamente.

Sendo assim, a cultivar que apresentou as melhores condições estudadas neste trabalho foi E8, apresentando menores concentrações de As-t, $FT_{solo\text{-}grãos}$ e As-o nos grupos expostos. A cultivar que apresentou as piores condições foi M, apresentando menor AP, maiores concentrações de As-t (grãos), menores concentrações de Co e maior concentração de As-o nos grupos expostos.

Tabela 7. Principais variáveis estudadas, AP, altura da planta, As-t (grãos), [Co], concentração de Co; [Cd], concentração de Cd; [Pb], concentração de Pb; $FT_{solo\text{-}grãos}$, fator de transferência solo-grão; As-i (-), As-o (-), As (+) e As (+).

Cultivar	Variáveis									
	AP	**As-t (grãos)**	**↓ [Co]**	**↓ [Cd]**	**↓ [Pb]**	**$FT_{solo\text{-}grãos}$**	**As-i (-)**	**As-o (-)**	**As-i (+)**	**As-o (+)**
E9	√					>	>			
E8		<	√			<				<
T							<	>	>	
A	√	>							<	
M	√	>	√	√				<		>
C			√	√	√					

E9, EPAGRI 109; E8 EPAGRI 108; T, TIO TAKA; A, Andosan; M, Maranhão; C, Cáqui; √, As exerceu influência nesta variável; >, maior concentração observada; <, menor concentração observada; (-), grupo controle; (+) grupo exposto.

6. CONCLUSÕES

Este primeiro estudo das cultivares brasileiras de arroz mostrou que a concentração de As no solo e a captação pelas raízes com consequente transferência para os grãos depende da cultivar e da concentração de As presente no solo. Houve uma variedade na metabolização de As entre as cultivares, onde as espécies inorgânicas foram predominantes nas cultivares controle e as espécies orgânicas predominantes entre as cultivares expostos. As concentrações de alguns elementos essenciais e tóxicos nas plantas também foram influenciadas pela concentração de As no solo. O fator de transferência de As do solo para os tecidos da planta diminuíram com uma maior concentração de As, indicando um aumento da tolerância ao As pelas plantas.

A cultivar EPAGRI 108 foi a que menos acumulou As-t tanto nos grupos controle quanto nos grupos expostos apresentando também os menores $FT_{solo\text{-}grão}$, $FT_{raíz\text{-}grão}$, $FT_{colmo\text{-}grão}$ e menores concentrações de As-o, principalmente DMA. Entre as cultivares de arroz branco, Andosan (exposto) foi o que acumulou maiores quantidades de As-t e de As-o nos grãos, principalmente DMA. A cultivar EPAGRI 109 (controle) foi a cultivar que mais acumulou As-t e As-i no grão, principalmente As^{3+} e foi a cultivar com maior $FT_{solo\text{-}grãos}$.

Em alta exposição ao As houve uma correlação positiva entre As-t (solo) x As-t (grãos) e As-o (grãos) evidenciando a captação de As pelas raízes e o transporte para os grãos, principalmente de espécies orgânicas, à medida que aumentam as concentrações de As no solo.

Foi observada também uma correlação negativa entre As-t (raíz) x Co (grão) indicando um decréscimo na captação deste elemento essencial (Co) quando a planta é exposta a maiores quantidades de As. Os elementos tóxicos Cd e Pb, sob alta exposição ao As foram em geral menos captados pela planta.

Os resultados do presente estudo deverão contribuir para a escolha de uma cultivar de arroz ideal, que apresente uma reduzida concentração de As nos grãos e consequentemente menor risco a população, associado à ingestão de arroz com As.

REFERÊNCIAS

ABEDIN, M. J.; FELDMANN, J.; MEHARG, A. A. Uptake kinetics of As species in rice plants. **Plant Physiology**, v. 128, p. 1120-1128, 2002a.

ABEDIN, J.; CRESSER, M.; MEHARG, A. A.; FELDMANN, J.; COTTER-HOWELLS, J. Arsenic accumulation and metabolism in rice (Oryza sativa L.). **Environmental Science and Technology**, v. 36 (5), p. 962–968, 2002b.

ABEDIN, M. D. J.; MEHARG, A. A. Relative toxicity of arsenite and arsenate on germination and early seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant soil**, v. 243, p. 57–66, 2002c.

ABEDIN, M. J.; COTTER-HOWELLS, J.; MEHARG, A. A. Arsenic uptake and accumulation in rice (Oryza sativa L.) irrigated with contaminated water. **Plant Soil**, v. 240, p. 311-319, 2003.

ABERNATHY, C. O.; LIU, Y. P.; LONGFELLOW, D.; APOSHIAN, H. V.; BECK, B.; FOWLER, B.; GOYER, R.; MENZER, R.; ROSSMAN, T.; THOMPSON, C.; WAALKES, M. Arsenic: Health Effects, Mechanisms of Actions, and Research Issues. **Environmental Health Perspectives**, v. 107, p. 7, 1999.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). Toxicological profile for cobalt. U.s. Department of health and human services, Atlanta, 2001.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). disponível em: www.portal.anvisa.gov.br, acesso em: junho de 2013.

ALLAN, C. B.; LACOURCIERE, G. M.; STADTMAN, T. C. Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. **Annual review of nutrition**, V. 19, P. 1–16, 1999.

APOSHIAN, H. V.; APOSHIAN, M. M. Arsenic Toxicology: Five Questions. **Chemical Research in Toxicology**, v. 19, p. 1-15, 2006.

ARAO, T.; KAWASAKI, A.; BABA, K.; MATSUMOTO, S. Effects of arsenic compound amendment on arsenic speciation in rice grain. **Environmental science and technology**, v. 45, p. 1291–1297, 2011.

ASHER, C. J.; REAY, P. F. Arsenic uptake by barley seedlings. **Australian Journal of Plant Physiology,** p. 459–466, 1979.

ASCHNER, M.; ERIKSONM, K. M.; DORMAN, D. C. Manganese dosimetry: species differences and implications for neurotoxicity. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 35, p.1–32, 2005.

BATISTA, B. L.; SOUZA, J. M. O.; SOUZA, S. S.; BARBOSA JUNIOR, F. Speciation of arsenic in rice and estimation of daily intake of different arsenic species by Brazilians through rice consumption. **Journal of Hazardous Materials**, v. 191, p. 342-348, 2011.

BATISTA, B. L.; NIGAR, M.; MESTROT, A.; ROCHA, B. A.; BARBOSA JUNIOR, F.; PRICE, A. H.; RAAB, A.; FELDMANN, J. Identification and quantification of phytochelatins in roots of rice to long-term exposure: evidence of individual role on arsenic accumulation and translocation. **Journal of Experimental Botany**, v. 1, p. 1-13, 2014.

BGS, BRITSH GEOLOGICAL SURVEY. Arsenic contamination of groundwater in Bangladesh, 2001. Em: SAHA, G. C.; ALI, M. A. Dynamics of arsenic in agricultural soils irrigated with arsenic contaminated groundwater in Bangladesh. **Science of the Total Environment**, v. 379, p. 180-189, 2001.

BIANUCCI, E.; SOBRINO-PLATA, J.; CARPENA-RUIZ, R. O.; DEL CARMEN TORDABLE M.; FABRA, A.; HERNÁNDEZ, L. E.; CASTRO, S. Contribution of phytochelatins to cadmium tolerance in peanut plants. **Metallomics**, v. 4 (10), p. 1119-24, 2012.

BISWAS, D.; BANERJEE, M.; SEN, G.; DAS, J.K.; BANERJEE, A.; SAU, T.J.; PANDIT, S.; GIRI, A.K.; BISWAS, T. Mechanism of erythrocyte death in human population exposed to arsenic through drinking water. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 230, p. 57-66, 2008.

BOGDAN, K., SCHENK, M.K., Evaluation of soil characteristics potentially affecting arsenic concentration in paddy rice (Oryza sativa L.). **Environmental Pollution,** v. 157, p. 2617–2621, 2009.

CARBONELL-BARRACHINA, A. A.; BURLÓ-CARBONELL, F.; MATAIX-BENEYTO, J.; Arsenic uptake, distribution, and accumulation in tomato plants: Effect of arsenite on plant growth and yield. **Journal of Plant Nutrition**, v. 18, p. 1237-1250, 1995.

CARBONELL-BARRACHINA, A. A.; AARABI, M. A.; DELAUNE, R. D.; GAMBRELL, R. P.; PATRICK JR., W. H.; The influence of arsenic chemical form and concentration on

Spartina patens and Spartina alterniflora growth and tissue arsenic concentration. **Plant Soil**, v 198, p. 33-43, 1998a.

CARBONELL-BARRACHINA, A. A.; AARABI, M. A.; DELAUNE, R. D.; GAMBRELL, R. P.; PATRICK JR., W. H. Arsenic in wetland vegetation: availability, phytotoxicity, uptake and effects on plant growth and nutrition. **Science of the Total Environment,** v. 217, p. 189–199, 1998b.

CARBONELL-BARRACHINA, A. A.; SIGNES-PASTOR, A. J.; VAZQUEZ-ARAUJO, L.; BURLO, F.; SENGUPTA, B. Presence of arsenic in agricultural products from arsenic endemic areas and strategies to reduce arsenic intake in rural villages. **Molecular Nutrition and Food Research, v.** 53, p. 531–541, 2009.

CARBONELL-BARRACHINA, A. A.; WU, X.; RAMÍREZ-GANDOLFO, A. NORTON, G. J.; BURLÓ, F.; DEACON, C.; MEHARG, A. A. Inorganic arsenic contents in rice-based infant foods from Spain, UK, China and USA. **Environmental Pollution**, v. 163, p. 77, 2012.

CAREY, A. M.; SCHECKEL, K. G.; LOMBI, E.; NEWVILLE, M.; NORTON, C. Y.; CHARNOCK, J. M.; FELDMANN, J.; PRICE; A. H.; MEHARG, A. A. Grain unloading of arsenic species in rice**. Plant Physiology**, v. 152, p. 309–19, 2010.

CASTRO, E. da M. de; VIEIRA, N. R. de A.; RABELO, R. R.; SILVA, S. A. da. **Qualidade de grãos em arroz**. Embrapa Arroz e Feijão, p. 30, 1999.

CHEN, C. C.; DIXON, J. B.; TURNER, F. T. Iron coatings on rice roots: morphology and models of development. **Soil Science Society of America Journal**, v. 44(5),p. 1113–1119, 1980.

CHEN, Z.; ZHU, Y. G.; LIU, W. J.; MEHARG, A. A. Direct evidence showing the effect of root surface iron plaque on arsenite and arsenate uptake into rice (Oryza sativa) roots. **New Phytologist**, v. 165, p. 91–97, 2005.

CHRISTENSEN, K. K.; SAND-JENSEN, K. Precipitated iron and manganese plaques restrict root uptake of phosphorus in Lobelia dortmanna. **Canadian journal of botany**, v. 76, p. 2158–2163, 1998.

COLMER, T. D. Aerenchyma and an inducible barrier to radial oxygen loss facilitate root aeration in upland, paddy and deep-water rice (*Oryza sativa* L.). **Annals of Botany**, v. 91 (2), p. 301–309, 2003a.

COLMER, T. D. Long-distance transport of gases in plants: a perspective on internal aeration and radial oxygen loss from roots. **Plant, Cell & Environment**, v. 26(1), p. 17–36, 2003b.

Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, p. 58-63. Disponível em: http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf, acesso em 16 de maio de 2015.

Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 396, de 3 de abril de 2008, p. 64-68. Disponível em: http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=562, acesso em 16 de maio de 2015.

Companhia Nacional De Abastecimento (CONAB). Acompanhamento da Safra Brasileira – Grãos – Safra 2014/2015 – Oitavo Levantamento – Maio/2015. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_05_13_08_46_55_boletim_graos_maio_2015.pdf. Acesso em 16 de maio de 2015.

DAUM, D.; BOGDAN, K.; SCHENK, M. K.; MERKEL, D. Influence of the field water management on accumulation of arsenic and cadmium in paddy rice. **Developments in Plant and Soil Sciences.** v. 92, p. 290–291, 2001.

DAUM, D.; BOGDAN, K.; SCHENK, M. K.; MERKEL, D. Influence of the field water management on accumulation of arsenic and cadmium in paddy rice**. Developments in Plant and Soil Sciences**, v. 92, p. 290–291, 2002.

DEMBITSKY, V.; LEVITSKY, D. Arsenolipids. **Progress in Lipid Research**, v. 43(5), p. 403–48, 2004.

DIPLOCK, A. T. Antioxidants and disease prevention. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 15, p. 293–376, 1994.

European Food Safety Authority (EFSA). Scientific opinion on arsenic in food. EFSA Journal, v. 7, p. 1351, 2009.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Agência de Informação EMBRAPA: Arroz. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/Abertura.html, acesso em: março de 2011.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Disponível em: http://www.cnpaf.embrapa.br, acesso em: maio de 2013.

Environemntal Protect Agency (EPA). National Primary Drinking Water Regulations: Arsenic and Clarifications to Compliance and New Source Contaminants Monitoring; Proposed Rule. 2000.

Environemntal Protect Agency (EPA). Revised Reregistration Eligibility Decision for MSMA, DSMA, CAMA, and Cacodylic Acid, 2006.

Environemntal Protect Agency (EPA). Disponível em: www.epa.gov, acesso em: junho de 2013.

Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI). Disponível em: http://www.epagri.sc.gov.br/, acesso em: setembro de 2013.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Disponível em: http://www.fao.org/news/story/en/item/238802/icode/, acesso em: outubro de 2014.

FARIAS, J. S.; MILANI, M. R.; NIENCHESKI, L. F. H.; PAIVA, M. L.; Especiação química de As inorgânico no estuário da Laguna dos Patos (RS, Brasil). **Química Nova**, v. 35, p. 1401, 2012.

Food and drug administration (FDA). Arsanílico acid, p. 413–414, 2008a.

Food and drug administration (FDA). Roxarsone, p. 500–503, 2008b.

FELDMANN, J.; LAI, VW-M.; CULLEN, W. R.; MA, M.; LU, X.; LE, X. C. Sample Preparation and Storage Can Change Arsenic Speciation in Human Urine. **Clinical Chemistry**, v. 45, p. 1988-1997, 1999.

FONSECA, J. R.; PEREIRA, J. A.; SILVA, S. C.; RANGEL, P. H. N.; BRONDANI, C. Resgate de arroz vermelho (*Oryza sativa* L.) nos estados da Paraíba e Ceará, EMBRAPA-CNPAF, 2006.

FRANCESCONI, K.A. Arsenic species in seafood: origin and human health implications. **Pure and Applied Chemistry,** V. 82, p. 373–381, 2010.

GOMES, A. S.; MAGALHÃES JÚNIOR, A. M.; Arroz Irrigado no Sul do Brasil, 1ª Ed., EMBRAPA Informação Tecnológica: Brasília, 2004.

GUGGISBERG, D.; RISSE, M. C.; HADORN. R. Determination of Vitamin B12 in meat products by RP-HPLC after enrichment and purification on an immune affinity column. **Meat Science**. V. 90, n 2, p. 279–283, 2012.

HAYES, W. A. Principles and Methods of Toxicology, 4a edição, Taylor e Francis, Philadelphia, p. 654 – 682, 2001.

HAN, D.; XIONG, S.; TU, S.; LIU, J.; CHEN, C. Interactive effects of selenium and arsenic on growth, antioxidant system, arsenic and selenium species of *Nicotiana tabacum* L. **Environmental and Experimental Botany**, v. 117, p. 12–19, 2015.

HSUEH, Y. M.; HSU, M. K.; CHIOU, H. Y.; YANG, M. H.; HUANG, C. C.; CHEN, C. J.; Urinary arsenic speciation in subjects with or without restriction from seafood dietary intake. **Toxicology Letters**, v. 133, p. 83-91, 2002.

HUANG, R. Q.; GAO, S. F.; WANG, W. L.; STAUNTON, S.; WANG, G. Soil arsenic availability and the transfer of soil arsenic to crops in suburban areas in Fujian Province, southeast China. **Science of Total Environmental**, v. 368, p. 531–541, 2006.

HUQ, I.; SMITH, E.; CORRELL, R.; SMITH, L.; SMITH, J.; AHMED, M.; ROY, S.; BARNES, M.; NAIDU, R. Arsenic transfer in water soil crop environments in Bangladesh. **Managing arsenic for our Future**. Austrália, 50 p., 2001.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Cadmium and cadmium compounds. IARC Monograph Evaluation of Carcinogens Risks in Humans, v. 58, p. 119–237, 1993.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. 592 p. National Academy of Sciences. Food and Nutrition Board, 1998.

ISLAM, M. R.; ISLAM, S.; JAHIRUDDIN, M.; ISLAM, M. A. Effects of irrigation water arsenic in the rice cropping system. **Journal of Biological Science**, v. 4, p. 542-546, 2004.

JECFA, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Evaluation of certain contaminants in food: seventy-second report of the 16–25 February Rome, 2010.

KHAN, M. A.; STROUD, J. L; ZHU, Y. G; MCGRATH, S. P.; ZHAO, F. J. Arsenic bioavailability to rice is elevated in Bangladesh paddy soils. **Environmental Science & Technology** v. 44, p. 8515–8521, 2010.

KLAASSEN, C. D. Casarett and Doull's. **Toxicology: The Basic Science of Poisons**. Toxic effects of metals. USA, McGraw-Hill, 7th edition, p. 931 – 979, 2008.

KOBAYASHI, M.; SHIMIZU, S. Cobalt proteins. **European Journal of Biochemistry**. V. 261, p. 1-9, 1999.

Lei nº 9.456, de 25 de abril de 1997. Lei de Proteção de Cultivares e outras providências. Presidência da República. Casa Civil. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L9456.htm. Acesso em 17 de maio de 2015.

LI, R. Y.; AGO, Y.; LIU, W. J.; MITANI, N.; FELDMANN, J. The rice aquaporin Lsi1 mediates uptake of methylated arsenic species. **Plant Physiology**, v. 150, p. 2071–80, 2009.

LIU, W. J.; ZHU, Y. G.; SMITH, F. A.; SMITH, S. E. Do iron plaque and genotypes affect arsenate uptake and translocation by rice seedlings (Oryza sativa L.) grown in solution culture? **Journal of Experimental Botany**, v. 55(403), p. 1707–1713, 2004a.

LIU, W. J., ZHU, Y. G., SMITH, F. A., SMITH, S. E. Do phosphorus nutrition and iron plaque alter arsenate (As) uptake by rice seedlings in hydroponic culture? **New Phytologist**, v. 162(2), p. 481–488, 2004b.

LIU, C.W.; LIN, C.C.; JANG, C. S.; SHEU, G. R.; TSUI, L. Arsenic accumulation by rice grown in soil treated with roxarsone. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 172, p. 550–556, 2009.

LU, Y.; ADOMAKO, E. E.; SOLAIMAN, A. R. M.; ISLAM, M. R.; DEACON, C.; WILLIAMS, P. N.; RAHMAN, G. K. M.; MEHARG, A. A. Baseline soil variation is a major factor in arsenic accumulation in Bengal Delta paddy rice. **Environmental Science and Technology, v.** 43, p. 1724–1729, 2009.

MA, M.; LE, X. C. Effect of arsenosugar ingestion on urinary arsenic speciation. **Clinical Chemistry**, v. 44, n. 3, p. 539-550, 1998.

MA, J. F.; TAMAI, K.; YAMAJI, N.; MITANI, N.; KONISH, S.; KATSUHARA, M.; ISHIGURO, M.; MURATA, Y.; YANO, M. A silicon transporter in rice. **Nature,** v. 440, p. 688-691, 2006.

MA, J. F.; YAMAJI, N.; MITANI, N.; XU, X. Y.; SU, Y. H.; MCGRAPH, S. P.; ZHAO, F. J. Transporters of arsenite in rice and their role in As accumulation in rice grain. **Proceedings of the National Academy of Sciences,** v. 105, p. 9931-9935, 2008.

MARIN AR, MASSCHELEYN PH, PATRICK WH. The influence of chemical form and concentration of arsenic on rice growth and tissue arsenic concentration. **Journal of Plant Soil,** v. 139, p. 175–83, 1992.

MARIN, A. R.; MASSCHELEYN, P. H.; PATRICK Jr., W. H. Soil redox-pH stability of arsenic species and its influence on arsenic uptake by rice. **Plant and Soil**, v.152, p. 245-253, 1993.

MEHARG, A. A. Integrated tolerance mechanisms – constitutive and adaptive plant-responses to elevated metal concentrations in the environment. **Plant, Cell & Environment,** v. 17, p. 989–993, 1994.

MEHARG, A. A.; NAYLOR, J.; MACNAIR, M. R. Phosphorous nutrition of arsenate tolerant and nontolerant phenotypes of velvetgrass. **Journal of Environmental Quality**, v. 23, p. 234-238, 1994.

MEHARG, A. A.; HARTLEY-WHITAKER, J. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. **New Phytologist**, v. 154, p. 29–43, 2002.

MEHARG, A. A.; SUN, G.; WILLIAMS, P. N.; ADAMAKO, E.; DEACON, C.; ZHU, Y. G.; FELDMANN, J.; RAAB, A. Inorganic arsenic levels in baby rice are of concern. **Environmental Pollution,** v. 152, p. 746–749, 2008a.

MEHARG, A.A.; LOMBI, E.; WILLIAMS, P.N.; SCHECKEL, K.G.; FELDMANN, J.; RAAB, A.; ZHU, Y.; ISLAM, R. Speciation and localization of arsenic in white and brown rice grains. **Environmental Science and. Technology**, v. 42, p. 1051–1057, 2008b.

MEHARG, A. A.; WILLIAMS, P. N.; ADOMAKO, E.; LAWGALI, Y. Y.; DEACON, D.; VILLADA, A.; CAMBELL, R. C. J.; SUN, G.; ZHU, Y. G.; FELDMANN J.; RAAB, A.; ZHAO, F-J.; ISLAM, R.; HOSSAIN, S.; YANAI, J. Geographical variation in total and inorganic As content of polished (white) rice. **Environmental Science and Technology**, v. 43, p. 1612-1617, 2009.

MEHARG, A. A.; ZHAO, F.J. **Arsenic & Rice**, Springer Science Business Media B.V., 2012.

Ministério da Saúde (MS). Portaria MS nº 2914 de 12 de Dezembro de 2011. Disponível em: http://www.comitepcj.sp.gov.br/download/Portaria_MS_2914-11.pdf, acesso em 16 de maio de 2015.

MISHRA, S.; SRIVASTAVA, S.; TRIPATHI, R. D.; KUMAR, R.; SETH, C. S.; GUPTA, D. K. Lead detoxification by coontail (Ceratophyllum demersum L.) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation. **Chemosphere**, v. 65(6), p. 1027-39, 2006.

MORIYAMA, T.; SHINDOH, K.; TAGUCHI, Y.; WATANABE, H.; YASUI, A.; JOH, T. Changes in the cadmium content of rice during the milling process. **Journal of the Food Hygienics Society of Japan,** v. 44(3), p. 145-149, 2003.

NADIMI-GOKI, M.; WAHSHA, M.; BINI, C.; KATO, Y.; VIANELLO, G.; ANTISARI, L. V. Assessment of total soil and plant elements in rice-based production systems in NE Italy. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 147, p. 200–214, 2014.

NÉVE, J. Selenium as a risk factor for cardiovascular diseases. **Journal of Cardiovascular Risk**, v. 3, p. 42–47, 1996.

NORTON, G. J.; IALAM, M. R.; DUAN, G.; LEI, M.; ZHU, Y. G.; DEACON, C. M.; MORAN, A. C. M.; ISLAM, S.; ZHAO, F. J.; STROUD, J. L.; MCGRATH, S. P.; FELDMANN, J.; PRICE, A. H.; MEHARG, A. A. Arsenic shoot–grain relationships in field grown rice cultivars. **Environmental Science and Technology,** v. 44, p. 1471–1477, 2010.

NORTON, G. J.; PINSON, S. R. M.; ALEXANDER, J., MCKAY, S.; HANSEN, H.; DUAN, G. L.; RAFIQUL ISLAM, M.; ISLAM, S.; STROUD, J. L.; ZHAO, F. J.; MCGRATH, S. P.; ZHU, Y. G.; LAHNER, B.; YAKUBOVA, E.; GUERINOT, M. L.; TARPLEY, L.; EIZENGA, G. C.; SALT, D. E.; MEHARG, A. A.; PRICE, A. H. Variation in grain arsenic assessed in a diverse panel of rice (Oryza sativa) grown in multiple sites. **New Phytologist** v. 193, p. 650–664. 2012.

National Research Council (NRC). Arsenic in the Drink Water. Washington, DC: National Academy Press, 225 p., 2001

OGAWA, M. Red rice. **Chemistry and organisms,** v.30, p.385-388, 1992.

OTTE, M. L.; ROZEMA, J.; KOSTER, L.; HAARSMA, M. S.; BROEKMAN, R. A. Iron plaque on roots of *Aster tripolim* L.: interaction with zinc uptake. **New Phytologist,** v 111(2), p. 309–317, 1989.

PANTONE, D. J.; BAKER, J. B. Reciprocal yield analysis of red rice (Oryza sativa) competition in cultivated rice. **Weed Science**, v. 39, p. 42–47, 1991.

PEREIRA, J A. O arroz-vermelho cultivado no Brasil. Teresina: Embrapa. Meio-Norte, 90 p, 2005.

PHUONG, T.D.; CHUONG, P.V.; KHIEM, D.T.; KOKOT, S. Elemental content of Vietnamese rice Part 1. Sampling, analysis and comparison with previous studies. **Analyst.** v. 124, p. 553 - 560, 1999.

RAAB, A.; SCHAT, H.; MEHARG, A. A.; FELDMANN, J. Uptake, translocation and transformation of arsenate and arsenite in sunflower (*Helianthus annuus*): formation of arsenic–phytochelatin complexes during exposure to high arsenic concentrations. **New Phytologist,** v. 168, p. 551-558, 2005.

RAAB, A; WILLIAMS, P. N.; MEHARG, A. A.; FELDMANN, J. Uptake and translocation of inorganic and methylated arsenic species by plants. **Environmental Chemistry**, v. 4, p. 197-203, 2007.

RAYMAN, M. P. The importance of selenium to human health. **Lancet,** v. 356, p. 233–241, 2000.

ROSSMAN, T. G. Mechanism of arsenic carcinogenesis: an integrated approach. **Mutation Research / Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenisis**, 533, p. 37-65, 2003.

ROSSMAN T. Arsenic. **Environmental and occupational medicine**, ed. 4, p. 1006– 1017, 2007.

SAHA, G. C.; ALI, M. A. Dynamics of arsenic in agricultural soils irrigated with arsenic contaminated groundwater in Bangladesh**. The Science of the Total Environment**, v. 379, p. 180–189. 2007.

SELZER, P. M.; ANCEL, M. A. Chronic arsenic poisoning masquerading as pernicious anemia. **Western Journal of Medicine**. V. 139(2), p. 219-20, 1983

SHEPPARD, S. C. Summary of phytotoxic levels of soil arsenic. **Water Air Soil Pollut**. v. 64, p. 539–550, 1992.

SHIBATA, Y.; MORITA, M.; FUWA, K.; Selenium and arsenic in biology: their chemical forms and biological functions. **Advances in Biophysics**, v. 28, p. 31-80, 1992.

SHRI, M.; KUMAR, S.; CHAKRABARTY, D.; TRIVEDI, P. K.; MALLICK, S.; MISRA, P.; SHUKLA, D.; MISHRA, S.; SRIVASTAVA, S.; TRIPATHI, R. D.; TULI, R. Effect of arsenic on growth, oxidative stress and antioxidant system in rice seedlings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, p. 1102-1110, 2009.

SMEDLEY, P.L.; KINNIBURGH, D .G. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. **Applied Geochemistry**, v. 17, p. 517-568, 2002.

SMITH, E.; JUHASZ, A. L.; WEBER, J.; NAIDU, R. Arsenic uptake and speciation in rice plants grown under greenhouse conditions with arsenic contaminated irrigation water. **Science of The Total Environment**. V. 392, 2–3, p. 277–283, 2008.

SMITH, E.; KEMPSON, I.; JUHASZ, A. L.; WEBER, J.; SKINNER, W. M.; GRÄFE, M. Localization and speciation of arsenic and trace elements in rice tissues. **Chemosphere**, v. 76, p. 529–535, 2009.

SMOLDERS, A. J. P.; ROELOFS, J. G. M. The roles of internal iron hydroxide precipitation, sulphide toxicity and oxidizing ability in the survival of Stratiotes aloides roots at different iron concentrations in sediment pore water. **New Phytologist,** v. 133(2), p. 253–260, 1996.

SOIGNET, S. L.; FRANKEL, S. R.; DOUER, D.; TALLMAN, M. S.; KANTARJIAN, H.; CALLEJA, E. STONE, R. M.; KALAYCIO, M.; SCHEINBERG, D. A.; STEINHERZ, P.; SIEVERS, E. L.; COUTRÉ, S.; DAHLBERG, S.; ELLISON, R.; WARRELL, R. P. United States Multicenter Study of Arsenic Trioxide in Relapsed Acute Promyelocytic Leukemia. **Journal Clinical Oncology**, v. 19, p. 3852-3860, 2001.

SONG, W-Y.; PARK, J.; MENDOZA-CÓZATL, D. G.; SUTER-GROTEMEYER, M.; SHIM, D.; STEFAN HÖRTENSTEINER, GEISLER, M.; WEDER, B.; REA, P. A.; RENTSCH, D.; SCHROEDER, J. I.; LEE, Y.; MARTINOIA, E. Arsenic tolerance in Arabidopsis is mediated by two ABCC-type phytochelatin transporters. **Plant Biology**, v. 107, p. 21187–21192, 2010.

SU, Y. H.; MCGRATH, S. P.; ZHAO, F. J. Rice is more efficient in arsenite uptake and translocation than wheat and barley. **Plant and soil**, 2010.

SULTANA, R.; KOBAYASHI, K.; KIM, K-H. Comparison of arsenic uptake ability of barnyard grass and rice species for arsenic phytoremediation. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, p. 4101, 2015.

SUN, G. X.; WILLIAMS, P. N.; CAREY, A. M.; ZHU, Y. G.; DEACON, C., RAAB, A.; FELDMANN, J.; ISLAM, R. M.; MEHARG, A. A. Inorganic arsenic in rice bran and its products are an order of magnitude higher than in bulk grain. **Environmental Science Technology,** v. 42, p. 7542 - 7546, 2008a.

SUN, Z.; YU, Y.; SH., P.; DU, D. Manganese-modified activated carbon fiber (mn-acf): novel efficient adsorbent for arsenic. **Applied Surface Science**, V. 284, P. 100–106, 2013.

SWIERGOSZ-KOWALEWSKA, R. Cadmium distribution and toxicity in tissues of small rodents. **Microscopy Research and technique**, v. 55, P. 208–222, 2001.

TAKAHASHI, Y.; MINAMIKAWA, R.; HATTORI, K.H.; KURISHIMA, K.; KIHOU, N.; YUITA, K. Arsenic behavior in paddy fields during the cycle of flooded and non-flooded periods. **Environmental Science Technology**, v. 38, p. 1038–1044, 2004.

THOMAS, D. J.; LI, J.; WATERS, S. B. Arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase and the methylation of arsenicals. **Experimental Biology and Medicine,** v. 232, p. 3–13, 2007.

TORRES-ESCRIBANO, S.; LEAL, M.; VELEZ, D.; MONTORO, R. Total and inorganic arsenic concentrations in rice sold in Spain, effect of cooking and risk assessments **Environmental Science Technology**, v. 42, p. 3867 - 3872, 2008.

TRIPATHI, P.; MISHRA, A.; DWIVEDI, S.; CHAKRABARTY, D.; TRIVEDI, P. K.; SINGH, R. P.; TRIPATHI, R. D. Differential response of oxidative stress and thiol metabolism in contrasting rice genotypes for arsenic tolerance. **Ecotoxicology and Environmental Safety,** v. 79, p. 189–198. 2012.

TSUKADA, H.; HASEGAWA, H.; TAKEDA, A.; HISAMATSU, S. Concentrations of major and trace elements in polished rice and paddy soils collected in Aomori, Japan. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, V. 273, n.1, p. 199–203, 2007.

TSUTSUMI, M. Intensification of arsenic toxicity to paddy rice by hydrogen sulphide and ferrous iron. I. Induction of bronzing and iron accumulation in rice by arsenic. **Soil Science & Plant Nutrition**, v. 26, p. 561-569, 1980.

VAHTER, M.; CONCHA, G.; NERMELL, B. Factors influencing arsenic methylation in humans. **Journal of Trace Elements in Experimental Medicine**, 13, 173-184, 2000.

WATANABE, T.; HIRANO, S. Metabolism of arsenic and its toxicological relevance. **Archives of Toxicology**, v. 87(6), p. 969-79, 2013.

World Health Organization (WHO). Air quality guidelines for Europe, 2nd edition, (CD ROM version), 2000.

World Health Organization (WHO). Environmental Health Criteria 224: Arsenic and arsenic compounds. Geneva, 2001.

World Health Organization (WHO). Guidelines for drinking-water quality [electronic resource]: incorporating 1st and 2nd addenda, v. 1, Recommendations, 3rd Ed, 2008.

WILLIAMS, P. N.; VILLADA, A.; DEACON, C.; RAAB, A.; FIGUEROLA, J.; GREEN, A. J.; FELDMANN, J.; MEHARG A. A. Greatly enhanced As shoot assimilation in rice leads to elevated grain levels compared to wheat and barley. **Environmental Science and Technology**, v. 41, p. 6854-6859, 2007a

WILLIAMS, P. N.; RAAB, A.; FELDMANN, J.; MEHARG, A. A. Market basket survey shows elevated levels of as in South Central US processed rice compared to California: consequences for human dietary exposure. **Environmental Science and Technology,** v. 41, p. 2178–2183, 2007b.

XU, X. Y.; MCGRATH, S. P.; ZHAO, F. J. Rapid reduction of arsenate in the medium mediated by plant roots. **New Phytologist**, v. 176, p. 590-599, 2007.

YE, X. X.; SUN, B.; YIN, Y. L. Variation of As concentration between soil types and rice genotypes and the selection of cultivars for reducing As in the diet. **Chemosphere, v.** 87, p. 384–389, 2012.

YOSHIDA, T.; YAMAUCHI, H.; SUN, G. F. Chronic health effects in people exposed to arsenic via the drinking water: dose–response relationships in review. **Toxicology and Applied Pharmacology,** v. 198(3), p. 243–52, 2004.

ZAVALA, Y. J.; GERADS, R.; GÜRLEYÜK, H.; DUXBURY, J. M. Arsenic in rice: II. Arsenic speciation in USA grain and implications for human health. **Environmental Science and Technology**, v. 42, p. 3861–3866, 2008.

ZHANG, F.; SHI, W.; JIN, Z.; SHEN, Z.; J. Response of Antioxidative Enzymes in Cucumber Chloroplasts to Cadmium Toxicity. **Plant Nutrition**, v. 26, p. 1779, 2002.

ZHANG, C.; WU, P.; TANG, C.; HAN, Z.; SUN, J. Assessment of arsenic distribution in paddy soil and rice plants of a typical karst basin affected by acid mine drainage in Southwest China. **Environmental Pollution**, v. 2, p. 27–38, 2013.

ZHAO, F. J; MCGRATH, S. P; MEHARG, A. A. Arsenic as a food chain contaminant: mechanisms of plant uptake and metabolism and mitigation strategies. **Annual Review of Plant Biology,** v. 61, p. 535–559, 2010.

ZHU, J.; KOKEN, M. H. M.; QUIGNON, F.; CHELBI-ALIX, M. K.; DEGOS, L.; WANG, Z. Y.; CHEN, Z.; THÉ, H. de. Arsenic-induced PML targeting onto nuclear bodies: Implications for the treatment of acute promyelocytic leukemia. **Medical Sciences,** V. 94, p. 3978–3983, 1997.