

THAÍS LOPES LEAL CAMBRAIA

**BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA DO FEIJÃO PELO MANEJO DA
ADUBAÇÃO COM Zn**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

C177b
2015
Cambraia, Thaís Lopes Leal, 1989-
Biofortificação agrônômica do feijão pelo manejo da
adubação com Zn / Thaís Lopes Leal Cambraia. - Viçosa, MG,
2015.
vii, 49f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador : Renildes Lúcio Ferreira Fontes.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Feijão - Adubos e fertilizantes. 2. Plantas e solos.
3. Plantas - Efeito do zinco. I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Solos. Programa de Pós-graduação
em Solos e Nutrição de Plantas. II. Título.

CDD 22. ed. 635.652

THAS LOPES LEAL CAMBRAIA

**BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA DO FEIJÃO PELO MANEJO DA
ADUBAÇÃO COM Zn**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 26 de janeiro de 2015.

Rogério Faria Vieira

Fernanda Shulthais

Leonardus Vergutz
(Coorientador)

Renildes Lúcio Ferreira Fontes
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado persistência para começar, prosseguir e vencer mais esta etapa da minha vida.

Ao meu esposo, Ady, que compartilhou todos os momentos sempre de perto, fossem eles difíceis ou não. Obrigado pela companhia, compreensão e confiança de sempre. Estaremos sempre juntos nas batalhas da vida.

Aos meus familiares, especialmente aos meus pais, Marquinho e Odília, e às minhas irmãs, Amanda e Juliana, pelo incentivo incondicional.

A todos os professores que contribuíram para esta vitória, com seus ensinamentos e conselhos. Em especial ao professor e orientador Renildes, ao professor coorientador Leonardus, por ter abraçado esta pesquisa com muito empenho em me ajudar, ao professor Júlio que mesmo antes de entrar no mestrado já acreditava em mim e me ajudou gentilmente; e ao professor José Eustáquio. Nunca esquecerei o que fizeram por mim.

Aos amigos, em especial Mariana e Elton, por terem desde o início me acompanhado nesta caminhada e por termos compartilhados de boas conversas.

Aos funcionários do DPS – UFV e aos estagiários. Sem eles muito do que foi feito não seria possível.

À UFV, ao DPS - UFV, à EPAMIG – em especial ao Rogério, e ao CAPES. Pelo apoio financeiro e infraestrutura cedida.

A todos, minha sincera gratidão. Um grande abraço!

SUMÁRIO

RESUMO	iv
ABSTRACT	vi
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO 1	3
BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA DO FEIJÃO PELO MANEJO DA ADUBAÇÃO FOLIAR COM Zn	3
1. RESUMO	4
2. INTRODUÇÃO	5
3. MATERIAL E MÉTODOS	7
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
5. CONCLUSÕES	16
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
CAPÍTULO 2	22
AUMENTO NO TEOR DE Zn NO FEIJÃO PELA BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA COM Zn	22
1. RESUMO	23
2. INTRODUÇÃO	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5. CONCLUSÕES	40
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
CONCLUSÕES GERAIS	46
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA GERAL	47

RESUMO

CAMBRAIA, Thais Lopes Leal, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Janeiro, 2015. **Biofortificação agronômica do feijão pelo manejo da adubação com Zn**. Orientador: Renildes Lúcio Ferreira Fontes. Coorientador: Leonardus Vergutz.

Milhares de pessoas no mundo morrem por doenças causadas pela desnutrição ou fome oculta em vários minerais, como Zn, Fe, I, Se, Ca, entre outros. Entre esses minerais, o Zn é um nutriente que, quando insuficientemente ingerido, pode causar descontroles fisiológicos no organismo humano e levar pessoas à morte. Várias iniciativas vêm sendo desenvolvidas para suprir a deficiência de Zn em populações de áreas com maior propensão ao problema. Entre as iniciativas está a biofortificação agronômica de produtos agrícolas. A biofortificação agronômica visa aumentar o teor de minerais funcionais ao ser humano em partes comestíveis de plantas cultivadas a partir do manejo da adubação. O manejo da adubação com foco na biofortificação agronômica de nutrientes como o Zn é recente, com poucas culturas estudadas. As culturas amplamente estudadas são alimentos básicos para a maioria da população, principalmente as mais carentes e vulneráveis economicamente. Embora o feijão seja uma leguminosa que constitui alimento básico para grande parte das populações no mundo, não existem estudos de biofortificação agronômica para o grão de feijão. Por isso, o objetivo desse trabalho foi aumentar o teor de Zn no grão de feijão a partir do manejo da adubação no solo e foliar. Foram conduzidos dois experimentos em casa de vegetação (Capítulo 1 e 2 delineamento em blocos casualizados com quatro repetições. No primeiro experimento os tratamentos foram: duas cultivares de feijão, três épocas de parcelamento da adubação foliar com Zn e seis doses de Zn aplicado nas folhas. As doses de Zn proporcionaram aumento linear no teor de Zn nos grãos do feijão, sem efeito sobre a produção. O incremento do teor de Zn nos grãos de feijão foi semelhante para as cultivares e épocas de parcelamento da adubação foliar verificando-se que a aplicação foliar pode ser realizada no estágio R8 da planta (fase de enchimento dos grãos de feijão). No segundo experimento os tratamentos foram: três doses de Zn no solo (0; 5 e 10

kg ha⁻¹) e seis doses de Zn foliar (0; 1; 1,5; 3; 6 e 10 kg ha⁻¹) . A produção de grãos de feijão aumentou com a aplicação de Zn no solo, contudo não foi influenciada significativamente pelas aplicações foliares de Zn. O teor de Zn no grão aumentou com a aplicação de Zn no solo e foliar, atingindo o máximo de 67,5 mg kg⁻¹ de Zn no grão. As adubações com Zn influenciaram o teor de P nos grãos, entretanto, esse teor se manteve na faixa esperada para o crescimento do feijoeiro comum e não alterou a produção de grãos. Existiu correlação negativa entre a produção de grãos e o teor de P, S e Fe no grão. Nos grãos, o teor de Zn correlacionou negativamente com o teor de P e Fe e positivamente com o teor de Ca. No entanto, os teores desses nutrientes ficaram na faixa esperada para crescimento do feijoeiro comum e essas correlações não prejudicaram a produção de grãos. O Zn translocado para os grãos ficou localizado, principalmente, no embrião.

ABSTRACT

CAMBRAIA, Thais Lopes Leal, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, January, 2015. **Agronomic biofortification of beans by management fertilization with Zn.** Adviser: Renildes Lúcio Ferreira Fontes. Co-adviser: Leonardus Vergutz.

Thousands of people in the world die from diseases caused by malnutrition or hidden hunger in various minerals such as Zn, Fe, I, Se, Ca, among others. Among these minerals, Zn is a nutrient that when insufficiently ingested, can cause physiological upsets in the human body and lead to their death. Several initiatives have been developed to meet the Zn deficiency in populations of areas most prone to the problem. One of them is the agronomic biofortification of agricultural products, which aims to increase the level of functional minerals to humans in plant edible parts through the management of the crop fertilization. The crop fertilization management targeting the agronomic biofortification of nutrients such as Zn is relatively recent, with few crops being studied. The cultures studied are widely staples for most of the population, especially the most disadvantaged and economically vulnerable. Although the common bean is a leguminous crop widely used as food for populations around the world, there are no studies for biofortification of its grains. Two experiments were conducted in greenhouse, by using a randomized block design with four replications. In the first experiment treatments were: two bean cultivars, Zn foliar fertilization applied at three different growth stages and six doses of Zn. The Zn content in bean grains increased linearly as the Zn foliar applied doses increased, with no effect on crop production. There was no difference between the bean cultivars as related to Zn content, as well as, the bean Zn content was similar in the different stages of Zn foliar application. Thus, the application of Zn can be performed at the R8 stage of the plant (filling phase of the beans). In the second experiment it were used 18 treatments defined with three doses of Zn applied to soil (0, 5 and 10 kg ha⁻¹) and six foliar applied Zn levels (0, 1, 1.5, 3, 6 and 10 kg ha⁻¹). Bean production increased with the application of Zn in soil, but was not significantly influenced by foliar application of Zn. The Zn content in the grain increased with the soil and foliar application of Zn and reached a maximum of 67.5 mg kg⁻¹ of Zn in the grain. The fertilization with Zn influenced the P content in grains, however the P content remained between the regular

limits for the normal growth of the crop and there was no effect in the grain bean production. There was a negative correlation between grain yield and P, S and Fe contents in the grain. In the grain, Zn content correlated negatively with P and Fe content and positively with Ca content. However, these correlations have not damaged production and nutrient contents were expected for the common bean. The Zn translocated to grains was found mainly in the embryo.

INTRODUÇÃO GERAL

A deficiência humana em Zn é um problema de saúde pública mundial. Cerca de um terço da população é afetada por doenças causadas pela desnutrição por Zn (Grusak e Cakmak, 2005; Thacher et al., 2006) tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento (Cesar e Borges, 2005).

Entre os fatores que contribuem para agravar a desnutrição humana em Zn, está o cultivo agrícola em solos com disponibilidade insuficiente nesse mineral (Bouis, 2003), uma vez que o cultivo neste tipo de solo leva à produção de alimentos com baixo teor de Zn. Assim, a biofortificação de produtos agrícolas, com enfoque no manejo da adubação com Zn, pode ser prática viável para reduzir a fome oculta ou deficiência de Zn em seres humanos.

Grande parte dos países cujas populações apresentam altos índices de deficiência em Zn são também regiões com solos pobres neste nutriente. No Brasil, a maioria dos solos é carente em Zn, seja por causa do material de origem ou pelo uso intensivo do solo sem sua devida reposição (Lopes, 1983; Luchese, et al., 1990), daí a necessidade da adubação com Zn nessas condições de solo.

A biofortificação agronômica pode ser realizada para aumentar o teor de nutrientes em diferentes partes da planta, como em raízes, folhas e grãos. Porém, os grãos são mais estudados pelo fato de constituírem alimentos básicos para a população e serem consumidos diariamente em todo o mundo, tanto por seres humanos, quanto por animais na forma de rações (FAO, 2013).

Trabalhos de biofortificação agronômica são relativamente recentes, poucas culturas foram estudadas. Grãos de trigo e arroz, por serem amplamente cultivados e consumidos diariamente por pessoas em regiões pobres da Ásia, têm recebido maior atenção (Yilmaz, et al., 1998; Wissuwa, et al., 2008; Hussain, et al., 2012).

A biofortificação agronômica de trigo foi capaz de elevar o teor de Zn no grão para 22 mg kg⁻¹ (aplicação foliar) e 58 mg kg⁻¹ (aplicação no solo e foliar) (Cakmak, 2010). Para o arroz, a aplicação no solo, foliar e no solo mais foliar de Zn, causou aumento, respectivamente, de 2,4 %, 25 % e 32 % no teor de Zn no grão (Hussain, et al., 2012).

Apesar da importância do feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) na economia e alimentação de milhões de pessoas, principalmente em regiões pobres da África e América Latina (Beebe e Gonzalez, 2000), inclusive no Brasil, não há na literatura, até o momento, trabalhos sobre sua biofortificação. A referência encontrada é uma revisão publicada por Blair (2013), em que se discutem estratégias para a biofortificação mineral de alimentos básicos, ressaltando-se a importância da biofortificação para suprir a deficiência humana em Zn e em outros micronutrientes. O autor cita como exemplo a utilização da cultura do feijoeiro, entretanto, ressalta que a biofortificação está focada apenas no levantamento do potencial genético das cultivares em acumular Zn.

O aumento no teor de Zn no grão, além de melhorar a qualidade nutricional do alimento, pode beneficiar as plantas com a obtenção de maior produtividade em solos deficientes nesse nutriente (Fageria, et al., 2009). Também há melhora na germinação e vigor de sementes e mudas (Rengel e Graham, 1995; Yilmaz, et al. 1998; Cakmak, 2008).

O objetivo deste trabalho foi aumentar o teor de Zn no grão de feijão-comum pelo manejo da adubação com Zn (biofortificação agronômica). Para isso, foi feito um estudo envolvendo: cultivares de feijão com, *a priori*, diferente potencial genético em acumular Zn no grão; parcelamento da aplicação do Zn em diferentes estágios de crescimento da planta de feijão; e métodos de aplicação do Zn: via solo e foliar. Adicionalmente, foi avaliado se as adubações com Zn interferem na produção do feijoeiro e no teor de outros nutrientes nos seus grãos, se o maior teor de Zn nos grãos interfere no teor de outros nutrientes e na localização do P, K, Ca, Mg, S, Fe e Zn no grão de feijão.

CAPÍTULO 1

BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA DO FEIJÃO PELO MANEJO DA ADUBAÇÃO FOLIAR COM Zn

1. RESUMO

A subnutrição humana ou fome oculta por Zn afeta milhões de pessoas no mundo. Dentre as várias alternativas para solucionar esse problema, o aumento no teor de Zn nos alimentos básicos têm se mostrado eficiente. Como o feijão é um dos alimentos básicos mais consumidos em países onde há altos índices de deficiência de Zn na população, o objetivo deste trabalho foi aumentar o teor de Zn no grão de feijão a partir do manejo da adubação, processo conhecido como biofortificação agronômica. Foi feito um estudo com duas cultivares de feijão, três parcelamentos da adubação e seis doses de Zn aplicadas via foliar. A aplicação de doses de Zn proporcionou aumento linear de seu teor nos grãos de feijão, entretanto não teve efeito sobre a produção. Esse incremento do teor de Zn nos grãos de feijão foi semelhante para as cultivares e épocas de parcelamento da adubação foliar. A maior dose de Zn aplicada (1200 g ha^{-1}), proporcionou maior acúmulo de Zn no grão, em média $21,1 \text{ mg kg}^{-1}$. Essa dose pode ser aplicada de uma só vez, no estágio fenológico da planta R8, para ambas as cultivares estudadas.

Palavras-chave: Adubação foliar, teor de Zn no grão, qualidade nutricional, localização de Zn no grão.

2. INTRODUÇÃO

O Zn é um micronutriente fundamental para o funcionamento adequado do metabolismo humano ^{1,2}. Ele participa de reações responsáveis por processos como: diferenciação celular, defesa imunológica, constituinte de enzimas e é requerido para o crescimento e desenvolvimento humano ^{3, 4, 5}. Por causa dessas funções, a deficiência humana em Zn é considerada um problema de saúde pública mundial ^{6,7}.

Algumas estratégias têm sido desenvolvidas para fornecer às populações alimentos com melhor qualidade nutricional, inclusive em Zn, como: a fortificação de alimentos e os programas de diversificação da dieta. Todavia, por várias razões, nenhuma tem tido sucesso ^{8, 9, 10}. Dessa forma, surgiu a biofortificação de produtos agrícolas como alternativa para complementar os demais programas de prevenção e combate à desnutrição humana ou fome oculta em micronutrientes.

A biofortificação busca aumentar os teores biodisponíveis de vitaminas, proteínas e nutrientes funcionais ao ser humano, como o Zn, em partes comestíveis de plantas cultivadas ^{8,12}. A biofortificação pode ser realizada por meio do melhoramento genético (biofortificação genética) ou pelo manejo, da adubação (biofortificação agrônômica).

Embora a biofortificação genética seja importante em solos ácidos e deficientes em Zn como os das regiões mais pobres do mundo, para que ela seja eficiente, esta deve ser realizada juntamente com a biofortificação agrônômica. Já a biofortificação agrônômica, para que haja aumento no teor de Zn em órgãos das plantas, ela é dependente principalmente do manejo da adubação, onde se incluem a forma de aplicação do Zn: no solo ^{13, 14}, foliar ^{16, 17, 18, 19, 20} ou pela combinação de ambos ^{13, 15} e a época de aplicação do Zn.

Várias partes da planta podem ser enriquecidas com Zn pelo manejo da adubação, como raízes, folhas e grãos. Porém, as culturas alvo são aquelas consumidas diariamente pela população, as quais constituem alimentos básicos, como arroz, trigo e feijão. Nessas culturas, o órgão de interesse a ser enriquecido é o grão.

Trabalhos de biofortificação agrônômica são recentes. Grãos de trigo e arroz por serem amplamente cultivados e consumidos diariamente pela

população de regiões pobres da Ásia têm recebido maior atenção ^{14, 16, 21}. Para plantas de trigo, a biofortificação agrônômica elevou o teor de Zn no grão para 22 mg kg⁻¹ (aplicação foliar) e 58 mg kg⁻¹ (aplicação no solo e foliar) ¹⁵. O arroz, a aplicação no solo, foliar e no solo mais foliar, causou aumento, respectivamente, de 2,4 %; 25 % e 32 % no teor de Zn no grão ²¹. Adicionalmente, fatores como cultivar ¹⁶, época fenológica de aplicação ²¹ e dose de Zn ^{15, 17} podem influenciar diretamente a eficiência de enriquecimento do grão com Zn, quando a aplicação do nutriente é realizada via foliar.

Apesar da importância do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) para a economia e alimentação de milhões de pessoas, principalmente em regiões pobres da África e América Latina ²², não são relatados na literatura trabalhos de pesquisa sobre biofortificação agrônômica com Zn. A referência encontrada é na realidade uma revisão publicada por Blair (2013) ²³, em que se discutem estratégias para a biofortificação mineral de alimentos básicos. Nesse estudo os autores ressaltam a importância da biofortificação para suprir a deficiência humana em Zn e em outros micronutrientes. O autor cita o feijoeiro, entretanto, ressalta que a biofortificação está focada apenas no levantamento do potencial genético das cultivares em acumular Zn.

O objetivo desse trabalho foi aumentar o teor de Zn no feijão pelo manejo da adubação foliar com Zn (biofortificação agrônômica).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa. A unidade experimental foi composta por um vaso contendo 3 dm³ de solo, sem abertura na parte inferior, com duas plantas de feijão. O solo utilizado foi Latossolo Vermelho-Amarelo, as amostras foram secas ao ar, passado em peneira de 2 mm de diâmetro e caracterizadas quimicamente (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização química do solo utilizado no experimento

pH H ₂ O ^{/1}	P ^{/2}	K ^{/2}	Ca ^{2+/3}	Mg ^{2+/3}	Al ^{3+/3}	H+Al ^{/4}	MO ^{/5}	P- Rem ^{/6}	Mn ^{/7}	Fe ^{/7}	Zn ^{/7}
	mg dm ⁻³		-----	cmol _c dm ⁻³	-----		dag kg ⁻¹	mg L ⁻¹	----	mg dm ⁻³	----
5,27	0,9	7,0	0,65	0,02	0,7	4,1	1,7	13,1	5,2	87,4	1,02

^{/1} pH em H₂O, relação 1:2,5; ^{/2}extrator Mehlich 1; ^{/3} - extrator KCl 1 mol L⁻¹ (Vettori, 1969); ^{/4} – extrator acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹; ^{/5} Matéria orgânica (Walkley-Black); ^{/6} Fósforo remanescente (extrator Mehlich 1) (Silva, 2009); ^{/7} extrator DTPA (Silva, 2009).

Com base nos resultados da análise do solo foram feitos os cálculos para a recomendação de corretivos da acidez do solo e a recomendação de adubação. O método utilizado para recomendação de calagem foi o da neutralização do Al²⁴. Foram realizadas as adubações em todo o volume de solo, de acordo recomendações para experimentos de casa de vegetação, inclusive com 3 kg ha⁻¹ de Zn²⁵. A adição de Zn via solo foi igual para todos os tratamentos e teve por objetivo propiciar produção satisfatória da cultura.

O experimento teve 32 tratamentos no delineamento em blocos casualizados com quatro repetições. Os tratamentos constituíram fatorial 2 [(3 x 6) – 2]. Duas cultivares de feijão-comum – BRSMG Madre pérola (MP) e Carioca 1030 (C1030); três parcelamentos da aplicação foliar; e seis doses de Zn aplicadas via foliar. Os tratamentos foram dispostos em blocos casualizados com quatro repetições.

As cultivares de feijão foram escolhidas em um banco de germoplasma e selecionadas por apresentarem diferentes potenciais de acumular Zn no grão.

A MP apresenta maior capacidade de acumular de Zn no grão (em média 45 mg kg⁻¹) comparado à C1030 que acumula, em média, 30 mg kg⁻¹ (Trabalho ainda não publicado).

As aplicações foliares de Zn foram realizadas nos estádios fenológicos V5, R7 e R8 da cultura ²⁶. Esses estádios correspondem à formação do botão floral (V5), início da formação de vagens (R7) e enchimento das vagens (R8). Após a definição dessas épocas de aplicação, os parcelamentos foram: i) as doses de Zn dividida em quantidades iguais em três aplicações nos estádios V5, R7, R8; ii) dose de Zn dividida em quantidades iguais em duas aplicações nos estádios R7 e R8, e; iii) dose de Zn aplicada sem parcelamento apenas no estádio R8.

As doses que as plantas receberam ao final do experimento foram: 0; 120; 240; 480; 720 e 1200 g ha⁻¹ de Zn. A fonte utilizada foi ZnSO₄.7H₂O. Antes de cada aplicação foi simulado a quantidade necessária de solução para cobrir a planta sem ocorrer escorrimento para o solo. Dessa maneira, como a massa de material vegetal era crescente em cada época de parcelamento, o volume de solução aplicado era maior. Os volumes de solução aplicados nos estádios fenológicos V5, R7 e R8 foram de 20, 40 e 50 ml, respectivamente. As aplicações foliares da solução com ZnSO₄ foram realizadas com um spray manual com o bico de pulverização tipo leque, a uma pressão de 60 lbf pol⁻².

As plantas foram irrigadas diariamente com água destilada diretamente no solo, sem molhar as folhas. O experimento foi conduzido de fevereiro a maio, durante o período de 112 dias.

Foi determinada a produção de grãos e o teor de Zn nos grãos. Os grãos foram secos em estufa de circulação forçada de ar com temperatura ajustada em 65°C até peso constante e depois pesados. O material seco foi moído em moinho tipo Willey e as amostras foram passadas em peneira de 20 mesh. Para determinar o Zn, o material vegetal foi submetido à digestão nítrico-perclórica conforme descrito por Malavolta et al. (1997). As dosagens dos macro e micronutrientes foram determinadas por espectrometria de emissão ótica acoplada ao plasma induzido (ICP - OES).

As imagens de localização de Zn nos grãos de feijão da cultivar MP que receberam a dose controle (0 mg kg⁻¹) e a maior dose aplicada (1200 g ha⁻¹) foi

analisada por espectrometria de energia dispersiva de raios X (EDX). Para gerar as imagens, os grãos de feijão foram cortados com uma lâmina para separar os cotilédones, a parte que continha o embrião foi fixada em placa de isopor e levada ao aparelho para análise.

Os dados foram submetidos à análise de variância. Os efeitos das doses foram analisados por meio de equações de regressão.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. PRODUÇÃO DE FEIJÃO

Os parcelamentos das aplicações com Zn e as doses de Zn aplicadas via foliar não influenciaram a produção de grãos (Figura 1, a e b). Pela análise de variância dos dados de produção de grãos, a interação entre cultivar, parcelamento e dose não foi significativa pelo teste T, dentro de uma probabilidade aceitável, a qual foi de até 10 % (QM = 2,74; p-valor = 0,51).

Isso provavelmente aconteceu, porque como as aplicações foliares de Zn visaram o enriquecimento dos grãos, elas foram realizadas em estádios avançados da cultura (V5, R7 e R8). Assim, o aumento na produção de grãos não ocorreu (ou foi bastante reduzido) porque o potencial produtivo da cultura foi definido em estádios fenológicos antecipados, com a aplicação de 3 kg ha⁻¹ de Zn no solo no dia do plantio. Para o trigo, cereal mais estudado para fins de biofortificação, quando a aplicação foliar de Zn foi realizada em fase tardia de desenvolvimento da cultura essa adubação também não influenciou a produção de grãos²⁰.

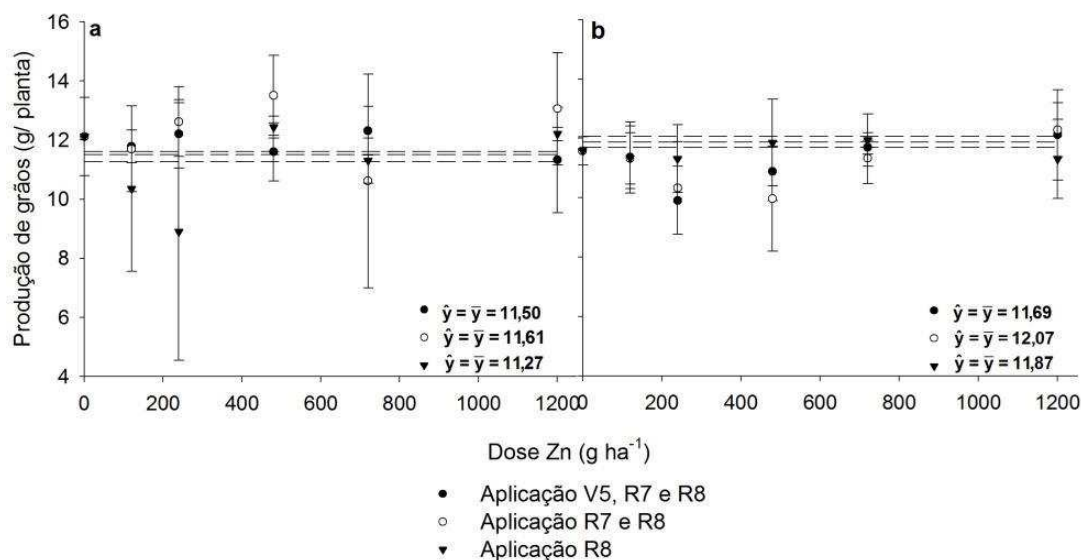


Figura 1. Produção de grãos das cultivares Madre pérola - MP (a) e Carioca 1030 - C1030 (b), em resposta a doses de Zn aplicadas via foliar e ao parcelamento da aplicação nos estádios fenológicos da cultura: V5, R7 e R8; R7 e R8; e R8. As barras horizontais referem-se ao erro padrão da média.

4.2. PARCELAMENTOS DAS APLICAÇÕES DO Zn

Os parcelamentos das aplicações foliares com Zn, nos estádios V5, R7 e R8; R7 e R8; e R8, não influenciaram no teor de Zn no grão, em ambas as cultivares (Figura 2, a e b). Pela análise de variância dos dados de teor de Zn nos grãos, a interação entre cultivar, parcelamento e dose não foi significativa pelo teste T dentro de uma probabilidade aceitável, a qual foi de até 10 % (QM = 5,18; p-valor = 0,17).

Isso pode ter ocorrido porque independente da época de parcelamento das doses, houve aplicação de Zn nos estádios mais avançados de desenvolvimento da cultura, como o R7 e R8. Essas épocas de pulverização do Zn foram escolhidas, porque é durante a formação e enchimento do grão que ocorre um forte dreno de Zn para o grão, principalmente para a síntese de proteínas que é o segundo composto de reserva mais abundante no feijão^{27, 28, 29}. Em cereais, foi observada correlação positiva entre o teor de Zn e quantidade de proteína no grão^{30, 32}.

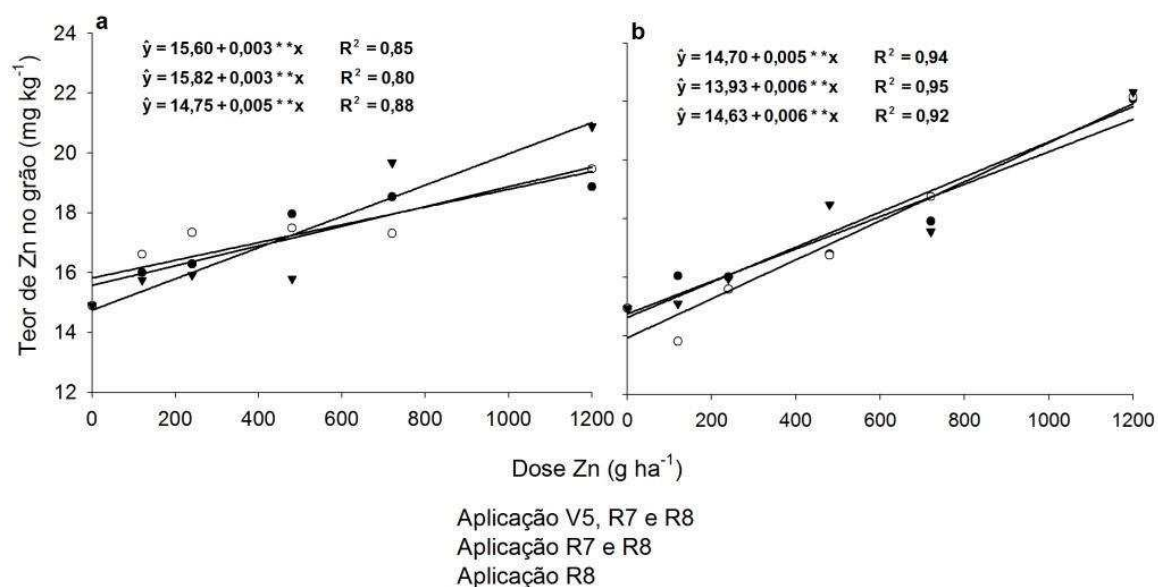


Figura 2. Teor de Zn nos grãos de feijão das cultivares Madre pérola (a) e Carioca 1030 (b), em resposta a doses de Zn, via foliar, e ao parcelamento da aplicação em épocas definidas com base nos estádios fenológicos da cultura: parcelamento em 3 aplicações, estádios V5, R7 e R8; parcelamento em 2 aplicações, estádios R7 e R8; aplicação única no estádio R8.

Em plantas de trigo, diferentemente do feijoeiro, houve maior acúmulo de Zn no grão quando as aplicações foliares de Zn foram realizadas no final do ciclo da cultura, no estágio de grão leitoso ³².

4.3. POTENCIAL DE BIOFORTIFICAÇÃO DO FEIJÃO

Os teores de Zn nos grãos das cultivares MP e C1030 foram semelhantes, independentemente das doses de Zn (Figura 2, a e b). Ambas as cultivares apresentaram em média 14,8 mg kg⁻¹ de Zn nos grãos, quando não houve aplicação foliar de Zn, para todas as épocas de parcelamento. O aumento das doses de Zn aplicadas via foliar, causaram aumento linear no teor de Zn nos grãos, até em média 21,1 mg kg⁻¹ de Zn.

O fato de não ter ocorrido diferença no acúmulo de Zn nos grãos dessas cultivares é interessante. Isso porque as cultivares foram selecionadas em um banco de germoplasma, devido ao fato de serem comerciais (bem aceitas no mercado) e por apresentarem capacidade diferente de acumular Zn no grão quando cultivadas (trabalho não publicado). Com base nessas informações, havia a expectativa de que as cultivares estudadas apresentassem diferentes potenciais de acúmulo de Zn no grão, o que não foi verificado no presente estudo.

A aplicação inicial de 3 kg ha⁻¹ de Zn no solo pode ter contribuído para igualar os teores de Zn nos grãos dessas cultivares. Essa dose foi aplicada em todos os tratamentos para que as plantas não apresentassem deficiência de Zn e atingissem produção satisfatória. Assim como neste trabalho, cultivares de arroz também apresentaram os mesmos teores de Zn no grão quando o solo não apresentava deficiência nesse nutriente, (vírgula em lugar de ponto) no entanto, quando o cultivo foi realizado em solos deficientes em Zn as cultivares de arroz apresentaram teores variados de Zn no grão ¹⁶.

4.4. BIOFORTIFICAÇÃO DOS GRÃOS DE FEIJÃO COM Zn

A maior dose de Zn aplicada via foliar (1200 g ha⁻¹) promoveu aumento de 42,6 % no teor de Zn nos grãos de feijão (de 14,8 para 21,1 mg kg⁻¹ de Zn –

Figura 2, a e b). Esse enriquecimento dos grãos com Zn foi possível porque esse nutriente apresenta considerável mobilidade no floema do feijoeiro ³⁴, condição necessária para que o Zn seja transportado e acumulado no grão de plantas ³⁶. A mobilidade do Zn no feijão pode estar relacionada a duas hipóteses. Primeiro, porque plantas bem nutridas em Zn apresentam maior expressão dos genes que codificam proteínas responsáveis pela absorção e translocação do Zn na planta ³⁷. Segunda, devido à capacidade do Zn^{2+} , quando absorvido, de complexar com compostos orgânicos móveis na planta, tais como: ácidos carboxílicos, como citrato, malato e oxalato; aminoácidos, como histidina e asparagina, e várias proteínas ^{32, 37, 38} e assim, poder se translocar na planta.

Aspecto relevante desses resultados é que, embora o teor de Zn nos grãos fosse alto (42,6 %), esse incremento no teor foi linear com o aumento das doses de Zn aplicadas via foliar, para ambas cultivares (Figura 2, a e b). Isso mostra que o potencial de enriquecimento do feijão com Zn ainda não foi atingido. Afinal, para determinar o potencial de enriquecimento com Zn e definir a melhor dose para aplicação foliar, que corresponda ao máximo teor de Zn no grão, é necessário ter a resposta do ponto de máximo teor de Zn no grão de feijão, em função do aumento das doses. Para grãos de arroz e tubérculos de batata, o máximo foi alcançado, o que possibilitou estabelecer a melhor dose ²⁰. Cabe ressaltar que, embora tenha sido aumentado o teor de Zn no grão, não foi atingido o potencial dos genótipos de feijão disponíveis para o melhoramento genético, que é de 54 mg kg^{-1} ²².

Adicionalmente, estudos de biofortificação agrônômica com cereais mostraram que, assim como para o feijão, aplicações foliares de Zn foram eficientes em aumentar o teor desse nutriente nos grãos ^{14, 15, 18}. Em contrapartida, para outras culturas, dependendo do tipo de solo, as aplicações do Zn, via solo, podem ser mais eficientes, comparadas as aplicações foliares, em aumentar os teores desse nutriente em raízes, folhas, e grãos ^{32, 41, 42}. Por isso, pode ser que aplicações de Zn via solo sejam mais eficientes em aumentar o seu teor no grão de feijão comparado às pulverizações. Logo, é necessário conduzir mais trabalhos e avaliar, por exemplo, a interação entre o fornecimento de Zn via solo e foliar para a cultura do feijão.

4.5. LOCALIZAÇÃO DO Zn NO GRÃO DE FEIJÃO

Na imagem de fluorescência de raio X, quanto mais intensa for a coloração avermelhada maior é o teor relativo de Zn naquele ponto (Figura 3). Esse teor é relativo, pois é proporcional aos demais elementos da amostra. Na Figura 3, é possível comparar as imagens "a e c" (tratamento sem a aplicação de Zn) com as imagens "b e d" (tratamento com a aplicação de 1200 mg ha⁻¹ Zn) pelo fato delas terem sido geradas em uma mesma escala de contagem por segundo (cps).

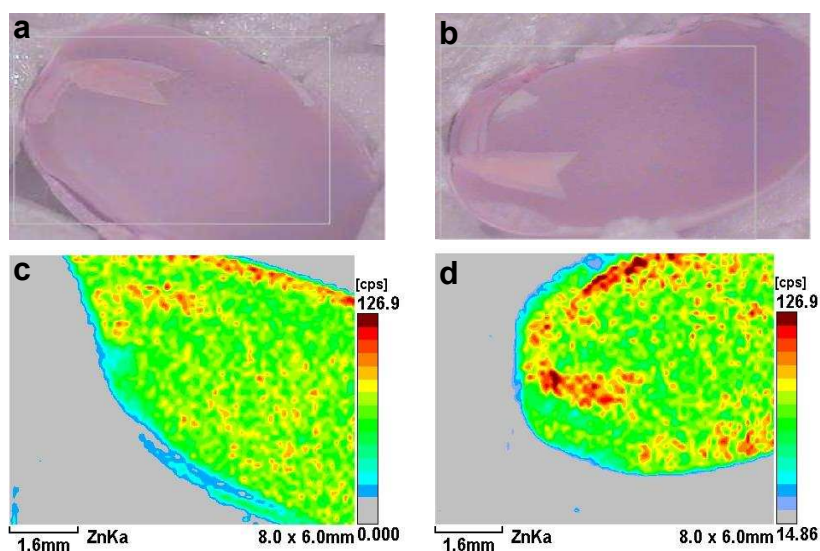


Figura 3. Localização do Zn no tegumento, cotilédone e eixo embrionário do grão da cultivar Madre pérola - MP, por espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDX), em amostra de grão controle (0 mg ha⁻¹ Zn, Figura a e c), que teve teor em média de 12 mg kg⁻¹ (a e c) e com a maior dose (1200 mg ha⁻¹ Zn, Figura b e d) teor de 27 mg kg⁻¹ (b e d). cps - contagem dos fótons que chegam ao detector por segundo.

Houve maior acúmulo de Zn no eixo embrionário comparado ao cotilédone. No grão com maior teor de Zn, 27 mg kg⁻¹ (Figura 3, b e d), o eixo embrionário destaca-se em termos de coloração avermelhada, isso representa maior acúmulo de Zn, comparado ao grão com menor teor de Zn, 11 mg kg⁻¹ (Figura 3, a e c).

Não foram quantificadas as massas separadas de cada componente do grão (tegumento, cotilédones e eixo embrionário) e sim a massa total. Por isso, apesar de ter sido encontrado menor teor de Zn no cotilédone, o conteúdo de Zn nessa parte do grão pode ter sido maior, uma vez que a massa do cotilédone é muito superior a do eixo embrionário. Esse é um aspecto a ser avaliado em trabalhos futuros, uma vez que o Zn em gramíneas encontra-se, principalmente, no endosperma, enquanto em leguminosas no cotilédone ^{43,44}. Em trabalho com o trigo, a análise espacial da distribuição e quantidade relativa de Zn nos grãos biofortificados mostrou que o Zn localizou-se principalmente no endosperma, na camada de aleurona e no tecido vítreo ³³.

5. CONCLUSÕES

Nas cultivares Madre pérola e Carioca 1030, o teor de Zn no grão de feijão aumenta com o aumento da dose de Zn aplicada via foliar sem alterar a produção de grãos. A maior dose aplicada, 1200 g ha^{-1} de Zn, proporcionou maior acúmulo de Zn no grão, em média $21,1 \text{ mg kg}^{-1}$. Essa dose pode ser aplicada de uma só vez, no estágio fenológico da planta R8. Nas duas cultivares, não se alcançou o potencial de enriquecimento de Zn no grão do feijão.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Thakur, S.; Gupta, N.; Kakkar, P. **Serum copper and zinc concentrations and their relation to superoxide dismutase in severe malnutrition.** Eur J Pediatr. 2004, 4, 163-742.
2. Ferraz, I. S.; Daneluzzi, J. C.; Vannucchi, H.; Jordão, Jr. A. A.; Ricco, R.G.; Del Ciampo, L. A. **Nível sérico de zinco e sua associação com deficiência de vitamina A em crianças pré-escolares.** Eur J Pediatr. 2007, 7, 83-512.
3. Bhatnagar, S.; Natchu, U.C. **Zinc in child health and disease.** Indian J Pediatr 2004, 5, 71-991.
4. Mafra, D.; Cozzolino, S.M. **The importance of zinc in human nutrition.** Rev Nutr Campinas, 2004, 17, 79-87.
5. Sazawal, S.; Black, R.E.; Ramsan, M.; Chwaya, H.M.; Dutta, A.; Dhingra, U. **Effect of zinc supplementation on mortality in children aged 1-48 months: a community-based randomised placebo controlled Trial.** Lancet, 2007, 39, 369-927.
6. Cesar, T.B.; Wada, S.R.; Borges, R.G. **Zinc and the nutritional status in the aged.** Rev Nutr, 2005, 18, 357-65.
7. Allen, L.H. **Zinc and micronutrient supplements for children.** Am J Clin Nutr, 1998, 8, 68-495.
8. Graham, R.D. et al. **Addressing micronutrient malnutrition through enhancing the nutritional quality of staple foods: principles, perspectives and knowledge gaps.** Adv. Agron, 2001, 70, 77-142.
9. Bouis, H.E. et al. **Genetically modified food crops and their contribution to human nutrition and food quality.** Trends Food Sci, 2003, 14, 191-209.
10. Timmer, C.P. **Biotechnology and food systems in developing countries.** J. Nutr, 2003, 133, 3319-3322.
12. Bouis, H.E. **Micronutrient fortification of plants through plant breeding: can it improve nutrition in man at low cost?** Proc. Nutr. Soc, 2003, 62, 403-411.
13. Cakmak, I. **Enrichment of fertilizers with zinc: an excelente investment for humanity and crop production in India.** J Trace Elem Med Biol, 2009, 23, 281-289.

14. Yilmaz, A., Ekiz, H., Torun, B., Gultekin, I., Karanlik, S., Bagci, S. A.; Cakmak, I.. **Effect of different zinc application methods on grain yield and zinc concentration in wheat cultivars grown on calcareous soils with zinc deficiency.** J. Planta Nutr., 1998, 20, 461-471.
15. Cakmak, I. **Biofortification of cereals with zinc and iron through fertilization strategy.** 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World, 2010, 4, 1-6.
16. Wissuwa, M.; Abdelbagi, M.; Cakmak, I.; Graham, R. D. **Rice grain zinc concentrations as affected by genotype, native soil-zinc availability, and zinc fertilization.** Plant and Soil, 2008, 306, 37-48.
17. Zhanga, Y. Q.; Sunb, Y. X.; Yec, Y. L.; Karima, M. R.; Xuea, Y. F.; Yana, P.; Menga, Q. F.; Cuia, Z. L.; Cakmak, I.; Zhanga, F. S.; Zouquanto, C. Q.. **Zinc biofortification of wheat through fertilizer applications in different locations of China.** See front matter, Elsevier B.V. All rights reserved. Field Crops Research. 2012, 125, 1–7.
18. Phattarakul, N.; Rerkasem, B.; Li, L.; Wu, L.; Zou, C.; Ram, H.; Sohu, V.; Kang, B.; Surek, H.; Kalayci, M.; Yazici, A.; Zhang, F.; Cakmak, I.,. **Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries.** Plant & Soil, 2012, 361, 131.
19. Yanyan Wei., M. J. I. Shohag., Xiaoe Yang. **Biofortification and Bioavailability of Rice Grain Zinc as Affected by Different Forms of Foliar Zinc Fertilization.** PLOS ONE, 2012, 7.
20. Mao, H.; Wang, J.; Wang, Z.; Zan, Y.; Lyons, G.; Zou; C. **Using agronomic biofortification to boost zinc, selenium, and iodine concentrations of food crops grown on the loess plateau in China.** Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2014, 14, 459-470.
21. Hussain, S.; Muhammad, A. M.; Zed, R.; Tariq, A. **Biofortification and estimated human bioavailability of zinc in wheat grains as influenced by methods of zinc application.** Science Business. 2012.
22. Beebe, S.; Gonzalez, A. V.; rengifo, J. **Research on trace minerals in the common bean.** Food and Nutrition Bulletin. 2000. 21, n. 4, 387-391.

23. Blair, M. W. **Mineral Biofortification Strategies for Food Staples: The Example of Common Bean.** J. Agric. Food Chem. 2013, 61, 8287–8294.
24. Alvarez V., V. H., Dias, L. E., Ribeiro, A. C., Souza, R. B. Uso de Gesso Agrícola. In: Ribeiro, A. C.; Guimarães, P. T. G.; Alvarez V., V. H. **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª Aproximação.** Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999, 67-78.
25. Novais, R. F.; Neves, J. C. L.; Barros, N. F. de. **Ensaio em ambiente controlado.** In: OLIVEIRA, A. J. et al. (Coords.). **Métodos de pesquisa em fertilidade do solo.** Brasília, DF: Embrapa-SEA, 1991, 189-253.
26. Santos, J. B.; Gavilanes, M. L.; Vieira, C.; Paula Júnior, T. J.; Borém, A. **Feijão. Botânica.** 2006, 2, 41-65.
27. Cakmak, I.; Marschner, H.; Bangerth, F. **Effect of zinc nutritional status on growth, protein metabolism and levels of indole-3- acetic acid and other phytohormones in bean (*Phaseolus vulgaris L.*).** J. Exp. Bot. 1989, 40, 405 - 412.
28. Martre, P.; Porter, J. R.; Jamieson, P. D.; Tribcoi, E. **Modeling grain nitrogen accumulation and protein composition to understand the sink/source regulation of nitrogen remobilization for wheat.** Plant Physiol. 2003, 133, 1959–1967.
29. Ozturk, L.; Yazici, M. A.; Yucel, C.; Torun, A.; Cekic, C.; Bagci, A.; Ozkan, H.; Braun, H. J.; Sayers, Z.; Cakmak, I. **Concentration and localization of zinc during seed development and germination in wheat.** Physiol. Plant. 2006, 128, 144–152.
30. Zhao F. J., Su Y. H., Dunham S. J., Rakszegi M., Bedo Z., Mcgrath S. P., Shewry P. R. **Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin.** J. Cereal Sci. 2009. 49, 290 - 29510.
31. Cakmak I., Pfeiffer W. H., McClafferty B. **Biofortification of durum wheat with zinc and iron.** Cereal Chem. 2010. 87, 10 - 2010.
32. Cakmak I., Kalayci M., Kaya Y., Torun A. A., Aydin N., Wang Y., Arisoy Z., Erdem H., Yazici A., Gokmen O., Ozturk L., Horst W. J. **Biofortification and**

localization of zinc in wheat grain. J. Agric. Food Chem. 2010a, 58, 9092 - 9102.

34. Rodrigues, L. A., Souza, A. P., Martinez, H. E. P., Pereira, P. R.G., Fontes, P. C. R. **Absorção e translocação de zinco em feijoeiro aplicado via foliar.** R. Bras. Fisiol. Veg. 1997, 9, 111-115.

35. Rengel Z., Batten G. D., Crowley D. E.. **Agronomic approaches for improving the micronutrient density in edible portions of field crops.** Field Crops Res. 1999, 60, 27–4010.

36. White, P. J.; Broadley, M. R.. Front Plant Sci. **Physiological Limits to Zinc Biofortification of Edible Crops.** 2011, 2, 80 – 2011.

37. Broadley M. R., White P. J., Hammond J. P., Zelko I., Lux A.. **Zinc in plants.** New Phytol. 2007, 173, 677–70210.

38. Waters B. M., Sankaran R. P.. **Moving micronutrients from the soil to the seeds: genes and physiological processes from a biofortification perspective.** Plant Sci. 2011, 180, 562 - 57410.

39. Jiang W., Struik P. C., van Keulen H., Zhao M., Jin L. N., Stomph T. J.. **Does increased zinc uptake enhance grain zinc mass concentration in rice?** Ann. Appl. Biol. 2008, 153, 135–14710.

40. Sagardoy R., Morales F., López-Millán A. F., Abadía A., Abadía J.. **Effects of zinc toxicity on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants grown in hydroponics.** Plant Biol. 2009, 11, 339–35010.

41. White P. J., Broadley M. R.. **Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets – iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine.** New Phytol. 2009, 182, 49–8410.

42. Bouis, H. E.; Welch R. M.. **Biofortification – a sustainable agricultural strategy for reducing micronutrient malnutrition in the global South.** Crop Sci. 2010, 50, S20 - S3210.

43. Seeds, J.; Bewley, D.; Black, M.. **Zinc in Soils and Plants. Developments in Plant and Soil Sciences.** 1994, 1-33.

44. Nancy, E.; Longnecker, A.; Robson, D.. **Distribution and Transport of Zinc in Plants.** 1993, 55, 9 - 79.

45. Fageria, N. **Níveis adequados e tóxicos de zinco na Produção de arroz, feijão, milho, soja e trigo em solo de cerrado.** R. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 2000, 3, v 4, 390 - 395.
46. Teixeira, I. R.; Borém, A.; Araújo, G. A. A.; Fontes, R. L. F.. **Manganese and zinc leaf application on common bean grown on a "Cerrado" soil.** Sci. agric. 2004, 1, v 61.

CAPÍTULO 2

AUMENTO NO TEOR DE Zn NO FEIJÃO PELA BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA COM Zn

1. RESUMO

A fome oculta é um problema que afeta milhões de pessoas em todo o mundo, especialmente em países pobres. Uma das causas desse problema é a baixa qualidade nutricional dos alimentos ingeridos. Uma alternativa para solucionar esse grave problema é a biofortificação de alimentos amplamente consumidos pela população. Assim, o objetivo desse estudo foi aumentar o teor de Zn no grão de feijão pelo manejo da adubação com Zn. Foi montado um experimento em casa de vegetação com 18 tratamentos dispostos em blocos casualizados com quatro repetições. Os tratamentos formaram um fatorial 3 x 6, com três doses de Zn aplicadas no solo e seis doses aplicadas via foliar, para um mesmo material genético de feijão e aplicação. As doses de Zn aplicadas no solo proporcionaram aumento na produção de grãos. As doses foliares de Zn não influenciaram essa característica, por terem sido aplicadas no momento de enchimento dos grãos. As doses Zn no solo e foliar permitiram atingir o máximo potencial de enriquecimento dos grãos de feijão, que foi de 67,5 mg kg⁻¹ de Zn. As adubações com Zn e o aumento do teor de Zn no grão de feijão alteraram o teor de alguns nutrientes essenciais às plantas, mas isso não interferiu na produção e observou-se que os teores desses nutrientes nos grãos ficaram dentro da faixa considerada normal para a cultura. O Zn no grão ficou localizado principalmente no embrião.

Palavras-chave: Fome oculta, qualidade nutricional, adubação foliar, teor de Zn no grão.

2. INTRODUÇÃO

Os seres humanos necessitam de mais de 22 minerais para o bom funcionamento do organismo (Graham, et al., 2007), entre eles o Zn. O Zn é requerido em vários processos fisiológicos. Por isso, a deficiência de Zn pode causar no ser humano a fome oculta, ou seja, a desnutrição, a qual pode provocar várias doenças em crianças e adultos (Salgueiro, et al., 2000).

Nos últimos anos, a deficiência humana em Zn tornou-se um problema de saúde pública mundial, afetando cerca de um terço da população (Grusak e Cakmak, 2005; Thacher, et al., 2006) tanto em países desenvolvidos, quanto em desenvolvimento (Cesar e Borges, 2005). Estudos mostram que as faixas etárias mais atingidas pela deficiência em Zn correspondem às das crianças e dos adolescentes. Esses grupos estão entre os mais vulneráveis da população, cerca de 800 mil crianças morrem a cada ano com doenças relacionadas à desnutrição por Zn (Black, et. al 2003).

Os principais fatores que têm contribuído para agravar a desnutrição da população mundial em Zn são: ingestão excessiva de cereais com altos teores de fitato (Hambidge, et al., 1998), baixo consumo de legumes, frutas, produtos de origem animal (principalmente peixe) e cultivo agrícola em solos deficientes em Zn (Bouis, 2003).

O cultivo agrícola em solos deficientes em Zn leva à produção de plantas com baixo teor desse mineral e com menor qualidade nutricional, o que resulta em carência humana em Zn. Por isso, a biofortificação de produtos agrícolas, com enfoque no manejo da adubação com Zn pode ser prática adotada para reduzir a fome oculta desse nutriente em seres humanos.

No Brasil, a maioria dos solos é carente em Zn, seja por causa do material de origem ou pelo uso intensivo sem a devida reposição desse mineral. Estima-se que dos cerca de 170 milhões de hectares de solos sob vegetação do cerrado, 20,8 %; 33,3 % e 58,0 % dos solos no Grande do Sul, São Paulo e Paraná, respectivamente, são deficientes em Zn (Lopes, 1983; Luchese, et al., 1990). Por isso, a adubação de culturas agrícolas com Zn em solos deficientes, como os brasileiros, se faz necessária. Para Teixeira et al. (2004 a), apesar da alta tecnologia adotada pelos produtores de feijão irrigado,

a nutrição mineral muitas vezes é negligenciada, principalmente em relação aos micronutrientes.

Trabalhos mostraram que, a eficiência da biofortificação agrônômica com Zn pelo manejo da adubação desse nutriente, é dependente do manejo adequado, o que inclui principalmente: i) da forma de aplicação do Zn: via solo, foliar ou a combinação de ambos (Cakmak, et al., 2009; Cakmak, et al., 2010; Zhanga, et al., 2012; Phattarakul, et al., 2012; Yanyan, 2012), ii) da época de aplicação; e iii) da dose de Zn aplicada.

A forma de aplicação via foliar foi eficiente em enriquecer grãos de trigo e arroz (Yilmaz, et al., 1998; Wissuwa, et al., 2008; Hussain, et al., 2012), enquanto folhas de couve e grãos de canola tiveram seus teores de Zn aumentados para 35 e 61 mg kg⁻¹ respectivamente, com a aplicação de Zn ao solo (Mao, et al., 2014). A aplicação de Zn via foliar realizada no estágio de grão leitoso, foi eficiente no enriquecimento de grãos de trigo (Cakmak, et al., 2010). A melhor dose para se alcançar o enriquecimento adequado do grão com Zn é obtida por meio dos experimentos e deve ser aquela que resulte na obtenção do ponto de máximo teor de Zn nos grãos em resposta às doses aplicadas, o que já foi conseguido para algumas culturas (Mao, et al., 2014).

Os trabalhos de biofortificação agrônômica com grãos de feijão são, na maioria, relacionados à biofortificação genética (Blair, et al. 2003). Por isso, o objetivo deste estudo foi melhorar a qualidade nutricional do grão de feijão por meio da biofortificação agrônômica, aumentando o teor de Zn no grão a partir do manejo da adubação via solo e foliar.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa. A unidade experimental foi composta por um vaso contendo 3 dm³ de solo, sem abertura na parte inferior, com duas plantas de feijão. O solo utilizado foi Latossolo Vermelho-Amarelo, as amostras foram secas ao ar, passadas em peneira de 2 mm de diâmetro e caracterizadas quimicamente (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização química do solo utilizado no experimento

pH H ₂ O ^{/1}	P ^{/2}	K ^{/2}	Ca ^{2+/3}	Mg ^{2+/3}	Al ^{3+/3}	H+Al ^{/4}	MO ^{/5}	P- Rem ^{/6}	Mn ^{/7}	Fe ^{/7}	Zn ^{/7}
	mg dm ⁻³		cmol _c dm ⁻³		-----		dag kg ⁻¹	mg L ⁻¹	---- mg dm ⁻³ ----		
5,27	0,9	7,0	0,65	0,02	0,7	4,1	1,7	13,1	5,2	87,4	1,02

^{/1} pH em H₂O, relação 1:2,5; ^{/2}extrator Mehlich 1; ^{/3} - extrator KCl 1 mol L⁻¹ (Vettori, 1969); ^{/4} – extrator acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹; ^{/5} Matéria orgânica (Walkley-Black); ^{/6} Fósforo remanescente (extrator Mehlich 1) (Silva, 2009); ^{/7} extrator DTPA (Silva, 2009).

Com base nos resultados da análise do solo foram feitos os cálculos para a recomendação de corretivos da acidez do solo e a recomendação de adubação. O método utilizado para recomendação de calagem foi o da neutralização do Al²⁺. Foram realizadas as adubações em todo o volume de solo, de acordo com recomendações para experimentos de casa de vegetação (Novais et al., 1991).

O experimento teve 18 tratamentos no delineamento em blocos casualizados com quatro repetições. Os tratamentos constituíram fatorial 3 x 6. Doses de Zn aplicadas no solo (0; 5 e 10 kg ha⁻¹) e doses de Zn aplicadas via foliar (0; 1; 1,5; 3; 6 e 10 kg ha⁻¹). A Cultivar de feijão foi a BRSMG Madre pérola. Foi avaliada apenas uma cultivar nesse experimento, pois em trabalho anterior ao ter avaliado duas cultivares de um banco de germoplasma com diferentes teores de Zn no grão, elas apresentaram a mesma capacidade de enriquecimento (Capítulo 1).

As plantas foram irrigadas diariamente com água destilada. A irrigação foi feita diretamente no solo, sem molhar as folhas. O experimento foi conduzido de agosto a novembro, com duração de 126 dias. O $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ foi a fonte de Zn aplicada tanto no solo como via foliar, no solo foi incorporado em todo o volume de solo no dia do plantio.

As doses de Zn foliares foram aplicadas no estágio fenológico de enchimento das vagens, R8 (Santos e Gavilanes, 2006). Para a aplicação foliar, o $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ foi diluído em 20 ml de solução de água destilada, para pulverizar as plantas em cada vaso. Esse volume de solução foi determinado ao realizar um teste, o qual consistiu em aplicar água em uma unidade experimental, antes da aplicação do tratamento, de modo que a solução fosse suficiente para cobrir as plantas sem ocorrer escorrimento para o solo.

Foram determinados a produção de grãos e os teores de P, K, Ca, Mg, S, Fe e Zn nos grãos. Os grãos foram secos em estufa de circulação forçada de ar com temperatura ajustada em 65°C até peso constante e depois pesados. O material seco foi moído em moinho tipo Willey e as amostras foram passadas em peneira de 20 mesh. Para determinar macro e micronutrientes, o material vegetal foi submetido à digestão nítrico-perclórica conforme descrito por Malavolta et al. (1997). As dosagens dos macro e micronutrientes foram realizadas por espectrometria de emissão óptica acoplada ao plasma induzido (ICP - OES).

Com intuito de avaliar a localização do Zn nos grãos, foi escolhido um grão de feijão das três repetições que apresentaram teores de Zn menor, médio e maior, sendo que esses teores foram 22, 61 e 89 mg kg^{-1} Zn, respectivamente. Esses grãos foram analisados por espectrometria de energia dispersiva de raio X (EDX). Para isso, cada grão foi cortado ao meio e a parte contendo o eixo embrionário foi fixada em uma lâmina de vidro com o uso de cola.

Por fim, nessas mesmas repetições em que os grãos apresentaram os teores de 22, 61 e 89 mg kg^{-1} de Zn, alguns grãos foram amostrados e separados tegumento, cotilédone e eixo embrionário. Cada um desses componentes foi seco, pesado e triturado em almofariz de ágata, e submetido à digestão nitroperclórica para que os teores totais dos nutrientes fossem

determinados por espectrometria de emissão ótica acoplado ao plasma induzido (ICP - OES).

A produção de grãos e os teores dos nutrientes foram submetidos a análise de variância. Os efeitos das aplicações das doses sobre a produção e o teor de Zn no grão foram analisados estatisticamente por meio de regressão. Adicionalmente foi realizada análise de correlação entre as variáveis estudadas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. PRODUÇÃO DE GRÃOS DE FEIJÃO

As doses de 5 e 10 kg ha⁻¹ de Zn aplicadas no solo, aumentaram de forma semelhante a produção de grãos em relação ao controle, 0 kg ha⁻¹ (Figura 1). Logo, a aplicação de 5 kg ha⁻¹ de Zn no solo foi suficiente para obter satisfatória produção. A aplicação de doses de Zn ao solo foi feita para se estudar seu efeito na elevação do teor de Zn no grão, todavia, elas também contribuíram para aumentar a produção de grãos do feijoeiro.

A dose de 0 kg ha⁻¹ de Zn no solo comprometeu a produção do feijoeiro. Nos tratamentos sem adição de Zn ao solo houve queda na produção de grãos. Nas unidades experimentais correspondentes a esse tratamento, a produção média foi 1,06 g/planta de feijão, valor bem inferior à média de 7,69 g/planta, observada quando houve adubação com Zn no solo, (Figura 1). Isso confirma a necessidade e a influência da adubação com Zn para o crescimento, desenvolvimento e produção de várias culturas agrícolas, inclusive o feijoeiro (Fageria e Baligar, 1997; Muner et al., 2011). Cabe ressaltar que a limitação do crescimento e desenvolvimento da cultura pela falta de Zn foi tamanha que, em várias repetições do tratamento sem a adição de Zn ao solo (dose zero), as plantas não chegaram à fase reprodutiva.

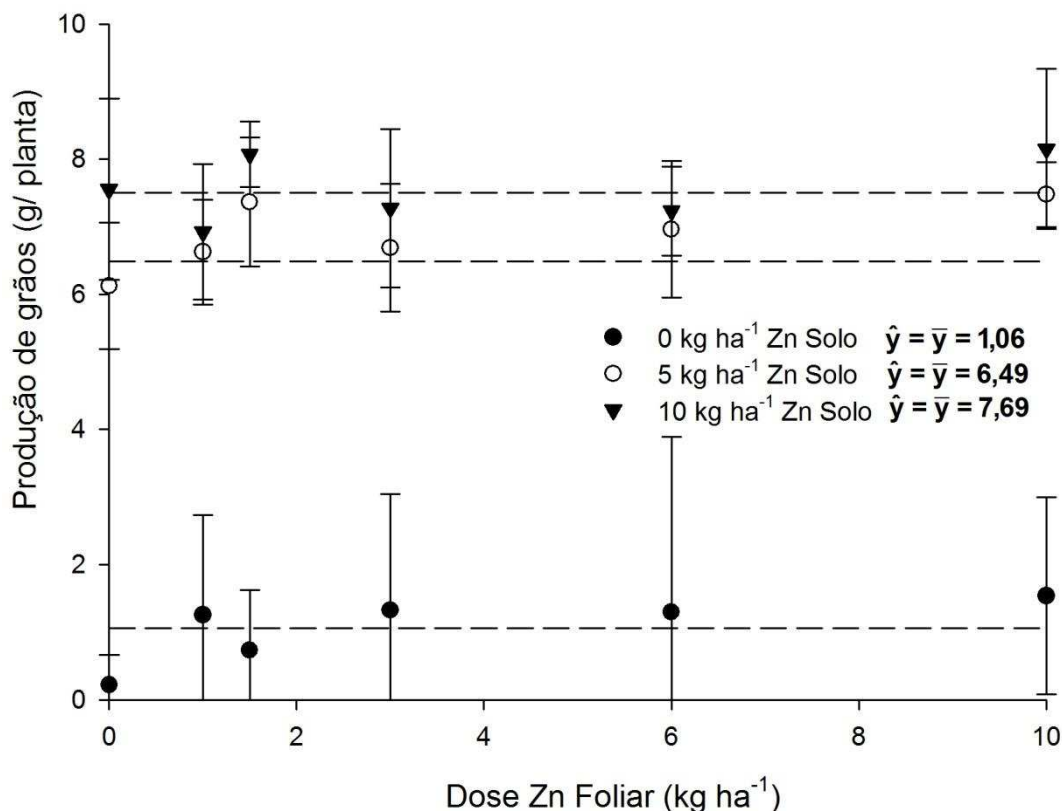


Figura 1. Produção de feijão em função das doses de Zn aplicadas no solo e foliar. As barras horizontais referem-se ao erro padrão da média.

Com teores de Zn no solo acima de 1 mg dm^{-3} , em geral, há o suprimento da demanda nutricional desse nutriente pelas plantas cultivadas (Nascimento e Fontes, 2004; Muner, et al., 2011). No presente trabalho, apesar do solo utilizado ter apresentado $1,02 \text{ mg dm}^{-3}$ de Zn, extraído pelo Mehlich-1, valor acima do nível crítico, esse reservatório não supriu as necessidades da cultura. No cultivo da soja, na região do cerrado, o solo apresentou $2,0 \text{ mg dm}^{-3}$ de Zn, quantidade considerada também satisfatória, mas a omissão da adubação com Zn também reduziu a produção de grãos (Fageria, 2000). Logo, esses resultados indicam que o nível crítico de Zn, extraído pelo Mehlich-1, no solo para o cultivo do feijoeiro e possivelmente para outras culturas deve ser revisto. Adicionalmente, extratores que apresentem melhores correlações com as quantidades extraídas pelas plantas devem ser desenvolvidos.

A aplicação da dose controle ao solo (0 kg ha^{-1} de Zn) pode ter comprometido, em parte, a produção de grãos por causa da correção da acidez do solo e adubação fosfatada. A elevação do pH do solo diminui a disponibilidade de Zn e de outros micronutrientes catiônicos para as plantas. Isso porque, em solos alcalinos, esses micronutrientes sofrem maior adsorção nos colóides do solo e também maior precipitação na forma de hidróxidos, diminuindo sua disponibilidade para as plantas (Malavolta, 1980; Barbosa Filho et al., 1999; Fageria et al., 2002;). Quanto à adubação fosfatada, o excesso do íon fosfato em solução pode levar à formação da espécie iônica fosfato de zinco, que é um precipitado e, portanto, indisponível para as plantas (Fageria, 1984).

As doses de Zn aplicadas via foliar não influenciaram a produção de feijão (Figura 1). Isso ocorreu porque como o objetivo da aplicação foliar foi aumentar o teor de Zn no grão de feijão, as pulverizações foram realizadas no estágio fenológico R8 (enchimento dos grãos). Este estágio foi escolhido porque esta é a fase em que as vagens já se formaram e os grãos estão em processo de enchimento, assim, o dreno de nutrientes, como o Zn, para o grão é intenso (Carvalho e Nakagawa, 2000). Além disso, para biofortificação agrônômica do feijão esta, possivelmente, é a melhor época para aplicar o Zn (Capítulo 1).

4.2. TEOR DE Zn NO GRÃO DE FEIJÃO

A dose zero de Zn no solo combinada com as doses de Zn foliares não influenciaram no teor de Zn no grão (Figura 2). Já com a adição das doses de 5 e 10 kg ha^{-1} Zn ao solo, mais o concomitante aumento da dose aplicada via foliar, houve aumento no teor de Zn no grão (Figura 2). Assim, é provável que quando o objetivo é a biofortificação agrônômica do grão de feijão, em solos com baixa disponibilidade de Zn para as plantas, a aplicação de Zn foliar só será eficiente se for feita em combinação com a aplicação desse nutriente ao solo.

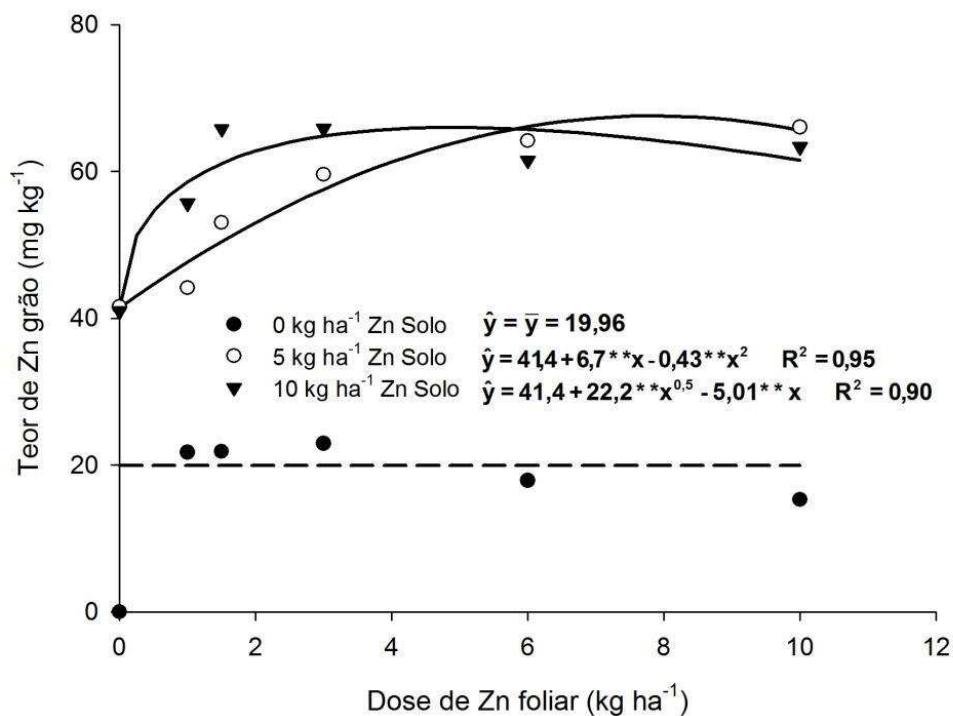


Figura 2. Teor de Zn no grão de feijão em função das doses de Zn aplicadas no solo e foliar.

As doses de 5 e 10 kg ha⁻¹ de Zn aplicadas no solo juntamente com as doses foliares promoveram aumento quadrático e raiz quadrática No teor de Zn no grão, respectivamente (Figura 2). As adubações no solo com Zn contribuíram mais para aumentar o teor de Zn nos grãos, comparado às foliares (Figura 2), uma vez que com o aumento das doses aplicadas ao solo o incremento do teor de Zn no grão foi maior se comparado ao incremento de Zn no grão proporcionado pelo aumento das doses foliares.

Ao fixar as doses de 5 e 10 kg ha⁻¹ de Zn aplicadas no solo obtém-se uma função que relaciona as doses de Zn aplicadas via foliar com a resposta da planta em termos de teor de Zn no grão (Figura 2). Quando a derivada desta função é igualada à zero, se obtém as respectivas doses de Zn foliar que combinadas com as doses de 5 e 10 kg ha⁻¹ de Zn no solo promovem o máximo teor de Zn no grão. Com base nesses cálculos, a aplicação da dose de 5 kg ha⁻¹ de Zn ao solo, combinada com a dose de 7,83 kg ha⁻¹ de Zn foliar, promove acúmulo de teor de Zn no grão igual a 67,50 mg kg⁻¹. Da mesma

forma, com 10 kg ha^{-1} de Zn aplicado ao solo juntamente com $4,86 \text{ kg ha}^{-1}$ de Zn foliar, o teor de Zn no grão é elevado ao máximo de $65,99 \text{ mg kg}^{-1}$.

Na literatura (Cakmak, et al, 2009; Yilmaz, et al, 1998; Hussain, et al, 2012) encontra-se que a adubação no solo juntamente com a foliar foi mais eficiente em aumentar o teor de Zn nos grãos de cereais, comparado a aplicação do Zn apenas no solo ou unicamente foliar. O presente trabalho mostra que para o feijão, a combinação dos métodos de aplicação de Zn também foi mais eficiente em aumentar o teor de Zn no grão.

É interessante notar também que com o experimento descrito nesse Capítulo 2, parece ter sido atingido o potencial máximo de enriquecimento do feijão com Zn para a cultivar estudada. Isso porque no Capítulo 1 do presente trabalho a resposta à adubação com Zn foi linear, enquanto que com o experimento descrito nesse Capítulo 2 chegou-se a respostas curvilíneas. Outro ponto relevante é que esses teores são superiores àqueles encontradas em experimentos realizados com trigo e arroz, culturas mais estudadas em termos de biofortificação de alimentos. Para essas culturas, o teor máximo de Zn no grão alcançada pelo manejo da adubação foi 58 mg kg^{-1} para o trigo e 35 mg kg^{-1} para o arroz (Cakmak, et al., 2010; Wissuwa, et al., 2008).

4.3. EFEITO DAS ADUBAÇÕES COM Zn, PRODUÇÃO E TEOR DE Zn NO FEIJÃO SOBRE O TEOR DE OUTROS MINERAIS NO GRÃO

Vários minerais interagem no solo e na rizosfera para serem absorvidos pelas raízes, translocados na planta até as folhas e posteriormente mobilizados para o desenvolvimento de grãos (Fageria, 2001; Lopez, et al. 2002). Portanto, estudos de biofortificação agrônômica também devem avaliar o efeito das adubações com o nutriente de interesse, neste caso o Zn, sobre os teores, no grão, de outros minerais essenciais às plantas.

As doses de Zn aplicadas no solo e foliar, além de terem efeito sobre o teor de Zn nos grãos de feijão, também influenciaram o teor de P nos grãos (Tabela 2). No entanto, a redução no teor de P proporcionada pelas adubações com Zn não prejudicaram o desenvolvimento do feijão. Isso é mostrado pela produção de grãos que não foi alterada (Figura 1) e pelos teores de P esperados para os grãos de feijão (Tabela 2) que foram satisfatórios,

considerando que foram superiores à faixa entre 2,2 a 7,97 g kg⁻¹, relatada na literatura como satisfatória para a cultura do feijão (Islam, et al., 2002; Silva, et al, 2010). Isso pode ter ocorrido devido ao acúmulo de luxo de P ou a menor produção de feijão, o que levou ao maior teor de P no grão.

Tabela 2. Efeito das doses de Zn aplicadas foliar (DFZn) dentro das doses de Zn aplicadas no solo (DSZn) sobre o teor dos nutrientes nos grãos de feijão

Efeito das DFZn dentro das DSZn kg ha ⁻¹	Nutriente	Equação	
0	P	$\hat{y}=23,06-1,94 x+0,188^{**} x^2$	R ² =0,92
5		$\hat{y}=17,96-1,09 x+0,096^{**} x^2$	R ² =0,96
10		$\hat{y}=\bar{y}=7,42$	
0	K	$\hat{y}=\bar{y}=7,42$	
5		$\hat{y}=\bar{y}=6,84$	
10		$\hat{y}=\bar{y}=8,00$	
0	Ca	$\hat{y}=\bar{y}=1,66$	
5		$\hat{y}=\bar{y}=2,15$	
10		$\hat{y}=\bar{y}=1,97$	
0	Mg	$\hat{y}=\bar{y}=1,75$	
5		$\hat{y}=\bar{y}=1,78$	
10		$\hat{y}=\bar{y}=1,60$	
0	S	$\hat{y}=\bar{y}=6,18$	
5		$\hat{y}=\bar{y}=5,83$	
10		$\hat{y}=\bar{y}=5,15$	
0	Fe	$\hat{y}=\bar{y}=27,73$	
5		$\hat{y}=\bar{y}=19,17$	
10		$\hat{y}=\bar{y}=18,34$	

** Significativo a 5 % de probabilidade.

Para os demais nutrientes analisados, K, Ca, Mg, S e Fe, as doses de Zn aplicadas no solo e foliar não influenciaram nos seus teores no grão de feijão (Tabela 2). Teixeira et. al., (2005), também não observaram efeito de adubações com Zn sobre os teores de P, K, Ca, Mg, S e Fe nos grãos de feijão. Possivelmente, para o P, não foi observado efeito das adubações com Zn sobre seu teor, porque as doses de Zn aplicadas foliar foram consideravelmente inferiores às doses do presente trabalho, a maior dose foi de 400 g ha⁻¹.

Quanto ao efeito do aumento da produção de feijão e do teor de Zn no grão sobre o teor de outros minerais no grão, tem-se que o aumento da produção de grãos correlacionou negativamente com o teor de P, S e Fe no grão (Tabela 3). Não houve correlação entre a produção de grãos e os teores de K, Ca e Mg no grão (Tabela 3). Em contrapartida, a produção de grãos correlacionou positivamente com o teor de Zn no grão. Quanto maior foi o Zn acumulado no grão maior foi a produção. Isso comprova a importância do Zn para o desenvolvimento das plantas e formação das sementes (Teixeira, et al., 2004).

Em relação ao aumento do teor de Zn no grão, existiu correlação positiva entre o teor de Zn e Ca no grão e negativa entre o teor de Zn com o P e Fe (Tabela 3). Se as correlações encontradas não fossem baixas, esses resultados poderiam ser relevantes, uma vez que minerais como: o P, Ca e Fe assim como o Zn são funcionais ao organismo humano e suas deficiências são frequentes em humanos (WHO, 2002). Logo, o aumento no teor de Zn em grãos de feijão, que reduzisse o teor desses nutrientes no grão de feijão, não seria desejável. No entanto, como as correlações foram baixas, os resultados não são expressivos.

Tabela 3. Matriz dos coeficientes de correlação linear simples entre a produção de feijão e os teores de nutrientes no grão.

Correlações	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn
	g kg ⁻¹				mg kg ⁻¹		
PG	-0,66 **	0,09 ns	0,13 ns	-0,23 ns	-0,37 **	-0,56 **	0,68 **
P		-0,33 **	0,21 ns	0,53 **	0,67 **	0,76 **	-0,43 **
K			0,05 ns	0,05 ns	0,08 ns	-0,08 ns	0,13 ns
Ca				0,71 **	0,55 **	0,48 **	0,29 **
Mg					0,86 **	0,78 **	-0,03 ns
S						0,83 **	-0,04 ns
Fe							-0,30 **

** coeficiente de correlação linear significativo a 5 % pelo teste t. PG – produção de grãos (g/planta).

Em trabalhos futuros, a análise de N nos grãos de feijão deve ser realizada para avaliar se o manejo das adubações com Zn influencia a nutrição nitrogenada na planta.

4.4. LOCALIZAÇÃO DO Zn e DEMAIS NUTRIENTES ACUMULADOS NOS GRÃOS DE FEIJÃO

O Zn em leguminosas encontra-se principalmente no cotilédone, como fonte de reserva mineral e proteica (Nancy, et al., 1993; Seeds et al., 1994). Com o intuito de compreender melhor a localização e o acúmulo de Zn no grão de feijão, grãos foram analisados com duas técnicas, EDX e ICP-OES.

A análise do teor de Zn nesses grãos, realizada pela técnica de fluorescência de raios X (EDX) (Figura 3), mostrou que existe preferência de localização do Zn no grão de feijão. Nessa figura, quanto mais azulada a coloração da imagem, menor é o teor de Zn na região. Com o aumento do teor de Zn, essa coloração passa pelos tons esverdeados, depois amarelados até chegar à coloração avermelhada e esbranquiçada, as quais representam as regiões com maiores teores de Zn no grão. O aumento do teor de Zn não é uniforme em todo grão, ele encontra-se no eixo embrionário (Tabela 4 e Figura 3).

Essa característica de acumular Zn no eixo embrionário pode estar relacionada ao fato de grãos de cereais, que acumulam mais Zn, apresentarem melhor germinação e maior vigor (Rengel e Graham, 1995; Yilmaz, et al. 1998; Cakmak, 2008). Em grãos de trigo, Cakmak et al. (2010) observaram que o Zn também ficou mais localizado no embrião, comparado ao endosperma.

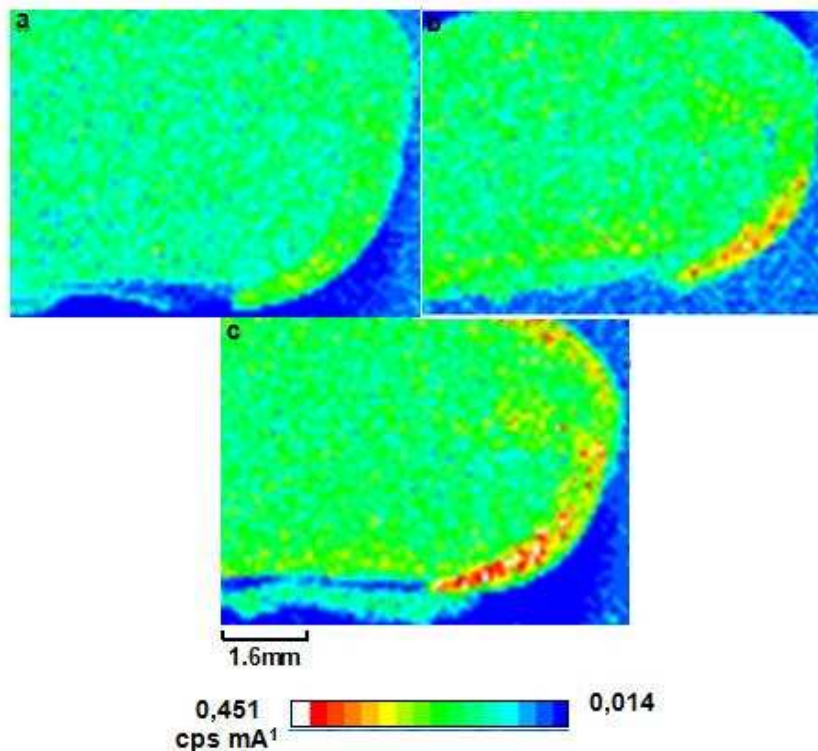


Figura 3. Localização do Zn no grão de feijão, em amostras que tiveram o teor em média, 22; 61 e 89 mg kg⁻¹ de Zn (**a**, **b** e **c**, respectivamente); cps - contagem dos fótons que chegam ao detector por segundo; m A⁻¹ – intensidade da corrente elétrica (quantidade de carga elétrica que atravessa a secção de um condutor em um segundo) em miliamperes.

Os nutrientes P, K, Ca, Mg, S e Fe, acumulados nos grãos do feijoeiro, ficaram mais intensamente localizados no embrião (cotilédone + eixo embrionário), comparado ao tegumento (Tabela 4). Isso concorda com estudos que demonstram que em leguminosas as reservas minerais ficam predominantemente no embrião, para serem mobilizadas durante o crescimento da plântula (Seends, et al., 1994; Taiz e Zeiger, 1998; Hopkins, 2000).

Tabela 4. Conteúdo dos nutrientes no grão (CG) e porcentagem dos nutrientes no tegumento (TEG), cotilédone (COT) e eixo embrionário (EE) dos grãos de feijão que apresentaram teor de 22, 61 e 89 mg kg⁻¹ de Zn nos grãos

Nutriente	22 mg kg ⁻¹				61 mg kg ⁻¹				89 mg kg ⁻¹			
	CG	TEG	COT	EE	CG	TEG	COT	EE	CG	TEG	COT	EE
	mg/ grão	----- % -----			mg/ grão	----- % -----			mg/ grão	----- % -----		
P	3,056	0,2	56,2	43,5	2,767	8,8	47,8	43,4	2,943	6,9	46,9	46,2
K	1,832	1,3	63,7	34,9	1,606	1,2	55,8	43,0	1,429	1,1	65,6	33,3
Ca	0,306	29,8	15,1	54,9	0,274	20,2	15,3	64,5	0,317	16,4	14,6	68,9
Mg	0,285	7,3	44,8	47,8	0,275	7,1	31,5	61,3	0,274	6,6	38,2	55,2
S	0,945	0,5	45,9	53,5	0,805	0,8	43,4	55,7	1,126	0,8	40,9	58,3
Fe	0,004	0,4	45,3	54,3	0,003	5,9	8,6	85,4	0,004	7,0	6,9	86,1
Zn	0,004	0,6	47,1	52,2	0,011	1,9	57,6	40,5	0,016	2,0	40,7	57,2

O P e K ficaram acumulados principalmente no cotilédone. Quanto maior o teor de Zn no grão, maior foi o conteúdo de P, principalmente no tegumento. Já o Ca, Mg, S e Fe, o maior conteúdo ficou no eixo embrionário para os três teores distintos de Zn acumulada no grão; 22, 61 e 89 mg kg⁻¹ (Tabela 4). O conteúdo de Ca e Fe aumentaram com o aumento do teor de Zn no grão.

Aumentar o teor de Zn no grão é um avanço para a biofortificação agrônômica de culturas agrícolas. Mas, quantificar a biodisponibilidade do Zn acumulado é fundamental. Afinal, o Zn acumulado em qualquer órgão da planta pode não ser disponibilizado ao organismo humano quando o alimento é ingerido, devido à presença de substâncias antinutricionais.

Entre os fatores antinutricionais, o feijão comum contém principalmente taninos (Sathe, 2002) e ácido fítico, a principal forma de armazenamento de fósforo (Martinez-Dominguez et al., 2002). Por isso, quantificar elementos como o fitato nos grãos enriquecidos com Zn, em trabalhos futuros será necessário. Afinal, a biodisponibilidade do Zn pode ser influenciada pela aplicação de Zn no solo e foliar, porque como esses métodos causam aumento no teor de Zn nos grãos, eles podem reduzir o teor de fitato (Hussain et al 2011a, 2012; Ryan et al. 2008).

Portanto, em trabalhos futuros deverá ser avaliada a biodisponibilidade do Zn nesses grãos de feijão enriquecidos. Adicionalmente, deverão ser instalados experimentos de campo para que se possa traduzir, para condições de campo, a realidade da biofortificação conseguida em casa de vegetação.

5. CONCLUSÕES

Aplicação de 5 kg ha⁻¹ de Zn incorporado ao solo no dia do plantio combinado com 7,8 kg ha⁻¹ de Zn aplicado via foliar no estágio R8 da cultura promovem o máximo teor de Zn no grão de feijão (67,5 mg kg⁻¹) na cultivar BRSMG Madre pérola.

A dose de 5 kg ha⁻¹ aplicada no solo é recomendada para obter satisfatória produção de feijão.

As doses de Zn aplicadas via foliar, sem a concomitante presença de níveis adequados no solo, parecem não ser suficientes para alterar a produção.

As adubações com Zn e o aumento do teor de Zn no grão não desfavorecem o acúmulo de P, K, Ca, Mg, S e Fe no grão de feijão, o que é desejável no processo de biofortificação com Zn.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alvarez V., V. H., Dias, L. E., Ribeiro, A. C., Souza, R. B. Uso de Gesso Agrícola. In: Ribeiro, A. C.; Guimarães, P. T. G.; Alvarez V., V. H. **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª Aproximação**. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999, 67-78.

BEWLEY, J. D., BLACK, M. **SEEDS: Physiology of Development and Germination**. 2nd ed. New York, Plenum Press, 1994, 445p.

Beebe, S.; Gonzalez, A. V.; rengifo, J. **Research on trace minerals in the common bean**. Food and Nutrition Bulletin. 2000. 21, n. 4, 387-391.

Blair, M. W. **Mineral Biofortification Strategies for Food Staples: The Example of Common Bean**. J. Agric. Food Chem. 2013, 61, 8287–8294.

Bouis, H. E.; Welch R. M.. **Biofortification – a sustainable agricultural strategy for reducing micronutrient malnutrition in the global South**. Crop Sci. 2010, 50, S20 - S3210.

Bouis, H.E. **Micronutrient fortification of plants through plant breeding: can it improve nutrition in man at low cost?** Proc. Nutr. Soc, 2003, 62, 403–411.

Cakmak I., Kalayci M., Kaya Y., Torun A. A., Aydin N., Wang Y., Arisoy Z., Erdem H., Yazici A., Gokmen O., Ozturk L., Horst W. J.. **Biofortification and localization of zinc in wheat grain**. J. Agric. Food Chem. 2010a, 58, 9092 - 9102.

Cakmak I., Pfeiffer W. H., McClafferty B. **Biofortification of durum wheat with zinc and iron**. Cereal Chem. 2010. 87, 10 - 2010.

Cakmak, I. **Biofortification of cereals with zinc and iron through fertilization strategy.** 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World, 2010, 4, 1-6.

Cakmak, I. **Enrichment of fertilizers with zinc: an excelente investment for humanity and crop production in India.** J Trace Elem Med Biol, 2009, 23, 281–289.

Cakmak, I. **Enrichment of fertilizers with zinc: an excelente investment for humanity and crop production in India.** J Trace Elem Med Biol, 2009, 23, 281–289.

Cesar, T.B.; Wada, S.R.; Borges, R.G. **Zinc and the nutritional status in the aged.** Rev Nutr, 2005, 18, 357-65.

Graham, R.D. et al. **Addressing micronutrient malnutrition through enhancing the nutritional quality of staple foods: principles, perspectives and knowledge gaps.** Adv. Agron, 2001, 70, 77–142.

HOPKINS, W. G. **Introduction to Plant Physiology.** 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2000, 512p.

Hussain, S.; Muhammad, A. M.; Zed, R.; Tariq, A. **Biofortification and estimated human bioavailability of zinc in wheat grains as influenced by methods of zinc application.** Science Business. 2012.

Kopittke P. M., Menzies N. W., de Jonge M. D., McKenna B. A., Donner E., Webb R. I., Paterson D. J., Howard D. L., Ryan C. G., Glover C. J., Scheckel K. G., Lombi E.. **In situ distribution and speciation of toxic copper, nickel, and zinc in hydrated roots of cowpea.** Plant Physiol. 2011, 156, 663 - 67310.

Mao, H.; Wang, J.; Wang, Z.; Zan, Y.; Lyons, G.; Zou, C.. **Using agronomic biofortification to boost zinc, selenium, and iodine concentrations of food crops grown on the loess plateau in China.** *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2014, 14, 459-470.

Nancy, E.; Longnecker, A.; Robson, D.. **Distribution and Transport of Zinc in Plants.** 1993, 55, 9 – 79.

Novais, R. F.; Neves, J. C. L.; Barros, N. F. de. Ensaio em ambiente controlado. In: OLIVEIRA, A. J. et al. (Coords.). **Métodos de pesquisa em fertilidade do solo.** Brasília, DF: Embrapa-SEA, 1991, 189-253.

Phattarakul, N.; Rerkasem, B.; Li, L.; Wu, L.; Zou, C.; Ram, H.; Sohu, V.; Kang, B.; Surek, H.; Kalayci, M.; Yazici, A.; Zhang, F.; Cakmak, I.,. **Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries.** *Plant & Soil*, 2012, 361, 131.

Rengel Z., Batten G. D., Crowley D. E.. **Agronomic approaches for improving the micronutrient density in edible portions of field crops.** *Field Crops Res.* 1999, 60, 27–4010.

Rodrigues, L. A., Souza, A. P., Martinez, H. E. P., Pereira, P. R.G., Fontes, P. C. R. **Absorção e translocação de zinco em feijoeiro aplicado via foliar.** *R. Bras. Fisiol. Veg.* 1997, 9, 111-115.

Santos, J. B.; Gavilanes, M. L.; Vieira, C.; Paula Júnior, T. J.; Borém, A. **Feijão. Botânica.** 2006, 2, 41-65.

Seeds, J.; Bewley, D.; Black, M.. **Zinc in Soils and Plants.** *Developments in Plant and Soil Sciences.* 1994, 1-33.

Taiz, L., Zeiger, E. **Plant Physiology**. 2nd ed. Massachusetts: Sinauer Associates, 1998,792p.

Teixeira, I. R. et al. **Nutrição mineral do feijoeiro em função de doses de manganês e zinco**. Semina, Londrina, v. 24, n. 2, p. 235-242, 2004.

Terzano R., Chami Z. A., Vekemans B., Janssens K., Miano T., Ruggiero P.. **Zinc distribution and speciation within rocket plants (*Eruca vesicaria* L. Cavaleri) grown on a polluted soil amended with compost as determined by XRF microtomography and micro-XANES**. J. Agric. Food Chem. 2008, 56, 3222–323110.

Van Steveninck, R. F. M.; Babare, A.; Fernando, D. R.; Van Steveninck, M. E.. **The binding of zinc, but not cadmium, by phytic acid in roots of crop plants**. Plant Soil. 1994, 167, 157–16410.

White P. J., Broadley M. R.. **Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets – iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine**. New Phytol. 2009, 182, 49–8410.

White, P. J.; Broadley, M. R.. **Front Plant Sci. Physiological Limits to Zinc Biofortification of Edible Crops**. 2011, 2, 80 – 2011.

Wissuwa, M.; Abdelbagi, M.; Cakmak, I.; Graham, R. D. **Rice grain zinc concentrations as affected by genotype, native soil-zinc availability, and zinc fertilization**. Plant and Soil, 2008, 306, 37-48.

Yanyan Wei., M. J. I. Shohag., Xiaoe Yang. **Biofortification and Bioavailability of Rice Grain Zinc as Affected by Different Forms of Foliar Zinc Fertilization**. Plos one, 2012, 7.

Yilmaz, A., Ekiz, H., Torun, B., Gultekin, I., Karanlik, S., Bagci, S. A.; Cakmak, I.. **Effect of different zinc application methods on grain yield and zinc concentration in wheat cultivars grown on calcareous soils with zinc deficiency.** J. Planta Nutr., 1998, 20, 461-471.

Zhao F. J., Su Y. H., Dunham S. J., Rakszegi M., Bedo Z., Mcgrath S. P., Shewry P. R..**Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin.** J. Cereal Sci. 2009. 49, 290 - 29510.

CONCLUSÕES GERAIS

Ao aplicar de 0 a 1200 g ha⁻¹ de Zn foliar combinado com a dose de 3 kg ha⁻¹ no solo, o teor de Zn no grão de feijão aumenta linearmente para as cultivares MP e C1030. Com a dose de 1200 g ha⁻¹ de Zn, o teor médio de Zn no grão foi de 21,1 mg kg⁻¹. A aplicação do Zn foliar, para enriquecer o grão do feijoeiro, pode ser feita apenas no estágio R8. MP e C1030, não diferenciam quanto ao teor de Zn no grão. A produção de feijão não foi afetada pelas adubações foliares com Zn, para as duas cultivares.

A aplicação de 5 kg ha⁻¹ de Zn aplicado no solo no dia do plantio e 7,83 kg ha⁻¹ de Zn aplicado foliar em R 8, são as doses recomendadas para obter máximo teor de Zn no grão de feijão comum. A dose de 5 kg ha⁻¹ aplicada no solo é recomendada para obter satisfatória produção de feijão. As doses de Zn aplicadas foliar não alteraram a produção. As adubações com Zn e o aumento no teor de Zn no feijão não interferiram no teor de outros nutrientes no grão.

Existe ainda a necessidade de realizar análise de N nos grãos de feijão, para avaliar se as adubações com Zn, o aumento da produção de feijão e o aumento no teor de Zn no grão influenciarão na absorção de N e conseqüentemente na transcrição de proteínas.

O Zn e demais nutrientes ficaram, no grão de feijão, localizados principalmente no embrião. Isso foi observado tanto em análises no EDX quanto em ICP – OS.

Experimentos semelhantes a este devem ser conduzidos em campo, para representar as condições reais do cultivo do feijoeiro. Isso possibilitará maior produção de grãos e o estudo da biodisponibilidade do Zn, *in vitro* e *in vivo*. Da mesma maneira, a realização de experimentos no campo nos permitirá avaliar qualidades fisiológicas das sementes como a germinação e o vigor de sementes enriquecidas com Zn.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA GERAL

Beebe, S.; Gonzalez, A. V.; rengifo, J. **Research on trace minerals in the common bean.** Food and Nutrition Bulletin. 2000. 21, n. 4, 387-391.

Blair, M. W. **Mineral Biofortification Strategies for Food Staples: The Example of Common Bean.** J. Agric. Food Chem. 2013, 61, 8287–8294.

Bouis, H.E. et al. **Genetically modified food crops and their contribution to human nutrition and food quality.** Trends Food Sci, 2003, 14, 191–209.

Cakmak, I. **Enrichment of fertilizers with zinc: an excelente investment for humanity and crop production in India.** J Trace Elem Med Biol, 2009, 23, 281–289.

Cakmak, I. **Biofortification of cereals with zinc and iron through fertilization strategy.** 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World, 2010, 4, 1-6.

Cesar, T.B.; Wada, S.R.; Borges, R.G. **Zinc and the nutritional status in the aged.** Rev Nutr, 2005, 18, 357-65.

Fageria, N. **Níveis adequados e tóxicos de zinco na Produção de arroz, feijão, milho, soja e trigo em solo de cerrado.** R. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 2000, 3, v 4, 390 - 395.

HOPKINS, W. G. **Introduction to Plant Physiology.** 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2000, 512p.

Hussain, S.; Muhammad, A. M.; Zed, R.; Tariq, A. **Biofortification and estimated human bioavailability of zinc in wheat grains as influenced by methods of zinc application.** Science Business. 2012.

Kopittke P. M., Menzies N. W., de Jonge M. D., McKenna B. A., Donner E., Webb R. I., Paterson D. J., Howard D. L., Ryan C. G., Glover C. J., Scheckel K. G., Lombi E.. **In situ distribution and speciation of toxic copper, nickel, and zinc in hydrated roots of cowpea.** *Plant Physiol.* 2011, 156, 663 - 67310.

Phattarakul, N.; Rerkasem, B.; Li, L.; Wu, L.; Zou, C.; Ram, H.; Sohu, V.; Kang, B.; Surek, H.; Kalayci, M.; Yazici, A.; Zhang, F.; Cakmak, I.,. **Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries.** *Plant & Soil*, 2012, 361, 131.

Rengel Z., Batten G. D., Crowley D. E.. **Agronomic approaches for improving the micronutrient density in edible portions of field crops.** *Field Crops Res.* 1999, 60, 27–4010.

Rodrigues, L. A., Souza, A. P., Martinez, H. E. P., Pereira, P. R.G., Fontes, P. C. R. **Absorção e translocação de zinco em feijoeiro aplicado via foliar.** *R. Bras. Fisiol. Veg.* 1997, 9, 111-115.

Seeds, J.; Bewley, D.; Black, M.. **Zinc in Soils and Plants. Developments in Plant and Soil Sciences.** 1994, 1-33.

Taiz, L., Zeiger, E. **Plant Physiology.** 2nd ed. Massachusetts: Sinauer Associates, 1998,792p.

Terzano R., Chami Z. A., Vekemans B., Janssens K., Miano T., Ruggiero P.. **Zinc distribution and speciation within rocket plants (*Eruca vesicaria* L. Cavaliere) grown on a polluted soil amended with compost as determined by XRF microtomography and micro-XANES.** *J. Agric. Food Chem.* 2008, 56, 3222–323110.

Van Steveninck, R. F. M.; Babare, A.; Fernando, D. R.; Van Steveninck, M. E.. **The binding of zinc, but not cadmium, by phytic acid in roots of crop plants.** Plant Soil. 1994, 167, 157–16410.

Wissuwa, M.; Abdelbagi, M.; Cakmak, I.; Graham, R. D. **Rice grain zinc concentrations as affected by genotype, native soil-zinc availability, and zinc fertilization.** Plant and Soil, 2008, 306, 37-48.

Yilmaz, A., Ekiz, H., Torun, B., Gultekin, I., Karanlik, S., Bagci, S. A.; Cakmak, I.. **Effect of different zinc application methods on grain yield and zinc concentration in wheat cultivars grown on calcareous soils with zinc deficiency.** J. Planta Nutr., 1998, 20, 461-471.

Zhanga, Y. Q.; Sunb, Y. X.; Yec, Y. L.; Karima, M. R.; Xuea, Y. F.; Yana, P.; Menga, Q. F.; Cuia, Z. L.; Cakmak, I.; Zhanga, F. S.; Zouquanto, C. Q.. **Zinc biofortification of wheat through fertilizer applications in different locations of China.** See front matter, Elsevier B.V. All rights reserved. Field Crops Research. 2012, 125, 1–7.