UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

DENIS HERISSON DA SILVA

Fitotoxicidade e acúmulo de cádmio (109Cd) em cultivares de feijoeiro caupi e vigna

Piracicaba

2011

DENIS HERISSON DA SILVA

Fitotoxicidade e acúmulo de cádmio (109Cd) em cultivares de feijoeiros comum e vigna

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Takashi Muraoka

Piracicaba

2011

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

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Silva, Denis Herisson da

Fitotoxicidade e acúmulo de cádmio (109Cd) em cultivares de feijoeiros comum e vigna / Denis Herisson da Silva; orientador Takashi Muraoka. - - Piracicaba, 2011.

82 p.: il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Contaminação 2. Feijão 3. Metais pesados 4. Segurança alimentar 5. Toxicologia de alimentos 6. Variedades vegetais I. Título.

CDU 633.33/35:546.48

Aos meus pais Láercio e Setsuko,

Meus irmãos Jean e Láercio Jr.

Em especial à minha querida esposa Leila,

que com amor, carinho, paciência

sempre me ajudou na realização deste trabalho

DEDICO

O maior desalento que passei no final do doutorado foi não entregar a tese ao Mestre e agradecê-lo. Ao Professor Eurípedes Malavolta (in memoriam),

OFEREÇO

Milhares de velas podem ser acesas de uma única vela e a vida da vela não será encurtada. Felicidade nunca diminui quando é compartilhada.

Siddharta Gautama

"... Denis, escrever "muito" é fácil. Poucos conseguem passar a informação em poucas palavras. Se a sua tese parar em pé sobre minha mesa, terá que refazê-la..."

Eurípedes Malavolta

13.08.1926 - 19.01.2008

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela saúde, sabedoria, persistência, oportunidades e conquistas.

Ao Prof. Takashi Muraoka pela orientação, por todo o ensinamento e os momentos agradáveis que passamos juntos.

Ao Prof. Antonio Enedi Boaretto pelo apoio, compreensão e carinho: dentre estágios, mestrado, monitorias, doutorado e os frutos de tudo isso.

Ao Pesquisador Felipe Alvarez Villanueva e o Prof. Milton Ferreira de Moraes pelo precioso auxílio e companheirismo nas análises e idéias que contribuíram na realização deste trabalho.

Aos Laboratórios de Nutrição Mineral de Plantas e Fertilidade do Solo e toda a sua equipe: Prof. Cássio Hamilton Abreu Jr.; Prof. José Lavres Jr.; Biólogas Cleusa Pereira Cabral e Henriqueta M. G. Fernandes.

Ao Programa de Pós-Graduação do CENA/USP, em especial à Prof.ª Adriana Pinheiro Martinelli pelo apoio oferecido durante toda a pós-graduação.

A Associação de Pós-Graduandos do CENA/USP, onde conseguimos idealizar o I Simpósio Científico dos Pós-Graduandos do CENA/USP.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo por todo o apoio obtido: da bolsa concedida durante o primeiro ano de doutorado até o auxílio pesquisa.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Instituto Agronômico de Campinas e o Instituto Agronômico do Paraná que forneceram as sementes para realização dos experimentos.

À Prof^a. Neusa Nogueira e a Bióloga Mônica Lanzoni Rossi pelo apoio na elaboração do material de microscopia e auxílio na operação dos microscópios.

À equipe do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada a Agricultura (NAP-MEPA) pela cessão de uso do microscópio eletrônico de transmissão (MET).

Ao Prof. Pedro Kunihiko Kiyohara do Instituto de Física da USP pela cessão do microscópio eletrônico (TEM-EDAX).

Aos amigos e funcionários do CENA pelos momentos felizes e que contribuíram para a realização de todos os trabalhos: Alzira, Alexandre, Anderson, André, Claúdia, Marcelo, Fábio, Fernanda, Franklin, Fred, Guerreiro, Héctor, João

Salvador, Luís, Marília, Mara, Mário, Michael, Neuda, Raul, Ribeirinho, Robinho, Rodrigo, Sandra, Sônia, Tâmara, Tiago, Thiago, Vera, Vinicius, Vivian, Yamada (e muitos outros que não vejo há tempos) meu agradecimento especial nestes dez anos que passei junto ao CENA/USP.

Aos Engenheiros e Funcionários da Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo - Regional de Piracicaba e suas 15 Casas de Agricultura (SAA-CATI): em especial Basso, Celsa, Chiquinho, Gustavo, Henrique, Regina, Rosana, Sérgio, Sabrina, Simeire, Sturion, Tatiana, Tiago, Vicentão, que pacientemente agüentaram meu estresse durante a elaboração da tese. Prometo estressar menos daqui em diante!

RESUMO

SILVA, D. H. da. **Fitotoxicidade e acúmulo de cádmio (**¹⁰⁹**Cd) em cultivares de feijoeiro comum e caupi**. 2011. 82 f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e caupi [*Vigna ungüiculata* (L.) Walp] são alimentos básicos em muitos países, principalmente no Brasil, sendo uma importante fonte de proteínas, vitaminas e minerais, incluindo ferro e zinco. O cádmio (Cd) é considerado o metal pesado mais preocupante à saúde humana. Não há estudos sobre a variabilidade genotípica quanto a concentração de Cd em diferentes feijoeiros especialmente quando submetidos próximos a concentração limítrofe para intervenção pela CETESB (3 mg kg⁻¹). O objetivo foi determinar e comparar a concentração de Cd em grãos de diversos cultivares de feijoeiros comuns *Phaseolus* vulgaris L. e vigna Vigna ungüiculata L. (Walp.) em vasos de 2,5 dm⁻³ de terra oriunda de um latossolo típico, bem como estudar os efeitos e o acúmulo do elemento em plantas com comportamentos distintos. Os experimentos foram delineados inteiramente ao acaso. No primeiro experimento, sementes de cada espécie (15 variedades de feijoeiro comum e 5 variedades de feijoeiro vigna) foram plantadas em potes sob dois tratamentos: contaminado (3 mg dm⁻³ Cd) e testemunha, em três repetições. O índice SPAD foi medido nas plantas ao final do estádio vegetativo e a avaliação da produção de matéria seca da parte aérea no final do ciclo. As concentrações de Cd em grãos foram determinadas por ICP-MS. Após a seleção dos cultivares com maior e menor acumulação de Cd no grão, este foram replantados em um experimento com 3 tratamentos: 3 mg dm⁻³ Cd + ¹⁰⁹Cd (solo); ¹⁰⁹Cd (solo); 3mg dm⁻³ Cd (solo) + ¹⁰⁹Cd (folha) e cinco repetições. Foram avaliadas a medição da taxa de assimilação de CO₂ in vivo e amostras do limbo foliar foram coletadas para visualização através da técnica de microscopia eletrônica de transmissão. A parte aérea de feijoeiros radiomarcados foram expostas a filmes radiográficos e a contagem referente à atividade do 109Cd foi determinada por espectrometria de cintilação líquida. Resultados: O índice SPAD foi diminuído na maioria dos feijoeiros testados, principalmente nas folhas jovens. A menor e maior concentração de Cd foi observada nos cultivares BR3 Tracuateua (0,6 mg kg⁻¹) and BRS Timbó (2,3 mg kg⁻¹) respectivamente. Em ambos a assimilação de CO₂ foi alterada pela toxicidade de Cd, mas com a presença de deformidades do limbo, clorose e abscisão da folha no BRS Timbó. Os cloroplastos do feijoeiro comum contaminado mostraram abundância de corpos osmiofílicos quando comparado ao vigna. A auto-radiografia confirmou menor transporte de Cd da raiz para a parte aérea pelo feijoeiro vigna e as concentrações deste metal na parte aérea são maiores no caule e nervuras foliares. Comparado ao BR3 Tracuateua, o feijoeiro comum BRS Timbó absorve e transloca maior quantidade de Cd aplicado na folha para o grão, mas contribui muito pouco na concentração total de Cd no feijão.

Palavras-chave: Contaminação. Alimento básico. Cultivares. Metais pesados.

ABSTRACT

SILVA, D. H. da. **Phytotoxicity and accumulation of cadmium (**¹⁰⁹**Cd) in common beans and cowpea cultivars**. 2011. 82 f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and cowpea [*Vigna ungüiculata* (L.) Walp] are a staple foods in many countries, particularly in Brazil, and it is an important source of protein, vitamins, and minerals including iron and zinc. Cadmium (Cd) is a heavy metal considered one of the most hazardous elements for humans. No data are available on the cadmium (Cd) concentration in grain of these species, especially under conditions of CETESB critical limits in soil (3 mg kg⁻¹). The objective were to determine and compare concentrations of Cd in grain of common beans Phaseolus vulgaris L. and cowpea Vigna ungüiculata L. (Walp.) cultivated in 3 L pots with a typical oxysol, as well as to study the effects and accumulation of Cd in plants with distinct comportment. The trials were arranged as randomized design. In the first experiment, seeds of each species (15 common beans and 5 cowpea cultivars) were sowed in pots (3 mg kg⁻¹ Cd and control), replicated three times. The SPAD index was measured in plants at the end of vegetative stage and the dry matter yield were evaluated. Cd concentration in grain was determined by ICP-MS. After the selection of major and minor Cd accumulators, these cultivars were sowed in a new trial with 3 treatments 3 mg dm⁻³ Cd + ¹⁰⁹Cd (soil); ¹⁰⁹Cd (soil); 3 mg dm⁻³ Cd (soil) + ¹⁰⁹Cd (leaves) with five replications. The CO₂ assimilation was measured in vivo. Samples of leaves were collected and the ultrastructure was observed in transmission electronic microscope. The aerial parts of beans plants were exposed to radiographic films and the activity of ¹⁰⁹Cd in was determined by liquid scintillation spectrometry. Results: SPAD index were affected in most of plants tested, especially in young leaves. The minor and major concentration of Cd were observed in BRS Timbó (2,3 mg kg⁻¹) and BR3 Tracuateua (0,6 mg kg⁻¹), respectively. In both cultivars, the CO₂ assimilation was affected by Cd phytotoxicity, but there were leaves deformities, chlorosis and leaf abscision in BRS Timbó. Common bean's chloroplasts showed more osmiophylics globules compared to cowpea. Autoradiography confirmed low translocation root-to-shoot in caupi BR3 Tracuateua and the concentration of Cd was higher in BR3 Timbó, especially in stem and veins of leaves. In comparison to cowpea BR3 Tracuateua, the common bean BRS Timbó absorb and translocate more Cd applied in leaves to grain, but it is inexpressive in total content of Cd in beans.

Keywords: Contamination. Staple food. Cultivars. Heavy metals.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Consumo anual per capita de leguminosas na aquisição alimenta
domiciliar total24
Figura 2 - Feijoeiros phaseolus e vigna do 1° experimento, agrupados por cultivar
fotografados aos 19 dias após a germinação42
Figura 3 - Cultivar BRS Timbó43
Figura 4 - Produção média de matéria seca de folhas de Phaseolus vulgaris L45
Figura 5 - Produção média de matéria seca de caule de Phaseolus vulgaris L45
Figura 6 - Produção média de matéria seca de grãos de Phaseolus vulgaris L46
Figura 7 - Produção média de matéria seca de folhas de Vigna unguiculata L. (Walp
47
Figura 8 - Produção média de matéria seca de caule de Vigna unguiculata L. (Walp
47
Figura 9 - Produção média de matéria seca de grãos Vigna unguiculata L. (Walp) 48
Figura 10 - Teores de Fe, Zn (eixo principal y) e Cd (eixo secundário y)52
Figura 11 - Ultraestrutura celular de células do parênquima lacunoso de Phaseolus
vulgaris BRS Timbó57
Figura 12 - Ultraestrutura celular de células do parênquima lacunoso do feijoeiro
vigna BR3 Tracuateua58
Figura 14 - Auto-radiografia de feijoeiros contaminados com Cd + 109Cd no momento
do desbaste60
Figura 15 - Auto-radiografia de folíolo e folha de feijoeiros contaminados + 109Cd no
estádio V ₂ 63
Figura 16 - Auto-radiografia de parte aérea do feijoeiro BRS Timbó contaminados
com Cd + ¹⁰⁹ Cd no estádio V364
Figura 17 - Auto-radiografia de raízes do feijoeiro BRS Timbó e BR3 Tracuateua
contaminados com Cd + ¹⁰⁹ Cd no estádio V365

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Lista de espécies e cultivares selecionados para o experimento de
variação genotípica no acúmulo de Cd no feijão27
TABELA 2 - Médias dos índices SPAD em feijoeiros <i>Phaseolus vulgaris</i> L37
TABELA 3 - Médias dos índices SPAD em feijoeiros Vigna ungüiculada L (Walp) 38
TABELA 4- Médias dos índices SPAD em feijoeiros Phaseolus vulgaris L (folhas
superiores)38
TABELA 5 - Médias dos índices SPAD em feijoeiros Vigna ungüiculada L (Walp)
(folhas superiores)39
TABELA 6 - Médias dos índices SPAD em feijoeiros <i>Phaseolus vulgaris</i> L (folhas
inferiores)39
TABELA 7 - Médias dos índices SPAD em feijoeiros Vigna ungüiculada L (folhas
inferiores)40
TABELA 8 - Teores de Fe, Zn e Cd (mg kg ⁻¹) na matéria seca de grãos dos
feijoeiros contaminados, determinados por ICP-MS51
TABELA 9 - Médias de concentração e acúmulo de Cd em folhas de feijoeiros
contaminados53
TABELA 10 - Valores de fotossíntese líquida de <i>Phaseolus vulgaris</i> BRS Timbó e
Vigna ungüiculata L (Walp) BR3 Tracuateua55
TABELA 11 - Translocação do Cd aplicado no solo (109Cd) para órgãos das partes
áreas de plantas dos feijoeiros68
TABELA 12 - Absorção e translocação do cd aplicado (109Cd) nas folhas dos
feijoeiros, cultivados em solo contaminado (3 mg dm ⁻³ Cd)69

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Cd na saúde humana	15
2.2 Propriedades do Cd e ocorrências	17
2.3 Cd no solo	17
2.4 Cd na planta	19
2.5 O Feijoeiro	23
2.5.1 O consumo de feijão	23
2.5.2 Os cultivares de feijoeiro	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 Procedimentos comuns aos experimentos	29
3.1.1 Características do solo utilizado	29
3.2 Experimento 1 – Avaliação do acúmulo de Cd entre espécies ou c de feijoeiro	
3.3 Experimento 2	31
3.3.1 Estudo da fitotoxicidade de Cd na assimilação de CO ₂	32
3.3.2 Estudo do efeito do Cd na ultraestrutura celular	32
5.5.2 Estudo do efetio do ou na ultraestrutura cerular	
3.3.3 Estudo da mobilidade de Cd na planta	
	33

3.3.3.3 Aplicação de ¹⁰⁹ Cd na folha (CdF)
3.3.4 Estudo de auto-radiografia
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO
4.1 Índice SPAD
4.2 Descrição dos efeitos de toxicidade de Cd
4.3Produção de matéria seca da parte aérea
4.3.1 Feijoeiros comuns
4.3.2 Feijoeiros vigna
4.4 Concentração de Cd, Zn e Fe
4.5 Concentração de Cd na folhas
4.6 Taxa de Fotossíntese Líquida
4.7 Microscopia Eletrônica
4.8 Auto-radiografia
4.9 Mobilidade do Cd na planta
4.9.1 Absorção e Mobilidade de Cd
4.9.2 Aplicação de ¹⁰⁹ Cd na folha 68
5 CONCLUSÕES
REFERÊNCIAS

1 INTRODUÇÃO

O feijão é um dos alimentos típicos presentes na dieta do Latino Americano e de habitantes de países da África, sendo importante fonte de carboidratos, vitaminas, minerais e fibras, sobretudo para as camadas mais carentes da população. A fome é uma preocupação mundial antiga, que ajudou a promover maior produtividade das culturas. Entretanto o desenvolvimento industrial e a geração de resíduos contaminantes trouxeram uma nova preocupação: produzir mais alimentos e de qualidade.

O conhecimento entre as interações entre plantas e metais pesados é importante não apenas do ponto de vista de segurança do meio ambiente, mas também a de reduzir os riscos associados com a introdução desses elementos na cadeia alimentar. A preocupação quanto ao conteúdo de elementos traços na alimentação humana são voltados aos vegetais que são mundialmente ingeridos em maior quantidade como o arroz, trigo, milho e batata.

Dentre os metais pesados, o Cádmio (Cd) é aquele que mostra maior periculosidade devido ao movimento na cadeia trófica e a severidade dos efeitos nos organismos vivos, mesmo em baixas concentrações. Os estudos sobre os sintomas de toxicidade por Cd no feijoeiro ainda são poucos quando comparados às culturas de maior relevância mundial.

A quantidade total de Cd que entra na dieta humana depende daquela acumulada na parte comestível, que é influenciada pela absorção e o movimento do elemento dentro da planta. Assim, tal estudo não deve se restringir meramente na quantidade absorvida pela planta. Há diversos estudos mostrando variações naturais na absorção, distribuição e acúmulo de Cd entre cultivares de plantas alimentícias. No Brasil, destaca-se a necessidade de maiores estudos no feijoeiro, pois é uma das principais culturas que garantem maior parte das proteínas e dos minerais, especialmente daqueles que fazem do arroz com feijão a dieta principal.

Não existem valores quanto a níveis seguros na ingestão de Cd, mas pode-se afirmar que deve ser evitada toda e qualquer contaminação de metal pesado não essencial. Nos seres vivos em geral, o Cd pode substituir outros nutrientes, prejudicando o metabolismo, ou mesmo as exposições contínuas podem causar efeitos crônicos, devida a sua longa meia vida biológica.

A legislação tem adotado níveis permissíveis de metais no solo de forma a controlar a quantidade de contaminantes presentes nos alimentos. Por outro lado, tanto o melhoramento genético ou a simples utilização de plantas que acumulam menor quantidade de metais nas partes comestíveis podem promover a melhoria da qualidade dos alimentos com a diminuição de metais indesejáveis. Existem poucos trabalhos que relatam a variabilidade genotípica quanto ao acúmulo de Cd em feijoeiro. Mesmo níveis de contaminação considerados aceitáveis em outros países podem gerar risco potencial à saúde humana, especialmente em solos tropicais.

Portanto, a hipótese deste trabalho propôs:

- A variação entre feijoeiros quanto à absorção e transporte de Cd para os grãos;
- 2) A tolerância à fitotoxicidade causada por este contaminante difere entre espécies e entre cultivares;
- 3) Que a mobilidade do Cd não apenas varia entre os feijoeiros, mas também é dependente da condição de contaminação.

Os objetivos do trabalho foram:

- Determinar a concentração de Cd em grãos de 15 cultivares de feijoeiros comuns (*Phaseolus vulgaris* L.) e 5 cultivares de feijoeiros vigna [*Vigna ungüiculata* (L.) Walp] em condições de contaminação próximas à determinada pela legislação vigente;
- Avaliar a fitotoxicidade de Cd pela medição indireta de clorofila e produção de matéria seca da parte aérea;
- 3) Em 2 plantas contrastantes quanto ao acúmulo no grão, descrever os efeitos adversos da fitotoxicidade do Cd, pela medição da taxa de fotossíntese líquida e visualização da ultraestrutura celular da folha;
- 4) Verificar a diferença destas plantas quanto à mobilidade do elemento, utilizando o ¹⁰⁹Cd como traçador isotópico em condição de baixa e alta contaminação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cd e a saúde humana

Produzir alimentos de forma sustentável e garantir o seu acesso à população tem sido um dos grandes desafios da humanidade (BOARETTO, 2009). A ação antropogênica, especialmente pelas atividades industriais ou uso de seus produtos, tem sido responsável pelo aumento substancial da ocorrência de Cd na atmosfera, pela queima de combustíveis fósseis, fabricação de baterias, exploração de jazidas minerais, uso de fertilizantes etc. Um exemplo recente da presença deste metal em produtos industrializados é a ocorrência do contaminante em tintas utilizadas para confecção de brindes, que forçou uma grande empresa de alimentos a fazer *recall* de seus produtos (MEAD, 2010).

É notável a preocupação quanto à contaminação de Cd na agricultura, pois cerca de 70 % do Cd absorvido pelo homem têm origem na ingestão de vegetais (CREWS; DAVIES, 1985; WAGNER, 1993; RAUSER, 1995). Geralmente quando ocorre a poluição de um solo, a sua presença está associado também com outros metais, especialmente o Zn (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001).

A maior eficiência na absorção deste elemento pela inspiração faz com que os fumantes tenham maior entrada de Cd em seu organismo, além da quantidade ingerida pelos alimentos (DEGRAEVE, 1981). O Cd acumula no fígado e nos rins, permanecendo durante décadas no organismo, com potencial embriotóxico, carcinogênico, teratogênico, hepatotóxico e principalmente nefrotóxico e osteodeformante (JIN et al., 2004).

A Organização Mundial de Saúde estipula que a ingestão máxima de Cd por dia não deve ultrapassar 1 μg kg⁻¹ de peso vivo (WHO, 1993). Recentemente o CODEX (2011), considerando a meia vida biológica do Cd no organismo, estipulou a ingestão mensal tolerável de 25 μg Cd por kg de peso corpóreo. Também determinou o teor máximo de Cd nos alimentos de 0,4 mg kg⁻¹ em arroz, soja e amendoim e 1.0 mg kg⁻¹ em moluscos (CODEX, 2005). Para atender tais índices, têm-se recomendado estratégias de seleção e melhoramento vegetal visando a

obtenção de plantas que absorvam e acumulem menores quantidades de metais pesados nas partes comestíveis (ISHIKAWA et al., 2005).

O consumo alimentício de plantas, especialmente "in natura", sem devidas precauções, pode ser perigoso, pois podem estar contaminadas com metais pesados e isto não ser visualmente percebido, ou seja, podem não apresentar sintomas visuais de toxicidade (JULIATTI et al, 2002). A alface é conhecida como planta acumuladora, não sendo sensíveis aos efeitos tóxicos em baixas e médias concentrações de Cd no solo e, além disso, é a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil.

2.2 Propriedades do Cd e ocorrências

O termo "metal pesado" é amplamente utilizado para o grupo de elementos com densidade maior que 6 g cm⁻¹. O termo mais correto, no entanto, seria a utilização "elemento traço", pois do ponto vista biológico, pertencem ao grupo dos halogênios, semimetais e não metais. Muitos deles, em níveis adequados, são elementos essenciais às plantas e animais como, por exemplo, o zinco (Zn), manganês (Mn), cobre (Cu), níquel (Ni). Outros metais, como o Cd, são extremamente prejudiciais às plantas, animais e microrganismos, mesmo em baixas concentrações (Di TOPPI; GABBRIELLI, 1999).

O Cd é um metal pertencente ao grupo B II da tabela periódica, peso atômico 112,4 u, densidade de 8,65 kg dm⁻³ e com ponto de fusão a 321ºC. Na natureza, o Cd possuiu 8 isótopos estáveis com as seguintes abundâncias isotópicas: ¹⁰⁶Cd (1,22 %), ¹⁰⁸Cd (0,88 %), ¹¹⁰Cd (12,39 %), ¹¹¹Cd (12,75 %), ¹¹²Cd (24,07 %), ¹¹³Cd (12,26 %), ¹¹⁴Cd (28,86 %) e ¹¹⁶Cd (7,58 %) (ADRIANO, 2001). O ¹⁰⁹Cd é sintético e radioativo, cuja meia vida estimada é de 462 ± 0,3 dias e decai por captura eletrônica para ¹⁰⁹Ag, emitindo raios gama com energia de 88.03 keV (HUANG et al., 2010). Este isótopo tem sido utilizado em trabalhos que estudam o movimento deste metal em plantas (HART et. al.,1998; CAKMAK et al., 2000a; CAKMAK et al., 2000b), animais (TANAKA et al., 1975; ARANHA et al., 1994), solos e insumos (TREVIZAM et al., 2010).

2.3 Cd no solo

Sua ocorrência natural deve-se ao material de origem (ADRIANO, 2001), com teor médio no solo de 0,53 mg kg⁻¹ (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001). Geralmente nos solos oriundos de rochas ígneas, os teores de Cd variam entre 0,1 a 0,3 mg kg⁻¹, chegando a 11 mg kg⁻¹ nos oriundos de rochas sedimentares (PAGE; BINGAM, 1973). Na solução do solo ocorre principalmente como Cd²⁺ e outros íons complexos em menor quantidade (como o CdCl⁺, CdOH⁺, CdHCO₃⁺, CdCl₃⁻, CdCl₄²⁻, Cd(OH)₃⁻ e Cd(OH)₄²⁻) e quelatos orgânicos (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001).

A concentração de Cd está acima dos níveis naturais na maior parte dos solos agrícolas do mundo devido à aplicação de fertilizantes fosfatados (SATARUG et al., 2003). Entretanto, as quantidades de metais pesados tóxicos adicionadas aos solos pelos fertilizantes são relativamente baixas, pois as doses aplicadas para suprimento dos macro e micronutrientes são baixas (MALAVOLTA, 2006). Quando utilizado o lodo de esgoto como fertilizante, aproximadamente 1% do Cd aplicado é absorvido pelas plantas (ADRIANO, 2001).

Tanto a deposição atmosférica na superfície do solo quanto a aplicação de fertilizantes aumenta a quantidade de Cd no solo ao longo do tempo (HOVMAND, 1983). Uma vez no solo, sua disponibilidade para as plantas pode diminuir com a elevação do pH do solo (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001; GRANT et al., 2008) e isto pode ser realizada através da calagem. A aplicação de calcário reduz a concentração de Cd nas plantas, em especial em condições de desenvolvimento onde o crescimento da raiz é restrito (experimento em vasos). Em condições de campo, a ação do calcário pode ficar restrita na zona que recebe a aplicação deste, pois as pontas das raízes absorvem mais Cd (PIÑEROS; SHAFF; KOCHIAN et al., 1998). A presença de outros elementos, especialmente o cloreto (Cl⁻), aumenta a quantidade de Cd absorvida pelas plantas, principalmente em solos com pH mais baixo (HATTORI et al., 2006).

Além da acidez, os solos tropicais, geralmente mais intemperizados, possuem baixa capacidade de retenção de cátions, o que aumenta a disponibilidade deste metal para a planta (FONTES; ALLEONI, 2006). Quanto à aplicação dos fertilizantes agrícolas, existe atualmente uma ampla faixa de variação nos limites toleráveis de teores deste metal nos produtos (MALAVOLTA, 2006; MALAVOLTA; MORAES et al., 2006).

Nos solos do Estado de São Paulo a concentração de Cd é considerada normal quando abaixo de 0,5 mg kg⁻¹ (valor referência de qualidade). Concentrações de Cd entre 0,5 mg kg⁻¹ e 1,3 mg kg⁻¹ são consideradas prejudiciais à qualidade do solo (valor de prevenção). O valor de 3 mg kg⁻¹ Cd é o limite de intervenção para uso agrícola, classificando o solo como contaminado (CETESB, 2005).

2.4 Cd na planta

O acúmulo de Cd nas plantas varia entre as espécies vegetais e no tipo de alimento consumido. As plantas cultivadas para ao consumo de folhosas e raízes geralmente apresentam maior acúmulo de Cd na parte comestível quando comparada àquelas voltadas à produção de frutos e sementes (ALEXANDER et al. 2006). Entretanto, os alimentos vegetais mais preocupantes quanto ao acúmulo deste metal são aqueles ingeridos em maior quantidade e freqüência, ou seja, os cereais básicos como arroz, trigo, milho e feijão.

Basicamente três processos podem contribuir para uma maior concentração de Cd nos grãos: inicialmente a alta absorção pelas raízes, seguido pela alta translocação da raiz para a parte aérea e/ou posterior redistribuição das folhas e caules para os grãos. Após a absorção, boa parte do Cd permanece na raiz antes mesmo de chegar ao xilema. Além disso, a deposição atmosférica nas folhas pode aumentar direta ou indiretamente a quantidade deste metal nas plantas (BRANQUINHO et al., 2001).

A absorção e a distribuição de metais pesados (essenciais ou não) variam entre plantas de trigo, arroz, soja e girassol, que são culturas atualmente investigadas para seleção de cultivares que acumulam menor quantidade de metais pesados no grão (GRANT et al., 2008).

O termo fitotoxicidade está associado a substâncias potencialmente tóxicas, como os metais pesados, que se acumulam nos tecidos da planta, afetando seu crescimento e desenvolvimento (CHANG et al., 1992). A principal forma de Cd, e também mais significante do ponto de vista biológico, é o Cd²+ que se liga a biomoléculas causando diversos sintomas de fitotoxicidade, muitas vezes através de mecanismos desconhecidos. Essas reações são geralmente produzidas pelo deslocamento do centro catiônico das proteínas, pela alta afinidade dos metais das proteínas, alterando sua atividade e aumentando espécies reativas de oxigênio, criando desequilíbrios nos processos funcionais das plantas. (PERALTA-VIDEA et al., 2009). Sua presença também pode perturbar o equilíbrio de metais no organismo, sendo sua interferência dependente do status nutricional (especialmente cálcio, ferro e zinco) (MOULIS, 2010).

As diferenças genotípicas entre espécies ou cultivares podem determinar o grau de sensibilidade à fitotoxicidade de Cd, bem como apresentar maior potencial de afetar a qualidade do produto final. Os estudos relacionados aos sintomas de deficiência e toxicidade de diversos elementos têm sido descritos visualmente (MARSCHNER, 1995; MALAVOLTA, 2006). As alterações ultraestruturais podem ser inferidas com a técnica de microscopia eletrônica, uma importante ferramenta para o entendimento de alterações em resposta a diversos fatores bióticos e/ou abióticos (EPSTEIN; BLOOM, 2005).

As plantas possuem diversos mecanismos na raiz para evitar a absorção de elementos tóxicos. A capacidade de se desenvolver em solos com alta disponibilidade de Cd está relacionada com a capacidade das raízes em não absorver este elemento, expulsar o Cd para fora da planta ou ainda seqüestrá-los em um compartimento da célula que não cause toxicidade (LUX et al., 2011).

Na presença de metais pesados no solo, a planta pode liberar exsudatos que podem inibir a absorção destes metais (MARSCHNER, 1995), sendo comum a liberação de citrato ou outros carboxilatos para a proteção da raiz, por exemplo, contra o alumínio tóxico (KOCHIAN et al., 2004). Com relação ao Cd, Pinto, Simões e Motta (2008), constataram a liberação de malato pelas raízes de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) e de citrato em raízes de milho (*Zea mays* L.) na solução nutritiva contaminada com este contaminante.

Os íons positivamente carregados (Ex. Cd²⁺, Ca²⁺, K⁺) adentram-se na planta pelo apoplasto, governado pelo fluxo de massa e são retidas por cargas negativas destes grupos carboxílicos que os mantém próximos dos locais de absorção ativa das membranas. Dentre os diversos canais existentes na membrana celular, ao que parece, o do Ca ou Zn pode absorver o Cd devido à similaridade química especificamente quanto ao raio iônico (MOULIS, 2010).

Estudos recentes mostram que o Cd adentra nas células pelas membranas através dos transportadores ZIP (*Zinc Iron regulated transporter-like Protein*) ou através de diversos canais catiônicos do cálcio. Se o Cd estiver quelatado, a absorção para dentro da célula ainda se dá pelo transportador YSL (*Yellow Stripe 1 Like Protein*) (CURIE et al., 2009).

Em gramíneas é comum a liberação de fitosideróforos para a absorção de Fe³⁺ (CURIE et al., 2009), mas que pode promover a absorção de micronutrientes e metais pesados (Zn, Cu, Mn, Ni e o Cd) (SHENKER et al., 2001). Entretanto a

ligação do Cd com fitosideróforos são fracas, muitas vezes impedindo a sua absorção pela planta (MEDA et al., 2007).

A presença do Cd no meio de cultivo acelera a maturação da endoderme radicular, através da suberização e lignificação, protegendo a planta da absorção excessiva deste metal. Assim, a entrada de Cd no xilema é significantemente reduzida (LUX et al., 2011). Tanto a absorção de Cd pela raiz quanto a translocação de Cd da raiz para a parte aérea variam significativamente entre espécies (CAKMAK et al., 2000a). O movimento do Cd da raiz para a parte aérea se dá pelo xilema e é governado pelo fluxo transpiratório (HART et al., 1998).

Este elemento, quando depositado na folha, através da atmosfera pode ser absorvido e distribuído na planta (HOVMAND et al., 1983; PANDEY; PANDEY; SHUBHASHISH, 2009). A quantidade de Cd na folha distribuída para os grãos pode ser maior ou menor dependendo do genótipo (HART et al., 1998; CAKMAK et al., 2000a). Tais mecanismos somados têm elevado os teores de Cd em grãos, sobretudo trigo e arroz atingido valores acima da quantidade permitida pela legislação de diversos países.

Diversos estudos mostram que os metais pesados são capazes de causar estresses oxidativos tanto diretamente produzindo espécies reativas de oxigênio (ROS), como indiretamente, inativando o sistema antioxidante da célula. Tal situação de estresse oxidativo também causa diversas reações com várias biomoléculas, como proteínas, ácidos nucléicos e lipídios (BENAVIDES; GALLEGO; TOMARO, 2005), em especial no caso do Cd (FOYER et al., 1997). As plantas possuem mecanismos para inativar estes ROS através de enzimas como a dismutase de superóxido (SOD), catalase (CAT), redutase de glutathiona (GR). Tais enzimas foram afetadas pela presença do Cd em soja (*Glycine max* L.) (MUNOZ et al., 2006).

A catalase é uma proteína que está entre os principais antioxidantes das células vegetais: catalisa a conversão do H₂O₂ a água e O₂ e sua atividade diminui em folhas e raízes de feijoeiro comum tratados com Cd (CHAOUI et al., 1997). Grupos de peptídeos ricos em enxofre denominados fitoquelatinas (PCs) são hábeis em complexar o Cd e outros metais pesados inativando o efeito tóxico deste metal dentro das células (COBBETT, 2000).

O processo fotossintético é sensível ao efeito do Cd, pela inibição da biossíntese de clorofila, interferência no processo de transporte de elétrons entre os dois fotossistemas e alteração das taxas de evolução de oxigênio (DAS et al., 1997).

Apesar da grande variabilidade entre as espécies de vegetais existentes, as reações metabólicas como a fotossíntese, a transpiração e a biossíntese de clorofila são relativamente semelhantes nos diversos vegetais.

Alterações nestas variáveis podem ser comparativamente quantificadas *in vivo* por meio do uso de analisadores de gás por infravermelho (IRGAs) e medidores de clorofila (SPAD). O índice SPAD apresentou alta correlação com o método de determinação do teor de clorofila total em extrato cetônico quando utilizado para avaliar os efeitos da toxicidade de Cd em tomateiro (SOUZA, 2003).

2.5 O Feijoeiro

2.5.1 O consumo de feijão

O feijão comum é um dos principais alimentos presentes na dieta do Latino Americano e importante fonte de proteínas, vitaminas, fibras e sais minerais, em especial o ferro (Fe) e zinco (Zn) (MESSINA, 1999; TRUGO et al., 2000). No Brasil, o feijão comum constitui importante fonte de proteína vegetal, sobretudo nas camadas mais pobres, com consumo anual de 9,5 kg *per capita*. Atualmente, os principais grupos comerciais consumidos são o feijão carioca e o feijão preto (feijões comuns), que correspondem a 40 e 21% do total consumido (Figura 1).

No Nordeste, o feijão preferido é o caupi (vigna) que assume uma expressiva importância sócio-econômica no cenário da agricultura nordestina, tanto no que diz respeito à sua extensa área cultivada, como na oferta de proteína vegetal de baixo custo (FREIRE FILHO et al. 2005). Esta leguminosa também está presente na dieta de países africanos e fornece quantidades importantes de tiamina, riboflavina e niacina (PHILLIPS et al. 2003).

Apesar da cultura do caupi ser tradicionalmente explorada em pequena escala, tem-se observado nos últimos anos o interesse de produtores que praticam a agricultura empresarial. O destaque na produção deste tipo de feijão está em áreas de pivô central no Oeste da Bahia, com lavouras totalmente mecanizadas (FREIRE FILHO et al., 2005).

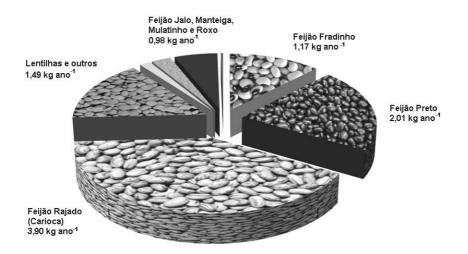


Figura 1 - Consumo anual *per capita* de leguminosas na aquisição alimentar domiciliar total – período de 2008 a 2009 (adaptado de IBGE, 2010).

2.5.2 Os cultivares de feijoeiro

Os programas de melhoramento do feijoeiro comum do Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR) e Instituto Agronômico de Campinas (IAC) têm dado ênfase ao alto potencial de rendimento, resistência às doenças, tolerância aos fatores abióticos e qualidade culinária (MODA-CIRINO, 2009; CARBONELL; CHIORATO, 2009). A resistência aos patógenos, especialmente ao vírus do mosaico comum consagrou o grupo Carioca (MATOS; RAMALHO; ABREU, 2007). Entretanto, sabe-se que um terço da população mundial vive em países com alto risco de deficiência de micronutrientes (HOTZ; BROWN, 2004), o que tem tornado os programas de biofortificação destaques na comunidade internacional (BOUIS, 1999), mas que é incipiente frente à atual seleção de feijoeiros recomendáveis do ponto de vista técnico e econômico.

O IAC lançou em 2005 quatro novas variedades de feijoeiro comuns resistentes a antracnose, ferrugem, murcha de *Fusarium ssp.* e vírus do mosaico: os feijoeiros cariocas IAC Votuporanga, IAC Ibaté e IAC Apuã, e o feijão preto IAC Tunã. Tais variedades apresentam alto potencial produtivo, uma vez que tais doenças são os fatores que mais tem limitado a produção desta cultura. O material

Carioca 80-SH tem apresentado alta estabilidade fenotípica (CARBONEL; POMPEU, 2000) além de ser considerada uma planta utilizada como testemunha em vários ensaios.

Antigo quando comparado com os demais cultivares, o feijoeiro comum carioca IAPAR-81 é recomendado desde 1997 e é adaptado ao sistema orgânico de cultivo. Do mesmo tipo comercial, o IPR Saracura apresenta resistência às principais doenças e tem excelente aspecto comercial. O IPR Colibri é um cultivar de ciclo precoce e porte ereto, apresentando rápido fechamento de entrelinhas, sendo ótimo para o controle de plantas daninhas, mas é suscetível às principais doenças desta cultura, exceto ao mosaico comum (IAPAR, 2008). O BRS Pontal foi lançado por apresentar maior resistência à antracnose e por possuir maior potencial de rendimento de grãos (EMBRAPA, 2006).

Dentre os feijoeiros comuns de tegumento preto, o IPR Uirapuru é relativamente eficiente em condições de baixa disponibilidade de fósforo, com boa tolerância ao estresse hídrico e à alta temperatura no estádio reprodutivo. O IPR Graúna é resistente à ferrugem e oídio, mas suscetível à antracnose. Já o BRS Grafite apresenta resistência a alguns patógenos de antracnose, mas é suscetível ao mosaico dourado (EMBRAPA, 2003a). O IAC Maravilha, quando comparado ao Carioca 80SH, apresenta maior teor protéico, com resistência aos patógenos da antracnose, da ferrugem e do mosaico comum (POMPEU, 1997).

Dentro do grupo comercial roxinho, o cultivar de feijão BRS Timbó tem se destacado pelo seu potencial produtivo, excelente qualidade culinária, resistência às principais doenças e o potencial para produção de um feijão para um mercado específico (EMBRAPA, 2003b).

O BRS Marfim apresenta suscetibilidade ao crestamento bacteriano-comum e é indicado aos produtores interessados em produzir feijão do tipo grão mulatinho nos Estados da Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba, Ceará e Goiás (EMBRAPA, 2002a).

Pertencente ao grupo comercial rosinha, o BRS Vereda apresenta um tipo de grão diferenciado dos tradicionais carioca e preto, ofertando alternativa de escolha ao consumidor final. Nos ensaios de campo, apresentou resistência à ferrugem, reação intermediária à mancha angular e suscetibilidade ao crestamento-bacteriano-comum (EMBRAPA, 2002b).

O feijoeiro caupi (*Vigna ungüiculata* (L.) Walp.) também é conhecido como feijão fradinho, de praia, de rama, macassar ou feijão de corda. De origem nordestina, foi introduzido na região norte do país (Amazônica) a partir do século XVIII. Geralmente é caracterizado como cultura de subsistência, sendo cultivado em praias e barrancas dos rios, logo após a vazante ou em roçados de terra firme, em sucessão aos cultivos de arroz e milho. Em termos nutricionais o feijão caupi é superior aos feijões comuns, além de ter um custo de produção mais baixo, que justifica uma maior divulgação de sua importância alimentar para diversas regiões carentes (MARINHO; PEREIRA; COSTA, 2001).

O cultivar BR17 Gurguéia é resultado do cruzamento dos cultivares BR-Piauí e CE315, originado no Laboratório de Genética da ESALQ-USP em 1986 (EMBRAPA, 2003c) Em ensaios de campo, a produtividade do vigna BRS Marataoã foi superior ao BR17 Gurguéia nos Estados da Bahia (1,9%), Piauí (8,6%), e Paraíba (12,0%). Assim como o BR17 Gurguéia, também apresenta resistência ao mosaico-severo-do-caupi (*cowpea severe mosaic vírus* - CSMV) (FREIRE FILHO et al., 2005).

O vigna BRS Guariba é recomendado para a região do meio norte do país, apresentando resistência às principais doenças da cultura, exceto a mela (*Rhizoctonia solani*) e mosaico severo (EMBRAPA, 2004). O vigna BR3 Tracuateua foi lançado pela atual Embrapa Amazônia Oriental em 1984 e difundido no Estado do Pará. Com o passar do tempo, este feijoeiro foi acumulando variações das suas características que demandaram um trabalho de melhoramento genético, resultando no material BR3 Tracuateua purificada (EMBRAPA, 2005a).

Com a demanda de cultivares mais produtivos, uniformes e de porte mais ereto, foi realizado um trabalho de seleção sobre o BR3 Tracuateua na região bragantina (Estado do Pará) que resultou no cultivar BRS Milênio. Embora mais produtivo e resistente a fatores abióticos que o BR3 Tracuateua, é igualmente suscetível às principais doenças (EMBRAPA, 2005b).

A tabela a seguir resume as características de cada cultivar (Tabela 1)

Tabela 1 - Lista de espécies e cultivares selecionados para o experimento de variação genotípica no acúmulo de Cd no feijão

cultivar	grupo comercial	hábito de crescimento	Região indicada para plantio	ciclo médio (dias)	produção média (kg ha ⁻¹)			
Phaseolus vulgaris L.								
IPR Saracura	carioca	Ind. Tipo II	Paraná	88	2358			
IPR Colibri	carioca	Determ. Tipo I	Paraná	67	2262			
BRS Pontal	carioca	Ind. Tipo III	MS, MT, GO e MG	87	2747			
Carioca 80SH	carioca	Ind. Tipo III	São Paulo	98	2179			
IAC Votuporanga	carioca	Indeterminado	São Paulo	90	2853			
IAC Ibaté	carioca	Indeterminado	São Paulo	90	2778			
IAPAR 81	carioca	Ind. Tipo II	Paraná	92	2163			
BRS Grafite	preto	Ind. Tipo II	RJ, GO, MG, DF	90	2733			
IPR Uirapuru	preto	Ind. Tipo II	Paraná	86	2407			
IAC Maravilha	preto	Indeterminado	São Paulo	98	1966			
IPR Graúna	preto	Ind. Tipo II	Paraná	86	2369			
IAC Tunã	preto	Indeterminado	São Paulo	90	2806			
BRS Marfim	mulatinho	Ind. Tipo II	Reg. Nordeste e GO	89	1844			
BRS Vereda	rosinha	Ind. Tipo II	Centro Oeste	93	2397			
BRS Timbó	roxinho	Ind. Tipo II	MS, MT, GO e MG	87	2163			
Vigna ungüiculata L. (Walp)								
BR3 Tracuateua	caupi	Indet. prostrado	Reg. Norte	70	1435			
BRS Milênio	caupi	Indet. semi prost.	Reg. Norte	75	1400			
BR17 Gurguéia	caupi	Indet. prostrado	Reg. Nordeste	75	1694			
BRS Marataoã	caupi	Indet. semi prost.	Reg. Nordeste	75	1807			
BRS Guariba	caupi	Indeterminado	Reg. Norte	70	1508			

O crescimento do feijoeiro é dividido em duas fases sucessivas: vegetativa e reprodutiva. A fase vegetativa compreende os estádios V0 (germinação); V1 (emergência); V2 (folhas primárias); V3 (primeira folha trifoliada); V4 (terceira folha trifoliada). A fase reprodutiva é definida pelos estádios: R5 (pré-floração); R6 (floração); R7 (formação de vagens); R8 (enchimento de vagens); R9 (maturação) (FERNÁNDES; GEPTS; LÓPES; 1986).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Procedimentos comuns aos experimentos

3.1.1 Características do solo utilizado

Os estudos foram realizados em vasos contendo 3 dm³ de terra fina seca ao ar (TFSA), peneiradas (2mm) e homogeneizadas. A terra foi coletada na camada de 0 a 20 cm de um nunca cultivado, pertencente ao Instituto de Zootecnia de Nova Odessa - SP, classificado como LATOSSOLO VERMELHO AMARELO distrófico típico (SANTOS et al., 2006), textura média.

Realizou-se uma amostragem composta para a determinação de macro, micronutrientes e % de areia, silte e argila, cujos valores encontrados foram: pH: 3,9; M.O. 17 g dm⁻³; P: 2 mg dm⁻³ (Resina); S: 1; K: 0,3; Ca: 15; Mg: 3; Al: 6 e H+Al: 38 (mmolc dm⁻³); SB: 18,3 e T: 56,3 (%); V: 33; m: 25. Micronutrientes e outros metais: B: <0,1; Cu: 0,8; Fe: 84; Mn: 1,9; Zn: 0,8; Ni: 0,02; Cd: < 0,01; Cr: 0,01; Pb: 0,90 (mg dm⁻³) e a análise granulométrica: Areia: 61; Silte: 7 e Argila: 32 (%), conforme metodologias propostas por Raij et al. (2001) e Embrapa (2007).

A calagem da terra foi realizada para elevar a saturação de bases a 70% (RAIJ et al.,1996) através da aplicação de uma mistura de Carbonato de Cálcio e Carbonato de Magnésio (razão 1:1). Após trinta dias de incubação, os tratamentos contaminados receberam 3 mg dm⁻³ Cd na forma de CdCl₂.2,5H₂O, em 50 mL de água.

Após 20 dias, todos os vasos receberam a adubação de base com aplicação de: N: 50 mg dm⁻³; P: 150 mg dm⁻³; K: 50 mg dm⁻³ através da dissolução de NH₄H₂PO₄ e KH₂PO₄ P.A. e 1/10 da concentração de micronutrientes da solução nutritiva de Johnson (JOHNSON et al., 1957) obtida pela dissolução de H₃BO₃; CuSO₄.5H₂O; MnSO₄.H₂O; H₂MoO₄.H₂O; ZnSO₄.7H₂O; NiSO₄.6H₂O; CoCl₂.2H₂O em 150 mL de água.

A adubação de cobertura foi realizada no estádio V_4 : N=50 mg dm⁻³; P=50 mg dm⁻³; S=25 mg dm⁻³, através da dissolução de KNO_3 e $(NH_4)_2SO_4$. Os defensivos agrícolas imidacloprido e promicidona foram utilizados para o controle de insetos, ácaros e prevenção de doenças.

Os experimentos foram realizados na Casa de Vegetação do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (Universidade de São Paulo) latitude S 22º42'30", longitude W 47º38'01", altitude: 554m distribuídos de forma inteiramente casualizados.

3.2 Experimento 1 - Avaliação do acúmulo de Cd entre espécies ou cultivares de feijoeiro

Foram utilizados dois tratamentos (testemunha e contaminado com 3 mg kg⁻¹ de Cd na forma de CdCl₂.2,5H₂O, em 50 mL de água) e três repetições. Realizou-se o plantio de 6 sementes e efetuou-se o desbaste após 15 dias, mantendo-se 3 plantas por vaso. Os vasos foram regados diariamente com água deionizada.

Foram utilizados quinze cultivares de feijoeiro comuns (Carioca 80 SH, IAC-Votuporanga, IPR Grauna, IAPAR-81, IPR Uirapuru, IAC-Ibaté, IPR Saracura, BRS Pontal, IPR Colibri, IAC MARAVILHA, IAC-Tunã, BRS Grafite, BRS Timbó, BRS Marfim, BRS Vereda) e cinco cultivares de feijoeiro vigna (BR3 Tracuateua, BR17 Gurguéia, BRS Marataoã, BRS Guariba e BRS Milênio). O critério utilizado para escolha destes cultivares foram: a) potencial de utilização; b) região de demanda; c) tipo de tegumento; d) hábito de crescimento; e) antiguidade; f) disponibilidade.

Os teores de clorofila total foram determinados, *in vivo* usando-se o clorofilômetro Soil Plant Analysis Development (SPAD-502 Minolta Chlorophyll Meter) no final do estádio fisiológico V₄. As medidas foram realizadas em folhas superiores e inferiores, três medições por folha, uma por folíolo. Definiu-se como folha superior a primeira formada abaixo do ápice, também considerada como folha diagnóstica por Malavolta et al. (1997) e a folha inferior sendo a segunda folha trifoliada, não senescente, a partir do colo da planta.

Ao término do ciclo de cada cultivar, a parte aérea das plantas foram colhidas e separadas em vagens, grãos, ramos e folhas. Realizou-se a secagem do material

em estufa a 60 ℃ por três dias, até atingir peso constante, quando foram pesadas e moídas em moinho de facas (Wiley) para determinação química. Adicionou-se 0,5 g de material moído em cadinho de porcelana e incinerou-se em mufla a 500 ℃ por duas horas. O material foi transferido para tubo tipo falcon com 25 mL de solução de HNO₃ ultra purificada. O teor de Cd no grão foi determinado por Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). O teor de Cd das folhas foi determinado através da técnica de espectrometria de absorção atômica (UV-VIS), com 1g de material digerido em sistema aberto (nítrico-perclórico), diluído em 10 mL de água deionizada.

Os dados referentes às concentrações de Cd na semente e índice SPAD foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott (1974). A média de produção de matéria seca dos cultivares foram comparados pelo teste de Tukey (p<0,05). As análises contaram com o auxílio do programa estatístico ASSISTAT® versão 7.6.

3.3 Experimento 2

Os feijoeiros BRS Timbó e BR3 Tracuateua foram selecionados para o segundo experimento por apresentar maior e menor concentração de Cd nos grãos respectivamente.

Para cada feijoeiro, definiram-se 4 tratamentos: Aplicação de ¹⁰⁹Cd no solo + 3 mg dm⁻³ de Cd (CdSC); Aplicação de ¹⁰⁹Cd no solo (CdS); Aplicação de ¹⁰⁹Cd na folha (CdF); Testemunha (T), com cinco repetições. Os tratamentos CdF (5 dias antes da aplicação do radioisótopo) e T foram utilizados para medição da taxa de assimilação de CO₂ e para a coleta de amostras de limbo foliar para análise através de microscopia eletrônica de transmissão.

Para o manuseio do material, foram tomados cuidados especiais, como o uso de equipamentos de proteção individual (luvas descartáveis, óculos com chumbo, máscara de proteção e jaleco de manga longa), anteparo de acrílico. Toda a área foi monitorada com o detector tipo Geiger Müller.

3.3.1 Estudo da fitotoxicidade de Cd na taxa de assimilação de CO₂

As medições da taxas de assimilação de CO₂ foram realizadas nas folhas diagnósticas dos feijoeiros BRS Timbó e o BR3 Tracuateua, nas 5 repetições dos tratamentos com e sem aplicação de Cd no solo, com um analisador de gás por infravermelho (LI6400, LI-Cor Inc, Nebraska, USA), utilizando sistema aberto.

As medições foram realizadas em grupos, sempre das 9:00 até as 11:30h da manhã, sob uma intensidade luminosa controlada de 1000 μmol m⁻² s⁻¹ e temperatura de 25°C, 15 medições por folha, 5 em cada folíolo, com fluxo de ar de 350 μmol s⁻¹. A área foliar preencheu toda a abertura da câmara, de modo que todas as medições foram realizadas em 6 cm². Os dados foram anotados após a estabilização do coeficiente de variação das medidas apresentadas pelo aparelho (abaixo de 1%).

O cálculo realizado pelo sistema para determinar a fotossíntese (taxa de assimilação de CO₂) foi através da equação I:

$$A = \frac{ue \times ce - ua \times ca}{L} \tag{I}$$

Em que:

A: é a taxa de assimilação de CO₂ (mol CO₂ m⁻² s⁻¹);

ue: é o fluxo de ar na entrada do sistema (mol s⁻¹);

ce: é a concentração de CO₂ na entrada do sistema (mol mol⁻¹);

ua: é o fluxo de ar na saída do sistema (mol s⁻¹);

ca: é a concentração de CO₂ na saída do sistema (mol mol⁻¹);

L: é a área da folha (m²).

3.3.2 Estudo do efeito do Cd na ultraestrutura celular

No dia seguinte, após a medição da taxa de assimilação de CO₂, foram coletadas amostras do limbo de folhas novas e folhas velhas (considerando a mesma ordem de inserção do pecíolo) dos feijoeiros BRS Timbó e o BR3 Tracuateua, dos tratamentos com e sem adição de Cd. Pequenas tiras de limbo, da

mesma região foram recortadas, fixadas, contrastadas em bloco com acetato de uranila, desidratadas em séries crescentes de solução de acetona e incluídas em resina Spurr. Através de um ultramicrótomo, utilizando-se navalha de diamante, foram obtidas secções ultrafinas, e colocadas em telas de cobre de 300 mesh, recobertas com *formvar* e submetidas à dupla coloração, utilizando-se solução aquosa de acetato de uranila, e solução de citrato de chumbo.

O material foi visualizado no microscópio eletrônico de transmissão Zeiss EM 900 do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada a Agricultura (ESALQ-USP). A microanálise de raios X foi realizada no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Física Geral no Instituto de Física da USP, em São Paulo com o uso do microscópio de transmissão Philips CM200. A descrição dos efeitos ultraestruturais da toxicidade de Cd foi realizada através de comparação das fotografias obtidas no microscópio de transmissão, dos espécimes obtidos nos tratamentos contaminados e testemunhas.

3.3.3 Estudo da mobilidade de Cd na planta

Em cada vaso foram plantadas 6 sementes e desbastadas após 15 dias (estádio V1), mantendo-se 3 plantas . O radioisótopo 109 Cd utilizado (Eckert & Ziegler Isotope Products) foi adquirido com a atividade inicial de 1mCi (37MBq) na forma de CdCl2 em 0,1M HCl. Após o ciclo de cada cultivar, o material vegetal foi colhido, seco em estufa a 60°C por três dias, até atingir peso constante, pesado e moído em moinho de facas. Uma amostra do material (1g) foi digerida em solução de ácido nítrico e ácido perclórico, aquecido a 270°C e completado 10 ml de água deionizada. Foi retirado uma aliquota de 1mL, transferido para o frasco de cintilação e adicionado 5mL de solução cintiladora (PPO/POPOP) e homogeneizado. O material foi analisado através da técnica de cintilação líquida do Laboratório de Fertilidade do Solo do CENA/USP e o teor total dos grãos através de ICP-MS (digestão aberta) e nas folhas e caules através de Espectrometria de Absorção Atômica.

A atividade referente à utilização do ¹⁰⁹Cd na terra, ao término dos experimentos, foi inferior à permitida (74 KBq kg⁻¹) permitindo seu descarte como lixo comum. Os resíduos de material vegetal com atividade superior a 2 μCi kg⁻¹ (74 KBq kg⁻¹) e as soluções contendo este radioisótopo foram tratados de acordo

com o estabelecido no Plano de Segurança e proteção Radiológica do Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas.

3.3.3.1 Aplicação de ¹⁰⁹Cd no solo (CdS)

Neste tratamento, sem adição de Cd, a relação isotópica do Cd da terra contida nos vasos (2,5 dm³) foi alterada mediante adição de 100 mL de solução aquosa contendo 6,5 μCi (240,5 kBq) de ¹⁰⁹Cd, equivalente a 2 μCi kg⁻¹ (74 kBq kg⁻¹).

3.3.3.2 Aplicação de ¹⁰⁹Cd + 3 mg dm⁻³ Cd no solo (CdSC)

Foi adicionado 100 mL de solução aquosa contendo 7,5 mg de Cd marcado com 6,5 μ Ci (240,5 kBq) de 109 Cd, equivalente a 2 μ Ci kg $^{-1}$ (74 kBq kg $^{-1}$). A aplicação foi realizada dez dias antes do plantio.

3.3.3.3 Aplicação de ¹⁰⁹Cd na folha (CdF)

A aplicação de ¹⁰⁹Cd nas folhas foi realizada no início do estádio reprodutivo, com bastonete de algodão embebido em solução com 10,63 μCi mL⁻¹ (393,3 KBq) de ¹⁰⁹Cd e 0,0053 μg Cd. Para determinar a quantidade de solução aplicada, o bastonete foi pesado antes e depois da aplicação nas folhas, abaixo da altura da inserção das flores.

O acúmulo de Cd na parte avaliada foi determinado pela equação II.

$$CdA = C \times PMS \tag{II}$$

Em que:

CdA = quantidade acumulada de Cd (µg)

C = concentração de Cd em peso seco (µg g⁻¹)

PMS = produção de matéria seca (g)

A porcentagem de Cd translocado da fonte de aplicação para o órgão em estudo foi determinada através da equação III:

$$\%Cdpc = \frac{Ad}{Af} \times 100 \tag{III}$$

Sendo:

Cdpc = porcentagem de Cd proveniente do contaminante solo (CdSC ou CdS)
ou folha (CdF);

Ad = Atividade específica do Cd no órgão em estudo (cpm mg⁻¹ de Cd);

Af = Atividade específica da fonte de Cd adicionada no solo (CdSC ou CdS) ou folha (CdF) (cpm mg⁻¹ de Cd).

E a quantidade de Cd proveniente do contaminante através da equação IV:

$$Cdpc = \frac{\%Cdpc}{100} \times CdA \tag{IV}$$

Em que:

Cdpc = quantidade de Cd proveniente da contaminação (ug)Cdpc = porcentagem de Cd proveniente do contaminanteCdA = quantidade acumulada de Cd no tecido (ug);

Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas entre os dois cultivares pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, quando F foi significativo.

3.3.4 Estudo de auto-radiografia

Esta técnica ilustra a localização do Cd na planta, uma vez que o ¹⁰⁹Cd utilizado emite radiações que são capazes de marcar o filme fotográfico. O contraste é proporcional à quantidade de ¹⁰⁹Cd presente.

Preparou-se para cada cultivar dois vasos adicionais de 1 dm⁻³ com 4 μCi de ¹⁰⁹Cd + 3 mg dm⁻³ de Cd. Em cada vaso foi plantado 3 sementes e 5 dias após a germinação procedeu-se o desbaste, mantendo-se uma planta por vaso. Parte do material desbastado foi utilizado para verificar a diferença de absorção do Cd radiomarcado logo no início do crescimento. As plantas foram colhidas no estádio V3, com separação das raízes e submetidas a sucessivas imersões em água deionizada. Cada material foi colocado em uma prensa de herbário e seco lentamente, durante uma semana, com trocas de papel absorvente.

O material vegetal seco foi fixado em papel A4 e colocado em contacto direto com o filme de raios-X AGFA Ortho CP-G Plus 24x30 cm e introduzido num envelope preto, no interior de uma câmara escura. Transcorrido o tempo de 30 dias, o filme de raios-X foi revelado, escaneado e transformado em imagem monocromática.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Índice SPAD

Em virtude da diferença entre a intensidade de cor das folhas dos feijoeiros vigna e phaseolus (observados nas testemunhas) os dados obtidos nestes dois grupos foram analisados separadamente.

A maioria dos feijoeiros apresentou redução do índice SPAD devido a fitotoxicidade de Cd. Considerando a média obtida em folhas inferiores e superiores, foi constatada diminuição significativa do índice em 10 cultivares de feijoeiro comum (IPR Graúna, Carioca 80-SH, BRS Marfim, IAC Votuporanga, BRS Pontal, BRS Vereda, IPR Saracura, BRS Timbó, IPR Colibri e IAC Tunã) (Tabela 2) e 3 cultivares do feijoeiro vigna (BRS Marataoã, BRS Milênio e BR17 Gurguéia) (Tabela 3).

Tabela 2 - Médias dos índices SPAD em feijoeiros Phaseolus vulgaris L.

cultivar	testemunha	contaminado
IAC MARAVILHA	41,28 bcA	41,71 aA
BRS GRAFITE	42,04 abcA	41,58 abA
IPR GRAUNA	45,92 aA	41,43 abB
Carioca 80 SH	43,76 abA	39,02 abcB
IAPAR-81	38,20 cA	38,85 abcA
IPR UIRAPURU	38,86 cA	38,55 abcA
IAC IBATE	40,04 bcA	38,10 abcA
BRS MARFIM	41,55 bcA	37,43 bcdB
IAC VOTUPORANGA	41,48 bcA	36,91 cdeB
BRS PONTAL	40,66 bcA	36,89 cdeB
BRS VEREDA	38,48 cA	35,17 cdeB
IPR SARACURA	40,55 bcA	35,08 cdeB
BRS TIMBÓ	38,53 cA	33,73 defB
IPR COLIBRI	41,24 bcA	32,75 efB
IAC TUNÃ	38,11 cA	30,82 fB

Valores seguidos de mesmas letras maiúsculas na mesma linha e minúsculas na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 %. F=4,66 (p< 0.01)

Tabela 3 - Médias dos índices SPAD em feijoeiros Vigna ungüiculada L. (Walp).

cultivar	testemunha	contaminado
BRS MARATAOÃ	53,62 aA	48,57 aB
BRS GUARIBA	48,91 abA	48,00 aA
BR3 TRACUATEUA	48,68 abA	46,14 abA
BRS MILÊNIO	49,63 abA	43,01 bB
BR17 GURGUEIA	46,41 bA	41,88 bB

Valores seguidos de mesmas letras maiúsculas na mesma linha e minúsculas na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 %.DMS para colunas: 4,98 (letras minúsculas); DMS para linhas: 2,65 (letras maiúsculas). F= 2,90 (p< 0.05)

O efeito da fitotoxicidade deste elemento foi mais pronunciado em folhas superiores (mais novas), afetando 10 cultivares de feijoeiro comum (BRS Grafite, BRS Marfim, IAC Votuporanga, Carioca 80-SH, BRS Vereda, BRS Pontal, IPR Saracura, BRS Timbó, IPR Colibri e IAC Tunã)(Tabela 4). Houve redução não significativa em todos os cultivares do feijoeiro vigna, exceto o BRS Guariba (Tabela 5).

Tabela 4 - Médias dos índices SPAD em feijoeiros *Phaseolus vulgaris* L (folhas superiores).

cultivar	testemunha	contaminado
IPR GRAUNA	42,39 aA	41,36 aA
IAC MARAVILHA	41,92 abA	40,87 abA
IAC IBATE	38,16 abcdefA	36,92 bcA
BRS GRAFITE	39,95 abcdA	36,73 bcB
BRS MARFIM	39,47 abcdA	36,54 cdB
IAPAR-81	34,74 fA	35,03 cdeA
IAC VOTUPORANGA	41,77 abA	34,88 cdeB
IPR UIRAPURU	35,84 defA	34,64 cdeA
Carioca 80 SH	40,78 abcA	34,03 cdefB
BRS VEREDA	37,83 bcdefA	32,41 defgB
BRS PONTAL	35,20 efA	31,70 efgB
IPR SARACURA	37,32 cdefA	30,38 fghB
BRS TIMBÓ	36,94 cdefA	29,62 ghB
IPR COLIBRI	39,40 abcdeA	28,52 ghB
IAC TUNÃ	37,28 cdefA	26,80 hB

Valores seguidos de mesmas letras maiúsculas na mesma coluna e minúsculas na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 %.DMS para colunas: 4,23 (letras minúsculas); DMS para Linhas: 2,64 (letras maiúsculas). F= 7,03 (p< 0.01)

Tabela 5 - Médias dos índices SPAD em feijoeiros Vigna ungüiculada L. (folhas superiores).

cultivar	testemunha	contaminado
BRS MARATAOÃ	48,40	46,83
BRS GUARIBA	45,85	46,03
BR3 TRACUATEUA	41,27	40,67
BR17 GURGUEIA	41,11	38,64
BRS MILÊNIO	42,16	37,13
		F-1 21 (não significativo)

Entretanto os efeitos da toxicidade de Cd em folhas inferiores afetaram somente 6 dos 15 cultivares de feijoeiro phaseolus analisados (BRS Pontal, IPR Graúna, IPR Saracura, BRS Marfim, IPR Colibri e IAC Tunã) (Tabela 6). Todas as médias obtidas em folhas inferiores dos feijoeiros vigna contaminados foram menores que as testemunhas, mas não significativos (Tabela 7).

Tabela 6 - Médias dos índices SPAD em feijoeiros Phaseolus vulgaris L (folhas inferiores).

1.1		
cultivar	testemunha	contaminado
BRS GRAFITE	44,12 abcdA	46,42 aA
Carioca 80 SH	46,75 abA	44,00 abA
IAPAR-81	41,65 bcdA	42,67 abcA
IAC MARAVILHA	40,64 cdA	42,53 abcA
IPR UIRAPURU	41,88 bcdA	42,46 abcA
BRS PONTAL	46,12 abcA	42,07 abcB
IPR GRAUNA	49,46 aA	41,51 abcB
IPR SARACURA	43,76 abcdA	39,76 bcdB
IAC IBATE	41,93 bcdA	39,27 bcdA
IAC VOTUPORANGA	41,20 bcdA	38,93 bcdA
BRS MARFIM	43,62 abcdA	38,31 bcdB
BRS VEREDA	39,12 dA	37,92 cdA
BRS TIMBÓ	40,11 dA	37,85 cdA
IPR COLIBRI	43,08 bcdA	36,97 cdB
IAC TUNÃ	38,95 dA	34,85 dB

Valores seguidos de mesmas letras maiúsculas na mesma linha e minúsculas na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 %.DMS para colunas: 5,92 (letras minúsculas); DMS para linhas: 3,43 (letras maiúsculas). F= 2,95 (p< 0.01).

Tabela 7 -	Médias dos	s índices SPAD	em feijoeiros	Vigna ungüicui	<i>lada</i> L.(f	olhas inferiores).	
------------	------------	----------------	---------------	----------------	------------------	--------------------	--

·		
cultivar	testemunha	contaminado
BR3 TRACUATEUA	56,08	51,61
BRS MARATAOÃ	58,83	50,31
BRS GUARIBA	51,95	49,96
BRS MILÊNIO	57,10	48,88
BR17 GURGUEIA	51,70	45,12

F=1,87 (não significativo)

Finalmente comparando as tabelas 4 e 6 nota-se que os cultivares que apresentaram efeitos significativos na redução do índice SPAD em folhas inferiores também mostraram tal efeito em folhas superiores, com exceção ao IPR Graúna, este apresentou diminuição deste índice de forma significativa somente na folha inferior.

Os efeitos variados quanto à contaminação de Cd no índice SPAD entre espécies e cultivares de feijoeiro, especialmente quanto ao tipo de folha afetada podem sinalizar tolerâncias distintas, bem como diferentes comportamentos quanto à mobilidade deste elemento na planta.

A clorose foi um dos sintomas tardios de toxicidade por Cd observado em *Phaseolus vulgaris L*. e deve-se ao efeito direto deste metal na diminuição da concentração de clorofila (BENABID; GHORAB, 2009). Outras espécies como a soja (OLIVEIRA; OLIVA; CAMBRAIA et al., 1994), arrozeiro (CHIEN et al., 2001), milho e girassol (PRITSA et al., 2008) também mostraram diminuição da concentração de clorofila decorrente do efeito tóxico deste metal.

4.2 Descrição dos efeitos de toxicidade de Cd

Os sintomas iniciais da toxicidade de Cd foram observados por volta dos 10 a 15 dias após a germinação, com aparente redução da área foliar na maior parte dos cultivares (Figura 2). Os limbos foliares dos feijoeiros phaseolus contaminados apresentaram-se mais curtos, espessos, alguns com deformidades e coloração mais escura. Tal comportamento não foi observado no feijoeiro vigna, onde somente o BR3 Tracuateua mostrou um bronzeamento das nervuras e o BR-17 Gurguéia

apresentou um aparente clareamento, ambos em folhas cotiledonares, não ocorrendo posteriormente em outras folhas.

Com o desenvolvimento do feijoeiro phaseolus, as folhas apresentaram clorose internerval, iniciando-se na base dos folíolos, evoluindo para a folha toda e culminando com a abscisão do folíolo (Figura 3).

A abscisão de folhas de feijoeiro foi observada por Adams e Yang (1979) em condições de 0,1 mM de Cd em solução nutritiva. Isto ocorre devido à estimulação da síntese de etileno (FUHRER, 1982).

A senescência das folhas mais velhas foi mais rápida nos tratamentos contaminados, embora nem sempre tenha ocorrido esta clorose característica. Devese atentar que a clorose causada pela toxicidade por Cd, além de ocorrer entre as nervuras, também é acompanhada por engrossamento do limbo e deformidades.

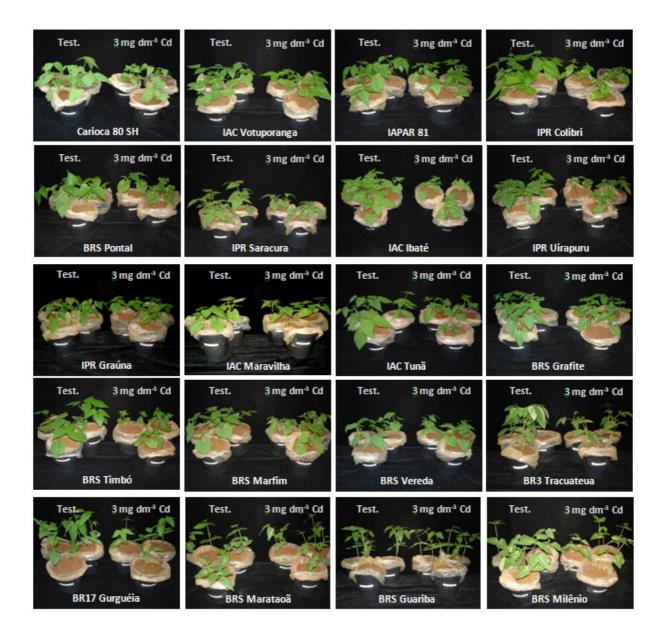


Figura 2 - Feijoeiros phaseolus e vigna do 1° Experimento, agrupados por cultivar, fotografados aos 19 dias após a germinação (por volta do estádio V3)

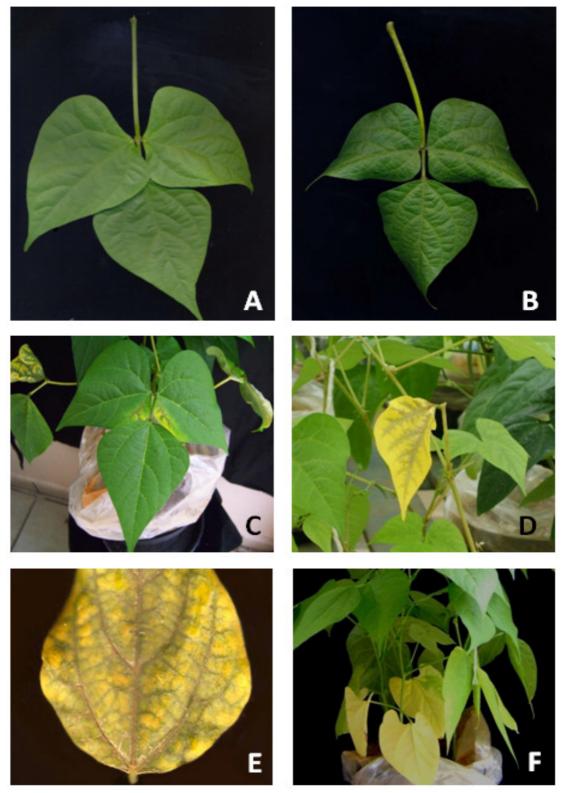


Figura 3 - Cultivar BRS Timbó. A: 1° trifólio testemunha (estádio V3); B: 1° trifólio contaminado (estádio V3); C: Início da clorose em trifólio contaminado (estádio R1); D: Estádio avançado de toxicidade e abscisão dos folíolos (estádio R3); E: Detalhe do limbo de folíolo contaminado; F: Folha senescente em tratamento sem toxicidade de Cd

4.3 Produção de matéria seca da parte aérea

4.3.1 Feijoeiros comuns

A toxicidade de Cd afetou a produção de matéria seca da parte aérea, sobretudo nas folhas. Dentre os 15 feijoeiros comuns testados, 10 mostraram diferenças: Carioca 80SH, IPR Colibri, BRS Pontal, IPR Saracura, IAC-Ibaté, IAC-Tunã, BRS Grafite e BRS Timbó, BRS Marfim e BRS Vereda (Figura 4). Considerando-se as médias do ensaio, a toxicidade reduziu a produção de matéria seca de folhas em 35% (DMS entre as médias: 0,36).

Foram observados comportamentos distintos quanto a produção de matéria seca de caule, em 6 cultivares: IPR Colibri, BRS Pontal, IPR Saracura, IAC-Tunã, BRS Timbó e BRS Vereda. De forma geral, a toxicidade reduziu a produção de massa seca de caule do experimento em 29% (DMS entre as médias: 0,15) (Figura 5).

A produção de grãos também foi afetada pela toxicidade de Cd em 6 cultivares: IAPAR 81, IPR Colibri, IPR Saracura, IAC-Tunã, BRS Timbó e BRS Marfim, com redução média no experimento de 13% na produção de grãos (DMS entre as médias: 0,39) (Figura 6).

A redução concomitante na produção de folhas, caule e grãos ocorreram nos cultivares IPR Colibri, IPR Saracura, IAC Tunã e BRS Timbó. Além disso, verificouse que o efeito da toxicidade na produção de matéria seca da parte aérea é maior na folha, seguido por caules e grãos.

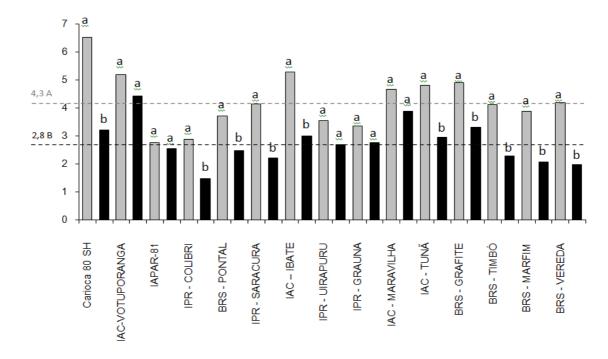


Figura 4 - Produção média de matéria seca de folhas de *Phaseolus vulgaris* L. (g). Em cinza: testemunhas. Em preto: tratamentos contaminados. Médias com mesmas letras não diferem entre si, dentro do mesmo cultivar, pelo teste de Tukey a 5% (DMS = 1,38)

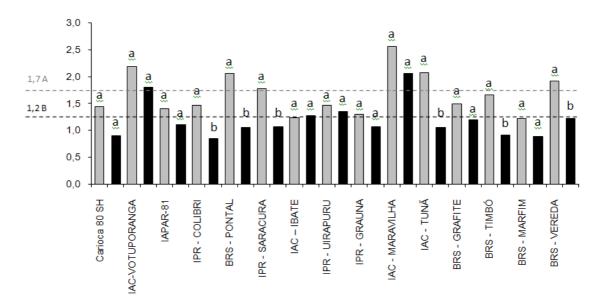


Figura 5 - Produção média de matéria seca de caule de *Phaseolus vulgaris* L. (g). Em cinza: testemunhas. Em preto: tratamentos contaminados. Médias com mesmas letras não diferem entre si, dentro do mesmo cultivar, pelo teste de Tukey a 5% (DMS = 0,57)

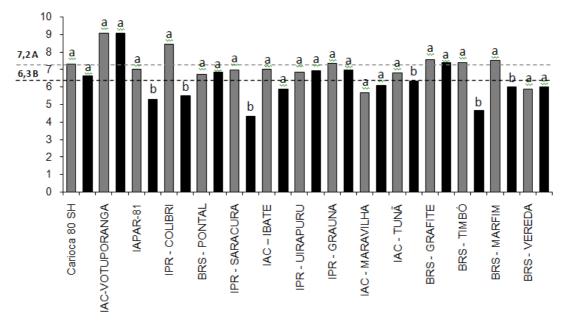


Figura 6 - Produção média de matéria seca de grãos de *Phaseolus vulgaris* L. (g). Em cinza: testemunhas. Em preto: tratamentos contaminados. Médias com mesmas letras não diferem entre si, dentro do mesmo cultivar, pelo teste de Tukey a 5% (DMS = 1,50)

4.3.2 Feijoeiros vigna

A produção de matéria seca de folha foi afetada pela toxicidade de Cd em 3 cultivares: BR3 Tracuateua, BRS Marataoã e BRS Milênio com redução média de 29% no ensaio (DMS: 1,65) (Figura 7).

Já os cultivares BR3 Tracuateua, BR17 Gurguéia, BRS Guariba e BRS Milênio mostraram menor produção de matéria seca de caule, com redução média de 35% (DMS: 1,05) (Figura 8).

Houve redução concomitante na produção de folhas e caule nos cultivares BR3 Tracuateua e BRS Milênio. Diferente ao que aconteceu com o feijoeiro phaseolus, o efeito da toxicidade na produção de matéria seca foi maior no caule comparativamente à produção de folhas e em nenhuma destas 5 variedades testadas foram observadas alterações significativas na produção de grãos (Figura 9).

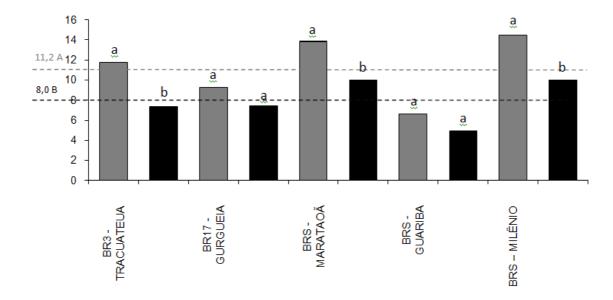


Figura 7 - Produção média de matéria seca de folhas de *Vigna unguiculata L.* (*Walp*) (g). Em cinza: testemunha. Em preto: tratamento contaminado. Médias com mesmas letras não diferem entre si, dentro do mesmo cultivar, pelo teste de Tukey a 5% (DMS = 3,69)

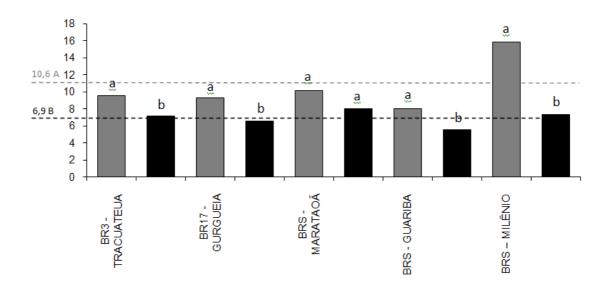


Figura 8 - Produção média de matéria seca de caule de *Vigna ungüiculada L.* (*Walp*) (g). Em cinza: testemunha. Em preto: tratamento contaminado. Médias com mesmas letras não diferem entre si, dentro do mesmo cultivar, pelo teste de Tukey a 5% (DMS = 2,36)

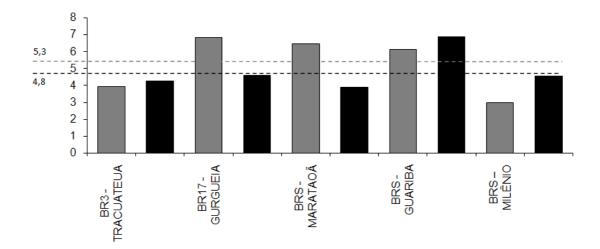


Figura 9 - Produção média de matéria seca de grãos de *Vigna unguiculata L.* (Walp) (g). Em Em cinza: testemunha. Em preto: tratamento contaminado

4.4 Concentração de Cd, Zn e Fe

A concentração é a medida mais importante de micronutrientes em grãos destinada à alimentação humana quando comparada à quantidade total (RENGEL; BATTEN; CROWLEY, 1999). O teor máximo de Cd no grão, estipulado pela Organização Mundial de Saúde, é de 0,2 mg kg⁻¹ Cd, em arroz e algumas leguminosas como soja e amendoim. Neste estudo, os teores médios nos grãos variaram entre 0,69 e 2,37 mg kg⁻¹ Cd (Tabela 8 e Figura 10). Assim, todos extrapolaram o teor máximo admitido pelo CODEX e OMS, mas alguns apresentaram mais de dez vezes o valor da OMS. Esta diferença de comportamento entre cultivares também foi encontrada em outras espécies como trigo e arroz (HART et al., 1998; JIN et al., 2004; KUBO et al., 2008).

Tal fato é preocupante: a ingestão tolerável mensal definido pela Organização Mundial de Saúde é de 25 μg Cd por quilo de peso vivo (CODEX, 2011). Desta forma uma pessoa com 70 kg poderia ingerir uma dose semanal de 70 μg de Cd. Considerando uma situação otimista de um brasileiro que ingere somente 25 gramas (peso seco) de feijão por semana, seriam observadas ingestões semanais de 57,5 μg (feijão BRS Timbó) e 16,3 μg (feijão BR3 Tracuateua). Desta forma, cerca de 80% da ingestão permissível de Cd teria origem no feijão acumulador contaminado.

Na dieta brasileira do "arroz com feijão" e do "pão nosso de cada dia" ainda outros alimentos contendo Cd devem ser consideradas: em solos contaminados, alguns cultivares de arroz acumulam teores totais de Cd no grão acima de 1,5 mg kg⁻¹ (LIU et al., 2005; MORAES, 2009) e no caso do trigo também foram observadas diferenças no acúmulo entre cultivares (HART et al., 1998; KUBO et al., 2008).

Nos anos 50, exposições crônicas de Cd causaram a doença Itai-Itai em habitantes de certas regiões do Japão (INABA et al., 2005), e recentemente foram constatados problemas de osteoporose em regiões da China, onde o arroz é o principal alimento. Nestas regiões, os teores médios de Cd no grão variaram entre 0,48 e 2,39 mg kg⁻¹ (JIN et al., 2004).

Panwar, Singh e Laura (1998) em um experimento com feijoeiros, em vasos com 4 kg de solo, 2,5 mg kg⁻¹ Cd e colhidos aos 45 dias, encontraram 2,4 e 2,9 mg kg⁻¹ na parte aérea de feijoeiros vigna e mungo.

Entretanto, tal inferência apenas sinaliza um alerta e a necessidade de estudos destes cultivares em condições de campo. Mesmo que a elevação do pH através da calagem diminua drasticamente a disponibilidade de Cd para a planta (GRAY et al. 1998), adições sucessivas de Cd aumentam o teor total no solo, potencializando o risco de contaminação da produção agrícola. O risco dos efeitos crônicos na saúde humana assegura a importância de se evitar toda e qualquer ingestão deste metal.

Resultados contraditórios ocorreram em diferentes métodos de cultivo: em dois cultivares de feijoeiro, Ouro Negro e Carioca, conduzidos em solução nutritiva, submetidos às doses de Cd (até 0,50 µg mL⁻¹), houve diminuição na concentração de Zn nas raízes de ambos e a diminuição de Fe no cultivar Ouro Negro (DO NASCIMENTO; PEREIRA, 1997).

Entretanto, em experimento com feijoeiro em solo (2 mg kg⁻¹ de Cd), também foi observado redução na absorção de Zn e no desenvolvimento da planta, comparado com outras espécies de plantas testadas (CHIZZOLA, 1997). Em milho, a absorção de Fe-fitosideróforos pelas raízes foi diminuída com a presença do Cd (MEDA et al., 2007).

Estudos mostram que o acúmulo de Cd em grãos depende do estado nutricional, especialmente no caso do Zn (OLIVER et al., 1994; CAKMAK et al., 2000a). Em condições naturais, a contaminação de Cd está associada à presença do Zn e diversos estudos mostram que o aumento de Zn induz a redução no acúmulo de Cd (HART et al., 2002; PODAR; RAMSEY; HUTCHINGS, 2004). Especula-se que o Cd redistribui das folhas para o grão de forma similar ao Zn devido à competição pelos mesmos sítios de absorção (HART et al., 1998).

Tabela 8 - Teores de Fe, Zn e Cd (mg kg⁻¹) na matéria seca de grãos dos feijoeiros contaminados, determinados por ICP-MS.

·		•							
variedade	Fe		ς	Zn		ς	Cd		ς
	mg kg ⁻¹								
BR3 TRACUATEUA	60,91	Α	10,41	50,17	Α	19,26	0,69	D	0,25
BRS GUARIBA	67,74	Α	8,80	46,06	Α	6,14	0,74	D	0,13
BR17 GURGUEIA	48,30	В	0,53	46,86	Α	11,94	0,83	D	0,14
IAC VOTUPORANGA	55,46	Α	5,16	28,87	В	1,36	1,05	С	0,15
BRS MARATAOÃ	62,52	Α	24,97	43,76	Α	0,35	1,06	С	0,32
IPR UIRAPURU	55,16	Α	3,44	29,87	В	0,16	1,07	С	0,11
IPR SARACURA	61,39	Α	4,22	37,44	В	2,18	1,08	С	0,04
IAPAR-81	80,75	Α	15,27	33,92	В	1,18	1,12	С	0,27
CARIOCA 80 SH	57,57	Α	11,29	33,40	В	5,69	1,24	С	0,06
BRS PONTAL	51,84	В	7,31	29,31	В	1,49	1,24	С	0,27
BRS GRAFITE	49,49	В	10,31	28,26	В	2,10	1,38	С	0,28
IAC TUNÃ	64,88	В	4,09	28,27	В	1,42	1,47	С	0,23
IPR GRAUNA	78,62	Α	3,10	33,87	В	6,31	1,60	В	0,28
IPR COLIBRI	40,21	В	4,65	25,03	В	1,04	1,73	В	0,57
BRS VEREDA	55,44	Α	3,20	30,35	В	0,87	1,76	В	0,22
BRS MILÊNIO	49,05	В	3,79	31,74	Α	3,39	1,80	В	0,09
IAC IBATE	59,92	Α	3,15	26,17	В	0,06	2,02	Α	0,79
IAC MARAVILHA	64,88	Α	4,96	43,30	В	10,15	2,02	Α	0,51
BRS MARFIM	46,93	В	4,63	30,51	В	0,97	2,19	Α	0,25
BRS TIMBÓ	42,30	В	4,06	30,42	В	2,12	2,37	Α	0,42
média	72,1			34,9			1,45		
cv %	12,7			17,7			18,6		
F	4,15*			4,87 *			9,84 *		

Valores seguidos de mesmas letras na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott a 5 %.

*Significativo a 1% de probabilidade.

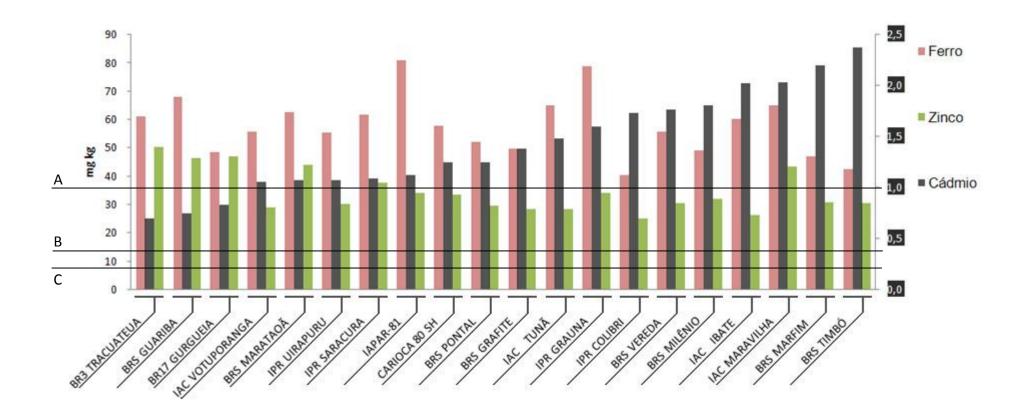


Figura 10 - Teores totais de Fe, Zn (eixo principal Y) e Cd (eixo secundário Y) (mg kg⁻¹) na matéria seca de grãos. A: Limite ANVISA: 1 mg kg⁻¹ Cd (massa fresca); B: Limite CODEX: 0,4 mg kg⁻¹ Cd (matéria seca). C: Limite OMS: 0,2 mg kg⁻¹ Cd

4.5 Concentração de Cd nas folhas

As folhas dos cultivares de feijoeiro phaseolus IAC Ibate, BRS Timbó, IAPAR-81 e IPR Graúna apresentaram maior concentração de Cd nas folhas e estão dentro do grupo que mais acumularam cádmio neste órgão. O IPR Saracura apresentou menor concentração e acúmulo de Cd dentro grupo phaseolus. Todos os cultivares de feijoeiro vigna apresentaram as menores concentrações de Cd, entretanto o BRS Milênio apresentou maior acúmulo de Cd devido à maior produção de matéria seca (Tabela 9).

Tabela 9 - Médias de concentração e acúmulo de Cd em folhas de feijoeiros contaminados

3		•
Cultivor	Concentração	Acúmulo
Cultivar	mg kg ⁻¹ Cd	mg Cd
IAC Ibaté	22,20 a	0,04 a
BRS Timbó	22,65 a	0,05 a
IAPAR-81	20,90 a	0,05 a
IPR Graúna	21,15 a	0,06 a
IPR Colibri	14,45 b	0,02 b
BRS Marfim	14,00 b	0,03 b
BRS Vereda	15,41 b	0,03 b
IPR Uirapuru	13,78 b	0,04 b
BRS Pontal	14,39 b	0,04 a
Carioca 80 SH	13,20 b	0,04 a
BRS Grafite	14,46 b	0,05 a
IAC Votuporanga	13,95 b	0,05 a
IAC Maravilha	13,13 b	0,05 a
IAC Tunã	16,31 b	0,06 a
IPR Saracura	8,01 c	0,02 b
BRS Guariba	6,33 c	0,03 b
BR3 Tracuateua	4,04 d	0,03 b
BRS Marataoã	2,76 d	0,03 b
BR17 Gurguéia	4,13 d	0,03 b
BRS Milênio	3,51 d	0,04 a
Médias	12,94	0,04
CV%	10,66	25,84
F	62,64*	3,72*

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si na mesma coluna conforme o teste de Scott Knott a 5%. * Significativo a 1% de probabilidade.

4.6 Taxa de Fotossíntese Líquida

A presença do Cd pode reduzir a taxa de fotossíntese e diminuir o crescimento das plantas (COBBETT, 2000). Comparando os dois cultivares sob esta contaminação, a taxa de assimilação de CO₂ foi diminuída apenas na espécie menos acumuladora: vigna BR3 Tracuateua. No feijoeiro phaseolus BRS Timbó foi constado aumento na taxa fotossintética (Tabela 10). Entretanto, este resultado deve ser interpretado com cautela, pois, como visto anteriormente, a toxicidade inicial de Cd causa uma diminuição da área do limbo, podendo concentrar maior número de células por área foliar.

Esta deformação não foi observada no BR3 Tracuateua. Assim, os efeitos tóxicos deste metal podem ter afetado o aparato fotossintético, reduzindo a taxa de assimilação de CO₂. A mesma deformação em folhas foi observada no trigo *durum* por Jalil, Selles e Clarke (1994).

Em tomateiro, a transpiração e condutância estomática não foram afetadas pelo Cd (SOUZA, 2003), embora a interferência nos mecanismos de abertura e fechamento de estômatos pode ocorrer de forma indireta, devido ao efeito deste contaminante na concentração de íons como Ca²⁺, K⁺ e ácido abscísico sobre as células guarda (BARCELÓ; POSCHENRIEDER, 1990).

O feijoeiro vigna, tendo absorvido menor quantidade de Cd, pode ter seus os efeitos evidenciados apenas metabolicamente: diretamente nos fotossistemas ou indiretamente pela interferência no metabolismo de outros nutrientes ou pela produção de espécies reativas de oxigênio que afetam a camada lipídica de membranas (Di TOPPI; GABRIELLI, 1999; BENAVIDES; GALLEGO, TOMARO, 2005).

Tabela 10 - Valores de fotossíntese líquida de *Phaseolus vulgaris* BRS Timbó e *Vigna ungüiculata* L (Walp) BR3 Tracuateua

	Т	Tratamentos		
Espécie	0 Cd	3 mg dm ⁻³ Cd		
	μ	μ mol m ⁻² s ⁻¹		
Phaseolus	7,0 B	11,4 A		
Vigna	16,1 A	9,6 B		

Médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si nas colunas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS:0,4834. CV=8,6%.

4.7 Microscopia Eletrônica

Estudos em plantas hiper-acumuladoras têm demonstrado habilidades destas espécies em concentrar altas concentrações de metais em sua parte aérea sem mostrar sintomas ou injúrias. As estratégias de resistência dessas plantas envolvem muitos mecanismos, que vão desde a compartimentalização vacuolar desses metais até a produção de ácidos orgânicos ou fitoquelatinas (SALT; SMITH; RASKIN, 1998).

Nas folhas do feijoeiro BRS Timbó observou-se um aumento de corpos osmiofílicos em células do parênquima lacunoso como sinal de toxicidade de Cd (Figura 11). Sinais similares foram constatados em tomateiros conduzidos em solução nutritiva com condições de contaminação mais intensas (1 mM CdCl₂), acompanhadas da desorganização das grana e redução na quantidade de grãos de amido (GRATÃO, 2008).

Quando altas concentrações de Cd são usadas, ocorrem alterações estruturais nos tilacóides e o aumento no número e tamanho de plastoglóbulos. É conhecida a ação do Cd no metabolismo oxidativo e, provavelmente, a presença destes corpos deve-se à reciclagem de produtos lipofílicos da célula (MACCARTHY et al., 2001; YATTERBERG; PELTIER; van WIJK, 2006).

Não foi possível diferenciar as concentrações de Cd em nível intracelular, ficando parte deste estudo limitado à descrição dos efeitos de sua toxicidade (Figuras 11 e 12). No intuito de compensar a perda de elementos durante a fixação química, altas concentrações de Cd são freqüentemente utilizadas para que se

possa detectar este elemento em nível ultracelular. Tais fatos têm gerado uma série de efeitos destrutivos indesejáveis na estrutura celular (VAZQUEZ; POSCHENRIEDER; BARCELÓ, 1992; WÓJCIK et al., 2005) uma vez que esta concentração reflete uma condição irreal de contaminação que poderia ser constatado no ambiente.

Não foi constatada nenhuma alteração ultra-estrutural em cloroplastos decorrente da contaminação de Cd na folha analisada, o que concorda com a observação de Barcelo; Vazquez e Poschenrieder (1988), onde as alterações nos cloroplastos só foram evidentes nas folhas novas.

Em microalgas *Tetraselmis suecica* submetidas às condições pouco mais próximas à realizada neste estudo (5 mg L⁻¹ Cd), tais corpos osmiofílicos foram encontrados e também nenhum outro efeito ultraestrutural foi constatado (NASSIRI et al., 1996). Tais corpos podem desempenhar importante função nos processos de destoxificação, seqüestrando o Cd e reduzindo a quantidade disponível deste elemento na célula (NASSIRI et al., 1997).

Quanto ao feijoeiro vigna, comparado ao feijoeiro phaseolus, se observou menor quantidade destes corpos, o que poderia ser explicado pela baixa concentração de Cd na planta quando comparado ao BRS Timbó (Figura 12).

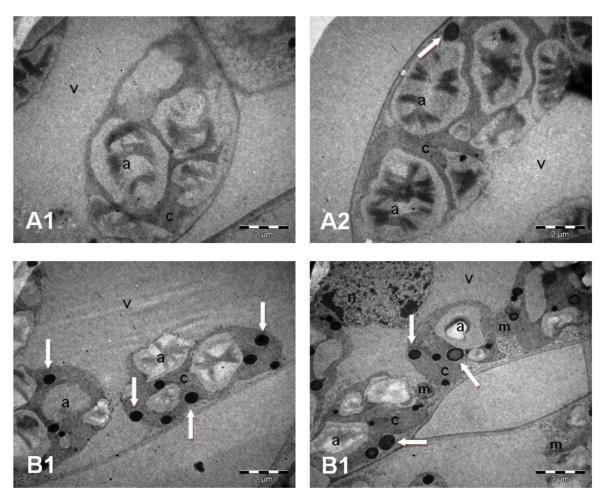


Figura 11 - Ultraestrutura celular de células do parênquima lacunoso de *Phaseolus vulgaris BRS Timbó.* A: Testemunha; B: Contaminado com Cd. (Legenda: a: grânulos de amido; c: cloroplasto; n: núcleo; v: vacúolo; m: mitocôndria). Setas indicam os corpos osmiofílicos. Concentração média de Cd nas folhas: 22,7 mg kg⁻¹.

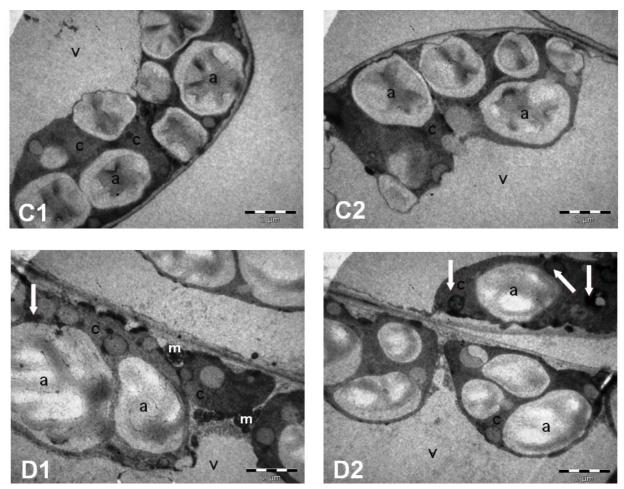


Figura 12 - Ultraestrutura celular de células do parênquima lacunoso do feijoeiro vigna *BR3 Tracuateua. C*: Testemunha; D: Contaminado com Cd. (Legenda: a: grânulos de amido; c: cloroplasto; v: vacúolo; m: mitocôndria). Setas indicam os corpos osmiofílicos. Concentração média de Cd nas folhas: 4,04 mg kg⁻¹

4.8 Auto-radiografia

Os feijoeiros contaminados com Cd, em especial os feijoeiros comuns, apresentaram senescência de quase todas as folhas antes do período de colheita, prejudicando a análise em auto-radiografia no final estádio reprodutivo.

Observou-se maior contraste na imagem obtida com o feijoeiro BRS Timbó no momento do desbaste (Figuras 13 e 14). Verificou-se nas folhas do BR3 Tracuateua uma mancha tênue, ficando a presença marcada somente no caule e especialmente nos cotilédones. No feijoeiro phaseolus observa-se o mesmo efeito de modo mais explícito, com as folhas cotiledonares mais delimitados e maiores contrastes em raízes e caules.

Isto demonstra claramente a maior concentração de Cd presente na parte aérea do BRS Timbó comparado ao BR3 Tracuateua, indicando diferença entre estes dois feijoeiros quanto a absorção e transporte de Cd para a parte aérea logo no início do crescimento. Ainda considerando que as duas espécies encontravam-se no mesmo estádio fenológico, tamanho, e tempo de exposição ao filme fotográfico, descarta-se a possibilidade de que a menor quantidade de Cd BR3 Tracuateua foi devido a um "efeito de diluição".

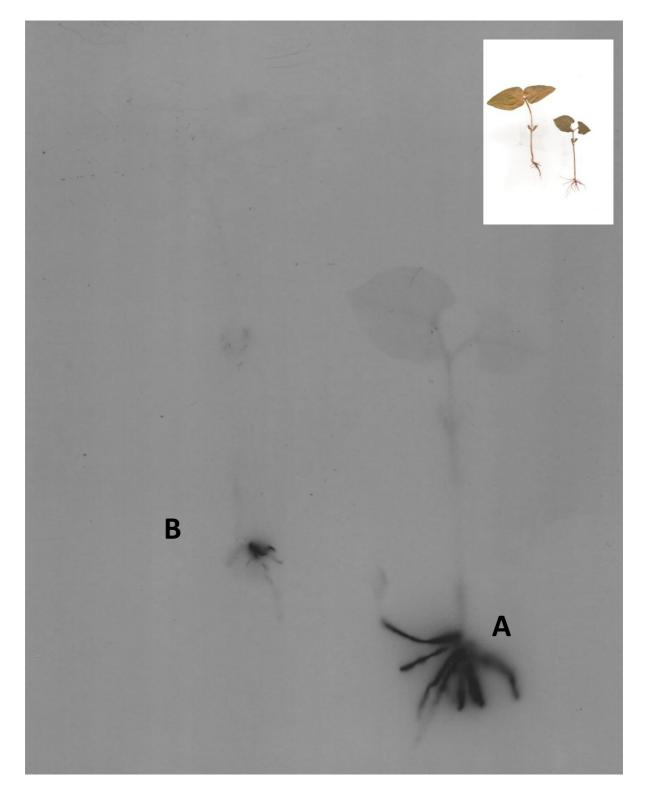


Figura 13 - Auto-radiografia de feijoeiros contaminados com Cd + ¹⁰⁹Cd no momento do desbaste. A: *Phaseolus vulgaris* L. BRS Timbó. B: *Vigna unguiculata* [Walp]: BR3 Tracuateua

Vinte dias após a germinação, a diferença de contraste entre a imagem obtida de um dos folíolos do primeiro trifólio BR3 Tracuateua e o primeiro trifólio do BRS Timbó ficou ainda mais evidente. Observou-se nitidamente um maior acúmulo de Cd no folíolo do BRS Timbó, especialmente nas nervuras (Figura 15).

No estádio V4, observou-se o gradiente de acúmulo de Cd, das folhas mais velhas para as folhas mais novas. Este comportamento pode ser explicado pelo transporte de Cd através da corrente transpiratória até as folhas (HART et al., 1998). Grande parte do Cd parece ficar retido no pecíolo e nervuras (Figura 16), como conseqüência de uma possível imobilização deste elemento com as cargas negativas das paredes celulares dos vasos (GREGER; LÖFSTEDT, 2004).

Essa distribuição foi semelhante em *Arabidopsis thaliana*, onde a intensidade do sinal de radioatividade foi maior nos pecíolos, nervuras e lâmina foliar (DAUTHIEU et al., 2009).

Na folha nova do BRS Timbó foi observada uma imagem difusa com pouca definição das nervuras. O mesmo comportamento foi observado no fitoextrator de Cd *Salix viminalis* (L.) nas folhas novas, cujo sinal homogêneo tendeu a desaparecer com o aumento da idade (COSIO; VOLLENWEIDER; KELLER, 2006). Quando as concentrações de elementos são similares em órgãos fonte e dreno, estes são classificados como altamente móveis no floema, por exemplo, o potássio e o fósforo. Já nutrientes imóveis no floema possuem menores concentrações em regiões em desenvolvimento (MARSCHNER, 1995). Assim, com as imagens obtidas (Figura 16), especula-se que o Cd é relativamente imóvel no floema de *Phaseolus vulgaris* L.

As raízes apresentam os teores mais elevados de Cd possivelmente por constituírem a parte da planta que está diretamente em contato com o metal pesado, (OLIVEIRA et al., 2001; TIRYAKIOGLU et al., 2006). A partir das imagens obtidas das raízes não foi possível observar qualquer diferença visual quanto à quantidade de Cd absorvida, mostrando-se, em ambas as espécies, intenso contraste (Figura 17).

Em experimentos com a utilização de solo o estudo destes elementos fica prejudicado em razão da dificuldade da separação do solo aderido à superfície da raiz. Assim, o uso de solução nutritiva, neste caso poderia ser o método mais indicado, desde que utilizadas concentrações de Cd mais baixas. Neste contexto, Piñeros; Shaff e Kochian (1998) demonstraram em trigo que o fluxo de Cd para as raízes ocorre em toda a sua extensão, mas é maior nas pontas. Isto sugere que tanto o número de pontas de raízes de um sistema radicular quanto a área total de superfície pode acumular maior quantidade de Cd. Tal evidência deve ser considerada especialmente quando o sistema radicular se desenvolve dentro de um volume restrito.

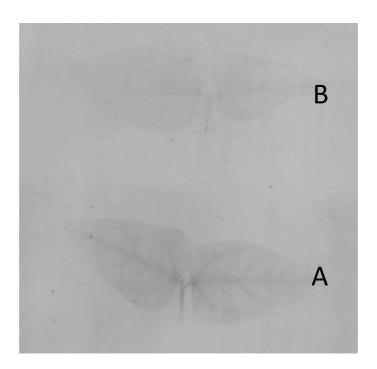


Figura 14 - Auto-radiografia de folhas primordiais de feijoeiros contaminados com Cd + ¹⁰⁹Cd no momento do desbaste. A: *Phaseolus vulgaris* L. BRS Timbó. B: *Vigna ungüiculada* [Walp]: BR3 Tracuateua

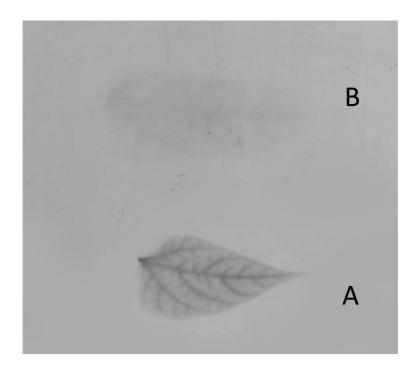


Figura 15 - Auto-radiografia de folíolos de feijoeiros contaminados + ¹⁰⁹Cd no estádio V₂. A: *Phaseolus vulgaris* L. - BRS Timbó. B: *Vigna ungüiculada* L. (Walp) - BR3 Tracuateua.

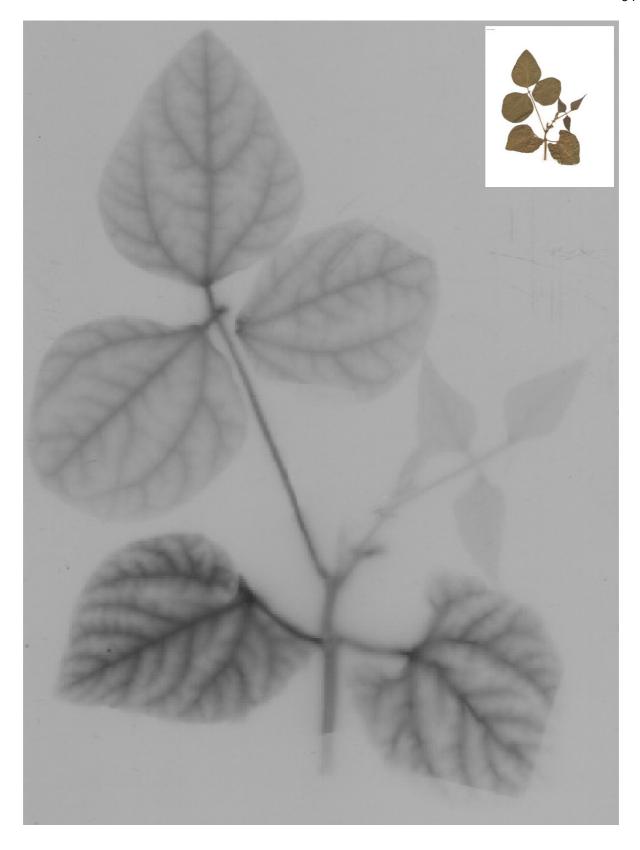
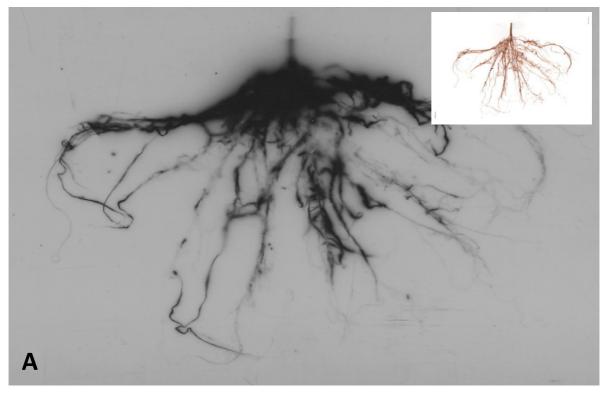


Figura 16 - Auto-radiografia de parte aérea do feijoeiro BRS Timbó contaminado com Cd + ¹⁰⁹Cd no estádio V3. Folhas cotiledonares, primeiro trifólio e segundo trifólio ainda em desenvolvimento



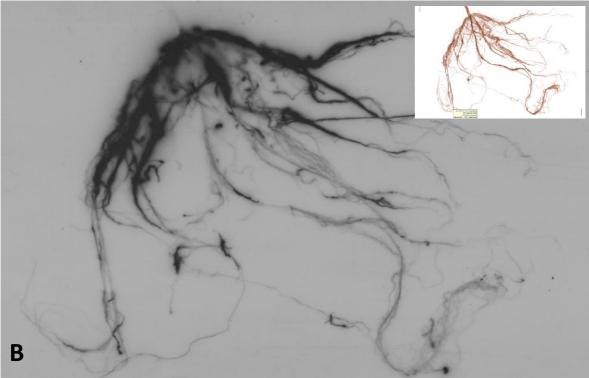


Figura 17 - Auto-radiografia de raízes do feijoeiro A: BRS Timbó e B: BR3 Tracuateua contaminados com Cd + ¹⁰⁹Cd no estádio V3

4.9 Mobilidade do Cd na planta

4.9.1 Absorção e Mobilidade de Cd em duas condições de contaminação (teor normal e 3 mg dm⁻³ de Cd)

A quantidade de Cd proveniente do contaminante (Cdpc) encontrado em grãos, caules e folhas do BRS Timbó foram superiores ao BR3 Tracuateua, nas duas condições de contaminação (Tabela 11), corroborando com a diferença encontrada entre os dois feijoeiros nos resultados anteriores. Portanto tal diferença do acúmulo de Cd entre os feijoeiros é intrínseca à variação genotípica, sendo pouco influenciada quanto às condições de contaminação.

Diversos estudos foram realizados em plantas com diferentes concentrações de Cd no solo e muitos deles elucidaram mecanismos distintos sob condições de baixa e alta exposição ao contaminante (GRANT et al., 1998). Dauthieu et al. (2009), em estudo com *Arabidopsis thaliana* utilizando pequenas doses de Cd (nM), concluíram que a concentração deste metal na parte área não foi afetada por estas baixas concentrações de Cd na solução nutritiva. Em *Nicotiana tabacum* L. as distribuições de Cd foram amplamente diferentes entre plantas expostas a 0,02 e 3 μM, sendo a primeira, talvez, o nível mais encontrado em condições naturais ou sob cultivo agrícola (KORENKOV et al., 2007).

Nas duas espécies e em ambas as condições, a Cdpc sempre foi maior no caule, seguido por folhas e grãos. Embora a concentração seja a medida mais importante de micronutrientes em grãos destinados à alimentação humana quando comparada ao acúmulo (RENGEL; BATTEN; CROWLEY, 1999), esta observação sempre é estudada com hiper-acumuladores para fins de fitorremediação, onde a produção de grande quantidade de massa com alta concentração de Cd, em curto espaço de tempo é uma característica desejável. Girassol e Kenaf são exemplos de plantas que concentram grandes quantidades de Cd e produzem muita biomassa (LI et al. 1995; KURIHARA et al., 2005; HATTORI et al, 2006).

Diferenças na absorção de Cd do solo entre espécies de plantas de baixa e alta acumulação de Cd têm sido retratados através da identificação de mecanismos distintos na raiz, que afetam a translocação para o grão (GREGER; LANDBERG, 2008). Sabe-se que a raiz é órgão que mais acumula Cd por estar intimamente em

contato com o contaminante (OLIVEIRA et al., 2001). A característica de reter Cd na raiz e de translocá-lo para a parte aérea, definido como fator de transferência (FT), foi estudada por Pinto et al. (2009) em plantas acumuladoras deste contaminante e concluíram que este processo também varia entre espécies.

Tais variações na translocação da raiz para a parte aérea foram observadas em 19 cultivares de milho, em solo arenoso contaminado com 0,56 g kg⁻¹ de Cd. Os cultivares com os menores teores de Cd na parte aérea apresentaram, proporcionalmente, maior teor na raiz. Já aqueles que apresentaram maior teor na parte área apresentaram igual concentração na raiz (FLORIJN; VAN BEUSICHEM, 1993).

Arao et al. (2003) também propuseram que os menores teores de Cd encontrados nos grãos de certas variedades de soja são resultantes da combinação de uma pequena absorção inicial e a retenção de grandes níveis de Cd na raiz, limitando sua translocação para a parte aérea. Neste trabalho foram encontrados valores de concentração de 1,43 a 12,68 mg Kg⁻¹ de Cd no grão de plantas cultivadas em solo com 3 mg dm⁻³ de Cd.

A diferença observada entre os valores de Cdpc no grão do BRS Timbó e BR3 Tracuateua foram sempre menores comparando-se com outros órgãos. Na condição mais baixa de contaminação, observou-se que a concentração entre folhas e caule não diferiu significativamente, enquanto que em condição maior de contaminação, a diferença foi de 60 e 73% nos feijoeiros BRS Timbó e BR3 Tracuateua, respectivamente (Tabela 11).

Segundo Grant et al. (1998), o Cd pode se ligar às cargas negativas das paredes celulares da raiz e, posteriormente, ser translocado para a parte aérea pelo xilema conforme ocorre a transpiração dos órgãos (HART et al., 1998). A principal forma translocada é a iônica (Cd²+), mas pode ser maior com a combinação do Cd com fitoquelatinas (GUO; MARSCHNER, 1995; COBBETT, 2000). No entanto, Salt et al. (1995) afirmaram que parte do Cd absorvido é complexado na forma destas fitoquelatinas, mas a translocação deste metal através do xilema parece ser independente da produção destas nas raízes, não representando função direta no transporte de Cd para a parte aérea.

Tabela 11 - Translocação do Cd aplicado no solo (109Cd) para órgãos das partes áreas de plantas dos feijoeiros

Órgãos	-	e (mg) ação de Cd)	Cdpc (mg) (com aplicação de 3mg dm ⁻³)		
	BRS Timbó	BR3 Tracuateua	BRS Timbó	BR3 Tracuateua	
Grãos	1,72.10 ⁻⁶ bA	1,95.10 ⁻⁷ bB	0,0045cA	0,0012 cB	
Caules	5,15.10 ⁻⁵ aA	4,36.10 ⁻⁵ aA	0,0621aA	0,0455 aB	
Folhas	4,36.10 ⁻⁵ aA	2,11.10 ⁻⁵ aB	0,0251 bA	0,0122 bB	

Valores seguidos de letras minúsculas iguais na mesma coluna, e maiúsculas na mesma linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 %.

Greger e Lofstedt (2004) afirmaram que a diferença de acúmulo de Cd em trigo deve-se mais pela translocação da raiz para a parte aérea do que simplesmente a absorção pelas raízes, pois o movimento do Cd²⁺ é afetado pelas cargas negativas presentes nas paredes celulares dos vasos do xilema.

4.9.2 Aplicação de ¹⁰⁹Cd na folha em planta cultivada em 3 mg dm⁻³ Cd

O feijoeiro BRS Timbó absorveu e translocou proporcionalmente maior quantidade de Cd proveniente do aplicado na folha (%Cdpaf) para os grãos e caule quando comparado com o BR3 Tracuateua (Tabela 12). Essa variação entre espécies também foi verificada em trigo por Hart et al. (1998), que constataram diferenças quanto à quantidade de Cd mobilizada da folha para o grão, entre *Triticum durum* e *Triticum aestivum*, e que a mobilização do Cd da folha para o grão foi o principal processo que promoveu o acúmulo deste metal no grão. No entanto, em arroz, tanto a translocação do Cd da raiz para o grão, quanto da folha para grão foram importantes em um nível de contaminação de 10 mg kg⁻¹ Cd em solo (LIU et al., 2005).

Tabela 12 - Absorção e translocação do Cd aplicado (109Cd) nas folhas dos feijoeiros, cultivados em solo contaminado (3 mg dm⁻³ Cd).

Órgãos	Cdp	af (%)	Cdpaf (μg)		
	BRS Timbó BF		BRS Timbó	BR3 Tracuateua	
Grãos	0,2950 aA	0,0717 bB	0,0018 bA	0,0006 bA	
Caule	0,2072 aA	0,2444 aA	0,0197 aA	0,0069 aB	

Valores seguidos de letras minúsculas iguais na mesma coluna, e maiúsculas na mesma linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 %.

Mesmo com a diferença genotípica quanto à absorção e mobilização de Cd das folhas para os grãos, a contribuição do Cd proveniente da aplicação foliar (%Cdpaf) nos grãos é muito baixa (de 0,072% a 0,295% da quantidade encontrado).

Quando aplicado na folha, o Cd pode ficar retido na cutícula foliar pelas cargas negativas das pectinas, cutinas e ceras (WEIGEL; JÄGER, 1980), sobretudo em baixa quantidade. A deposição atmosférica de Cd sobre as folhas parece não ser tão relevante para o acúmulo deste metal no grão.

Finalmente os experimentos com vaso merecem cuidados quanto aos processos fisiológicos que regulam um maior ou menor acúmulo de Cd nos órgãos. Limitações quanto ao volume do vaso explorado pelo sistema radicular, tipo de solo e umidade são exemplos de fatores que alteram a mobilidade deste metal na planta. Em feijoeiro, plantas expostas a 68% de umidade relativa do ar transpiraram 3,4 vezes mais e translocaram 3,7 vezes mais Cd para a parte aérea que as plantas expostas a 97% de umidade relativa do ar (GRANT et al., 1997). Além disso, as plantas acumulam mais Cd em solos de textura leve devido a menor capacidade de troca de cátions, disponibilizando mais Cd para a absorção pelas raízes.

Mesmo que condições de contaminação impliquem em maior ou menor acúmulo ou distribuição de Cd é seguro afirmar que existe a diferença entre os cultivares avaliados e o comportamento distinto deste contaminante entre eles. A seleção de genótipos que concentram pouco Cd no grão pode ser uma das práticas mais baratas para a obtenção de produtos agrícolas diminuindo riscos ao consumidor (ARAO; AE, 2003). Além disso, é possível utilizar o melhoramento genético para desenvolver cultivares que acumulam menor concentração de Cd em

suas partes comestíveis, mediante a biotecnologia com a transferência de genes entre espécies (PENNER et al., 1995).

5 CONCLUSÕES

- Existe uma variação genotípica quanto ao teor total de Cd no grão entre os feijoeiros avaliados;
- A aplicação de 3 mg dm⁻³ Cd geraram diversos sinais de fitotoxicidade entre espécies e entre cultivares de feijoeiro;
- O feijoeiro vigna absorve e acumula menos Cd na parte aérea quando comparado ao feijoeiro phaseolus;
- O movimento do Cd aplicado e absorvido da folha para o grão é maior no BRS Timbó;
- A mobilidade deste contaminante nos dois feijoeiros avaliados depende do nível de contaminação de Cd.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, D.O.; YANG, S.F. Ethylene biosynthesis: identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. **Proceedings of the National Academy of Science of USA**, Washington, DC, v. 76, p. 170-174, 1979.
- ADRIANO, D.C. Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals. 2. ed. New York: Springer-Verlag, 2001. 866 p.
- ALEXANDER, P.D.; ALLOWAY, B.J.; DOURADO, A.M. Genotypic variations in the accumulation of Cd, Cu, Pb and Zn exhibited by six commonly grown vegetables. **Environmental Pollution,** Oxford, v.144, p.736–745. 2006.
- ARANHA, S.; NISHIKAWA A.M.; TAKA, T.; SALIONE, E.M.C. Níveis de cádmio e chumbo em fígado e rins de bovinos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 54, p. 16-20, 1994.
- ARAO, T.; AE, N. Genotypic variations in cadmium levels of Rice grain, **Soil science** and plant nutrition, Tokyo, v.49, p.473-479, 2003.
- BARCELÓ J., VÁZQUEZ M.D. & POSCHENRIEDER C. (1988) Structural and ultrastructural disorders in cadmium-treated bush bean plants (*Phaseolus vulgaris*). **New Phytologist**, Cambridge, v.108, p.37–49.
- BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 13, p. 1-37, 1990.
- BENABID, H.; GHORAB, M.F. Influence of cadmium on chlorophyll content of beans (*Phaseolus vulgaris*) use of plant as bio-indicator of pollution (*in vivo* experimentation). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ENVIRONMENTAL SCIENCE AND TECHNOLOGY, 2009, Shanghai, China. **Proceedings...** Shanghai, China: Shanghai Donghua University, 2009. p. 2514. (Progress in Environmental Science and Technology, 2).
- BENAVIDES, M.P.; GALLEGO, M.S.; TOMARO, M.L. Cadmium toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 21-34, 2005.
- BOARETTO, A. E. A evolução da população mundial, da oferta de alimentos e das ciências agrárias. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 56, p. 513-526, 2009.
- BOUIS, H.E. Economics of enhanced micronutrient density in food staples. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 66, n. 1-2, p. 165-173, 1999.
- BRANQUINHO C. Lichens. In: Prasad MNV, editor. **Metals in the environment:** analysis by biodiversity. New York: Marcel Dekker. 2001.p.117–157.
- CAKMAK, I.; WELCH, R.M.; ERENOGLU, B.; RÖMHELD, V.; NORVELL, W.A.; KOCHIAN, L.V. Influence of varied zinc supply on re-translocation of cadmium (Cd-

- 109) and rubidium (Rb-86) applied on mature leaf of durum wheat seedlings. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 219, n. 1-2, p. 279-284, 2000a.
- CAKMAK, I.; WELCH, R.M.; HART, J.; NORVELL, W.A.; OZTÜRK, L.; KOCHIAN, L.V. Uptake and retranslocation of leaf-applied cadmium (Cd-109) in diploid, tetraploid and hexaploid wheats. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 343, p. 221-226, 2000b.
- CARBONELL, S.A.M.; CHIORATO, A.L. Novas variedades de feijão do IAC: características e recomendações. In: FANCELLI, A.L. (Org.). Feijão: tópicos especiais de manejo. Piracicaba: ESALQ/USP/LPV, 2009. p. 15-22.
- CARBONELL, S.A.M.; POMPEU, A.S. Estabilidade fenotípica de linhagens de feijoeiro em três épocas de plantio no Estado de São Paulo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, n. 2, p. 321-329, 2000.
- CETESB Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Decisão de Diretoria No 195- 2005-E, de 23 de novembro de 2005. Dispõe sobre a aprovação dos Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, SP, 01 dez. 2005. Poder Executivo Seção I, p. 48.
- CHANG, A.C.; GRANTO, T.C.; PAGE, A.L. A methodology for establishing phytotoxicity criteria for chromium, copper, nickel and zinc in agricultural land application of municipal sewage sludges. **Environmental quality**, Madison, v.21, p.521-536, 1992.
- CHAOUI, A.;, MAZHOUDI, S.; GHORBAL, M.H.; EL FERJANI, E. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Science**, Madison, v.127, p.139–147.1997.
- CHIEN, H.; WANG, J.; LIN, C.; KAO, C. Cadmium toxicity of rice leaves is mediated through lipid peroxidation. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 33, n. 3, p. 205-213, 2001.
- CHIZZOLA, R. Comparative cadmium uptake and mineral composition of cadmium treated *Papaver somniferum*, *Triticum durum* and *Phaseolus vulgaris*. **Angewandte Botanik**, Berlin, v. 71, n. 5-6, p. 147-153, 1997.
- COBBETT, C.S. Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. **Plant Physiology**, Rockville, v. 126, p. 825-832, 2000.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Report of the 37th session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants, The Hague, 2005. Disponível em: http://www.cclac.org/documentos/CCFAC/2005/al28_12e.pdf.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Report of the fifth session of the Codex Committee on Contaminants in foods. The Hague, 2011. Disponível em: http://www.ift.org/public-policy-and-regulations/advocacy/~/media/Public%20Policy/International%20Advocacy/CODEX2011_REP11_CFe.pdf

COSIO, C.; VOLLENWEIDER, P.; KELLER, C. Localization and effects of cadmium in leaves of cadmium-tolerant willow (*Salix viminalis* L.). **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v.58, p.25-40. 2006.

CREWS, H.M.; DAVIES, B.E. Heavy metal uptake from contaminated soils by six varieties of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 105, p. 591–595, 1985.

CURIE, C.; CASSIN, G.; COUCH, D.; DIVOL, F.; HIGUCHI, K.; LE JEAN, M.; MISSON, J.; SCHIKORA, A.; CZERNIC, P.; MARI, S. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters. **Annals of Botany**, Oxford, v. 103, p. 1-11, 2009.

DAS, P.; SAMANTARAY, S.; ROUT, G.R. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. **Environmental Pollution**, London, v. 98, p. 29-36, 1997.

DAUTHIEU, M.; DENAIX, L.; NGUYEN, C.; PANFILI, F.; PERROT, F.; POTIN-GAUTIER, M. Cadmium uptake and distribution in Arabidopsis thaliana exposed to low chronic concentrations depends on plant growth **Plant and Soil**, Netherlands. v.322, p.239–249, 2009.

DEGRAEVE, N. Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects of cadmium. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 86, n. 1, p. 115-135, 1981.

DI TOPPI, L.S.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 41, n. 2, p. 105-130, 1999.

DO NASCIMENTO, C.W.A.; PEREIRA, J.B.M. Uptake and distribution of cadmium and micronutrients by bean cultivars exposed to cadmium levels. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 32, n. 12, p. 1303-1308, 1997.

EMBRAPA. **BR17 Gurguéia**. 1. ed. Teresina: Embrapa Meio Norte, 2003c. 3 p. (Folheto, 63).

EMBRAPA. **BR3 Tracuateua**: purificada para o estado do Pará. 1. ed. Belém: Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2005a. 2 p.

EMBRAPA. **BRS Grafite**: cultivar de feijoeiro comum de grão preto, indicada para as Regiões Sudeste e Centro-Oeste do Brasil. 1. ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003a. 3 p. (Comunicado Técnico, 63).

EMBRAPA. **BRS Guariba**: nova cultivar de feijão-caupi para a região Meio Norte. 1. ed. Teresina: Embrapa Meio Norte, 2004. 2 p.

EMBRAPA. **BRS Marfim**: nova cultivar de feijoeiro comum com tipo de grão mulatinho. 1. ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002a. 2 p. (Comunicado Técnico, 48).

- EMBRAPA. **BRS Milênio**: nova cultivar de feijão-caupi para a região Bragantina, PA. 1. ed. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2005b. 2 p. (Comunicado Técnico, 136).
- EMBRAPA. **BRS Pontal**: cultivar de feijoeiro comum de tipo de grão carioca com alto potencial produtivo no Distrito Federal e em Goiás. 1. ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. 3 p. (Comunicado Técnico, 63).
- EMBRAPA. **BRS Timbó**: nova cultivar de feijoeiro comum do grupo comercial roxinho. 1. ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003b. 2 p. (Comunicado Técnico, 49).
- EMBRAPA. **BRS Vereda**: nova cultivar de feijoeiro comum do grupo comercial rosinha. 1. ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002b. 2 p. (Comunicado Técnico, 50).
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de analises de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, CNPS, 1997. 212 p.
- EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives.** 2nd ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2005. 400 p.
- FERNANDEZ de C. F.; GEPTS, P.; LOPEZ, M. Etapas de desarrollo de la planta de frijol comun (*Phaseolus vulgaris* L.). Cali: CIAT, 1986. 34 p.
- FLORIJN, P.J.; VAN BEUSICHEM, M.L. Uptake and distribution of cadmium in maize inbred lines. **Plant and Soil**, London, v.150, n.1, p.25-32, 1993.
- FONTES, M.P.F.; ALLEONI, L.R.F. Electrochemical attributes and availability of nutrients, toxic elements, and heavy metal in tropical soils. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 63, p. 589-608, 2006.
- FOYER, C.H.; LOPEZ-DELGADO, H.; DAT, J.F.; SCOTT, I.M. Hydrogen peroxideand glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. **Physiologia Plantarum**, Kobenhavn, v. 100, n. 2, p. 241-254, 1997.
- FREIRE FILHO, F.R.; RIBEIRO, V.Q.; ALCANTARA, J.P.; BELARMINO FILHO, J.; ROCHA M.M. BRS Marataoã: Novo cultivar de feijão-caupi com grão tipo sempre verde. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 52, n. 303, p. 771-777, 2005.
- FUHRER, J. Ethylene biosynthesis and cadmium toxicity in leaf tissue of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Physiology**, Rockville, v. 70, p. 162-167, 1982.
- GRANT, C. A.; BUCKLEY, W. T.; BAILEY, L. D.; SELLES, F. Cadmium accumulation in crops. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa. v.78, p.1–17, 1998.
- GRANT, C..A.; CLARKE, J.M.; DUGUID, S.; CHANEY, R.L. Selection and breeding of plant cultivars to minimize cadmium accumulation. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 390, p. 301–310, 2008.

- GRATÃO, P.L. Resposta de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* cv Micro-Tom) ao cádmio. 2008. 115 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.
- GRAY, C.W.; MCLAREN, R.G.; ROBERTS, A.H.C.; CONDRON, L.M. Sorption and desorption of cadmium from some New Zealand soils: effect of pH and contact time. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 36, p. 199–216, 1998.
- GREGER, M.; LANDBERG, T. Role of rhizosphere mechanisms in Cd uptake by various wheat cultivars. **Plant and Soil**, Netherlands. v.312, n.1-2, p.195-205. 2008.
- GREGER, M.; LÖFSTEDT, M. Crop ecology, management & quality Comparison of uptake and distribution of cadmium in different cultivars of bread and durum wheat. **Crop Science**, Madison, v.44, p.501-507, 2004.
- GUO, Y.; MARSCHNER, H. Uptake, distribution, and binding of cadmium and nickel in different plant species. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 18, p. 2691-2706, 1995.
- HART, J.; WELCH, R.; NORVELL, W.; KOCHIAN, L. Transport interactions between cadmium and zinc in roots of bread and durum wheat seedlings. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.116, p.73–78. 2002.
- HART, J.J.; WELCH, R.M.; NORVELL, W.A.; SULLIVAN, L.A.; KOCHIAN, L.V.; Characterization of cadmium binding, uptake, and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars. **Plant Physiology,** Rockville, v. 116, p. 1413-1420, 1998.
- HATTORI, H.; KUNIYASU, K.; CHIBA, K.; CHINO, M. Effect of chloride application and low soil pH on cadmium uptake from soil by plants. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v.52, p.89–94, 2006.
- HOTZ, C.; BROWN, K.H. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations. **Food and Nutrition Bulletin**, Boston, v.25, n.1, p.130-162, 2004.
- HOVMAND, M.F.; TJELI, J.C.; MOSBMK, H. Plant uptake of airborne cadmium. **Environmental Pollution. Series A Ecological and Biological**, London, v. 30, n. 1, p. 27-38, 1983.
- HUANG, X.L.; SHENGGUI, Y.; CHUNSHENG, D. Evaluation of the decay data of Cd-109. **Nuclear Instruments & Methods in Physics Research.** Amsterdam, v. 621, n. 1-3, p. 443-446, 2010.
- IAPAR. Cultivar de feijão IPR Colibri. 1 ed. Londrina: Instituto Agronômico do Paraná 2008. 2p.

- IBGE INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA. Aquisição alimentar domiciliar per capita anual, por Grandes Regiões, segundo os produtos período 2008-2009. 2010. Disponível em http://www1.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_aquisicao/tabelas_pdf/tab111.pdf. Acesso em 12 jun 2011
- INABA, T.; KOBAYASHI, E.; SUWAZONO, Y.; UETANI, M.; OISHI, M.; NAKAGAWA, H.; NOGAWA, K. Estimation of cumulative cadmium intake causing Itai–itai disease. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 159, p. 192–201, 2005.
- ISHIKAWA, S.; AE, N.; SUGIYAMA, M.; MURAKAMI, M.; ARAO, T. Genotypic variation in shoot cadmium concentration in rice and soybean in soils with different levels of cadmium contamination. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 51, n. 1, p. 101-108, 2005.
- JALIL, A.; SELLES, F.; CLARKE, J.M. Effect of cadmium on growth and the uptake of cadmium and other elements by durum wheat. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 17, n. 11, p. 1839-1858, 1994.
- JIN, T.; NORDBERG, G.; YE, T.; BO, M.; WANG, H.; ZHU, G.; KONG, Q.; BERNARD, A. exposed to cadmium in China. **Environmental Research**, New York, v. 96, p. 353–359, 2004.
- JOHNSON, C.M.; STOUT, P.R.; BROYER, T.C.; CARLTON, A.B. Comparative chlorine requirements of different plants species. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 8, p. 337-353, 1957.
- JULIATTI, M.A.; PRADO, R.M.; BARRIQUELO, M.F.; LENZI, E. Cádmio em Latossolo Vermelho cultivado com milho em colunas: mobilidade e biodisponibilidade. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.26, p.1075-1081, 2002.
- KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2001. 413 p.
- KOCHIAN, L.V.; HOEKENGA, O.A.; PIÑEROS, M.A. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 55, p. 459-493, 2004.
- KORENKOV, V.; HIRSCHI, K.; CRUTCHFIELD, J.D.; WAGNER, G.J., Enhancing tonoplast Cd/H antiport activity increases Cd, Zn, and Mn tolerance, and impacts root/shoot Cd partitioning in *Nicotiana tabacum* L. **Planta**, v.226, p.1379–1387, 2007.
- KUBO, K.; WATANABE, Y.; OYANAGI, A.; KANEKO, S.; CHONO, M.; MATSUNAKA, H.; SEKI, M.; FUJITA, M. Cadmium concentration in grains of Japanese wheat cultivars: genotypic difference and relationship with agronomic characteristics. **Plant Production Science**, Tokyo, v. 11, p. 243-249, 2008.

- KURIHARA, H.; WATANABE, M.; HAYAKAWA, T. Phytoremediation with Kenaf (*Hibiscus cannabinus*) for cadmium contaminated paddy field in southwest area of **Japan. Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition,** Tokyo, v.76, p.27–34, 2005.
- LI, Y.M.; CHANEY, R.L.; SCHNEITER, A.A.; MILLER, J.F. Genotypic variation in kernel cadmium concentration in sunflower germplasm under varying soil condition. **Crop Science**, Madison, v.35, p.137–141,1995.
- LIU, J.; ZHU, Q.; ZHANG, Z.; XU, J.; YANG, J.; WONG, M.H. Variations in cadmium accumulation among rice cultivars and types and the selection of cultivars for reducing cadmium in the diet. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 85, p.147–153, 2005.
- LUX, A.; MARTINKA, M.; VACULÍK, M.; WHITE, P.J. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, p. 21-37, 2011.
- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 2006. 638 p.
- MALAVOLTA, E.; MORAES, M.F. Sobre a sugestão dos metais pesados tóxicos em fertilizantes e sobre a Portaria 49 de 25/04/2005 da Secretaria do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 114, p. 10-14, 2006.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. p. 231-307.
- MARINHO, J.T.S.; PEREIRA, R.C.A.; COSTA, J.G. Caracterização de cultivares de caupi (*Vigna ungüiculada* (L.) Walp), em plantios no Acre. Rio Branco: Embrapa Acre, 2001. 13 p. (Boletim de Pesquisa, 31). Disponível em http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/501750.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889 p.
- MATOS, J.W.; RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B. Trinta e dois anos do programa de melhoramento do feijoeiro comum em Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1749-1754, 2007.
- MCCARTHY, I.; ROMERO-PUERTAS, M.C.; PALMA, J.M.; SANDALIO, L.M.; CORPAS, F.J.; GÓMEZ, M.; DEL RIO, L.A. Cadmium induces senescence symptoms in leaf peroxisomes of pea plants. **Plant, Cell and Environment**, Nottingham, v. 24, p. 1065-1073, 2001.
- MEAD, M.N. Cadmium confusion: Do Consumers Need Protection? **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 118, n. 12, p. 528-534, 2010.

- MEDA, A.R.; SCHEUERMANN, E.B.; PRECHSL, U.E.; ERENOGLU, B.; SCHAAF, G.; HAYEN, H.; WEBER, G.; WIREN, N. von. Iron acquisition by phytosiderophores contributes to cadmium tolerance. **Plant Physiology**, Rockville, v. 143, n. 4, p. 1761-1773, 2007.
- MESSINA, M.J. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 70, p. 439-450, 1999.
- MODA-CIRINO, V. Cultivares de feijão IAPAR: características e recomendações. In: FANCELLI, A.L. (Org.). **Feijão**: tópicos especiais de manejo. Piracicaba: ESALQ/USP/LPV, 2009. p. 23-40.
- MORAES, M. F. de. **Micronutrientes e metais pesados tóxicos: do fertilizante ao produto agrícola**. 2009. 108 p. Tese (Doutorado em Ciências) Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.
- MOULIS, J.M. Cellular mechanisms of cadmium toxicity related to the homeostasis of essential metals. **Biometals**, Oxford, v.23, p.877–896, 2010.
- MUNOZ, N.; GONZALEZ, C.; MOLINA, A.; ZIRULNIK, F.; LUNA, C.M. Cadmium-induced, H₂O₂ and antioxidative enzymes in soybean (*Glycine max* L.) leaves. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 56, p. 159-166, 2008.
- NASSIRI, Y.; GINSBURGER-VOGEL, T.; MANSOT, J. L.; WERY, J. Effects of heavy metals on Tetraselmis suecica: Ultrastructural and energy-dispersive X-ray spectroscopic studies. **Biology of the Cell**, Paris, v. 86, p. 51–160, 1996.
- NASSIRI, Y.; WÉRY, J.; MANSOT, J.L.; GINSBURGER-VOGEL, T. Cadmium bioaccumulation in *Tetraselmis suecica*: an electron energy loss spectroscopy (EELS) study. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 33, p. 156-161, 1997.
- OLIVEIRA, J.A. CAMBRAIA, J. OLIVA, M.A. JORDÃO, C.P. Absorção e acúmulo de cádmio e seus efeitos sobre o crescimento relativo de plantas de aguapé e de salvínia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. Viçosa. v.13, n.3, p.329-341. 2001.
- OLIVEIRA, J.A.; OLIVA, M.A.; CAMBRAIA, J. Effects of cadmium on chlorophyll contents and on peroxidase activity in soybeans. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 6, p. 97-101, 1994.
- OLIVER, D.P.; HANNAM, R.; TILLER, K.G.; WILHELM, N.S.; MERRY, R.H. COZENS, G.D. The effects of zinc fertilization on cadmium concentration in wheat-grain. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 23, n. 4, p. 705-711, 1994.
- PANDEY, J.; PANDEY, R.; AND SHUBHASHISH, K. Air-borne heavy metal contamination to dietary vegetables: a case study from India. Bulletin of **Environmental Contamination and Toxicology**. New York, v.83, p.931-936, 2009.

- PANWAR, B.S.; SINGH, J.P.; LAURA, R.D. Cadmium uptake by cowpea and mungbean as affected by Cd and P application. **Water, Air & Soil Pollution**, Dordrecht, v. 112, n. 1-2, p. 163-169, 1998.
- PENNER, G.A.; CLARKE, J.; BEZTE, L.J.; LEISLE, D. Identification of RAPD markers linked to a gene governing cadmium uptake in durum wheat. **Genome**, v.38, p.543–547.1995.
- PERALTA-VIDEA, J.R.; LOPEZ, M.L.; NARAYAN, M.; SAUPE, G.; GARDEA-TORRESDEY, J. The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: implications for the food chain. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, New York, v.41, p.1665-1677, 2009.
- PHILLIPS, R.D.; MCWATTERS, K.H.; CHINNAN, M.S.; HUNG, Y.C.; BEUCHAT, L.R.; SEFA-DEDEH, S.; SAKYI-DAWSON, E.; NGODDY, P.; NNANYELUGO, D.; ENWERE, J.; KOMEY, N.S.; LIU, K.; MENSA-WILMOT, Y.; NNANNA, I.A.; OKEKE, C.; PRINYAWIWATKUL, W.; SAALIA, F.K. Utilization of Cowpeas for Human Food. **Field Crops Research.** Amsterdam, v.82 p.193 213. 2003.
- PIÑEROS, M.A.; SHAFF, J.E.; KOCHIAN, L.V. Development, Characterization, and Application of a Cadmium-Selective Microelectrode for the Measurement of Cadmium Fluxes in Roots of Thlaspi Species and Wheat. **Plant Physiology**, Rockville, v.116, p.1393-1401, 1998.
- PINTO, A.P.; ALVES, A.S.; CANDEIAS, A.J.; CARDOSO, A.I.; VARENNES A.; MARTINS, L.L.; MOURATO, M.P.; GONÇALVES, M.L.S.; MOTA, A.M. Cadmium accumulation and antioxidative defences in Brassica juncea L.Czern, *Nicotiana tabacum* L. and *Solanum nigrum* L. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, London, v.89, n.8, p.661–676, 2009.
- PINTO, A.P.; SIMÕES, I.; MOTA, A.M. Cadmium impact on root exudates of sorghum and maize plants: a speciation study. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v.31, p.1746-1755, 2008.
- PODAR, D.; RAMSEY, M.H.; HUTCHINGS, M.J. Effect of cadmium, zinc and substrate heterogeneity on yield, shoot metal concentration and metal uptake by *Brassica juncea*: implications for human health risk assessment and phytoremediation. **New Phytologist**, Cambridge, v.163, p.313–324. 2004.
- POMPEU, A.S. IAC MARAVILHA, IAC-Una, IAC-Carioca PYATÃ, IAC-Carioca ARUÃ, IAC-Carioca akytã e IAC-Bico de ouro: novos cultivares de feijoeiro. **Bragantia**, Campinas, v. 56, n.1. p.79-85. 1997.
- PRITSA, T.; FOTIADIS, E.; LOLAS, P. Corn Tolerance to Atrazine and Cadmium and Sunflower to Cadmium in Soil and Hydroponic Culture. **Communications In Soil Science And Plant Analysis.** London. v.39; n.7-8, p.1168-1182, 2008.
- RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (Ed.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. 284 p.

- RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agronômico, 1996. 285 p.
- RAUSER, W.E. Phytochelatins and related peptides. Structure, biosynthesis, and function. **Plant Physiology**, Rockville, v. 109, p. 1141-1149, 1995.
- RENGEL, Z.; BATTEN, G.D.; CROWLEY D.E. Agronomic approaches for improving the micronutrient density in edible portions of field crops. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 60, p. 27-40, 1999.
- SALT, D.E.; PRINCE, R.C.; PICKERING, I.J.; RASKIN, I. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian Mustard. **Plant Physiology**, Rockville, v.109, p.1427-1433,1995.
- SALT, D.E.; SMITH, R.D.; RASKIN, I. Phytoremediation. Annual Review in Plant **Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.49, p.643-668, 1998.
- SANTOS, H.G. dos; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C. dos; OLIVEIRA, V.A. de; OLIVEIRA, J.B. de; COELHO, M.R.; LUMBRERAS, J.F.; CUNHA, T.J.F. (Ed.). **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306 p.
- SATARUG, S.; BAKER, J.R.; URBENJAPOL, S.; HASWELL-ELKINS, M.; REILLY, P.E.; WILLIAMS, D.J.; MOORE, M.R. A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 137, n. 1-2, p. 65-83, 2003.
- SCOTT, A.J.; KNOTT, M. A Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, DC, v. 30, p. 507-512, 1974.
- SHENKER, M.; FAN, T.W.; CROWLEY, D.E. Phytosiderophores influence on cadmium mobilization and uptake by wheat and barley plants. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 30, n. 6, p. 2091-2098, 2001.
- SOUZA, C.L.L.V. Metodologias não-invasivas e bioquímicas usadas na detecção dos efeitos fisiológicos causados por salinidade em tomateiro. 2003. 93 p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.
- TANAKA, K.; SUEDA, K.; ONOSAKA, S.; OKAHARA, K. Fate of ¹⁰⁹Cd-labeled metallothionein in rats **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v. 33, n. 2, p. 258-266, 1975.
- TIRYAKIOGLU, M.; EKER, S.; OZKUTLU, F.; HUSTED, S.; CAKMAK, I. Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Stuttgart, v.20, p.181-189, 2006.

TREVIZAM, A.R.; VILLANUEVA, F.C.A.; MURAOKA, T.; NASCIMENTO FILHO, V.F. do; ABREU JUNIOR, C.H. Aplicação de fósforo para imobilização química do cádmio em solo contaminado. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 6, p. 1235-1241, 2010.

TRUGO, L.C.; DONANGELO, C.M.; TRUGO, N.M.; BACH KNUDSEN, K.E. Effect of heat treatment on nutritional quality of germinated legume seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 6, p. 2082-2086, 2000.

VAZQUEZ, M.D.; POSCHENRIEDER, C.H.; BARCELO, J. Ultrastructural effects and localization of low cadmium concentrations in bean roots. **New Phytologist**, London, v. 120, n. 2, p. 215-226, 1992.

WAGNER, G.J. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. **Advances in Agronomy**, New York, v.51, p.173–212. 1993.

WEIGEL, H.J.; JÄGER, H.J. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants. **Plant Physiology**, Rockville, v.65, p.480-482, 1980.

WHO. **Evaluation of certain additives and contaminants**. Forty- first report of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva, Switzerland, 1993. (Technical Report Series, 837).

WÓJCIK, M.; VANGRONSVELD, J.; D'HAEN, J.; TUKENDORF, A. Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens*. II. Localization of cadmium in *Thlaspi caerulescens*. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 163–171, 2005.

YATTERBERG, A.J.; PELTIER, J.B.; VAN WIJK, K.J. Protein profiling of plastoglobules in chloroplasts and chromoplasts; a surprising site for didderential accumulation of metabolic enzymes. **Plant Physiology**, Rockville, v. 140, p. 984-997, 2006.