

RICARDO MIRANDA DOS SANTOS

**BIOFORTIFICAÇÃO DE FEIJÃO COM ZINCO: EFEITOS DE FONTES, FORMAS
DE APLICAÇÃO, DOSES, E DO FUNGO *Pochonia chlamydosporia***

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

Orientador: Renildes Lúcio Ferreira Fontes

Coorientadores: Cleberson Ribeiro
Leonardus Vergütz

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S237b Santos, Ricardo Miranda dos, 1984-
2021 Biofortificação de feijão com zinco: efeitos de fontes,
formas de aplicação, doses, e do fungo *Pochonia
chlamydosporia* / Ricardo Miranda dos Santos. – Viçosa, MG,
2021.

1 tese eletrônica (99 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndices.

Orientador: Renildes Lucio Ferreira Fontes.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Solos, 2021.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2021.242>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Zinco. 2. Alimentos - Qualidade. 3. Valor Nutritivo.
4. Inoculantes microbianos. 5. Nutrientes. I. Fontes, Renildes
Lucio Ferreira, 1957-. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Solos. Programa de Pós-Graduação em Solos e
Nutrição de Plantas. III. Título.

CDD 22. ed. 631.4

RICARDO MIRANDA DOS SANTOS

**BIOFORTIFICAÇÃO DE FEIJÃO COM ZINCO: EFEITOS DE FONTES, FORMAS
DE APLICAÇÃO, DOSES, E DO FUNGO *Pochonia chlamydosporia***

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

APROVADA: 24 de setembro de 2021

Assentimento:



Ricardo Miranda dos Santos

Autor



Renildes Lúcio Ferreira Fontes

Orientador

**Dedico esta tese aos meus pais,
Antônio e Laudelice.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu bom Deus, por sempre ter me dado força nos momentos de dificuldade nessa caminhada e agora permitindo o título de Doutorado, em Solos e Nutrição de Plantas.

Aos meus pais, Antônio Gualberto e Laudelice Miranda, pela grande dedicação que tiveram para que eu conseguisse realizar esse sonho. Às minhas irmãs Renata, Luzia e Luziane e ao meu irmão Cardoso, pelo companheirismo. Às minhas sobrinhas Tawany, Thaissa e Livia e ao meu sobrinho Antônio. Agradeço à minha namorada Arlete, por todo apoio, compreensão e carinho.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Renildes Lúcio Ferreira Fontes, pela compreensão e companheirismo nos momentos que precisei e pelos ensinamentos durante esses quatro anos de convivência. Aos meus Coorientadores, Cleberson e Leonardus, pelos ensinamentos e apoio nos momentos de dificuldades. A minha amiga Dra. Thais, pelos ensinamentos e apoio no desenvolvimento desse trabalho.

Quero agradecer imensamente ao Prof. Dr. Samuel Valadares por todo apoio durante a realização das análises de laboratório. Ao Prof. Dr. José João L. L. de Souza pela realização da análise de florescência nos grãos, e ao Prof. Dr. Leandro e a Dra. Thalita por todo o apoio, confiança e por ter cedido o microrganismo para a realização do experimento do segundo capítulo. Ao Prof. Dr. José Eustáquio, por todo apoio na realização desse trabalho de tese, cedendo as sementes para a realização dos experimentos.

À Universidade Federal de Viçosa, pela estrutura e aos Técnicos Marcos, Adriana, Janilson, Carlinhos, João Milagres, Humberto, Paulo, Fabiane, Geovani e Júlio do almoxarifado, por todo apoio durante a condução desse trabalho, sou eternamente grato a todos vocês.

Aos meus colegas de Pós-Graduação, Géssica, Patrícia, Hend, Ana Paula, Valéria, Cris, Klever, Rafael, Jorge, Aymbiré, Cristian, Antônio, Manoel, Ranyer, Mairon, pelo o companheirismo e os conhecimentos adquiridos de cada um de vocês durante essa caminhada. Ao amigo Ésio pelos ensinamentos, pelo apoio nos momentos de dificuldades e pela ajuda para que esse trabalho desse certo.

Ao Programa Solos e Nutrição de Plantas – UFV, pela oportunidade e apoio durante a minha trajetória no doutorado e a Capes pela concessão da bolsa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

SANTOS, Ricardo Miranda, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2021. **Biofortificação de feijão com zinco: efeitos de fontes, formas de aplicação, doses, e do fungo *Pochonia chlamydosporia***. Orientador: Renildes Lúcio Ferreira Fontes. Coorientadores: Leonardus Vergütz e Cleberson Ribeiro.

O zinco desempenha importante papel para o adequado funcionamento do organismo humano. O consumo de alimentos com baixos teores desse nutriente tem contribuído para o aparecimento da desnutrição e diversos problemas de ordem fisiológica na população. Uma alternativa para melhorar a qualidade nutricional dos produtos agrícolas que compõem a dieta alimentar da população é o enriquecimento das partes comestíveis das culturas comerciais pelo manejo da adubação, com a prática chamada biofortificação agrônômica. Diante disso, objetivou-se neste estudo avaliar os efeitos da aplicação de doses de Zn via foliar, utilizando o Zn-EDTA e o Zn-Aas (Zn-amino ácido quelatos)-FH-Amino como alternativas ao ZnSO₄, e a inoculação do fungo *P. chlamydosporia* nas sementes, associada à aplicação de Zn via solo e via foliar para a biofortificação de grãos de feijão. Dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, com a cultivar BRSMG Madrepérola. No experimento I avaliou-se a aplicação de doses de Zn via foliar utilizando o Zn-EDTA, Zn-Aas e o ZnSO₄ e foi realizado em esquema fatorial [(3 × 5 + 1) + (1 × 3)], correspondendo a três fontes de Zn, cinco doses de Zn (2,5; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 mg dm⁻³) aplicadas via foliar, um controle, sem aplicação de Zn via foliar e três doses de KCl (0,0; 0,2; 0,4 %) dentro da dose 5 mg dm⁻³ de Zn via foliar do ZnSO₄, em delineamento em blocos casualizados com quatro repetições. O experimento II foi desenvolvido em esquema fatorial 2 × 2 × 5, representado pela inoculação do fungo *P. chlamydosporia* em sementes de feijão (0 e 5 g kg⁻¹ de sementes), com aplicação de Zn via solo (0 e 2,5 mg dm⁻³), e aplicação de Zn via foliar (0; 2,5; 5,0; 10,0 e 20,0 mg dm⁻³), em delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições. Após a colheita de ambos os experimentos, foram contabilizados o número de vagens, a produtividade de grãos por planta e o peso de 100 grãos, determinou-se os teores N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn e Zn, nos grãos, realizou-se a análise de mapas microquímicos pela fluorescência de raios X com energia dispersiva (EDXRF), como também, apenas no experimento II, foram determinadas as características químicas dos solos. As fontes de Zn aumentaram os teores de Zn em grãos de feijão melhorando a qualidade, com destaque para o Zn-EDTA, este que também contribuiu para o aumento dos teores e conteúdos de outros

nutrientes e menor redução dos componentes da produção de grãos. A aplicação de doses de KCl via foliar na dose de 5 mg dm⁻³ de Zn da fonte de ZnSO₄, aumentou o teor e conteúdo de S e conteúdo de K nos grãos de feijão. A colonização de raízes de feijoeiro pelo *P. chlamydosporia* não foi efetiva para aumentar os teores de Zn nos grãos de feijão. Porém, aumentou a absorção de P, K, Fe e Mn pelas raízes e também resultou no aumento nos teores de N e de proteínas nos grãos, entretanto, reduziu o peso de cem grãos. A inoculação do microrganismo nas sementes, associada à adição ou não de Zn no solo e suplementada com doses de Zn foliar, aumentou os teores de K, Fe e Mn nos grãos. A aplicação de doses de Zn foliar, associada à adição ou não de Zn no solo, aumentou os teores do elemento nos grãos, principalmente, nas doses 10 e 20 mg dm⁻³ de Zn via foliar, sem adição de Zn no solo.

Palavras-Chave: Fontes de zinco. Qualidade nutricional de alimentos. Microrganismos.

Teores de nutrientes

ABSTRACT

SANTOS, Ricardo Miranda, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, September, 2021. **Biofortification of beans with zinc: effects of sources, forms of application, doses, and of the fungus *Pochonia chlamydosporia***. Advisor: Renildes Lúcio Ferreira Fontes. Co-advisors: Leonardus Vergütz and Cleberson Ribeiro.

Zinc is very important for the proper functioning of the human body. The consumption of foods with low levels of this nutrient has contributed to the emergence of malnutrition and several physiological problems in the population. An alternative to improve the nutritional quality of agricultural products that composes the diet of the population is the enrichment of the edible parts of commercial crops through fertilizer management, which is known as agronomic biofortification. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effects of applying doses of Zn in the leaves, using Zn-EDTA and Zn-AAAs (Zn-amino acid chelates)-FH-Amino as alternatives to ZnSO₄, and the inoculation of fungus *P. chlamydosporia* in seeds, associated with soil and foliar Zn application for biofortification of bean grains. Two experiments were carried out in a greenhouse, with the cultivar BRSMG Madrepérola. In experiment I, the application of Zn doses was evaluated using Zn-EDTA, Zn-AAAs and ZnSO₄ and it was carried out in a factorial scheme [(3 × 5 + 1) + (1 × 3)], corresponding to three sources of Zn, five doses of Zn (2.5; 5.0; 10.0; 15.0 and 20.0 mg dm⁻³), a control, without application of Zn and three doses of KCl (0.0; 0.2; 0.4 %) within the dose of 5 mg dm⁻³ of Zn, in a randomized block design with four replications. Experiment II was developed in a 2 × 2 × 5 factorial scheme, represented by the inoculation of the fungus *P. chlamydosporia* in bean seeds (0 and 5 g kg⁻¹ of seeds), with soil application of Zn (0 and 2.5 mg dm⁻³), and foliar application of Zn (0, 2.5, 5.0, 10.0 and 20.0 mg dm⁻³), in a randomized block design, with four replications. After harvesting in both experiments, the number of pods, grain yield per plant and the weight of 100 grains were counted. Afterwards, N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn and Zn contents in the grains were determined, microchemical maps were analyzed by energy dispersive X-ray fluorescence (EDXRF), as well as, only in experiment II, the chemical characteristics of the soils were determined. The Zn sources increased the nutrient contents in the beans, improving quality, with emphasis on Zn-EDTA, which also contributed to the increase in the contents of other nutrients and less reduction in the components of grain production. The application of KCl doses in the leaves at a dose of 5 mg dm⁻³ of Zn from the ZnSO₄ source increased the S and K content in bean grains.

The colonization of bean roots by *P. chlamydosporia* was not effective in increasing Zn contents in bean grains. However, it increased the uptake of P, K, Fe and Mn by the roots and also resulted in an increase in N contents and protein in the grains, nonetheless, it reduced the weight of one hundred grains. The inoculation of the microorganism in the seeds, associated with the addition or not of Zn in the soil and supplemented with foliar doses of Zn, increased the contents of K, Fe and Mn in the grains. The foliar application of Zn doses, associated with the addition or not of Zn in the soil, increased the contents of the element in the grains, mainly in the doses of 10 and 20 mg dm⁻³ of Zn, without addition of Zn in the soil.

Keywords: Zinc sources. Nutritional food quality. Microorganisms. Nutrient content

SUMÁRIO

Introdução Geral	11
Referências	15
Capítulo 1	19
Biofortificação agronômica do feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.), com zinco aplicado via solo e via foliar.....	19
Resumo	19
Agronomic biofortification of beans (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.), with zinc applied via soil and leaf.....	20
Abstract.....	20
1. Introdução	21
2. Material e métodos	23
3. Resultados	26
4. Discussão	37
5. Conclusões.....	42
Referências.....	43
Capítulo 2	52
Inoculação de sementes do feijoeiro com <i>Pochonia chlamydosporia</i> para aumentar a absorção e o acúmulo de zinco na planta visando à biofortificação agronômica.....	52
Resumo	52
The inoculation of Bean seeds with <i>Pochonia chlamydosporia</i> as a feature to improve the plant absorption and stock of Zinc for agronomic biofortification	53
Abstract.....	53
1. Introdução	54
2 Material e Métodos.....	56
2.1 Preparo do solo para crescimento das plantas	57
2.2 Tratamento das sementes de feijão com o fungo <i>P. chlamydosporia</i>	58
2.3 Crescimento das plantas e análises do material vegetal.....	58
2.4 Análise do solo após a condução do experimento	59
2.5 Mapeamento histoquímico do Zn nos grãos	59
2.6 Análise estatística	60
3 Resultados	60
3.1 Efeitos dos tratamentos nas características químicas do solo	60
3.2 Efeitos dos tratamentos nas características agronômicas das plantas de feijão	63
3.3 Efeitos dos tratamentos nas características químicas dos grãos de feijão.....	70

4. Discussão	80
4.1 Efeitos dos tratamentos nas características químicas do solo	80
4.2 Efeitos dos tratamentos nas características agrônômicas das plantas de feijão	81
4.3 Efeitos dos tratamentos nas características químicas dos grãos de feijão.....	83
5. Conclusão	87
Referências.....	87
Conclusões Gerais.....	96
APÊNDICES	97

Introdução Geral

O aumento da população mundial, aliada à melhoria da renda das pessoas, em alguns países, vem aumentando a pressão pela produção de alimentos (Rask e Rask, 2011; Tran et al., 2019). A introdução de tecnologias na agricultura teve um importante papel no aumento da produção de alimentos (Fess et al., 2011). Por outro lado, essas tecnologias têm gerado alguns impactos, como aumento da erosão do solo, poluição ambiental, emissões de gases de efeito estufa e redução da biodiversidade (Tilman et al., 2002; Pellegrini e Fernández, 2017; Timsina, 2018). Isso, ao longo do tempo, poderá diminuir a disponibilidade de recursos para a produção de alimentos e colocar em risco o sistema de produção agrícola (Fess et al., 2011; Rask e Rask, 2011).

Há uma necessidade urgente de buscar alternativas para produção de alimentos, de forma sustentável e que atenda a demanda da população. Para isso, deve haver ajuste das tecnologias já existentes, ou o desenvolvimento de novas tecnologias que aumentem a produção de alimentos, sem comprometer os recursos naturais (Timsina, 2018). Dentre estes desafios, o foco na produção de alimentos que possuam boa qualidade nutricional é fundamental, associado ao melhoramento de plantas, que tem focado no aumento da produtividade das culturas, mas que tem dado pouca atenção a melhorias na composição nutricional (Dwivedi et al., 2017). Os alimentos tendem a possuir quantidade de calorias necessárias para atender às exigências diárias das pessoas. Porém, o fornecimento de micronutrientes essenciais ao organismo humano, como vitamina A, ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu) e iodo (I), podem estar abaixo dos teores adequados, não atendendo às exigências diárias da população (Tran et al., 2019).

O Zn é um elemento que possui importantes funções em diversos processos biológicos, sendo de extrema importância para o crescimento e desenvolvimento adequado de plantas, além do importante papel na saúde humana. Os teores de Zn presentes na maioria das plantas estão entre 30 e 100 mg kg⁻¹, e teores superiores a 300 mg kg⁻¹ podem causar fitotoxidez às plantas (Noulas et al., 2018). Esse micronutriente desempenha importante função nas plantas, participando do metabolismo de carboidratos, fotossíntese, síntese de proteínas, manutenção da integridade de membranas celulares, ajudando na orientação estrutural das macromoléculas e manutenção dos sistemas de transportes de íons, regulação na síntese de auxina e formação de pólen (Noulas et al., 2018; Rudani et al., 2018; Suganya et al., 2020). A deficiência de Zn pode afetar o desenvolvimento das plantas, como também comprometer a saúde humana, visto a proporção significativa de fontes nutricionais humanas provenientes das culturas (Hacisalihoglu, 2020).

O Zn é encontrado no solo e nas rochas como Zn^{2+} e está presente na fração mineral dos solos, principal nos minerais ferromagnéticos, dentre eles, a biotita, magnetita, horblenda e, também, nos minerais contendo sulfeto, sulfatos, carbonatos e fosfatos de Zn (Dechen e Nachtigall, 2006; Sturikova et al., 2018). Esses minerais ao passarem pelo processo de intemperismo, liberam o Zn como um cátion divalente (Zn^{2+}), podendo este ser adsorvido aos colóides do solo ou formar complexo com a matéria orgânica (Dechen e Nachtigall, 2006; Sadeghzadeh, 2013). A concentração total de Zn no solo não pode ser usada como indicativo da disponibilidade de Zn para as plantas, pois uma pequena parte desse Zn é trocável ou solúvel (Sadeghzadeh, 2013). O Zn possui baixa mobilidade no solo, devido a sua alta reação com os minerais silicatados, óxidos e hidróxidos de Fe e a matéria orgânica. No solo, o Zn pode estar em três formas, como Zn na solução do solo, Zn trocável, adsorvido aos colóides do solo e o Zn fixado aos minerais do solo (Dechen e Nachtigall, 2006).

O pH é o principal fator que influenciam a disponibilidade de Zn no solo, afetado sua mobilidade e distribuição no solo (Sturikova et al., 2018). O aumento do pH reduz a disponibilidade de Zn no solo (Rudani et al., 2018), sendo que os solos ácidos apresentam maior disponibilidade de Zn e acima do pH 7,0 a disponibilidade do nutriente é severamente reduzida (Dechen e Nachtigall, 2006). Outros fatores, como altos níveis de P e matéria orgânica no solo diminui a disponibilidade o Zn no solo, como também, elevada umidade no solo reduz a absorção do elemento pelas plantas (Rudani et al., 2018).

A deficiência de Zn atinge 49 % dos solos agrícolas no mundo (Suganya et al., 2020), contribuindo para a baixa produtividade e qualidade das culturas. Em muitos casos de deficiência de Zn nas plantas, os sintomas não aparecem, sendo esse fenômeno conhecido como deficiência oculta (Alloway, 2009). A deficiência de Zn nos solos e nos alimentos, está relacionado ao uso de cultivares com alta produtividade e alta demanda nutricional, a aplicação de fertilizantes nos solos à base de macronutrientes e a super calagem, que eleva o pH do solo, diminuindo a disponibilidade de Zn às plantas. Com o cultivo intenso do solo, visando o aumento de produtividades e a qualidade nutricional do produto colhido, é necessária a aplicação de fontes de Zn no solo ou adubos que já contenham esse micronutriente na sua composição (Cakmak e Hoffland, 2012).

A deficiência de Zn, juntamente com as deficiências de vitamina A e Fe, é um dos grandes problemas de saúde pública, especialmente, em países em desenvolvimento (Welch e Graham, 2005). Essa deficiência retarda o crescimento humano, aumenta os riscos de doenças infecciosas, de partos prematuros e afeta o sistema imunológico das pessoas (Yakoob et al., 2011).

A ingestão diária de Zn para atender à necessidade de uma pessoa é pequena, sendo de 8 mg d⁻¹ para mulheres e de 11 mg d⁻¹ para homens (Maret e Sandstead, 2006). No entanto, grande parte da população no mundo tem a ingestão do elemento abaixo do necessário para suprir sua necessidade metabólica, com isso, aproximadamente 17 % da população mundial corre risco de apresentar deficiência de Zn (Wessells e Brown, 2013). Outro fator que agrava a deficiência de Zn, é a produção de compostos antinutricionais, como o fitato, pelos alimentos à base de cereais e leguminosas, que forma complexo com o Zn, reduzindo a absorção do elemento no intestino humano (Gibson et al., 2010).

Para minimizar a deficiência de Zn, o ideal seria que toda população possuísse acesso a uma variedade de alimentos para o consumo. Porém, é fato que isso não ocorre, principalmente, em população de baixa renda (Groote et al., 2021). Alternativas para reduzir a deficiência de Zn têm sido implementadas, como o uso da suplementação e a fortificação dos alimentos. No entanto, essas alternativas frequentemente não chegam à população rural, onde está a maior incidência de pessoas com deficiência de Zn (Nestel et al., 2006). Para solucionar esse problema, a biofortificação dos alimentos básicos com Zn vem se destacando como uma ótima alternativa para reduzir a deficiência do elemento da população na zona rural, que tem dificuldade de acesso a outras alternativas (Nestel et al., 2006; Bouis e Saltzman, 2017).

A biofortificação agrônômica pode ser uma ótima ferramenta para reduzir a deficiência de Zn, principalmente, em regiões onde os solos são deficientes no elemento. Para isso, é necessário a aplicação de Zn no solo e que o nutriente seja incrementado nos alimentos colhidos, aumentando sua disponibilidade para os consumidores (Groote et al., 2021). A biofortificação agrônômica com Zn é alcançada por meio do manejo da adubação, sendo o nutriente aplicado via solo ou foliar (Valença et al., 2018).

Visando melhorar a eficiência do Zn aplicado ao solo, com o objetivo de aumentar os teores do elemento nas partes comestíveis das culturas, tem-se utilizado da inoculação de microrganismos solubilizadores de Zn no solo. O mecanismo que explica o aumento da disponibilidade do Zn no solo, por meio da inoculação de microrganismos, está relacionado a redução do pH na região da rizosfera, pela produção de ácidos orgânicos. Esses ácidos orgânicos ao reduzirem o pH do solo, tornam o Zn mais solúvel, aumentando sua disponibilidade na solução do solo, bem como, atuam reduzindo a fixação do elemento aplicado ao solo (Suganya et al., 2020). Além disso, a inoculação de microrganismo promove alterações anatômica e morfológica nas raízes melhorando a absorção de Zn pelas plantas (Singh et al., 2018).

Diversas culturas têm sido pesquisadas, com a associação de Zn e a inoculação de fungos no solo, obtendo resultados satisfatórios no aumento do teor do elemento nas partes comestíveis (Kumar e Singh, 2017; Watts-Williams e Cavagnaro, 2018; Ma et al., 2019; Suganya et al., 2020). No entanto, pesquisas com feijoeiro, que tem um grande potencial de combater à deficiência de nutrientes na população (Basavaraja et al., 2021), são escassas, sendo necessário a realização de pesquisas com a inoculação de fungos, visando aumentar o teor de Zn nos grãos. O grande potencial dessa cultura no combate a deficiência de Zn deve-se ao seu alto teor do elemento acumulado nos grãos, que pode chegar a 51 ppm, com média de 35 ppm, quando comparada a outras culturas, tal como os cereais (Beebe et al., 2000). Além disso, como observado em 2013, os países com maior consumo per capita de feijão estão localizados em regiões com predomínio de deficiência de Zn. Dentre esses países, Ruanda se destaca como maior consumidor (34,13 kg hab⁻¹). Nesse mesmo ano, o consumo de feijão per capita no Brasil foi de 16,07 kg hab⁻¹ (Wander et al., 2021).

A biofortificação agronômica tem-se difundido em todo mundo, como uma forma de aumentar os teores de nutrientes, a exemplo do Zn, nas culturas básicas, como o feijão. Esforços para aumentar os teores de Zn no feijão estão em andamento (Basavaraja et al., 2021), por tratar-se da leguminosa mais consumida no mundo e possuir grande potencial de minimizar a deficiência desse elemento, principalmente, em população de baixa renda (Broughton et al., 2003). Além disso, os grãos de feijão, com altos teores de Zn podem chegar mais facilmente às pessoas que vivem em locais remotos do planeta, onde outras intervenções, como a fortificação de alimentos e a suplementação, têm dificuldades de implementação (Philipo et al., 2020).

Referências

- Alloway, BJ (2009) Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. *Environ Geochem Health*. 31:537–548. <https://doi.org/10.1007/s10653-009-9255-4>
- Basavaraja T, Naik SSJ, Chandora R, Singh M, Singh NP (2021) Breeding for Enhanced Nutrition in Common Bean. In: *Breeding for Enhanced Nutrition and Bio-Active Compounds in Food Legumes*. Springer. Available online: <https://link.springer.com/book/10.1007%2F978-3-030-59215-8>. (accessed on 30 July 2021)
- Beebe S, Gonzalez AV, Rengifo J (2000) Research on trace minerals in the common bean. *Food and Nutrition Bulletin*. 21:387-391. <https://doi.org/10.1177/156482650002100408>
- Biofortification of Fe and Zn in Wheat. *Journal of Hazardous Materials*. 349:101-110.
- Bouis HE, Saltzman A (2017) Improving nutrition through biofortification: A review of evidence from HarvestPlus, 2003 through 2016. *Global Food Security*. 12:49-58. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2017.01.009>
- Broughton WJ, Hernandez G, Blair M, Beebe S, Gepts P, Vanderleyden J (2003) Beans (*Phaseolus* spp.) - model food legumes. *Plant Soil*. 252:55-128. <https://doi.org/10.1023/A:1024146710611>
- Cakmak I, Hoffland E (2012) Zinc for the improvement of crop production and human health. *Plant Soil*. 361:1-2. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1504-0>
- Dechen AR, Nachtigall GR (2006) Micronutrientes. In: Fernandes (ed) *Nutrição Mineral de Plantas*, 1st edn. SBCS, Viçosa, MG, pp 327-354.
- Dwivedi SL, Bueren ETL, Ceccarelli S, Grando S, Upadhyaya HD, Ortiz R (2017) Diversifying Food Systems in the Pursuit of Sustainable Food Production and Healthy Diets. *Trends in Plant Science*. 22:842-856. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2017.06.011>
- Fess TF, Kotcon JB, Benedito VA (2011) Crop Breeding for Low Input Agriculture: A Sustainable Response to Feed a Growing World Population. *Sustainability*. 3: 1742-1772. <https://doi.org/10.3390/su3101742>
- Gibson RS, Bailey KB, Gibbs M, Ferguson EL (2010) A review of phytate, iron, zinc, and calcium concentrations in plant-based complementary foods used in low-income countries and implications for bioavailability. *Food and Nutrition Bulletin*. 31:134-146. <https://doi.org/10.1177 / 15648265100312S206>
- Groote HD, Tessema M, Gameda S, Gunaratna NS, (2021) Soil zinc, serum zinc, and the potential for agronomic biofortification to reduce human zinc deficiency in Ethiopia. *Scientific Reports*. 11:1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88304-6>

- Hacisalihoglu G (2020) Zinc (Zn): The Last Nutrient in the Alphabet and Shedding Light on Zn Efficiency for the Future of Crop Production under Suboptimal Zn. *Plants*. 1471:1-9. <https://doi.org/10.3390/plants9111471>
- Kumar R, Singh M (2017) Effect of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi inoculation on enzymatic activity and zinc uptake under direct seeded rice system. *Journal of Applied and Natural Science*. 9:1157-1163. <https://doi.org/10.31018/jans.v9i2.1340>
- Ma X, Luo W, Li J, Wu F (2019) Arbuscular mycorrhizal fungi increase both concentrations and bioavailability of Zn in wheat (*Triticum aestivum* L) grain on Zn-spiked soils. *Applied Soil Ecology*. 135:91-97. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.11.007>
- Maret W, Sandstead HH (2006) Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 20:3-18. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2006.01.006>
- Nestel P, Bouis HE, Meenakshi JV, Pfeiffer W (2006) Biofortification of Staple Food Crops. *The Journal of Nutrition*. 136. 1064-1067. <https://doi.org/10.1093/jn/136.4.1064>
- Noulas C, Tziouvalekas M, Karyotis T (2018) Zinc in soils, water and food crops. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 49:242-260. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.02.009>
- Pellegrini P, Fernández RJ (2017) Crop intensification, land use, and on-farm energy-use efficiency during the worldwide spread of the green revolution. *PNAS*. 115:2335-2340. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717072115>
- Philipo M, Ndakidemi PA, Mbega ER (2021) Importance of common bean genetic zinc biofortification in alleviating human zinc deficiency in sub-Saharan Africa. *Cogent Food & Agriculture*. 7:1-21. <https://doi.org/10.1080/23311932.2021.1907954>
- Rask KJ, Rask N (2011) Economic development and food production–consumption balance: A growing global challenge. *Food Policy*. 36:186-196. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2010.11.015>
- Rudani K, Patel V, Prajapati K (2018) THE IMPORTANCE OF ZINC IN PLANT GROWTH – A REVIEW. *International Research Journal of Natural and Applied Sciences*. 5:38-48. ISSN: (2349-4077)
- Sadeghzadeh B (2013) A review of zinc nutrition and plant breeding. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 13: 905-927. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162013005000072>
- Singh D, Geat N, Rajawat MVS, Mahajan MM, Prasanna R, Singh S, Kaushik R, Singh RN, Kumar K, Saxena AK (2018) Deciphering the Mechanisms of Endophyte-Mediated

- Biofortification of Fe and Zn in Wheat. *Journal Growth Regul.* 37:174–182. <https://doi.org/10.1007/s00344-017-9716-4>
- Sturikova H, Krystofova O, Huska D, Adam V (2018) Zinc, zinc nanoparticles and plants. *Journal of Hazardous Materials.* 349:101-110. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.01.040>
- Suganya A, Saravanan A, Baskar M, Pandiyarajan P, Kavimani R (2020) Agronomic biofortification of maize (*Zea mays* L.) with zinc by using of graded levels of zinc in combination with zinc solubilizing bacteria and Arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Plant Nutrition.* 44:988-994. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1845383>
- Tran BTT, Cavagnaro TR, Watts-Williams SJ (2019) Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation and soil zinc fertilisation affect the productivity and the bioavailability of zinc and iron in durum wheat. *Mycorrhiza.* 29:445-457. <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00911-4>
- Tilman D, Cassman KG, Matson PA, Naylor R, Polasky S (2002) Agricultural Sustainability and intensive production practices. *Nature.* 418:671-677. <https://doi.org/10.1038/nature01014>
- Timsina J (2018) Can Organic Sources of Nutrients Increase Crop Yields to Meet Global Food Demand? *Agronomy.* 8:1-20. <https://doi.org/10.3390/agronomy8100214>
- Valença AW, Bake A, Brouwer ID, Giller, KE (2017) Agronomic biofortification of crops to fight hidden hunger in sub-Saharan Africa. *Global Food Security.* 12:8-14. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2016.12.001>
- Wander AE, Silva OF, Ferreira CM (2021) O Arroz e o feijão no Brasil e no mundo: In Ferreira CM, Barrigossi JAF (eds) *Arroz e feijão: tradição e segurança alimentar*, 1st ed. EMBRAPA, Brasília, DF, pp 81-100
- Welch RM, Graham RD (2005) Agriculture: the real nexus for enhancing bioavailable micronutrients in food crops. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* 18:299-307. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.03.001>
- Welch RM, Graham RD, Cakmak I (2013) *Linking Agricultural Production Practices to Improving Human Nutrition and Health.* Available online: www.fao.org/contact-us/licence-request.pdf (accessed on 25 July 2021)
- Williams SJ, Cavagnaro TR (2018) Arbuscular mycorrhizal fungi increase grain zinc concentration and modify the expression of root *ZIP* transporter genes in a modern barley (*Hordeum vulgare*) cultivar. *Plant Science.* 274:162-170. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.05.015>
- Yakoob MY, Theodoratou E, Jabeen A, Imdad A, Eisele TP, Ferguson J, Jhass A, Rudan I, Campbell H, Black RE, Bhutta ZA (2011) Preventive zinc supplementation in developing

countries: impact on mortality and morbidity due to diarrhea, pneumonia and malária. *BNC Public Health*. 11:1-10. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-11-s3-s23>

Capítulo 1

Biofortificação agronômica do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), com zinco aplicado via solo e via foliar

Resumo

O zinco (Zn) desempenha importante papel para o adequado funcionamento do organismo humano. O consumo de alimentos com baixos teores desse elemento tem contribuído para o aparecimento da desnutrição e diversos problemas de ordem fisiológica na população, principalmente àquelas localizadas em países em desenvolvimento. A fonte de Zn mais utilizada na biofortificação é o ZnSO₄, porém, a aplicação de doses elevadas pode induzir fitotoxicidade, resultando em redução na produtividade. Diante disso, é importante pesquisar diferentes doses e fontes de Zn para a biofortificação na cultura do feijoeiro. O objetivo deste estudo foi avaliar Zn-EDTA e Zn-AAAs (Zn-amino ácido chelates)-FH-Amino, como alternativas para ZnSO₄, na aplicação via foliar, para melhorar a qualidade nutricional da cultivar de feijão BRSMG Madrepérola. Um experimento foi realizado em casa de vegetação, em esquema fatorial [(3 × 5 + 1) + (1 × 3)], correspondendo a três fontes de Zn (Zn-EDTA, Zn-AAAs e ZnSO₄), cinco doses de Zn (2,5; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 mg dm⁻³) aplicadas via foliar, um controle, sem aplicação de Zn via foliar e três doses de KCl (0,0; 0,2; 0,4 %), dentro da dose 5 mg dm⁻³ de Zn, via foliar, de ZnSO₄, em delineamento em blocos casualizados com quatro repetições. Uma dose de 2,5 mg dm⁻³ de Zn via solo foi aplicada para todos os tratamentos. As doses de 16,27, 14,88 e 14,12 mg dm⁻³ de Zn das fontes Zn-EDTA, ZnSO₄ e Zn-Amino, respectivamente, promoveram maior teor desse elemento nos grãos de feijão, com destaque para o Zn-EDTA, que apresentou incremento de 164,5 % e a menor redução na produtividade de grãos (6,2 %). Além disso, a fonte Zn-EDTA promoveu incrementos de 16,0, 16,4, 14,0, 16,4, 20,0 e 96,4 % nos teores de P, K, Mg, S, Fe e Mn, respectivamente, e 13,4, 14,0, 12,8, 86,0 e 195,2 %, nos conteúdos de P, K, Mg, Mn e Zn nos grãos de feijão, em relação ao controle. As fontes de Zn aumentaram os teores do nutriente nos grãos de feijão, melhorando sua qualidade, com destaque para o Zn-EDTA, que também contribuiu para o aumento dos teores e conteúdos de outros nutrientes e menor redução dos componentes de produção de grãos. A aplicação de doses de KCl via foliar na dose de 5 mg dm⁻³ de Zn da fonte de ZnSO₄, aumentou o teor e conteúdo de S e conteúdo de K nos grãos de feijão.

Palavras-chaves: Fontes de zinco. Qualidade nutricional de alimentos. Aumento dos teores de zinco nos grãos.

Agronomic biofortification of beans (*Phaseolus vulgaris* L.), with zinc applied via soil and leaf

Abstract

Zinc (Zn) is very important in the proper functioning of the human body. The consumption of foods with low levels of this element has contributed to the emergence of malnutrition and various physiological problems in the population, especially those located in developing countries. The Zn source most used in biofortification is ZnSO₄, however, the application of high doses can induce phytotoxicity, resulting in reduced productivity. Therefore, it is important to research different doses and sources of Zn for biofortification in the bean crop. The aim of the present study was to evaluate Zn-EDTA and Zn-AAs (Zn-amino acid chelates)-FH-Amino, as alternatives to ZnSO₄, in foliar application, to improve the nutritional quality of the bean cultivar BRSMG Madrepérola. The experiment was carried out in a greenhouse, in a factorial scheme [(3 × 5 + 1) + (1 × 3)], corresponding to three sources of Zn (Zn-EDTA, Zn-AAs and ZnSO₄), five doses of Zn (2.5; 5.0; 10.0; 15.0 and 20.0 mg dm⁻³) applied in the leaves, a control, without application of Zn and three doses of KCl (0.0; 0, 2; 0.4 %), within a dose of 5 mg dm⁻³ of Zn, from ZnSO₄, in a randomized block design with four replications. A dose of 2.5 mg dm⁻³ of Zn was applied in the soil to all treatments. The doses of 16.27, 14.88 and 14.12 mg dm⁻³ of Zn from Zn-EDTA, ZnSO₄ and Zn-Amino sources, respectively, promoted a higher content of this element in bean grains, with emphasis on Zn-EDTA, which presented an increase of 164.5 % and the smallest reduction in grain yield (6.2 %). Furthermore, the Zn-EDTA source promoted increments of 16.0, 16.4, 14.0, 16.4, 20.0 and 96.4 % in the contents of P, K, Mg, S, Fe and Mn, respectively, and 13.4, 14.0, 12.8, 86.0 and 195.2 %, in the contents of P, K, Mg, Mn and Zn in bean grains, when compared to the control. The sources of Zn increased the nutrient contents in the beans, improving their quality, with emphasis on the Zn-EDTA, which also contributed to the increase in the contents of other nutrients and less reduction in the grain production components. The application of KCl doses in the leaves at a dose of 5 mg dm⁻³ of Zn from the ZnSO₄ source increased the contents of S and K in bean grains.

Keywords: Zinc sources. Nutritional food quality. Increase in grain zinc contents.

1. Introdução

O aumento na produção de alimentos tornou-se uma necessidade para atender as exigências calóricas e proteicas da crescente população mundial, que deve chegar a 8,5 bilhões em 2030, 9,7 bilhões em 2050 e 10,9 bilhões em 2100 (United Nations, 2019). O atendimento a essa necessidade teve um avanço após a “revolução verde”, que acarretou o uso de insumos e o melhoramento genético de plantas, desenvolvendo cultivares mais produtivas (Welch et al., 2013). Por outro lado, o efeito da diluição nutricional foi favorecido, visto que em plantas com altas produtividades os nutrientes ficam diluídos em uma grande biomassa (Klikocka e Marks, 2018), resultando que menos nutrientes sejam disponibilizados por unidade de alimento ingerido.

Embora o aumento na produtividade das culturas seja de grande importância para suprir a demanda mundial por alimentos, além da quantidade, também deve-se priorizar a qualidade nutricional dos alimentos, visando atender as exigências diárias de nutrientes da população e, com isso, evitar o aparecimento de problemas de saúde causados pela desnutrição (Miller e Welch, 2013). O consumo de alimentos com baixos teores de micronutrientes na dieta alimentar, tais como ferro (Fe), zinco (Zn), iodo (I) e vitamina A, pode levar a desnutrição da população, principalmente nos países em desenvolvimento (Stein, 2010). Essas deficiências, denominadas “fome oculta”, atingiam metade da população mundial no início dessa década (Miller e Welch, 2013). Desse grupo, dados mais recentes indicam prevalência, especialmente, entre mulheres e crianças nos países em desenvolvimento (Klikocka e Marks, 2018).

Os micronutrientes são essenciais para o adequado funcionamento do organismo humano, sendo os produtos agrícolas fonte importante de sua entrada na dieta alimentar da população. Porém, os alimentos vegetais podem não fornecer a quantidade adequada desses nutrientes para a população, seja devido aos baixos teores presentes, seja devido à presença de ácido fítico em alguns alimentos, uma vez que formam complexos com nutrientes, os fitatos, que diminuem a biodisponibilidade para o organismo humano (Graham et al., 2007; Gibson, 2012; Miller & Welch, 2013; Krebs et al., 2014).

Entre os micronutrientes, o Zn tem causado preocupações entre nutricionistas, médicos e até mesmo economistas (Cakmak, 2009). A deficiência desse nutriente, principalmente na população de países em desenvolvimento, pode causar problemas como crescimento retardado e comprometimento no desenvolvimento cerebral de crianças, desenvolvimento de doenças infecciosas como diarreia, pneumonia e problemas em gestantes (Gibson, 2012; Krebs et al., 2014). Há cerca de 10 anos, Wessells e Brown (2012) estimavam que um terço da população

mundial poderia apresentar deficiência de Zn, especialmente crianças com idade inferior a cinco anos.

Nos últimos anos, têm-se buscado alternativas para minimizar os problemas causados pela deficiência de micronutrientes (Pla et al., 2020; Saha e Roy, 2020). Entre as alternativas estão a suplementação, a fortificação dos alimentos e, mais recentemente, a biofortificação de culturas, sendo que essa última vem ganhando destaque por atender especialmente as populações mais carentes, as quais não tem acesso aos suplementos e aos alimentos fortificados (Hussain et al., 2010; Gibson, 2012). A biofortificação agrônômica é uma técnica que objetiva aumentar os teores de nutrientes, como o Zn, nas partes comestíveis das culturas, por meio do manejo da adubação (Saltzman et al., 2017). Várias culturas como arroz, trigo, milho e feijão estão sendo biofortificadas em vários países em desenvolvimento como alternativa para minimizar os problemas causados pela desnutrição (Shivay e Prasad, 2014; Liu et al., 2015; Zaman et al., 2017; Cambraia et al., 2019).

O feijão é uma das leguminosas mais produzida em todo mundo e a mais importante para o consumo humano direto (Broughton et al., 2003; Rawal e Navarro, 2019). É também a leguminosa mais dominantes na dieta humana (Broughton et al., 2003), sendo altamente consumida em todo mundo (Olmedilla-Alonso et al., 2013; Sathe, 2016), especialmente na América Latina e África (Beebe et al., 2013; Ram et al., 2016). Além disso, é uma importante fonte de proteínas, aminoácidos, minerais, carboidratos, vitaminas e fibras (Hayat et al., 2014). A área cultivada e a produção de feijão no mundo vêm crescendo nos últimos anos, especialmente em países da Ásia, América Latina e África (FAO, 2019), justamente em regiões na qual a população apresenta problemas de deficiência de Zn (Wessells e Brown, 2012). Sendo assim, essa cultura merece uma atenção especial para ser usada na biofortificação agrônômica, apresentando-se como uma alternativa de minimizar os problemas relacionado a desnutrição causada pela deficiência de nutrientes como, por exemplo, o Zn.

Aplicação de Zn via solo durante a semeadura não tem apresentado aumento satisfatório nos teores de Zn nos grãos (Welch et al., 2013; Cakmak & Kutman, 2018). Isso pode estar relacionado a baixa mobilidade do Zn no solo, que pode levar a uma redução do elemento no solo e, conseqüentemente, para as plantas (Tran et al., 2019). Além disso, o Zn tem alta afinidade de adsorção nas superfícies de vários constituintes do solo, como os óxidos e os minerais de argilas silicatadas e também, a formação de complexos com a matéria orgânica do solo (Sadeghzadeh, 2013). Porém, quando o Zn é aplicado via solo e via foliar, ou somente via foliar, há aumento no teor de Zn nos grãos, com superioridade com a aplicação via solo e via foliar (Zou et al., 2012; Zhao et al., 2014). Esses aumentos estão relacionados com a fase

fenológica de aplicação do Zn via foliar (Welch et al., 2013). Para o feijoeiro, a aplicação de Zn na fase R8 (formação dos grãos) resultou em aumentos nos teores desse elemento nos grãos (Cabraia et al., 2019).

O consumo de alimentos com altos teores de Zn e baixos teores de ácido fítico contribuirá para minimizar os problemas de desnutrição em humanos, especialmente nos países em desenvolvimento. A fonte de Zn mais utilizada na adubação é o $ZnSO_4$ (Xu et al., 2022), porém, a aplicação de doses elevadas tem provocado fitotoxidez, causando lesões em folhas e redução nas variáveis de produção (Qiao et al., 2014; Drissi et al., 2015; Kirmani et al., 2018; Du et al., 2019; Xu et al., 2022). Isso tem contribuído para a busca de outras fontes de Zn como alternativa ao $ZnSO_4$, sendo as fontes quelada tendo um grande potencial de minimizar os efeitos fitotóxicos, como queimas de folhas induzida pelo $ZnSO_4$ e também, aumentar os teores do nutriente nos grãos (Xu et al., 2022). A aplicação de fontes de Zn quelada, como o Zn-glicina e Zn-EDTA, apresentaram menor efeito fitotóxico, quando comparado ao $ZnSO_4$ (Golden et al., 2016; Xu et al., 2022). Diante disso, é importante pesquisar diferentes doses e novas fontes de Zn para a biofortificação na cultura do feijoeiro.

Baseado na hipótese de que fontes orgânicas de Zn são mais eficientes no aumento desse elemento nos grãos e na minimização de possíveis efeitos fitotóxicos, objetivou-se avaliar Zn-EDTA e Zn-AAs (Zn-amino ácido quelates)-FH-Amino, como alternativas ao $ZnSO_4$, na aplicação via foliar, para melhorar a qualidade nutricional da cultivar de feijão BRSMG Madrepérola.

2. Material e métodos

O experimento foi realizado em vasos com solo, no período de abril a junho de 2019, em casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, localizada no município de Viçosa-MG, com as coordenadas geográficas 20° 45' de latitude Sul e 42° 50' de longitude Oeste e altitude de 672 m (Alencar et al., 2011). De acordo Köppen, a classificação climática do município é temperado quente, com verão chuvoso e inverno frio e seco (Cwb), com temperatura média anual de 20 °C (Lorenzo et al., 2013).

O solo utilizado no experimento foi um Latossolo Vermelho-Amarelo, coletado na camada de 20 – 40 cm e peneirado em peneira de 2 mm de diâmetro e analisado quimicamente antes da calagem e aplicação dos tratamentos (Tabela 1). Para o ajuste do pH do solo, foi utilizado o método de neutralização do Al^{3+} , e elevação dos teores de Ca^{2+} e Mg^{2+} para correção da acidez do solo (Alvarez et al., 1999), utilizando $CaCO_3$ e o $MgCO_3$ com incubação durante

30 d. Antes do plantio, foi realizada adubação em todo volume de solo, como recomendado por Novais et al. (1991), incluindo a adição de $2,5 \text{ mg dm}^{-3}$ de Zn da fonte ZnSO_4 .

Tabela 1 – Resultados da análise química e física do Latossolo Vermelho-Amarelo

pH	pH	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	t	T	V	m
H ₂ O	KCl	mg dm ⁻³		cmol _c dm ⁻³						-%		
4,44	4,22	0,5	7,0	0,24	0,09	0,77	2,66	0,35	1,12	2,95	11,9	68,8
MO		P-Rem		S	B	Cu	Mn	Fe		Zn		
dag kg ⁻¹		mg L ⁻¹		mg dm ⁻³								
0,53		21,5		18,5	0,10	0,32	2,9	16,2		1,02		
Areia grossa		Areia fina		Silte		Argila		EU		Ds		
				-kg/kg-						-g cm ⁻³ -		
0,217		0,169		0,142		0,472		0,27		1,09		

pH em H₂O, relação 1:2,5; pH em KCl 1,0 mol L⁻¹, relação 1:2,5; P, K, Cu, Mn, Fe e Zn (extrator Mehlich-1); Ca²⁺ e Mg²⁺ (extrator KCl 1,0 mol L⁻¹); Matéria orgânica (Walkley e Black); Fósforo remanescente (extrator Mehlich-1); Al³⁺ = acidez trocável (extrator KCl 1,0 mol L⁻¹); H+Al = acidez potencial (extrator Ca(OAc)₂ 0,5 mol L⁻¹); SB = soma de bases (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺ e Na⁺); t = capacidade efetiva de troca de cátion (t = SB + Al³⁺); T = capacidade de troca de cátions (CTC pH 7 = T = SB = (H+Al)); V = saturação por bases (V = 100 SB/T) e m = saturação por alumínio (m = 100 Al³⁺/t); EU = Equivalente de Umidade; Ds = Densidade do Solo.

Os 19 tratamentos foram esquematizados em fatorial [(3 × 5 + 1) + (1 × 3)], correspondendo a três fontes de Zn ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ [®], com 23 % de Zn, Zn-EDTA[®], com 15 % de Zn e Zn-AAs (Zn-amino ácido quelates)-FH-Amino[®], com 25 % de Zn e 29 % de glicina, sendo a formulação das fontes de Zn orgânica 100 % quelatizada com EDTA e Glicina, não tendo outros elementos na sua composição); cinco doses de Zn (2,5; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 mg dm⁻³) aplicadas na folhagem do feijoeiro no início do estágio R8 (enchimento das vagens); um controle, sem aplicação de Zn via foliar e três doses de KCl (0,0; 0,2 e 0,4 %) aplicadas na folhagem dentro da dose de 5 mg dm⁻³ de Zn da fonte ZnSO_4 , para verificar o efeito de sinergismo do KCl na absorção de Zn, em delineamento em blocos casualizados com quatro repetições. A unidade experimental foi composta por um vaso com capacidade de 5 dm⁻³ de solo onde foram semeadas oito sementes de feijão da cultivar BRSMG Madrepérola. Uma semana após emergência foi feito o desbaste deixando duas plantas de porte médio por vaso.

Antes das aplicações dos tratamentos, foram realizados testes para determinar a quantidade de solução necessária para cobrir a folhagem da planta sem que ocorresse o escorrimento da solução para o solo. As aplicações das soluções das fontes de Zn foram realizadas com o auxílio de um spray manual com o bico de pulverização tipo leque, com uma pressão de 60 ibf pol⁻².

Para simular o que ocorre em campo, as folhas senescentes que desprendiam das plantas de todas as unidades experimentais foram alocadas nos vasos. A umidade do solo foi mantida próxima de 90 % da capacidade de campo, por meio de irrigação diária com água deionizada, sem molhar as folhas. O experimento foi conduzido no período de abril a junho de 2019 e a maturação de colheita foi atingida com 87 d.

Os grãos foram colhidos quando as plantas apresentaram folhas e vagens secas. Após a colheita, foram contabilizados o número de vagem (NV), a produtividade de grãos (PG) por planta e o peso de 100 grãos (PCG). O NV e PG por planta foi contabilizado dividido o NV e PG vaso⁻¹ por dois, o que corresponde as duas plantas da unidade experimental. Em seguida, os grãos foram secados em estufa para determinar a massa de matéria seca a 65 °C, com circulação forçada de ar até atingir o peso constante. A produtividade foi calculada corrigindo a umidade para 12 % após os grãos serem retirados da estufa (colocar como foi calculada a umidade do grão).

As análises dos teores de macro e micronutrientes foram realizadas nos grãos secos e moídos em moinho tipo Willey com peneira de 20 *mesh*. Para a determinação dos teores de N, as amostras foram submetidas à digestão sulfúrica e determinado pelo método Kjeldahl. Para determinação dos teores P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn e Zn, as amostras foram submetidas à digestão nitroperclórica e a dosagem no extrato foi realizada por espectrofotometria de emissão ótica acoplado ao plasma induzido (ICP-OES). Após a determinação dos teores, foram calculados os conteúdos de macronutrientes e micronutrientes, multiplicando a massa de matéria seca de grãos pelos teores dos nutrientes.

A análise de mapa microquímico, pela fluorescência de raios X dispersiva em energia (EDXRF), foi realizada nos grãos de feijão para as doses que promoveram menor (0 mg dm⁻³) e maior (15 mg dm⁻³) teores de Zn nos grãos nas fontes ZnSO₄, Zn-EDTA e Zn-Amino. Para efetuar as leituras e a geração dos mapas microquímicos, os grãos de feijão foram cortados ao meio com uma lâmina para separar os cotilédones. A parte em que estava localizado o eixo embrionário foi fixada em placa de metal e levada para o aparelho para realizar as leituras.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) (Apêndice A). As doses de Zn via foliar, foram ajustadas a equações de regressão. Os dados dos tratamentos adicionais foram submetidos a contrastes ortogonais. Dois contrastes ortogonais foram estabelecidos: C1 = ZnSO₄ + 0,0 % KCl vs ZnSO₄ + 0,2 % KCl e ZnSO₄ + 0,4 % KCl; C2 = ZnSO₄ + 0,2 % KCl vs ZnSO₄ + 0,4 % KCl. As análises foram realizadas com o auxílio do programa SPEED-STAT-2.4 (Carvalho et al., 2019).

3. Resultados

A figura 1A mostra o efeito das fontes e doses de Zn nos teores totais desse nutriente nos grãos de feijão. Houve ajuste quadrático para todas as fontes utilizadas, com teores máximos estimados nas doses de 16,27, 14,88 e 14,12 mg dm⁻³ de Zn, com incrementos de 164,5, 130,4 e 126,2 %, em relação à dose zero de Zn foliar, para o Zn-EDTA, ZnSO₄ e Zn-Amino, respectivamente (Figura 1A). Já para o conteúdo de Zn, com as fontes Zn-EDTA e ZnSO₄, os dados se ajustaram ao modelo raiz quadrada, com as doses de máxima eficiência física estimadas em 20,0 e 9,22 mg dm⁻³ de Zn foliar, com aumentos de 195,2 e 148,8 %, respectivamente, em relação a dose zero de Zn foliar. Para o Zn-Amino, não houve efeito das doses de Zn para o conteúdo do nutriente nos grãos (Figura 1B).

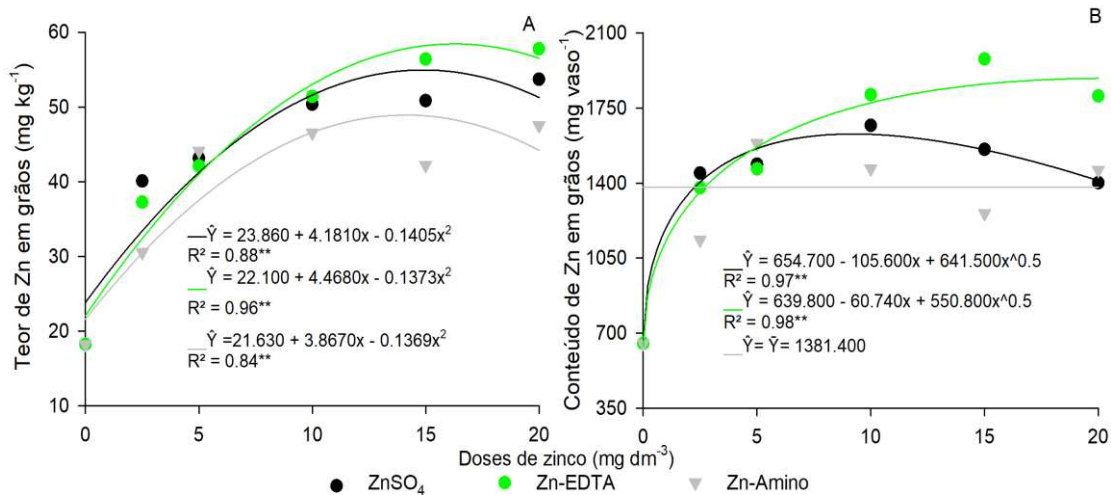


Figura 1. Teor e conteúdo de Zn (A e B), em função de doses de Zn, supridas por diferentes fontes aplicadas via foliar.

A aplicação de diferentes doses e fontes de Zn também influenciaram os parâmetros biométricos, produtivos e nutricionais do feijão. Para o número de vagens (NV), usando as fontes Zn-EDTA e Zn-Amino, não houve efeitos das doses de Zn aplicadas via foliar. Já para ZnSO₄, o ajuste foi quadrático decrescente, com redução de aproximadamente 17,0 % na dose de 20 mg dm⁻³ de Zn foliar (Figura 2A). Comportamento semelhante com essa fonte foi observado para a produtividade de grãos (PG), que apresentou uma redução de 26,5 % na maior dose de Zn foliar (20 mg dm⁻³ de Zn). Já para as fontes Zn-EDTA e Zn-Amino, os dados se ajustaram aos modelos quadráticos e logístico, com doses de máxima eficiência física de 4,02 e 2,45 mg dm⁻³ de Zn foliar, apresentando PG máxima de 18,02 e 18,2 g planta⁻¹, respectivamente (Figura 2B). Para o peso de cem grãos (PCG), quando aplicou o ZnSO₄, os

dados se ajustaram ao modelo linear decrescente, com redução de 16,0 % na maior dose de Zn foliar. Porém, para as fontes Zn-EDTA e Zn-Amino, não houve efeito das doses de Zn (Figura 2C).

As doses de máxima eficiência física do teor de Zn nos grãos das fontes Zn-EDTA, ZnSO₄ e Zn-Amino, promoveram redução de 6,2, 15,2 e 15,6 % na PG, respectivamente. Isso mostra que a fonte de Zn-EDTA apresentou menor efeito fitotóxico nas plantas de feijoeiro e, concomitantemente, menor redução de PG dentre as fontes testadas.

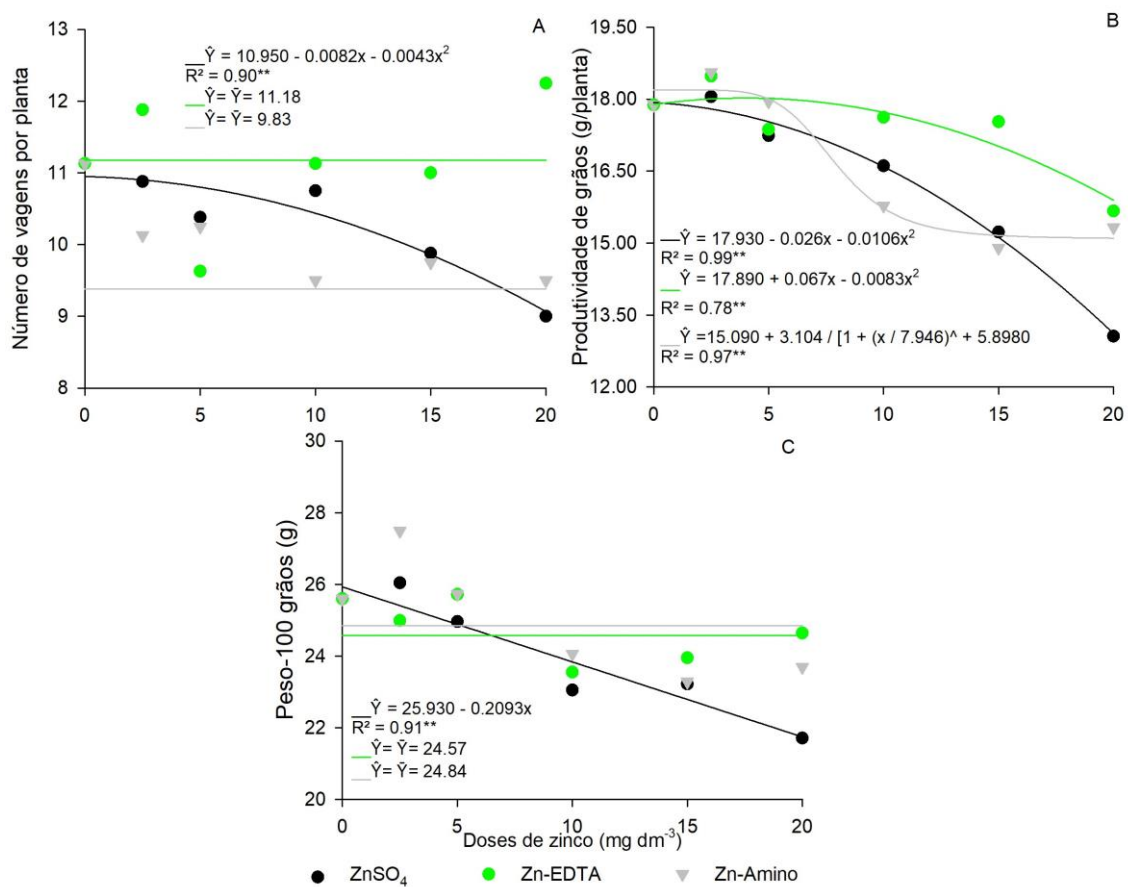


Figura 2. Número de vagens planta⁻¹ (A), produtividade de grãos planta⁻¹ (B) e peso de 100 grãos (C) de feijoeiro, em plantas que receberam doses crescentes de Zn, supridas por três fontes aplicadas via foliar.

A redução significativa na produtividade do feijoeiro com a aplicação de ZnSO₄, pode estar relacionada aos efeitos fitotóxicos observados nas maiores doses. A fonte de Zn-Amino, apesar de apresentar efeito fitotóxico, foi menos intenso que o ZnSO₄. Para o Zn-EDTA, nenhuma das doses testadas, provocaram fitotoxidez as plantas (Figura 3).

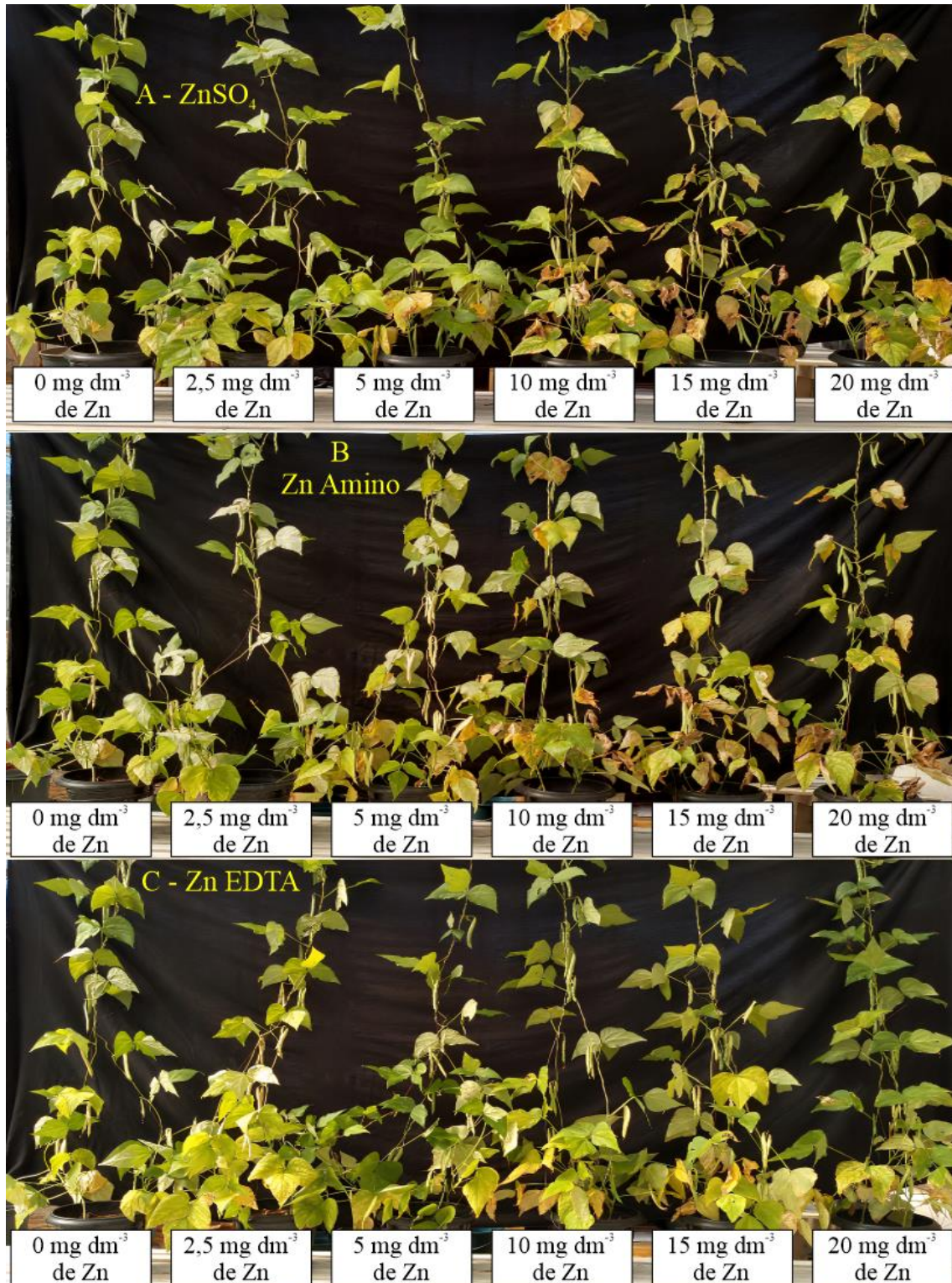


Figura 3. Plantas que receberam doses crescentes de Zn, supridas com ZnSO₄ (A), Zn-Amino (B) e Zn-EDTA (C).

Para os teores de N nos grãos com o ZnSO₄, os dados se ajustaram ao modelo linear decrescente, com redução de aproximadamente 9,0 % na maior dose de 20 mg dm⁻³ de Zn foliar. Já as fontes de Zn-EDTA e Zn-Amino, não houve efeito das doses de Zn no teor de N

nos grãos (Figura 4A). Para os teores P nos grãos, nas fontes Zn-Amino e Zn-EDTA, os dados se ajustaram aos modelos quadrático e raiz quadrada, com doses de máxima eficiência física estimadas em 15,00 e 12,89 mg dm⁻³ de Zn, com incrementos de 14,7 e 16,0 % nos teores de P nos grãos, respectivamente, em relação a dose zero de Zn foliar. Já na fonte de ZnSO₄, não houve efeito das doses de Zn aplicada via foliar (Figura 4B).

Os teores de K nos grãos foram influenciados pelas fontes de Zn aplicadas (Figura 4C). Para as fontes Zn-EDTA e Zn-Amino, os dados se ajustaram aos modelos raiz quadrada e quadrático, com doses de máxima eficiência física estimadas em 18,66 e 17,70 mg dm⁻³ de Zn, com incrementos de cerca de 16,4 e 15,0 % nos teores de K, respectivamente, em relação a dose zero de Zn via foliar. Já para a fonte ZnSO₄, houve um aumento linear, com incremento de 15,0 % nos teores de K na maior dose utilizada (20 mg dm⁻³ de Zn), em relação a dose zero de Zn via foliar.

Para os teores de Ca, com as fontes Zn-EDTA e ZnSO₄ não houve efeito das doses de Zn. Por outro lado, com o Zn-Amino, os dados se ajustaram ao modelo quadrático decrescente até o ponto de inflexão estimado de 5,29 mg dm⁻³ de Zn, representando decréscimo de 2,0 % (Figura 4D). Os teores de Mg nos grãos foram influenciados pelas fontes Zn-EDTA e Zn-Amino. Com a fonte de Zn-EDTA, houve ajuste quadrático, com dose de máxima eficiência física estimada em 11,59 mg dm⁻³ de Zn, apresentando incremento de 14,0 %, nos teores de Mg, em relação a dose zero de Zn foliar. Para o Zn-Amino, houve um aumento linear, com incremento de 12,4 % nos teores de Mg na maior dose de Zn foliar utilizada (20 mg dm⁻³ de Zn), em relação a dose zero. Já para o ZnSO₄, não houve efeito das doses de Zn (Figura 4E). Para os teores de S nos grãos em resposta a aplicação Zn-EDTA e Zn-Amino, houve ajuste aos modelos raiz quadrada e quadrático, com maior teor estimado nas doses 18,49 e 9,73 mg dm⁻³ de Zn foliar, representando incrementos de 16,4 e 17,4 % em relação ao tratamento com zero Zn foliar. Já para a fonte de ZnSO₄, não houve efeito das doses de Zn (Figura 4F).

Avaliando o efeito das fontes de Zn nos teores de Fe, constatou-se que a fonte de Zn-EDTA apresentou resposta linear, com incremento de 28,0 %, em relação a dose zero de Zn foliar. Já para as fontes Zn-Amino e ZnSO₄, houve ajuste raiz quadrada decrescente até os pontos de inflexão estimados em 11,67 e 15,84 mg dm⁻³ de Zn, respectivamente, com decréscimos de 21 e 21 % (Figura 4G). Para os teores de Mn nos grãos, com o Zn-EDTA, a resposta foi quadrática, sendo 18,17 mg dm⁻³ de Zn a dose de máxima eficiência física, a qual proporcionou aumento de 96,4 %, em comparação a dose zero de Zn foliar. Já para as fontes ZnSO₄ e Zn-Amino, não houve efeito das doses de Zn (Figura 4H).

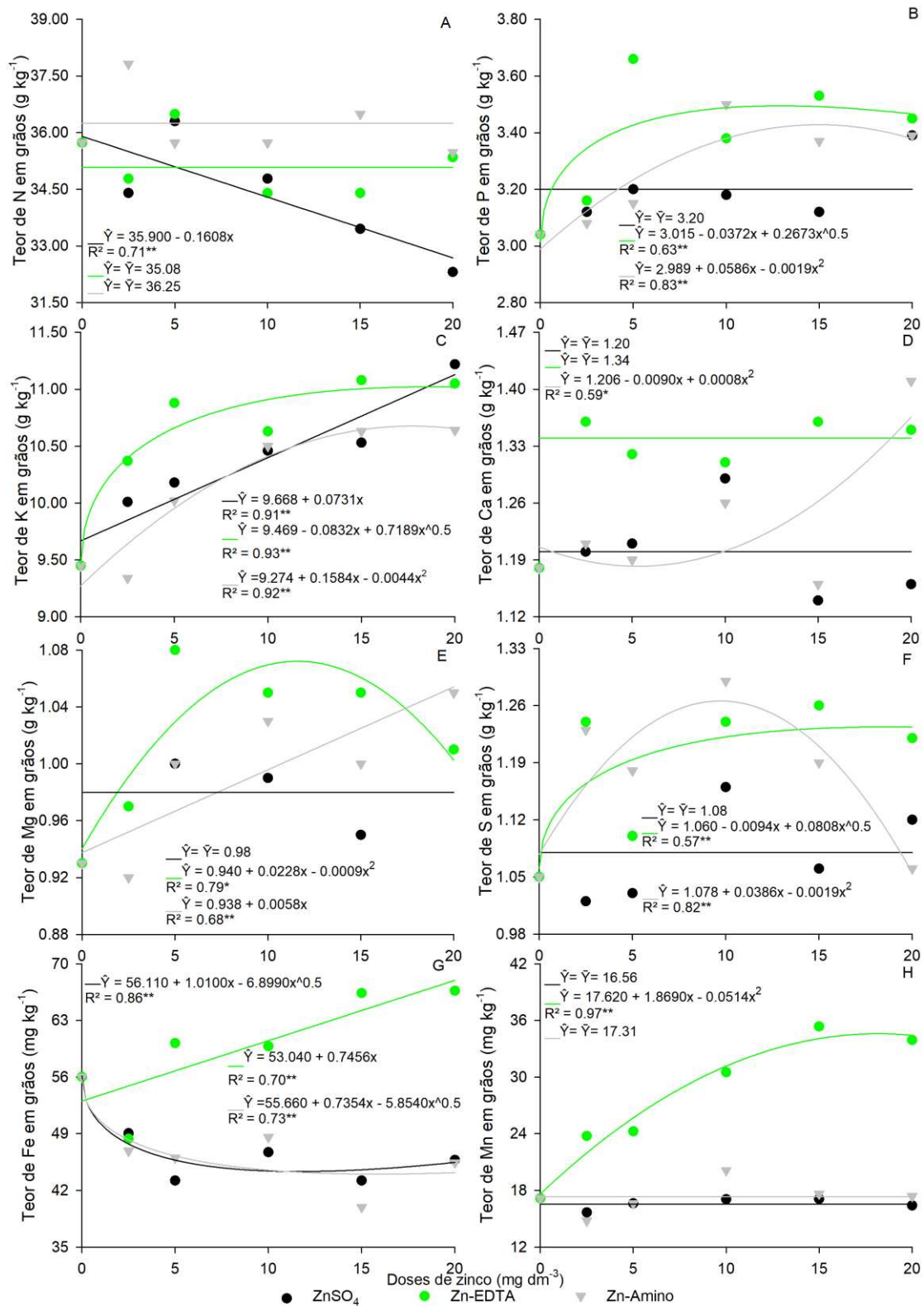


Figura 4. Teores de N (A), P (B), K (C), Ca (D), Mg (E), S (F), Fe (G) e Mn (H), em grãos de feijão de plantas que receberam doses crescentes de Zn, supridas por três diferentes fontes aplicadas via foliar.

Ao analisar o conteúdo de N nos grãos, observou-se para o ZnSO_4 , que houve uma redução linear decrescente, apresentando menor conteúdo de N na dose de 20 mg dm^{-3} de Zn via foliar, com decréscimo de 22,5 %, em relação a dose zero. Já para as fontes Zn-EDTA e Zn-Amino, não houve efeito das doses de Zn no conteúdo de N nos grãos (Figura 5A). Ao avaliar o efeito das doses de Zn foliar em função das fontes, verificou-se, para os conteúdos de P nos grãos, que o Zn-EDTA apresentou resposta quadrática e as fontes ZnSO_4 e Zn-Amino apresentaram resposta raiz quadrada aos dados, com as doses de máxima eficiência física estimados em 9,73, 1,65 e 2,61 mg dm^{-3} de Zn, respectivamente, e aumentos de 13,4, 3,6 e 3,6 % no conteúdo de P, em relação a dose zero de Zn foliar (Figura 5B).

Para o conteúdo de K nos grãos com as fontes ZnSO_4 e Zn-EDTA, houve ajuste ao modelo raiz quadrada, com doses de máxima eficiência física de 2,75 e 6,14 mg dm^{-3} de Zn via foliar, com aumentos no conteúdo de K de 6,6 e 14,0 %, em relação a dose zero de Zn foliar. Já para a fonte Zn-Amino, não foi observado efeito das doses de Zn (Figura 5C). Ao avaliar os conteúdos de Ca e S na fonte Zn-EDTA e conteúdo de Ca e Mg na fonte de Zn-Amino, não observado efeito das doses de Zn. Quando utilizada a fonte ZnSO_4 , constatou-se, para o conteúdo de Ca, Mg e S nos grãos, que os dados se ajustaram ao modelo quadrático, com doses de máxima eficiência física de 3,44, 2,40 e 4,04 mg dm^{-3} de Zn via foliar, com incrementos de 1,3, 0,47 e 1,4 %, no conteúdo de Ca, Mg e S, em relação a dose zero foliar (Figura 5D, 5E e 5F). Já para o conteúdo de Mg com Zn-EDTA e S com a fonte de Zn-Amino, os dados se ajustaram aos modelos quadrático e raiz quadrada, com doses de máxima eficiência física de 9,16 e 3,30 mg dm^{-3} de Zn via foliar, com incrementos de 12,8 e 14,7 % no conteúdo de Mg e S, em comparação a dose zero de Zn foliar (Figura 5E e 5F).

Ao avaliar o efeito das doses de Zn em função das fontes, obsevou-se, para conteúdo de Fe nos grãos, que as doses de Zn-EDTA não apresentou efeito. Já para o ZnSO_4 , os dados se ajustaram ao modelo raiz quadrada decrescente, com decréscimos de 39,0 % no conteúdo de Fe na maior dose (20 mg dm^{-3} de Zn foliar), enquanto o Zn-Amino apresentou resposta quadrática decrescente até o ponto de inflexão estimado de 16,39 mg dm^{-3} de Zn foliar, representando um decréscimo de 33,7 %, em relação dose zero foliar (Figura 5G). Para o conteúdo de Mn nos grãos de feijão, o modelo que melhor se ajustou aos dados foi o quadrático quando utilizada a fonte Zn-EDTA, apresentando dose de máxima eficiência física de 14,82 mg dm^{-3} de Zn, com aumento de 86,0 % no conteúdo de Mn, em relação à dose zero de Zn foliar. Já as doses das fontes ZnSO_4 e Zn-Amino, não apresentaram efeito no conteúdo de Mn (Figura 5H).

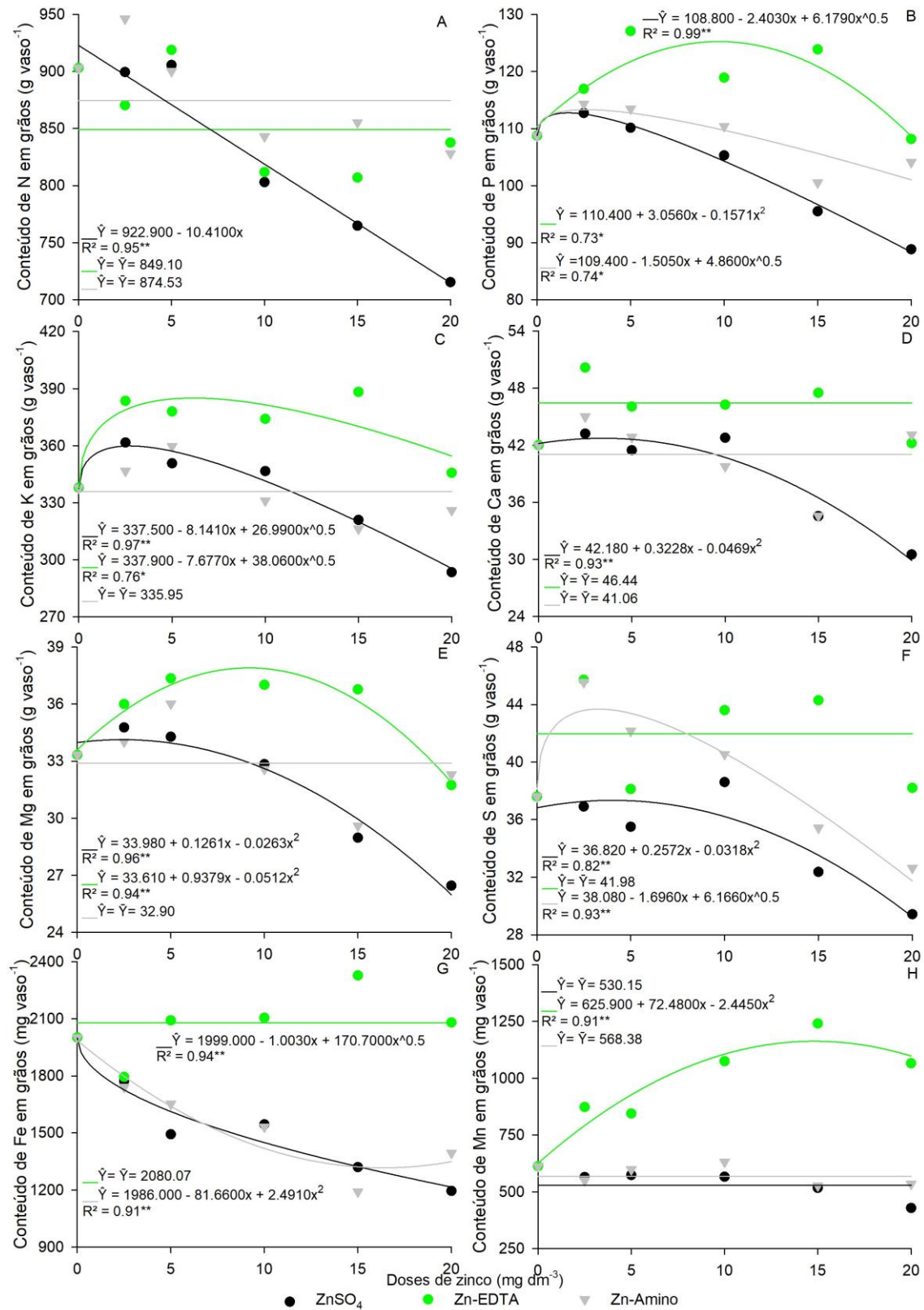


Figura 5. Conteúdos de N (A), P (B), K (C), S (D), Ca (E), Mg (F), Fe (G) e Mn (H), em grãos de feijão de plantas que receberam doses crescentes de Zn, supridas por três diferentes fontes aplicadas via foliar.

A análise de EDXRF mostrou que independente dos tratamentos, o Zn está distribuído em todo o grão de feijão, porém com maior concentração no eixo embrionário, o que pode ser verificado pela intensidades das cores, variando do azul ao vermelho, indicando-se que, quanto mais próximo do vermelho, maiores os teores de Zn (Figura 6).

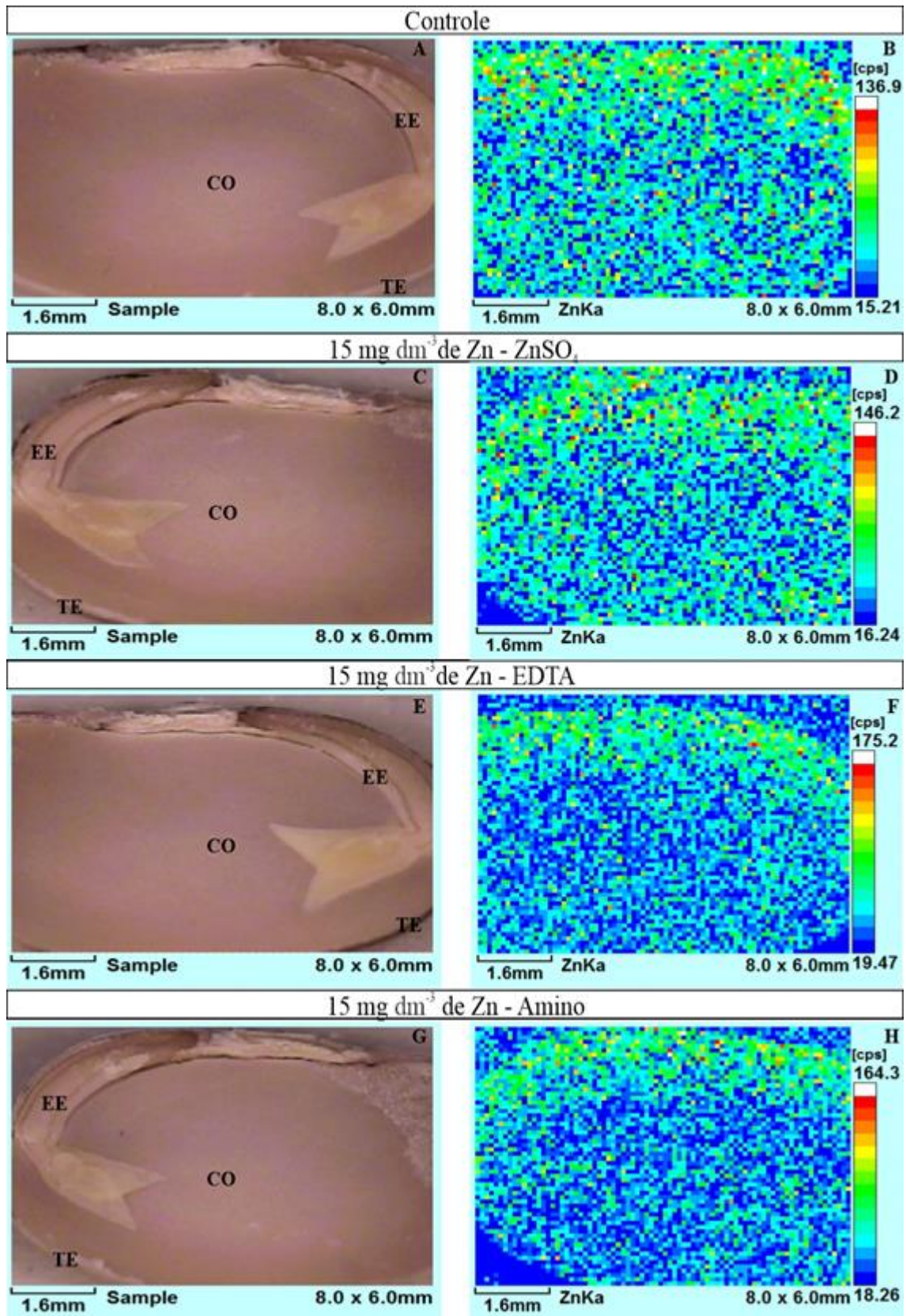


Figura 6. Localização do Zn^* no tegumento (TE), cotilédone (CO) e eixo embrionário (EE), dos grãos de feijão (Figuras 6A, 6C, 6E e 6G) e mapas microquímicos mostrando a distribuição do Zn (Figuras 6B, 6D, 6F e 6H). cps = contagem de fótons que chegam ao detector por segundo (as μA^{-1}). *Quanto mais próximo do vermelho é a coloração, maiores são os teores de Zn.

Ao avaliar os contrastes 1 e 2, observou-se que não houve diferenças significativas para o NV, PG e PCG, indicando que a aplicação de doses de KCl não influenciou em tais variáveis (Tabela 2).

Tabela 2 – Médias do número de vagem (NV), produtividade de grãos (PG) e peso de cem grãos (PCG) de feijoeiro, com doses de KCl (%) dentro da dose de 5 mg dm⁻³ de Zn da fonte de ZnSO₄

Tratamentos	NV	PG	PCG
	-----planta ⁻¹ -----	-----g planta ⁻¹ -----	-----g-----
ZnSO ₄ + 0,0 % KCl	10,667	16,880	25,503
ZnSO ₄ + 0,2 % KCl	9,667	17,363	25,570
ZnSO ₄ + 0,4 % KCl	10,000	17,041	25,787
Contraste médio	Médias		
	Estimativas dos valores dos contrastes médios		
Contraste 1	-0,834 ^{ns}	0,515 ^{ns}	0,175 ^{ns}
Contraste 2	0,333 ^{ns}	-0,322 ^{ns}	0,217 ^{ns}
CV (%)	6,75	4,16	3,54

C1= ZnSO₄ + 0,0 % KCl vs ZnSO₄ + 0,2 % KCl e ZnSO₄ + 0,4 % KCl; C2= ZnSO₄ + 0,2 % KCl vs ZnSO₄ + 0,4 % KCl; **= significativo a 1 %; *= significativo a 5 %; ns= não significativo a 5 %.

Analisando a tabela 3, observou-se que a aplicação de doses de KCl via foliar aumentou o teor e o conteúdo de Zn nos grãos, quando comparado a sem aplicação de KCl, porém não houve diferença significativa (contraste 1). Por outro lado, o teor e o conteúdo de S e conteúdo de K nos grãos foram aumentados, com a aplicação das doses de KCl via foliar (contraste 1). Já para o contraste 2, não houve diferenças significativas entre as doses 0,2 e 0,4 % de KCl aplicada via foliar para os teores e conteúdo dos nutrientes avaliados nos grãos.

Tabela 3 – Médias dos teores e os conteúdos de N, P, K, Ca, Mg, S, Zn, Fe e Mn, em grãos de feijão com doses de KCl (%) dentro da dose de 5 mg dm⁻³ de Zn da fonte de ZnSO₄

Tratamentos	Teor N	Teor P	Teor K	Teor Ca	Teor Mg	Teor S	Teor Zn	Teor Fe	Teor Mn
	-----g kg ⁻¹ -----					-----mg kg ⁻¹ -----			
ZnSO ₄ + 0,0% KCl	35,983	3,302	9,867	1,276	1,014	1,018	43,143	42,209	16,805
ZnSO ₄ + 0,2% KCl	35,729	3,428	10,597	1,160	0,987	1,249	45,676	41,438	19,655
ZnSO ₄ + 0,4% KCl	36,490	3,355	10,287	1,293	0,962	1,198	43,447	48,433	19,826
Médias									
Contrastes médio	Estimativas dos valores dos contrastes médios								
Contraste 1	0,127 ^{ns}	0,089 ^{ns}	0,575 ^{ns}	0,049 ^{ns}	-0,040 ^{ns}	0,206 ^{**}	1,414 ^{ns}	2,727 ^{ns}	2,936 ^{ns}
Contraste 2	0,760 ^{ns}	-0,073 ^{ns}	-0,310 ^{ns}	0,134 ^{ns}	-0,025 ^{ns}	-0,051 ^{ns}	-2,229 ^{ns}	6,995 ^{ns}	0,171 ^{ns}
CV (%)	5,74	6,20	3,85	9,66	4,87	7,08	8,16	10,24	12,57
Tratamentos	Conteúdo N	Conteúdo P	Conteúdo K	Conteúdo Ca	Conteúdo Mg	Conteúdo S	Conteúdo Zn	Conteúdo Fe	Conteúdo Mn
	-----g vaso ⁻¹ -----					-----mg vaso ⁻¹ -----			
ZnSO ₄ + 0,0% KCl	917,827	110,462	328,980	42,583	33,871	33,869	1440,195	1408,878	562,198
ZnSO ₄ + 0,2% KCl	896,081	119,044	368,866	40,320	34,278	43,450	1587,672	1446,231	680,716
ZnSO ₄ + 0,4% KCl	938,178	114,344	350,603	44,057	32,770	40,849	1511,079	1651,042	675,961
Médias									
Contrastes médio	Estimativas dos valores dos contrastes médios								
Contraste 1	-0,698 ^{ns}	6,232 ^{ns}	30,755 [*]	-0,394 ^{ns}	-0,340 ^{ns}	8,281 ^{**}	109,181 ^{ns}	139,759 ^{ns}	116,141 ^{ns}
Contraste 2	42,097 ^{ns}	-4,700 ^{ns}	-18,263 ^{ns}	3,738 ^{ns}	-1,507 ^{ns}	-2,601 ^{ns}	-76,593 ^{ns}	204,812 ^{ns}	-4,755 ^{ns}
CV (%)	9,98	6,20	5,15	9,96	5,83	7,21	8,24	10,67	12,98

C1= ZnSO₄ + 0,0 % KCl vs ZnSO₄ + 0,2 % KCl e ZnSO₄ + 0,4 % KCl; C2= ZnSO₄ + 0,2 % KCl vs ZnSO₄ + 0,4 % KCl; **= significativo a 1 %; *= significativo a 5 %; ns= não significativo a 5 %.

4. Discussão

A qualidade nutricional dos grãos de feijão, em relação ao teor de Zn, está relacionada ao teor do nutriente no grão, na sua forma biodisponível. O aporte de Zn, por meio do manejo da adubação, incluindo fertilizantes inorgânicos e orgânicos, e sua mobilização interna na planta para os grãos, pode ser otimizado pela aplicação de doses adequadas associadas à melhor época de aplicação. A aplicação foliar de Zn, principalmente quando utilizada a fonte Zn-EDTA, melhorou a qualidade nutricional dos grãos de feijão. Além de promover aumento no conteúdo e teores de Zn, elevou o conteúdo e teores da maioria dos nutrientes avaliados.

Com o incremento das doses aplicadas de Zn via foliar, houve queda nas variáveis de produtividade da cultura, nas doses mais elevadas, principalmente, para o ZnSO₄ (Figura 2). Com a aplicação de Zn-EDTA na dose de máxima de eficiência para acúmulo de Zn nos grãos (16,27 mg dm⁻³ de Zn = 32,54 kg ha⁻¹) houve aumento de 164,5 % do Zn nos grãos com uma queda na produtividade de 6,2 %. Esse maior teor de Zn nos grãos pode atender as exigências da população, visto que um adulto possui uma demanda em média de 12 mg d⁻¹ de Zn na dieta alimentar (Hussain et al., 2010). O aumento do Zn no grão indica possível utilização do Zn-EDTA na adubação da cultura para enriquecimento do grão com o nutriente. Entretanto, para se obter o teor de Zn biodisponível no grão, deve ser avaliada, também, a presença de ácido fítico, assim como a relação fitato:Zn no grão.

A queda nas variáveis que medem a produtividade pode estar relacionada, com a ocorrência de fitotoxidez, pois foram verificadas lesões nas folhas e vagens a partir da dose de 5 mg dm⁻³ de Zn (10 kg ha⁻¹) com ZnSO₄ e Zn-Amino (Figura 3), observando-se, também, impedimento do desenvolvimento das vagens em formação no ápice das plantas. Mesmo com o decréscimo no NV para o Zn-Amino e ZnSO₄ nas maiores doses, as fontes proporcionaram resultados semelhantes aos apresentados por Teixeira et al. (2008). Vale ressaltar que com a fonte Zn-EDTA, não foram observadas lesões nas folhas e vagens em nenhuma das doses, o que contribuiu para que o tratamento com Zn-EDTA apresentasse menor redução na PG, entre as fontes (Figura 2B). Isso pode ter ocorrido pelo fato de o Zn estar quelado com o EDTA, o que diminuiu a ação fitotóxica do nutriente presente em maiores concentrações, assim como foi constatado em plantas de colza (*Brassica napus* L.), cultivadas com doses de cobre (Cu), utilizando como fonte o EDTA (Habiba et al., 2015).

As doses de Zn aplicadas resultaram em redução no PCG no feijoeiro, com o $ZnSO_4$ (Figura 2C). O surgimento da fitotoxidez causada pelas doses de Zn pode ter prejudicado a fotossíntese e, conseqüentemente, a produção de fotoassimilados, prejudicando o enchimento dos grãos (Xu et al., 2013). Apesar de ter havido redução no PCG, o valor foi próximo aos relatados em outros trabalhos (Teixeira et al., 2008; Anjos et al., 2015).

Assim como observado para PCG, o $ZnSO_4$ reduziu a PG com o incremento das doses de Zn. Isso contribuiu para que a fonte apresentasse menor PG, entre as fontes (Figura 2B). Plantas de milho submetidas a elevadas concentrações de Zn, apresentaram maior queima de folhas com o $ZnSO_4$ do que as fontes orgânicas (Xu et al., 2022). Du et al. (2019) reportaram na cultura de trigo, que o $ZnSO_4$, nas doses mais elevadas, foi mais tóxico do que nanopartículas de ZnO. A redução na PG tem sido reportada, com a aplicação de doses elevadas de Zn (Cardoso et al., 2013; Du et al., 2019). Kirmani et al. (2018) também observaram que doses altas de Zn, aplicadas via foliar, promoveram redução na produção de grãos na cultura do trigo, assim como redução do comprimento da haste, do número de grãos por espigas, e do número de perfilhos. O excesso de Zn nas plantas pode induzir estresse oxidativo, causar alterações na estrutura foliar, redução na transpiração, na condutância estomática, no conteúdo de clorofila e carotenóides e, conseqüentemente, redução na fotossíntese (Shi e Cai, 2009; Wang et al., 2009).

As doses de Zn das fontes $ZnSO_4$, Zn-EDTA e Zn-Amino, apresentaram respostas diferentes, quanto ao aumento dos teores de P, K, Ca, Mg e S, nos grãos de feijão (Figura 4), com destaque para o Zn-EDTA e Zn-Amino, que aumentaram os teores desses nutrientes nos grãos. Tem sido relatado que a aplicação de doses de Zn-EDTA aumentou os teores de K em folhas de feijoeiro e em grãos de trigo (Baligah et al., 2020; Luís et al., 2019) e também, a aplicação de glicina aumentou os teores de P e S em plantas de alface (Khan et al., 2019). Vale ressaltar, que a glicina aplicada na alface é o mesmo aminoácido presente no Zn-Amino e, possivelmente, esse aminoácido pode ter contribuído para o aumento do P e S, nos grãos de feijão. Sida-Arreola et al. (2017) cultivaram feijão em substrato que recebeu doses de Zn-DTPA e $ZnSO_4$, em casa de vegetação, e observaram resultados semelhantes para o K. O aumento nos teores de K com aplicação de $ZnSO_4$ via solo e foliar, também foi relatado no feijão *Vigna unguiculata* L. Walp (Kuma e Dhaliwal, 2020).

Para os teores de Zn, Fe e Mn nos grãos de feijão, a aplicação de doses de Zn, resultou em respostas diferenciadas em função da fonte utilizada (Figuras 1A, 4G e 4H).

O incremento das doses de Zn nas fontes testadas proporcionou aumentos nos teores de Zn nos grãos de feijão, sendo mais evidente para o Zn-EDTA, seguido do ZnSO₄ e Zn-Amino. Além disso, o Zn-EDTA aumentou os teores de Fe e Mn, nos grãos de feijão. Estudos têm mostrado que o Zn-EDTA é mais eficiente no aumento dos teores do nutriente nos grãos, quando comparado a outras fontes de Zn (Naik e Das, 2008; Zhao et al., 2015; Zhao et al., 2019; Baligah et al., 2020).

Os aumentos nos teores de Zn nos grãos após sua aplicação foliar podem ter sido devido à sua mobilidade nas plantas de feijão, o que favoreceu sua translocação para os grãos (Rodrigues et al., 1997). O aumento nos teores de Zn em grãos de feijão com doses de ZnSO₄ via foliar têm sido relatados na literatura (Cabraia et al., 2019). A aplicação de Zn-EDTA, via foliar, também aumentou os teores de Fe nos grãos de arroz (Wang et al., 2020), como também, a aplicação de doses crescentes de EDTA no solo aumentou o teor de Mn, nas sementes de *Brassica napus* (Bloem et al., 2017). Os maiores teores de Zn em grãos de feijão, no tratamento com o Zn-EDTA, em comparação com as outras fontes testadas, podem estar relacionados à sua menor adsorção na cutícula foliar devido ao quelato Zn-EDTA (Franco et al., 2005). Isso pode ter favorecido a maior absorção do Zn pelas folhas, e possivelmente o aumento na translocação desse nutriente para os grãos.

As doses de Zn das fontes orgânicas, apresentaram respostas diferentes, em relação ao acúmulo do nutriente nos grãos de feijão. A fonte de Zn-EDTA proporcionou maior teor de Zn nos grãos, em comparação com a fonte Zn-Amino (Figura 1A). Isso ocorreu, possivelmente, porque grande parte do Zn da fonte Zn-Amino se dissociou do aminoácido, ficando adsorvido na cutícula das folhas, como observado por Franco et al. (2005), em plantas de feijão que receberam ZnSO₄.

De forma geral, o presente estudo mostrou que a aplicação das fontes de Zn nas doses testadas, aumentou os teores do nutriente nos grãos de feijão (Figura 1A). Além disso, houve aumento no acúmulo de P, K, Ca, Mg, S, Fe e Mn nos grãos, com destaque para a resposta à aplicação do Zn-EDTA (Figura 4). No solo, o agente quelante EDTA remobiliza íons-metálico, formando complexos solúveis que aumentam a disponibilidade desses metais para as plantas (Nowack et al., 2006; Komárek et al. 2007b; Neugschwandtner et al., 2009; Qureshia et al., 2020). A complexação de íons-metálicos no solo pode aumentar os fluxos difusivos dos mesmos em direção às raízes, elevando as concentrações de metais dissolvidos e aumentando a absorção desses elementos (Nowack et al., 2006).

O aumento nos grãos de K, Mg, Fe e Mn pela fonte de Zn-EDTA, pode estar relacionado ao EDTA adsorvido nas folhas senescentes, que eram colocadas nos vasos. O EDTA pode ter sido lavado das folhas pela água da irrigação, indo para a solução do solo formando complexo solúvel com os cátions, favorecendo a absorção desses elementos.

Como a maioria dos complexos quelatados apresenta elevado peso molecular e não apresentam transportadores específicos, é improvável que sejam transportados através da membrana celular pela via simplástica (Tandy et al., 2006). Porém, há indícios que complexos de quelantes com metais podem ser absorvidos através da via apoplástica (Tanton e Crowdy, 1971). Sarret et al. (2001) concluíram que o chumbo (Pb) e o EDTA podem ser absorvidos pelas plantas de feijoeiro, e que parte do Pb nas folhas estava complexado com o EDTA. Porém, segundo os autores os mecanismos de absorção e transporte de Pb-EDTA e EDTA através da membrana ainda não foram elucidados.

O excesso de EDTA pode causar rupturas na endoderme facilitando a livre passagem de metais quelatados para o interior da célula (Vassil et al., 1998; Nowack et al., 2006; Chen et al., 2007). As estrias de Caspary não são totalmente impermeáveis à entrada de íons pela endoderme (Ranathunge et al., 2005). Além disso, podem permitir o fluxo apoplástico do solo para o estelo nas partes jovens das raízes antes da formação das estrias de Caspary ou pela sua ruptura, em locais que emergem as raízes laterais (Ranathunge et al., 2005; Barberon e Geldner, 2014); como também, pelas células de passagem existentes na endoderme que não são suberizadas (Doblas et al., 2017). Isso pode explicar os aumentos nos teores de cátions em grãos de feijão, quando aplicada a fonte Zn-EDTA.

Estudos têm demonstrado a presença de EDTA, EDDS e complexos com esses agentes quelantes com Pb, na parte aérea da planta (Vassil et al., 1998; Tandy et al., 2006). O EDTA livre na planta tem alta afinidade pelos cátions divalentes essenciais (Vassil et al., 1998), o que pode explicar os aumentos nos teores de cátions nos grãos de feijão. O EDTA pode ter sido absorvido pelas raízes na forma de complexos metálicos, como também, pelas folhas na forma de Zn-EDTA e, dentro da planta, tanto os complexos metálicos como Zn-EDTA podem ter sido dissociados (Doolotte et al., 2018), liberando o EDTA para formar novos complexos com os cátions, e em seguida, serem translocados até os grãos.

Já os ânions P e S não são complexados com o EDTA (Neugschwandtner et al., 2009). Porém, altos teores de P e S, em sementes (Bloem et al., 2017) e de P na parte

aérea de milho já foram observados, quando aplicado EDTA no solo (Hovsepya e Greipsson, 2005). O aumento de P em plantas na presença de EDTA pode ocorrer pela dissolução de fosfatos metálicos pelo EDTA, que aumentam a concentração do nutriente no solo, favorecendo sua maior absorção pelas raízes (Neugschwandtner et al., 2009). Em solos calcários, o EDTA pode atuar como extrator de P (Shahriaripour et al., 2019). Devido à similaridade físico-químico entre S e P, acredita-se que o aumento na absorção de S tenha ocorrido de forma semelhante ao processo de absorção do P.

O uso do EDTA na fitoextração de metais pesados em solos contaminados, é largamente pesquisado (Vassil et al., 1998; Hovsepya e Greipsson, 2005; Nowack et al., 2006; Chaturvedi et al., 2019). Porém, as pesquisas avaliando os efeitos da aplicação do EDTA no solo no crescimento e aumentos da absorção de nutrientes essenciais pelas culturas agrícolas são escassas (Neugschwandtner et al., 2009; Bloem et al., 2017). Entender os mecanismos que o EDTA promove, melhorando a absorção de nutrientes essenciais pelas plantas, é de extrema importância, para melhorar a nutrição, produtividades e qualidade dos alimentos produzidos pelas culturas.

No geral, como observado para os teores de nutrientes, a fonte de Zn-EDTA proporcionou aumentos nos conteúdos de P, K, Mg, Zn e Mn (Figura 5). O EDTA pode ter favorecido a maior absorção dos nutrientes e também, ter minimizado os efeitos fitotóxicos nas variáveis que medem a produção, o que contribuiu para maior PG, em relação as outras fontes, pois, para calcular o conteúdo, é levado em consideração os teores dos nutrientes e a produção de massa de matéria seca. Observou-se também, que o $ZnSO_4$ aumentou conteúdo de P, K, Ca, Mg e S (Figura 5), porém, esses aumentos foram insignificantes, quando comparado ao Zn-EDTA. Isso pode estar relacionado a maior redução na PG, com aumento das doses de Zn, quando utilizou essa fonte (Figura 2B).

No presente estudo foi observado que o maior acúmulo de Zn nos grãos de feijão está localizado, principalmente no eixo embrionário (Figura 6), corroborando com estudo na literatura com a cultura do feijão (Cabraia et al., 2019). O maior acúmulo de Zn nessa região pode ocorrer devido a esse nutriente possuir um importante papel na ativação das enzimas peptidases, que atuam na hidrólise das proteínas, fornecendo esqueleto de carbono ao eixo embrionário e promovendo seu crescimento; e também na ativação das RNAs e DNAs polimerases, favorecendo a síntese de novas proteínas pelo eixo embrionário, o qual, durante a germinação, vai originar a plântula (Ohse et al., 2012).

Altos teores de Zn nas sementes promovem melhorias na germinação (Prasad et al., 2012), indicando que esse nutriente tem importante papel fisiológico no processo da

germinação (Upadhyaya et al., 2017). Além disso, durante a germinação de sementes, ocorre aumento do nutriente nas raízes e coleóptilos, melhorando o desenvolvimento inicial de plântulas. Isso é um indicativo que o Zn tem importante papel na diferenciação de células com elevada atividade metabólica nesses tecidos (Ozturk et al., 2006). Altos teores de Zn em sementes têm importante papel na disponibilidade desse nutriente para o desenvolvimento inicial de plantas (Upadhyaya et al., 2017).

Com exceção do teor e conteúdo de S e conteúdo K que houve diferença significativa, observou-se que a aplicação de doses de KCl via foliar, não influenciou as demais variáveis analisadas (Tabela 2 e 3). Kundu et al. (2020) constataram aumento de S em grãos de arroz com a aplicação de diferentes fontes de K via foliar. O aumento do conteúdo de S e K nos grãos pode estar relacionado ao aumento de PG e dos teores dos elementos, com a aplicação das doses de KCl (Tabela 2 e 3). Aumento de PG e teor de S em grãos de arroz, com a aplicação de diferentes fontes de K via foliar (Kundu et al., 2020) e também, aumento de PG e dos teores de K em folhas e grãos tem sido relatado com aplicação de KCl via foliar (Umar et al., 1999; Zameer Khan et al., 2006; Sarma et al., 2015; Pajancoa et al., 2018).

Os resultados obtidos aqui são de grande importância, principalmente pela aplicação do Zn-EDTA, que além de promover aumento no teor de Zn nos grãos, aumentou também, P, K, Mg, S, Fe e Mn. O Zn e o Fe têm grande importância na alimentação humana e a baixa ingestão dos mesmos tem contribuído para o aparecimento de doenças infecciosas e anemia na população de baixa renda. Diante disso, futuras pesquisas devem ser realizadas, para entender melhor os mecanismos do EDTA para melhorar a absorção de nutrientes pelas plantas e a translocação para as sementes. Além disso, podem trazer informações de grande relevância para a biofortificação, elucidando como o EDTA pode melhorar os aumentos nos teores de nutrientes nas sementes, especialmente, Zn e Fe.

5. Conclusões

A aplicação de doses ZnSO₄, Zn-EDTA e Zn-Amino via foliar resulta em aumento dos teores de Zn nos grãos de feijão, o que pode contribuir para melhorar sua qualidade no que se refere à participação do grão na dieta alimentar. A dose de 15 mg dm⁻³ de Zn das fontes aplicadas via foliar, é a indicada para promover a biofortificação dos grãos de feijão, pois está próximo das doses de máxima eficiência física do teor do elemento nos grãos. O Zn-EDTA também promove aumento dos teores e conteúdo de outros nutrientes,

apresentando menor redução nas componentes de produção de grãos comparativamente a $ZnSO_4$ e Zn-Amino. O potencial de aumento de Zn nos grãos, assim como de outros nutrientes importantes na alimentação, nos grãos, por meio da adição de Zn-EDTA via foliar, credencia essa fonte quelada como fertilizante de qualidade. Estudos adicionais devem investigar a ação do Zn-EDTA em condições de campo, para confirmar sua ação em condições controladas. A análise da presença do ácido fítico nos grãos poderá avaliar a biodisponibilidade do Zn introduzido na dieta pelo feijão. Observou-se que o maior acúmulo de Zn nos grãos de feijão está localizado no eixo embrionário. A aplicação de doses de KCl via foliar na dose de 5 mg dm^{-3} de Zn da fonte de $ZnSO_4$, aumentou o teor e conteúdo de S e conteúdo de K nos grãos de feijão.

Referências

- Alencar LP, Sedyama GC, Mantovani EC, Martinez MA (2011) Tendências recentes nos elementos do clima e suas implicações na evapotranspiração da cultura do milho em Viçosa – MG. Engenharia Agrícola. 31:631-642. <https://doi.org/10.1590/S0100-69162011000400002>
- Alvarez VVH, Dias LE, Ribeiro AC, Souza RB (1999) Uso de gesso agrícola. In: Ribeiro AC, Guimarães PTG, Alvarez VVH (eds) Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª Aproximação. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, p 67-78.
- Anjos DN, Vasconcelos RC, Mendes HTA, Alcantara ASA, Viana ES (2015) Biostimulants, macro and micronutrient fertilizer influence on common bean crop in Vitória da Conquista-Ba, Brazil. African Journal of Agricultural Research. 10:1891-1897. <https://doi.org/10.5897/AJAR2014.9359>
- Baligah HU, Mir SA, Sofi P, Mir AH (2020) Grain zinc phytic acid and nutrient uptake in common bean is influenced by sources and concentrations of zinc fertilization. International Research Journal of Pure & Applied Chemistry. 21:9-17. <https://doi.org/10.9734/IRJPAC/2020/v21i1030202>
- Barberon M, Geldner N (2014) Radial Transport of Nutrients: The Plant Root as a Polarized Epithelium. Plant Physiology. 166:528–537. <https://doi.org/10.1104/pp.114.246124>
- Beebe SE, Rao IM, Blair MW, Acosta-Gallegos JÁ (2013) Phenotyping common beans for adaptation to drought. Frontiers in Physiology. 4:1-20. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00035>

- Blair MW, Izquierdo P, Astudillo C, Grusak MA (2013) A legume biofortification quandary: variability and genetic control of seed coat micronutrient accumulation in common beans. *Frontiers in Plant Science*. 4:1-14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00275>
- Bloem E, Haneklaus S, Haensch R, Schnug E (2017) EDTA application on agricultural soils affects microelement uptake of plants. *Science of the Total Environment*. 577:166–173. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.153>
- Broughton WJ, Hernandez G, Blair M, Beebe S, Gepts P, Vanderleyden J (2003) Beans (*Phaseolus* spp.) - model food legumes. *Plant Soil*. 252:55-128. <https://doi.org/10.1023/A:1024146710611>
- Cakmak I (2009) Enrichment of fertilizer with zinc: An excellent investment for humanity and crop production in India. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 23:281-289. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2009.05.002>
- Cakmak I, Kutman UB (2018) Agronomic biofortification of cereals with zinc: a review. *European Journal of Soil Science*. 69:172–180. doi: 10.1111/ejss.12437
- Cambraia TLL, Fontes RLF, Vergütz L, Vieira RF, Neves JCL, Corrêa Netto OS, Dias RFN (2019) Agronomic biofortification of common bean grain with zinc. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 54:1-7. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2019.v54.01003>
- Cardoso FR, Galante AHA, Teixeira IR, Silva AG, Reis EF. Fontes e doses de zinco na nutrição e produção de feijão-comum e mamona em consórcio (2013) *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*. 8:602-609. <https://doi.org/10.5039/agraria.v8i4a3417>
- Carvalho AMX, Mendes FQ, Mendes FQ, Tavares LF (SPEED Stat: a free, intuitive, and minimalist spreadsheet program for statistical analyses of experiments. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 20:1-6. <https://doi.org/10.1590/1984-70332020v20n3s46>
- Chaturvedi R, Favas P, Pratas J, Varun M, Paul MS (2019) EDTA-Assisted Metal Uptake in *Raphanus sativus* L. and *Brassica oleracea* L.: Assessment of Toxicity and Food Safety. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 103:490–495. <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02651-9>
- Chen YH, Mao Y, He SB, Guo P, Xu K (2007) Heat stress increases the efficiency of EDTA in phytoextraction of heavy metals. *Chemosphere*. 67:1511–1517. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.12.016>

- Doblas VG, Geldner N, Barberon M (2017) The endodermis, a tightly controlled barrier for nutrients. *Current Opinion in Plant Biology*. 39:136–143. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2017.06.010>
- Doolette CL, Read TL, Li C, Scheckel KG, Donner E, Kopittke PM, Schjoerring JK, Lombi E (2018) Foliar application of zinc sulphate and zinc EDTA to wheat leaves: differences in mobility, distribution, and speciation. *Journal of Experimental Botany*. 69:4469–4481. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery236>
- Drissi S, Houssa AA, Bamouh A, Benbella M (2015) Corn Silage (*Zea mays* L.) Response to Zinc Foliar Spray Concentration When Grown on Sandy Soil. *Journal of Agricultural Science*. 7:68-79. <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v7n2p68>
- Du W, Yang J, Peng Q, Liang X, Mao H (2019) Comparison study of zinc nanoparticles and zinc sulphate on wheat growth: From toxicity and zinc biofortification. *Chemosphere*. 227:109-116. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.168>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO. Statistical Databases. Crops Statistics: Beans. 2018. Available online: <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>. (accessed on 26 February 2021)
- Franco IAL, Martinez HEP, Zabini AV, Fontes PCR (2005) Translocação e compartimentalização de Zn aplicado via ZnSO₄ e ZnEDTA nas folhas de cafeeiro e feijoeiro. *Ciência Rural*. 35:332-339. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000200013>
- Gibson R (2012) Zinc deficiency and human health: etiology, health consequences, and future solutions. *Plant Soil*. 361:291-299. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1209-4>
- Golden BR, Orlowski JM, Bond JA (2016) Corn Injury from Foliar Zinc Application Does Not Affect Grain Yield. *Agronomy Journal*. 108:2071-2075. <https://doi.org/10.2134/agronj2015.0593>
- Graham RD, Welch RM, Saunders DA, Ortiz-Monasterio I, Bouis HE, Bonierbale M, Haan S, Burgos G, Thiele G, Liria R, Meisner CA, Beebe SE, Potts MJ, Kadian M, Hobbs PR, Gupta RK, Twomlow S (2007) Nutritious subsistence food systems. *Advances in Agronomy*. 92:1-74. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(04\)92001-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(04)92001-9)
- Habiba U, Ali S, Farid M, Shakoob MB, Rizwan M, Ibrahim M, Abbasi GH, Hayat T, Ali B. EDTA enhanced plant growth, antioxidant defense system, and phytoextraction of copper by *Brassica napus* L (2015) *Environmental Science Pollution Research*. 22:1534–1544. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3431-5>

- Hayat I, Ahmad A, Masud T, Ahmed A, Bashir S (2014) Nutritional and Health Perspectives of Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): An Overview. Food Science and Nutrition. 54:580-592. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.596639>
- Hovsepyan A, Greipsson S (2005) EDTA-Enhanced Phytoremediation of Lead-Contaminated Soil by Corn. Journal of Plant Nutrition. 28:2037–2048. <https://doi.org/10.1080/01904160500311151>
- Hussain S, Maqsood MA, Rahmatullah (2010) Increasing grain zinc and yield of wheat for the developing world: A Review. Emirates Journal Food Agriculture. 22:326-339. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v22i5.4821>
- Khan S, Yu H, Li Q, Gao Y, Sallam BN, Wang H, Liu P, Jiang W (2019) Exogenous Application of Amino Acids Improves the Growth and Yield of Lettuce by Enhancing Photosynthetic Assimilation and Nutrient Availability. Agronomy. 9:2-17. <https://doi.org/10.3390/agronomy9050266>
- Kirmani HF, Hussain M, Ahmad F, Shahid M, Asghar A (2018) Impact of zinc uptake on morphology, physiology and yield attributes of wheat in Pakistan. Cercetări Agronomice în Moldova. 173:29-36. <https://doi.org/10.2478/cerce-2018-0002>
- Klikocka H, Marks M (2018) Sulphur and Nitrogen Fertilization as a Potential Means of Agronomic Biofortification to Improve the Content and Uptake of Microelements in Spring Wheat Grain DM. Journal of Chemistry. [s.v]:1-12. <https://doi.org/10.1155/2018/9326820>
- Komárek M, Tlustoš P, záková J, hrastný V, Balík J (2007) The role of Fe- and Mn-oxides during EDTA-enhanced phytoextraction of heavy metals. Plant Soil Environ. 53:216–224. <https://www.researchgate.net/publication/257650532>
- Krebs NF, Miller LV, Hambidge KM (2014) Zinc deficiency in infants and children: a review of its complex and synergistic interactions. Paediatrics and International Child Health. 34:279-288. <https://doi.org/10.1179/2046905514Y.0000000151>
- Kumar B, Dhaliwal SS (2021) Zinc biofortification of dual-purpose cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] for enhancing the productivity and nutritional quality in a semi-arid regions of India. Archives of Agronomy and Soil Science. [s.v]:1-16. <https://doi.org/10.1080/03650340.2020.1868040>
- Kundu A, Raha P, Dubey AN, Rani M, Paul A, Patel R (2021) Differential responses of rice (*Oryza sativa* L.) to foliar fertilization of organic potassium salts. Journal of Plant Nutrition. 44:1330–1348. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1862193>

Liu HE, Wang QY, Rengel Z, Zhao P (2015) Zinc fertilization alters flour protein composition of winter wheat genotypes varying in gluten content. *Plant Soil Environ.* 61:195-200. <https://doi.org/10.17221/817/2014-PSE>

Lorenzon AS, Dias HCT, Leite HG (2013) precipitação efetiva e interceptação da chuva em um fragmento florestal com diferentes estágios de regeneração. *Revista Árvore.* 37:619-627. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622013000400005>

Luís IC, Pessoa CC, Marques AC, Daccak D, Coelho ARF, Lidon FC, Patanita M, Silva MM, Almeida AS, Ramalho JC, Pessoa MF, Simões M, Reboredo FH, Legoinha P, Campos PS, Pais IP, Leitão RG, Dôres J (2021) Tissue Accumulation and Quantification of Zn in Biofortified *Triticum aestivum* Grains—Interactions with Mn, Fe, Cu, Ca, K, P and S. *Biology and Life Science Forum.* 4:1-7. <https://doi.org/10.3390/IECPS2020-08711>

Miller BDD, Welch RM (2013) Food system strategies for preventing micronutrient malnutrition. *Food Policy.* 42:115-1128. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodpol.2013.06.008>

Naik SK, Das DK (2008) Relative performance of chelated zinc and zinc sulphate for lowland rice (*Oryza sativa* L.). *Nutrient Cycling in Agroecosystems.* 81:219-227. <https://doi.org/10.1007/s10705-007-9158-7>

Neugschwandtner RW, Tlustoš P, Komárek M, Száková J (2009) Nutrient mobilization and nutrient contents of *Zea mays* in response to EDTA additions to heavy-metal-contaminated agricultural soil. *Journal of Plant Nutrition of Soil Science.* 172:520–527. <https://doi.org/10.1002/jpln.200700328>

Novais RF.; Neves JCL, Barros NF (1991) Ensaio em ambiente controlado. In: Oliveira A. J. et al. (Coords.). Métodos de pesquisa em fertilidade do solo. Brasília, DF: Embrapa-SEA, pp 189-253

Nowack B, Schulin R, Robison BH (2006) Critical Assessment of Chelant-Enhanced Metal Phytoextraction. *Environmental Science & Technology.* 40:5225-5232. <https://doi.org/10.1021/es0604919>

Ohse S, Rezende BLA, Lisik D, Otto RF (2012) Germinação e vigor de sementes de melancia tratadas com zinco. *Revista Brasileira de Sementes.* 34:282-292. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222012000200014>

Qiao X, He Y, Wang Z, Li X, Zhang K, Zeng H (2014) Effect of foliar spray of zinc on chloroplast b-carbonic anhydrase expression and enzyme activity in rice (*Oryza sativa* L.) leaves. *Acta Physiol Plant.* 36:263–272. <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1407-6>

- Olmedilla-Alonso B, Pedrosa MM, Cuadrado C, Brito M, Asensio-S-Manzanera C, Asensio-Vegas C (2013) Composition of two Spanish common dry beans (*Phaseolus vulgaris*), ‘Almonga’ and ‘Curruquilla’, and their postprandial effect in type 2 diabetics. *Journal of Science of Food and Agriculture*. 93:1076-1082. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5852>
- Ozturk L, Yazic MA, Yucel C, Torun A, Cekic C, Bagci A, Ozkan H, Braun HJ, Sayers Z, Cakmak I (2006) Concentration and localization of zinc during seed development and germination in wheat. *Physiologia Plantarum*. 128:144–152. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00737.x>
- Babu PJ, Hattab KO, Aruna L, Mohan R (2018) Effect of sources, split and foliar application of KCl and KClO₃ on uptake of potassium in aerobic rice. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 7:1954-1957.
- Pla MFE, Flores SK, Genevois CE (2020) Innovative strategies and nutritional perspectives for fortifying pumpkin tissue and other vegetable matrices with iron. *Food Science and Human Wellness*. 9:103–111. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2020.02.005%202>
- Prasad TN, Sudhakar P, Sreenivasulu Y, Latha P, Munaswamy V, Reddy KR, Sreeprasad TS, Sajalal PR, Pradeep T (2012) Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition*. 35:905–927. <https://doi.org/10.1080/01904167.2012.663443>
- Qureshi FF, Ashraf MA, Rasheed R, Ali S, Hussain I, Ahmed A, qbal M (2020) Organic chelates decrease phytotoxic effects and enhance chromium uptake by regulating chromium-speciation in castor bean (*Ricinus communis* L.). *Science of the Total Environment*. 716:1-13. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137061>
- Ram H, Rashid A, Zhang W, Duarte AP, Phattarakul N, Simunji S, Kalayci M, Freitas R, Rerkasem B, Bal RS, Mahmood K, Savasli E, Lungu O, Wang ZH, Barros VLNP, Malik SS, Arisoy RZ, Guo JX, Sohu VS, Zou CQ, Cakmak I (2016) Biofortification of wheat, rice and common bean by applying foliar zinc fertilizer along with pesticides in seven countries. *Plant Soil*. 403:389-401. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2815-3>
- Ranathunge K, Steudle E, Lafitte R (2005) A new precipitation technique provides evidence for the permeability of Casparian bands to ions in young roots of corn (*Zea mays* L.) and rice (*Oryza sativa* L.). *Plant, Cell and Environment*. 28:1450–1462. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01391.x>

Rodrigues LA, Souza PA, Martinez HEP, Pereira PRG, Fontes PR (1997) Absorção e translocação de zinco em feijoeiro aplicado via foliar. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*. 19979:111-115

Sadeghzadeh B (2013) A review of zinc nutrition and plant breeding. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 13: 905-927. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162013005000072>

Saha S, Roy A (2020) Whole grain rice fortification as a solution to micronutrient deficiency: Technologies and need for more viable alternatives. *Food Chemistry*. 326:1-14. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127049>

Saltzman A, Birol E, Oparinde A, Andersson MS, Asare-Marfo D, Diressie MT, Gonzalez G, Lividini K, Moursi M, Zeller M (2017) Availability, production, and consumption of crops biofortified by plant breeding: current evidence and future potential. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1390:104-114. <https://doi.org/10.1111/nyas.13314>.

Sarma PK, Hazarika M, Sarma D, Saikia P, Neog P, Rajbongshi R, Kakati N, Bhattacharjee M, Rao CR (2015) Effect of Foliar Application of Potassium on Yield, Drought Tolerance and Rain Water Use Efficiency of Toria under Rainfed Upland Situation of Assam. *Indian Journal of Dryland Agricultural Research and Development*. 30:55-59. <https://doi.org/10.5958/2231-6701.2015.00008.1>

Sarret G, Vangronsveld J, Manceau A, Musso M, D'haen J, Menthonnex J, Hazemann J (2001) Accumulation forms of Zn and Pb in *Phaseolus vulgaris* in the presence and absence of EDTA. *Environmental Science Technology*. 35:2854-2859. <https://doi.org/10.1021/es000219d>

Shi GR, Cai QS (2009) Photosynthetic and anatomic responses of peanut leaves to zinc stress. *Biologia Plantarum*. 53:391-394. <https://doi.org/10.1007/s10535-009-0074-3>

Shivay YS, Prasad R (2014) Effect of source and methods of zinc application on corn productivity, nitrogen and zinc concentrations and uptake by high quality protein corn (*Zea mays*). *Egyptian Journal of Biology*. 16:72-74. <http://dx.doi.org/10.4314/ejb.v16i1.10>

Sida-Arreola JP, Sánchez E, Ojeda-Barríos DL, Ávila-Quezada GD, Flores-Córdova MA, Márquez-Quiroz C, Reciado-Rangel P (2017) Can biofortification of zinc improve the antioxidant capacity and nutritional quality of beans? *Emirates Journal Food and Agriculture*. 29:237-241. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-04-367>

- Tandy, S, Shulin R, Nowack B (2006) The influence of EDDS on the uptake of heavy metals in hydroponically grown sunflowers. *Chemosphere*. 62:1454–1463. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.06.005>
- Tanton TW, Crowdy SH (1971) The Distribution of Lead Chelate in the Transpiration Stream of Higher Plants. *Pesticide Science*. 2:211-213. <https://doi.org/10.1002/ps.2780020507>
- Teixeira IR, Borém A, Silva AG, Kikuti H (2008) Fontes e doses de zinco no feijoeiro cultivado em diferentes épocas de semeadura. *Acta Scientiarum. Agronomy*. 30:255-259. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v30i2.1739>
- Tran BTT, Cavagnaro TR, Watts-Williams SJ (2019) Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation and soil zinc fertilisation affect the productivity and the bioavailability of zinc and iron in durum wheat. *Mycorrhiza*. 29:445-457. <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00911-4>
- Umar S, Bansal SK, Imas P, Magen H (1999) Effect of Foliar Fertilization of Potassium on Yield, Quality, and Nutrient Uptake of Groundnut. *Journal of Plant Nutrition*. 22:1785-1795. <https://doi.org/10.1080/01904169909365754>
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2019). *World Population Prospects 2019: Highlights (ST/ESA/SER.A/423)*. Available via DIALOG. https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019_Highlights.pdf. Accessed 15 Jul 2021
- Upadhyaya H, Roy H, Shome S, Tewari S, Bhattacharya MK, Panda SK (2017) Physiological impact of Zinc nanoparticle on germination of rice (*Oryza sativa* L) seed. *Journal Plant Science and Phytopathol*. 1:62-70. <https://doi.org/10.29328/journal.jpssp.1001008>
- Vassil AD, Kapulnik Y, Raskin K, Salt DE (1998) The Role of EDTA in Lead Transport and Accumulation by Indian Mustard. *Plant Physiology*. 117:447-453. <https://doi.org/10.1104/pp.117.2.447>
- Wang C, Zhang SH, Wang PF, Hou J, Zhang WJ, Li W, Lin ZP (2009) The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings. *Chemosphere*. 200975:1468–1476. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.02.033>
- Wang Z, Wang H, Xu C, LV G, Luo Z, Zhu H, Wang S, Zhu Q, Huang D, Li B (2020) Foliar Application of Zn-EDTA at Early Filling Stage to Increase Grain Zn and Fe, and Reduce Grain Cd, Pb and Grain Yield in Rice (*Oryza sativa* L.). *Bulletin of*

- Environmental Contamination and Toxicology. 105:428-432. <https://doi.org/10.1007/s00128-020-02949-z>
- Welch RM, Graham RD, Cakmak I (2013) Linking Agricultural Production Practices to Improving Human Nutrition and Health. Available online: www.fao.org/contact-us/licence-request.pdf (accessed on 20 March 2020)
- Wessells KR, Brown KH (2012) Estimating the Global Prevalence of Zinc Deficiency: Results Based on Zinc Availability in National Food Supplies and the Prevalence of Stunting. *Plos One*. 20127:1-11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050568>
- Xu M, Du L, Liu M, Zhou J, Pan W, Fu H, Zhang X, Ma Q, Wu L (2022) Glycine-chelated zinc rather than glycine-mixed zinc has lower foliar phytotoxicity than zinc sulfate and enhances zinc biofortification in waxy corn. *Food Chemistry*. 370:1-10. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131031>
- Xu Q, Chu W, Qiu H, Fu Y, Cai S, Sha S (2013) Responses of *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle to zinc: In situ localization, subcellular distribution and physiological and ultrastructural modifications. *Plant Physiology and Biochemistry*. 69:43-48. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.04.018>
- Zaman QU, Aslam Z, Yaseen M, Ihsan MZ, Khaliq A, Fahad S, Bashir S, Ramazani PMA, Naeem M (2017) Zinc biofortification in rice: leveraging agriculture to moderate hidden hunger in developing countries. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 64:147-161. <http://dx.doi.org/10.1080/03650340.2017.1338343>
- Zameer Khan M, Muhammad S, Naeem MA, Akhtar E, Khalid M (2006) RESPONSE OF SOME WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) VARIETIES TO FOLIAR APPLICATION OF N & K UNDER RAINFED CONDITIONS. *Pakistan Journal of Botany*. 38:1027-1034.
- Zhao A, Tian X, Cao Y, Lu X, Liu T (2014) Comparison of soil and foliar zinc application for enhancing grain zinc content of wheat when grown on potentially zinc-deficient calcareous soils. *Journal Science Food Agriculture*. 94:2016–2022. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6518>
- Zou CQ, Zhang YQ, Rashid A, Ram H, Savasli E, Arisoy RZ, Ortiz-Monasterio I, Simunji S, Wang ZH, Sohu V, Hassan M, Kaya Y, Onder O, Lungu O, Mujahib MY, Joshi AK, Zelenskiy Y, Zhang FS, Cakmak I (2012) Biofortification of wheat with zinc through zinc fertilization in seven countries. *Plant Soil*. 361:119–130. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1369-2>

Capítulo 2

Inoculação de sementes do feijoeiro com *Pochonia chlamydosporia* para aumentar a absorção e o acúmulo de zinco na planta visando à biofortificação agrônômica

Resumo

O zinco (Zn) é essencial ao metabolismo humano. Sua ingestão diária insuficiente resulta em problemas de desnutrição em alguns grupos da população, principalmente em crianças. O não acesso a alimentos de qualidade é uma das condições associadas à deficiência de Zn na população. Uma alternativa para melhorar a qualidade nutricional dos produtos agrícolas que compõem a dieta alimentar da população é o enriquecimento das partes comestíveis das culturas comerciais pelo manejo da adubação, cujo processo é chamado de biofortificação agrônômica. Nos últimos anos, a utilização de microrganismos associados a fertilizantes, em aplicação simultânea, vem crescendo com intuito de melhorar a qualidade nutricional das culturas. Porém, mais estudos são necessários avaliando o potencial de utilização de microrganismos, visando aumentar os teores de micronutrientes nos alimentos. Nesse sentido, o objetivo com este trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de sementes de feijão com o fungo *P. chlamydosporia* associada à aplicação de Zn via solo e via foliar, visando o aumento do Zn e de outros nutrientes nos grãos. O experimento foi desenvolvido em esquema fatorial $2 \times 2 \times 5$, representado pela inoculação do fungo *P. chlamydosporia* em sementes de feijão (0 e 5 g kg^{-1} de sementes), aplicação de Zn via solo (0 e 2,5 mg dm^{-3}), e aplicação de Zn via foliar (0; 2,5; 5,0; 10,0 e 20,0 mg dm^{-3}), em delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições. A colonização de raízes de feijoeiro pelo *P. chlamydosporia* não foi efetiva para aumentar os teores de Zn nos grãos de feijão. Porém, aumentou a absorção de P, K, Fe e Mn pelas raízes e também resultou no aumento nos teores de N e de proteínas nos grãos, entretanto, reduziu o peso de cem grãos. A inoculação do microrganismo nas sementes, associada à adição ou não de Zn no solo e suplementada com doses de Zn foliar, aumentou os teores de K, Fe e Mn nos grãos. Pelos mapas microquímicos, é possível observar que o Zn está distribuído em todo grão, porém, com maior acúmulo do elemento no eixo embrionário. A aplicação de doses de Zn foliar, associada à adição ou não de Zn no solo, aumentou os teores do elemento nos grãos, principalmente, nas doses 10 e 20 mg dm^{-3} de Zn via foliar, sem adição de Zn no solo.

Palavras-chave: Microrganismos. Teores de nutrientes. Proteína. Qualidade nutricional.

The inoculation of Bean seeds with *Pochonia chlamydosporia* as a feature to improve the plant absorption and stock of Zinc for agronomic biofortification

Abstract

Zinc (Zn) is essential for human metabolism. Its insufficient daily ingestion results in malnutrition problems in some population groups, especially children. Lack of access to quality food is one of the conditions associated with Zn deficiency in the population. An alternative to improve the nutritional quality of agricultural products that compose the population diet is to enrich the edible parts of commercial crops through fertilizer management, a process known as agronomic biofortification. In recent years, the use of microorganisms associated with fertilizers, in simultaneous application, has been increasing in order to improve the nutritional quality of crops. However, more studies are needed to assess the potential use of microorganisms in order to increase the levels of micronutrients in foods. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effect of inoculation of bean seeds with the fungus *P. chlamydosporia* associated with the soil and foliar application of Zn, aiming to increase Zn and other nutrients in the grains. The experiment was carried out in a $2 \times 2 \times 5$ factorial scheme, represented by the inoculation of the fungus *P. chlamydosporia* in bean seeds (0 and 5 g kg⁻¹ of seeds), soil application of Zn (0 and 2.5 mg dm⁻³), and foliar application of Zn (0; 2.5; 5.0; 10.0 and 20.0 mg dm⁻³), in a randomized block design, with four replications. The colonization of bean roots by *P. chlamydosporia* was not effective in increasing Zn contents in bean grains. However, it increased the absorption of P, K, Fe and Mn by the roots and also resulted in an increase in the contents of N and protein in the grains, while it reduced the weight of one hundred grains. The inoculation of the microorganism in the seeds, associated with the addition or not of Zn in the soil and supplemented with doses of foliar Zn, increased the contents of K, Fe and Mn in the grains. From the microchemical maps, it is possible to observe that Zn is distributed throughout the grain, however, with greater accumulation of the element in the embryonic axis. The foliar application of Zn doses, associated with the addition or not of Zn in the soil, increased the contents of the element in the grains, mainly in the doses of 10 and 20 mg dm⁻³ of Zn, without addition of Zn in the soil.

Keywords: Microorganisms. Nutrient content. Protein. Nutritional quality.

1. Introdução

O aumento na produção de alimentos tornou-se imperativo para atender à demanda de calorias, proteínas e minerais da população mundial (Ruel e Alderman, 2013; Welch et al., 2013), que pode chegar a 9,5 bilhões até 2050 (United Nations, 2019). Para atender essa demanda, expandiu-se a exploração agrícola para novas áreas agricultáveis, com impactos na produtividade e na qualidade nutricional das culturas, além do fato de consumidores passarem a exigir, mais recentemente, alimentos agrícolas livres de contaminações e de melhor qualidade nutricional (Roriz et al., 2020). A falta de acesso da população a alimentos com elevados teores de micronutrientes, como Fe, Zn e vitamina A contribuiu para aumentar a desnutrição humana (Miller e Welch, 2013; Bhandari e Banjara, 2015). A deficiência de micronutrientes ocorre principalmente na população de baixa renda, que geralmente consome alimentos com baixos teores nutricionais (Hussain et al., 2010; Black et al., 2013; Valença et al., 2017).

O Zn, por exemplo, se ingerido diariamente em quantidades insuficientes, causa problemas de saúde pública na população, contribuindo para o aumento de doenças infecciosas graves (Black et al., 2013). Devido à sua função no sistema imunológico, sua deficiência pode aumentar a suscetibilidade do ser humano a doenças (Gao et al., 2018). Estimativas de Wessells e Brown (2012) apontaram que, para 17 % da população mundial, a ingestão de Zn era insuficiente para suprir sua exigência nutricional, com essa situação predominando no Sul e Sudeste da Ásia, África Subsaariana e América Latina. Por sua vez, Alloway (2009) observou que grande parte da população deficiente em Zn estava localizada nos trópicos, onde predominam solos ácidos e com baixas concentrações de Zn, resultado do elevado intemperismo e lixiviação do nutriente e da pobreza do material de origem em Zn.

Mediante esse cenário, estratégias para diminuir a deficiência de micronutrientes na dieta alimentar têm sido propostas, como a inclusão de maior diversidade de alimentos, suplementação com micronutrientes, fortificação de alimentos e, mais recentemente, a biofortificação agrônômica (Ruel e Alderman, 2013; Clemens, 2014; Saltzman et al., 2017; Valença et al., 2017). Essa última estratégia tem como vantagens aumentar os teores de micronutrientes em culturas instaladas em solos deficientes (Saltzman et al., 2017) e, além disso, pode ser uma estratégia rápida para minimizar o problema da desnutrição desses elementos, principalmente, na população que vive na zona rural (Cakmak, 2008).

As pesquisas com biofortificação com Zn têm como foco diversas culturas, como as de mandioca, arroz, trigo, milho e feijão, com objetivo de aumentar os teores desse nutriente nas partes comestíveis por meio do manejo da adubação (Phattarakul et al., 2012; Cambraia et al., 2019; Corguinha et al., 2019; Martínez-Cuesta et al., 2020; Yaseen e Hussain, 2020). A importância da biofortificação do feijão está relacionada à sua grande utilização na alimentação humana, sendo fonte de proteínas, minerais e calorias, com elevado potencial de combater a desnutrição (Moura e Brito, 2015; Myers e Kmiecik, 2017). Nesse âmbito, pesquisas com biofortificação agrônômica visando ao manejo adequado para aumentar os teores de Zn nos grãos de feijão podem contribuir para que esse nutriente chegue à população por meio da dieta alimentar que inclua grãos dessa leguminosa.

Diversas estratégias têm sido pesquisadas para potencializar a biofortificação agrônômica, podendo-se destacar a utilização da fertilização mineral associada à inoculação com microrganismos, como bactérias e fungos. Os estudos têm mostrado que a inoculação com *Micorriza arbuscular* aumentou os teores de Fe em 5 % e de Zn em 16 % em grãos-de-bico, enquanto que com *Piriformospora indica* aumentou os teores de Zn em 44 % e de Mn em 34 %, em folhas de alface (Pellegrino e Bedini, 2014; Padash et al., 2016). Um estudo com a combinação da bactéria *Bacillus subtilis* e do fungo *M. arbusculares* resultou em aumento nos teores de Fe (62,5 e 37,4 %) e Zn (53 e 38 %) em grãos de duas cultivares de trigo (Yadav et al., 2020). O aumento da absorção de nutrientes em plantas colonizadas com fungos pode estar relacionado às alterações anatômica, morfológica e fisiológica nas raízes devido à colonização pelos fungos (Cavagnaro, 2008).

Esses resultados reforçam a importância de mais pesquisas com outros fungos que tenham potencial para serem utilizados junto à fertilização mineral, podendo, assim, atuarem para o aumento dos teores de micronutrientes absorvidos e acumulados nas plantas. Um dos microrganismos que se mostra promissor é o *Pochonia chlamydosporia*, o qual se associa às raízes, atuando no controle de nematoides (Escudero e Lopez-Llorca, 2012). Relatos em estudos mostraram sua ação no aumento na absorção de fósforo (P), nitrogênio (N), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) no tomateiro (Monteiro et al., 2018), além da solubilização de P, produção de ácido orgânicos e fosfatases (Gouveia et al., 2019).

Os resultados acima sugerem a possibilidade de atuação do fungo de forma similar quando aplicado simultaneamente com os micronutrientes, favorecendo a absorção dos

mesmos. Nesse caso, ele poderia ser usado em associação com a aplicação de Zn no solo para aumentar os teores do nutriente na planta e concomitantemente nos grãos, devido à produção de ácidos orgânicos (Gouveia et al., 2019), que reduz o pH do solo, aumentando a solubilidade do Zn em solução, bem como diminui a fixação do elemento no solo (Suganya et al., 2020). Além disso, o fungo induz o crescimento de raízes pela produção de auxina (Zavala-Gonzalez et al., 2015). Isso pode aumentar a absorção do Zn pelas plantas de feijoeiro, pois o Zn tem baixa mobilidade no solo e seu transporte até as raízes ocorre por difusão (Sadeghzadeh, 2013; Tran et al., 2019). Deve-se observar que, até momento, não existem, na literatura, relatos de estudos avaliando o fungo *P. chlamydosporia* como facilitador da absorção de nutrientes com foco em um maior acúmulo de nutrientes nas partes comestíveis das culturas.

O uso do *P. chlamydosporia* pode contribuir para facilitar a absorção dos nutrientes aplicados ao solo, melhorando a qualidade nutricional da planta de feijoeiro e aumentando os teores de Zn e de outros nutrientes nos grãos de feijão. A hipótese do presente estudo é de que a inoculação do feijoeiro com *P. chlamydosporia* irá facilitar a absorção de Zn e de outros nutrientes pelo feijoeiro, aumentando, assim, os teores de Zn nos grãos de feijão, com potencial para enriquecimento do grão com Zn. Assim sendo, o objetivo com este trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de sementes de feijão com o fungo *P. chlamydosporia* associada à aplicação de Zn via solo e via foliar, visando ao aumento do Zn e de outros nutrientes nos grãos.

2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido de novembro de 2019 a janeiro de 2020, em casa de vegetação da Universidade Federal de Viçosa, situada no município de Viçosa-MG, com coordenadas geográficas 20° 45' de latitude Sul e 42° 50' de longitude Oeste e altitude de 672 m (Alencar et al., 2011). Segundo a classificação climática de Köppen, o clima do município é temperado quente, com verão chuvoso e inverno frio e seco (Cwb), e com temperatura anual média de 20 °C (Lorenzon et al., 2013).

O experimento foi instalado em esquema fatorial 2 × 2 × 5 sem e com a inoculação do fungo *P. chlamydosporia* nas sementes de feijão (0 e 5 g kg⁻¹ de sementes); sem e com aplicação de Zn via solo (0 e 2,5 mg dm⁻³); com a aplicação de doses crescentes de Zn via foliar (0,0; 2,5; 5,0; 10,0 e 20 mg dm⁻³) e, em ambos os casos, a fonte de Zn aplicada foi o sulfato de zinco (ZnSO₄·7H₂O[®], 23 % de Zn). O delineamento foi em blocos

casualizados com quatro repetições, totalizando 20 tratamentos. A unidade experimental foi representada por um vaso de 5 dm⁻³, com duas plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivar BRSMG Madrepérola.

2.1 Preparo do solo para crescimento das plantas

O solo utilizado no experimento foi um Latossolo Vermelho-Amarelo, coletado na camada de 20 – 40 cm. Antes da calagem e da aplicação dos tratamentos, foi retirada uma amostra representativa desse solo, que foi peneirada em malha de 2 mm e caracterizada quimicamente de acordo com Teixeira et al. (2017) (Tabela 1). Com base na caracterização química, foi realizada a calagem para a correção da acidez pelo método de neutralização do Al³⁺ e elevação dos teores de Ca²⁺ e Mg²⁺ (Alvarez et al., 1999) utilizando-se CaCO₃ o MgCO₃, com incubação durante 30 d.

A adubação do solo foi feita de acordo com as recomendações para experimentos em casa de vegetação (Novais et al., 1991). Já a aplicação do Zn no solo foi realizada via solução nutritiva uma semana após a germinação das sementes. A aplicação de Zn via foliar foi realizada no estágio R8 (formação dos grãos) da cultura, com o auxílio de um spray manual com bico de pulverização tipo leque (pressão de 60 ibf pol⁻²). A solução de Zn foi aplicada no volume necessário para cobrir toda a parte aérea da planta, o qual foi definido previamente de modo a evitar o escorrimento da solução. O solo foi irrigado diariamente com água deionizada para manter um nível de umidade próximo a 90 % da capacidade de campo, tendo-se o cuidado de não molhar as folhas.

Tabela 1 – Resultado da análise química e física do Latossolo Vermelho-Amarelo realizada antes da calagem e da aplicação dos tratamentos

pH	pH	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	t	T	V	m
H ₂ O	KCl	mg dm ⁻³		----- cmol _c dm ⁻³ -----							---	% ---
4,44	4,2	0,5	7,0	0,24	0,09	0,77	2,66	0,35	1,12	2,95	11,9	68,8
MO	P-Rem	S	B	Cu	Mn	Fe	Zn					
dag kg ⁻¹	mg L ⁻¹	----- mg dm ⁻³ -----										
0,53	21,5	18,5	0,10	0,32	2,9	16,2	1,02					
Areia grossa	Areia fina	Silte	Argila	EU	Ds							
----- kg/kg -----				----- g cm ⁻³ -----								
0,217	0,169	0,142	0,472	0,27	1,09							

pH em H₂O, relação 1:2,5; pH em KCl 1,0 mol L⁻¹, relação 1:2,5; P, K, Cu, Mn, Fe e Zn (extrator Mehlich-1); Ca²⁺ e Mg²⁺ (extrator KCl 1,0 mol L⁻¹); Matéria orgânica (Walkley e Black); Fósforo remanescente

(extrator Mehlich-1); Al^{3+} = acidez trocável (extrator KCl 1,0 mol L⁻¹); H+Al= acidez potencial (extrator Ca(OAc)₂ 0,5 mol L⁻¹); SB= soma de bases (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺ e Na⁺); t= capacidade efetiva de troca de cátion (t= SB + Al³⁺); T= capacidade de troca de cátions (CTC pH 7= T= SB + (H+Al)); V= saturação por bases (V= 100 SB/T) e m= saturação por alumínio (m= 100 Al³⁺/t); EU= Equivalente de Umidade; Ds= Densidade do Solo.

2.2 Tratamento das sementes de feijão com o fungo *P. chlamydosporia*

As sementes de feijão foram inoculadas com o produto comercial Rizotec[®] (em pó), que tem como ingrediente ativo o fungo *P. chlamydosporia*, e para facilitar a aderência do microrganismo às sementes foi aplicado 100 mL kg⁻¹ de sementes de sacarose. O *P. chlamydosporia* usado neste estudo pertence à coleção de micologia do Laboratório de Controle de Fitonematóides da Universidade Federal de Viçosa.

2.3 Crescimento das plantas e análises do material vegetal

As plantas de feijão da cultivar BRSMG Madrepérola foram cultivadas durante 79 dias, duas plantas por vaso plástico de 5 dm³. Ao final do experimento, quando as plantas apresentavam folhas e vagens secas, foi realizada a colheita e contabilizado o número de vagens (NV) por planta, a partir do qual calculou-se a produtividade de grãos (PG), a massa de matéria seca de raiz (mMSR) por planta e o peso de cem grãos (PCG). Os grãos e raízes foram colocados em estufa de circulação forçada a 65 °C até atingirem massa constante e pesados para obtenção da massa de matéria seca. Em seguida, foi calculada a produtividade, corrigindo-se a umidade dos grãos para 12 % (ver metodologia).

Os grãos foram moídos em moinho tipo Willey em peneira de 20 *mesh* para a determinação dos teores de macro e micronutrientes. Os teores de N nos grãos foram determinados pelo método Kjeldahl após digestão sulfúrica. Os teores de P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn e Zn nos grãos foram determinados por espectrofotometria de emissão ótica acoplado ao plasma induzido (ICP-OES), após digestão nitroperclórica. Os teores de proteína bruta nos grãos foram determinados de forma indireta com base no N determinado pelo método Kjeldahl (N × 6,25) (Galvani e Gaetner, 2006).

2.4 Análise do solo após a condução do experimento

Os atributos químicos do solo foram determinados de acordo com Teixeira et al. (2017) posteriormente à condução do experimento com crescimento das plantas. As análises realizadas foram: determinação do pH em H₂O, na proporção de solo:H₂O igual a 1:2,5; teores disponíveis de P, K, Fe, Zn, Mn, e Cu por extração com Mehlich-1 e dosagem de P por espectrofotometria de absorção molecular, K por fotometria de chama, e Fe, Mn, Zn e Cu por espectrofotometria de absorção atômica. A análise de Ca e de Mg foi realizada por extração com KCl 1 mol L⁻¹ e dosagem por espectroscopia de absorção atômica. A acidez potencial (H+Al) foi extraída com solução de Ca(OAc)₂ 0,5 mol L⁻¹ tamponada a pH 7,0, titulando-se o extrato com NaOH 0,025 mol L⁻¹. A acidez trocável (Al³⁺) foi extraída com o KCl 1 mol L⁻¹ e determinada por titulação do extrato com NaOH 0,025 mol L⁻¹.

2.5 Mapeamento histoquímico do Zn nos grãos

O mapeamento microquímico do Zn nos grãos foi realizado utilizando-se o aparelho de fluorescência de raios X dispersiva em energia (EDXRF) (Markowicz et al., 2011). Foram analisados grãos produzidos nos tratamentos T1 (sem inoculação das sementes, sem adição de Zn ao solo e sem Zn foliar), T5 (sem inoculação das sementes, sem adição de Zn ao solo e com adição de 20 mg dm⁻³ de Zn foliar), T6 (sem inoculação das sementes, com adição de 2,5 mg dm⁻³ de Zn ao solo e sem Zn foliar), T10 (sem inoculação das sementes, com adição de 2,5 mg dm⁻³ de Zn ao solo e com adição de 20 mg dm⁻³ de Zn foliar), T11 (com inoculação das sementes e sem adição de Zn ao solo e sem Zn foliar), T15 (com inoculação das sementes, sem adição de Zn ao solo e com adição de 20 mg dm⁻³ de Zn foliar), T16 (com inoculação das sementes, com adição de 2,5 mg dm⁻³ de Zn ao solo e sem Zn foliar), T20 (com inoculação das sementes, com adição de 2,5 mg dm⁻³ de Zn ao solo e com adição de 20 mg dm⁻³ Zn foliar). Para efetuar as leituras e gerar os mapas microquímicos, os grãos de feijão foram cortados ao meio, separando-se os cotilédones com uma lâmina. As leituras foram feitas fixando-se o cotilédone, contendo o eixo embrionário, em uma placa de metal que foi levada ao aparelho para leitura (Cabraia et al., 2019).

2.6 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), em que as médias dos dados qualitativos foram comparadas pelo teste F até 5 % de probabilidade. As doses de Zn via foliar foram ajustadas por equação de regressão. As análises foram realizadas com o auxílio do programa SPEED-STAT-2.4 (Carvalho et al., 2020).

3 Resultados

As doses de Zn aplicadas via foliar e no solo, nos tratamentos com e sem inoculação das sementes de feijão com o *P. chlamydosporia*, influenciaram ($p \leq 0,05$) as variáveis analisadas, com exceção do Ca e do Cu no solo, assim como da acidez potencial (H + Al).

3.1 Efeitos dos tratamentos nas características químicas do solo

Houve interação entre os fatores inoculação e doses de Zn no solo. No tratamento em que as sementes foram inoculadas com o *P. chlamydosporia*, e mediante a adição de Zn ao solo, ocorreu uma redução da concentração média do P disponível de $79,38 \text{ mg dm}^{-3}$ para $69,77 \text{ mg dm}^{-3}$ (Tabela 2). Já no tratamento sem o inoculante, a adição de Zn ao solo não alterou a disponibilidade de P. Sem a adição de Zn ao solo, a disponibilidade de P no tratamento com a inoculação do fungo não se alterou em comparação ao tratamento sem inoculação. Por outro lado, quando houve aplicação de $2,5 \text{ mg dm}^{-3}$ Zn no solo, a inoculação reduziu a concentração média de P disponível de $82,71 \text{ mg dm}^{-3}$ para $69,77 \text{ mg dm}^{-3}$ (Tabela 2).

Tabela 2 – Teores disponíveis de P em solo que recebeu, ou não, adição de Zn uma semana após a germinação das sementes, e em solo cultivado com plantas originadas de sementes inoculadas, ou não, com *P. chlamydosporia*

P. chlamydosporia	Zn aplicado no solo	
	0,0	$2,5 \text{ mg dm}^{-3}$ (5 kg ha^{-1})
	----- P no solo (mg dm^{-3}) -----	
Com	79,38 aA	69,77 bB
Sem	80,60 aA	82,71 aA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste F a 5 % de significância.

O pH do solo diminuiu de 6,11 para 6,03 quando se compara o tratamento em que as sementes foram inoculadas com *P. chlamydosporia* com o que não houve inoculação (Tabela 3). A disponibilidade de K, Fe e Mn no solo diminuiu, em termos relativos, em 6,5, 9,7 e 10,0 %, respectivamente, no tratamento em que houve inoculação em comparação ao tratamento em que as plantas cresceram de semente que não recebeu o fungo (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores médios de pH e teores disponíveis de K, Fe, e Mn, em solo onde foram cultivadas plantas originadas de sementes inoculadas ou não com *P. chlamydosporia*

Microrganismo	pH	K	Fe	Mn
		----- mg dm ⁻³ -----		
Com	6,03 b	37,87 b	101,80 b	7,47 b
Sem	6,11 a	40,49 a	112,80 a	8,30 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste F a 5 % de significância.

No tratamento sem aplicação foliar de Zn, os valores médios de pH do solo foram reduzidos para 6,23 no tratamento com a adição de 2,5 mg dm⁻³ de Zn no solo, e para 6,01 no tratamento sem a adição Zn ao solo (Tabela 4). Com a aplicação do Zn foliar, em todas as doses aplicadas não houve diferença entre os valores de pH do solo para os tratamentos com ou sem aplicação de Zn ao solo. Todavia, houve decréscimo linear do pH do solo em resposta às doses crescentes de Zn aplicadas via foliar quando o solo recebeu 2,5 mg dm⁻³ Zn. Esse decréscimo de pH foi de um valor de aproximadamente 6,17, sem aplicação de Zn foliar, para um valor de aproximadamente 5,96, com a aplicação da maior dose de Zn foliar (Figura 1). Sem a adição de Zn ao solo, o pH se manteve uniforme com o aumento da dose de Zn aplicado via foliar (Figura 1).

Tabela 4 – Valores médios de pH em solo que recebeu, ou não, adição de Zn uma semana após a germinação das sementes, e em função da aplicação de doses foliares de Zn no estágio R8 da cultura

Zn adicionado ao solo (mg dm ⁻³)	Doses de Zn via foliar (mg dm ⁻³)				
	0	2,5	5,0	10,0	20,0
	----- pH -----				
0,0	6,01 b	6,10 a	6,05 a	6,00 a	6,07 a
2,5	6,23 a	6,08 a	6,11 a	6,07 a	5,97 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste F a 5 % de significância.

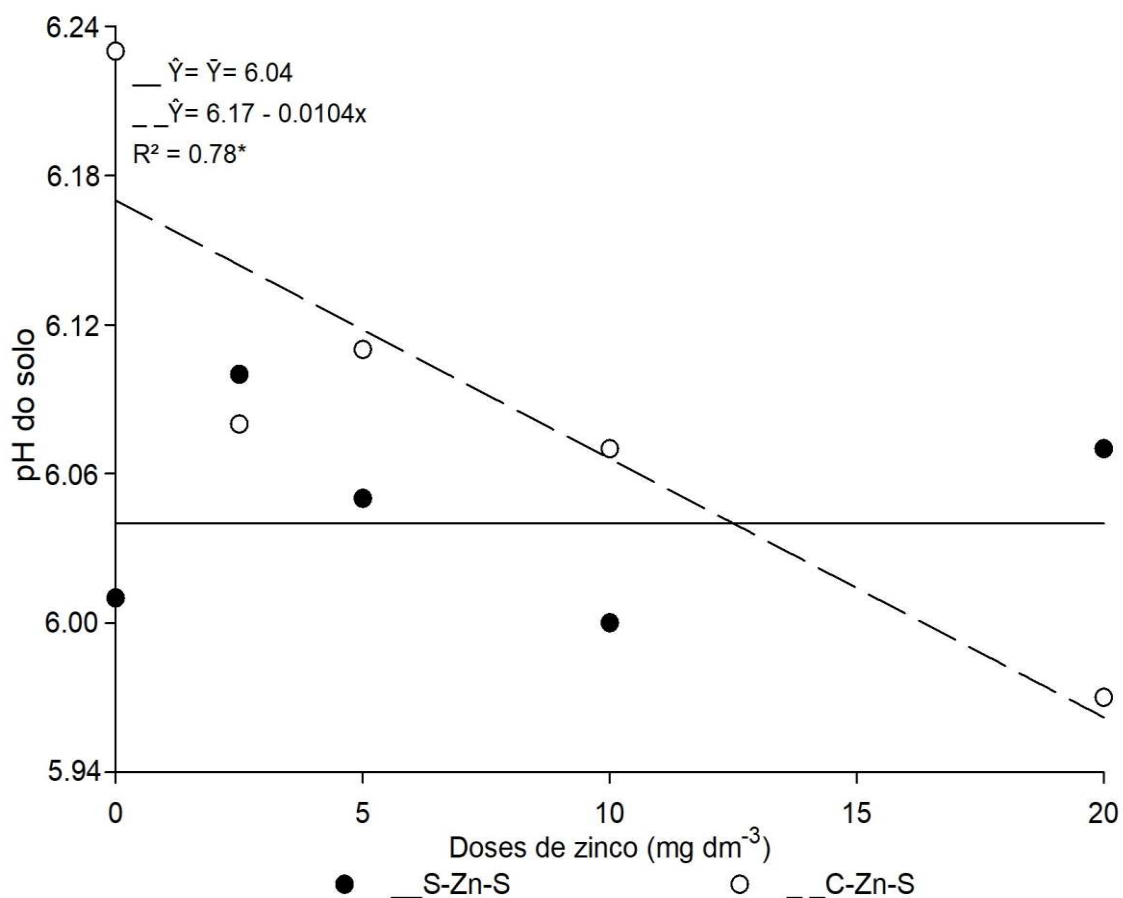


Figura 1 – Valores médios de pH do solo, em solo que recebeu, ou não, adição de Zn uma semana após a germinação das sementes, em função da aplicação de doses foliares de Zn no estágio R8 da cultura. Com adição de Zn (C-Zn-S) e sem adição de Zn (S-Zn-S).

A aplicação de $2,5 \text{ mg dm}^{-3}$ de Zn no solo reduziu a concentração de K disponível em 7,8 % quando se compara ao solo sem aplicação de Zn (Tabela 5). Por outro lado, as concentrações de Zn e Mg disponíveis aumentaram em 71,8 e 7,6 % quando se aplicou Zn ao solo (Tabela 5). A concentração de Zn no solo cresceu linearmente em resposta à aplicação de doses crescentes de Zn via foliar, com um incremento de aproximadamente 115 % na concentração de Zn disponível no solo, quando se compara a dose de 20 mg dm^{-3} foliar com a dose zero de Zn foliar (Figura 2).

Tabela 5 – Médias dos teores disponíveis de K, Zn e Mg em solo que recebeu, ou não, adição de Zn uma semana após a germinação das sementes

Zn no solo (mg dm ⁻³)	K	Zn	Mg
	----- mg dm ⁻³ -----		----- cmol _c dm ⁻³ -----
0,0	40,78 a	2,45 b	0,13 b
2,5	37,58 b	4,21 a	0,14 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste F a 5 % de significância.

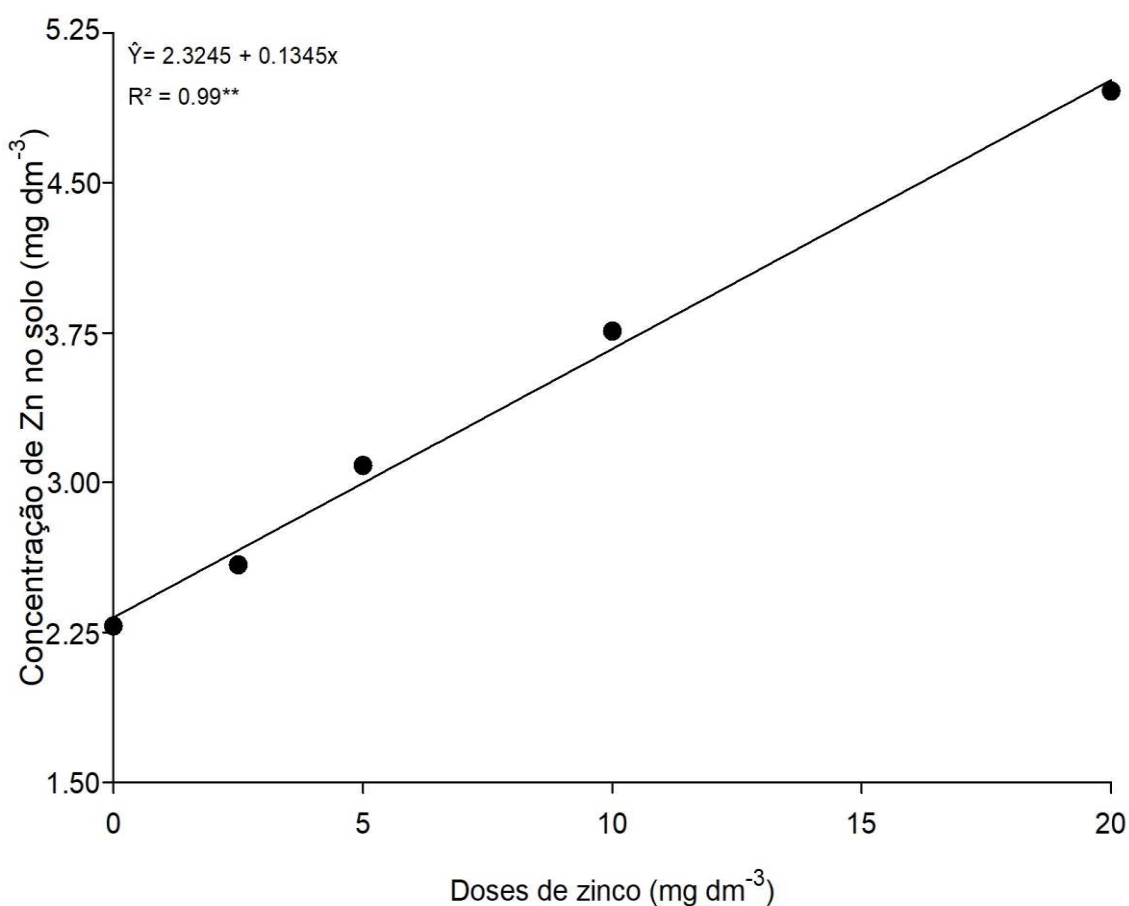


Figura 2 – Teores de Zn disponíveis no solo após o cultivo de plantas de feijoeiro com a aplicação de doses foliares de Zn às plantas no estágio R8 da cultura.

3.2 Efeitos dos tratamentos nas características agrônômicas das plantas de feijão

Foram observados efeitos significativos da interação microrganismos × níveis de Zn aplicado no solo × doses de Zn aplicadas via foliar, sobre o número de vagens (NV), produtividade de grãos (PG) e massa de matéria seca das raízes (*mMSR*) do feijoeiro.

Nos tratamentos sem suprimento de Zn via solo ou foliar e com a inoculação das sementes com o *P. chlamydosporia*, o NV médio foi 9,13 vagens por planta, o que representa um aumento em comparação ao tratamento sem inoculação das sementes que teve NV igual a 7,25 vagens por planta (Tabela 6). Por outro lado, sem a inoculação das

sementes e sem adição de Zn ao solo, a aplicação via foliar das doses 5 e 20 mg dm⁻³ Zn proporcionou médias do NV iguais a 10,63 e 8,75 vagens por planta, respectivamente, valores esses que diminuíram para 7,13 e 5,88 vagens por planta, respectivamente, quando se fez a inoculação das sementes com o fungo *P. chlamydosporia* (Tabela 6).

Sem suprimento de Zn via solo, sem aplicação foliar e sem inoculação das sementes, o NV médio foi 7,25 vagens vaso⁻¹ e 7,13 vagens por planta, com 5 mg dm⁻³ Zn foliar e com inoculação. Com o suprimento de Zn via solo, sem aplicação de Zn foliar e sem inoculação, o NV aumentou para 9,88, ao passo em que, com a aplicação da dose foliar de 5 mg dm⁻³ Zn e com a inoculação das sementes, a produção aumentou para 9,00 vagens por planta (Tabela 6). Também sem Zn via solo, sem inoculação das sementes e com as doses 5 e 20 mg dm⁻³ Zn via foliar, as médias do NV foram 10,63 e 8,75 vagens por vaso, valores estes que diminuíram para 7,75 e 6,50 vagens por planta, respectivamente, quando se aplicou 2,5 mg dm⁻³ de Zn no solo.

Tabela 6 – Desdobramento da resposta da planta (expressa em número de vagem, produtividade de grãos e massa de matéria seca de raiz) à inoculação das sementes do feijoeiro com o microrganismo, à aplicação, ou não, de Zn ao solo, e à aplicação de doses foliares de Zn no estágio R8 da cultura

Microrganismo	2,5 mg dm ⁻³ de Zn adicionado ao solo					0,0 mg dm ⁻³ de Zn no solo				
	Doses de Zn via foliar (mg dm ⁻³)					Doses de Zn via foliar (mg dm ⁻³)				
	0,0	2,5	5,0	10,0	20,0	0,0	2,5	5,0	10,0	20,0
	----- Número de vagens por planta -----									
Sem	9,88 aA	10,38 aA	7,75 aB	9,13 aA	6,50 aB	7,25 bB	9,38 aA	10,63 aA	8,25 aA	8,75 aA
Com	10,63 aA	9,00 aA	9,00 aA	7,88 aA	6,75 aA	9,13 aA	10,25 aA	7,13 bB	7,75 aA	5,88 bA
	----- Produtividade de grãos (g/planta) -----									
Sem	14,15 aA	16,18 aA	8,57 bB	13,64 aA	7,69 aA	9,46 aB	11,70 aB	12,19 aA	10,11 aB	7,97 aA
Com	13,91 aA	10,54 bA	13,71 aA	11,28 aA	10,49 aA	9,79 aB	10,86 aA	7,87 bB	9,59 aA	6,54 aB
	----- Massa de matéria seca de raiz (g/planta) -----									
Sem	4,88 aA	5,48 aA	6,45 aA	3,99 bA	5,21 aA	5,40 aA	4,80 aA	5,21 aA	4,83 aA	5,19 aA
Com	4,87 aA	5,41 aA	6,44 aA	7,36 aA	3,86 aB	4,70 aA	4,73 aA	5,68 aA	5,60 aB	6,15 aA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste F a 5 % de significância.

A PG no tratamento sem a inoculação das sementes e com aplicação de Zn no solo na dose 5 mg dm^{-3} de Zn aplicado via foliar foi de 8,57 g por planta e tendo aumentado para 13,71 g por planta no tratamento com a inoculação (Tabela 6). Já no tratamento com a inoculação das sementes e com Zn no solo, na dose $2,5 \text{ mg dm}^{-3}$ de Zn aplicado via foliar, bem como no mesmo tratamento, porém, sem aplicação Zn no solo e na dose 5 mg dm^{-3} de Zn foliar, os valores médios de PG foram de 10,54 e 7,87 g por planta, enquanto nos mesmos tratamentos sem a inoculação, os valores médios de PG aumentaram para 16,18 e 12,19 g por planta. Nos tratamentos sem aplicação de Zn no solo, com a inoculação das sementes e nas doses zero, 5,0 e $20,0 \text{ mg dm}^{-3}$ de Zn aplicado via foliar, os valores médios de PG foram 9,79, 7,87, 6,54 g por planta, e aumentaram para 13,91, 13,71, 10,49 g por planta com aplicação de Zn no solo (Tabela 6).

Um comportamento semelhante ocorreu nos tratamentos sem Zn no solo e sem a inoculação nas doses zero, 2,5 e 10 mg dm^{-3} de Zn aplicadas via foliar, os quais apresentaram médias de PG de 9,46, 11,70 e 10,11 g por planta e aumentaram para 14,15, 16,18 e 13,64 g por planta nos tratamentos com aplicação de Zn no solo. Por outro lado, no tratamento sem Zn no solo, sem inoculação das sementes e na dose 5 mg dm^{-3} de Zn aplicado via foliar, a PG foi de 12,19 g por planta e reduziu para 8,57 g por planta no tratamento com Zn no solo (Tabela 6).

A redução nos componentes de produtividade do feijoeiro pode estar relacionada à ocorrência de fitotoxidez, verificada a partir da dose 5 mg dm^{-3} de Zn via foliar (Figura 3).

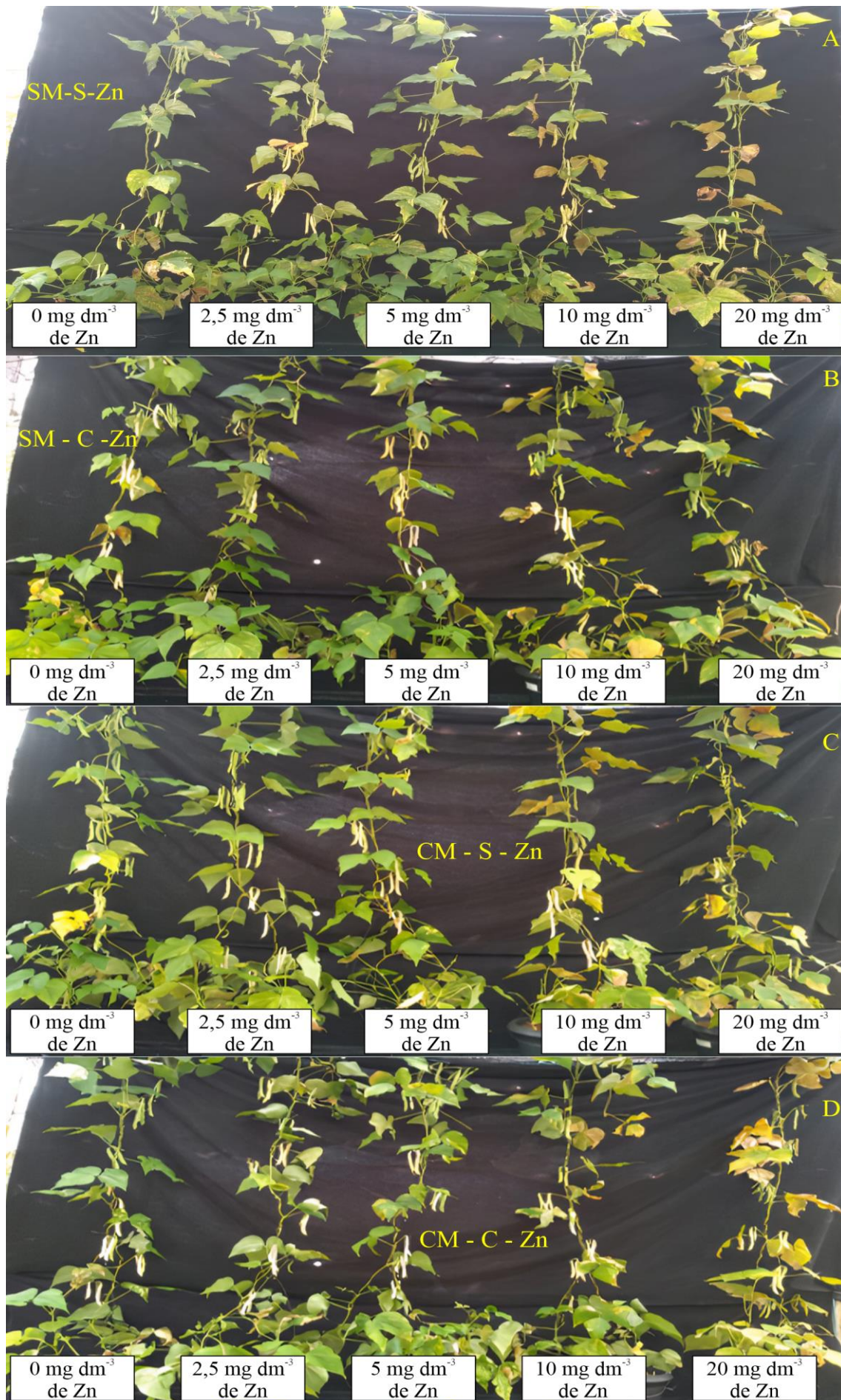


Figura 3 – Plantas que receberam doses crescentes de Zn, em função da aplicação de Zn via foliar, da inoculação, ou não, das sementes com *P. chlamydosporia*, e da aplicação, ou não, de Zn ao solo. SM-S-Zn (a), SM-C-Zn (b), CM-S-Zn (c) e CM-C-Zn.

SM-S-Zn = sem inoculação das sementes e sem adição de Zn ao solo; SM-C-Zn = sem inoculação das sementes e com adição de 2,5 mg dm⁻³ de Zn ao solo; CM-S-Zn = com inoculação das sementes e sem adição de Zn ao solo; CM-C-Zn = com inoculação das sementes e com adição de 2,5 mg dm⁻³ de Zn ao solo.

Para a *mMSR*, observou-se que, na ausência da inoculação e com a aplicação de Zn no solo na dose 10 mg dm⁻³ de Zn aplicado via foliar, a *mMSR* foi de 3,99 g por planta e aumentou para 7,36 g por planta no tratamento com a inoculação (Tabela 6). Observou-se no tratamento sem aplicação de Zn no solo, com a inoculação das sementes e na dose 10 mg dm⁻³ de Zn aplicado via foliar, que a *mMSR* média foi de 5,60 g por planta e que no tratamento com Zn no solo houve aumento para 7,36 g por planta. Por outro lado, no tratamento sem Zn no solo e com a inoculação na dose 20 mg dm⁻³ de Zn foliar, a média de *mMSR* foi de 6,15 g por planta e reduziu para 3,86 g no vaso cujo tratamento se deu com a aplicação de Zn no solo (Tabela 6).

Analisando o desdobramento das doses de Zn aplicadas via foliar dentro dos níveis de microrganismo e aplicação de Zn no solo, observou-se uma redução linear para o NV nos tratamentos com a inoculação das sementes e aplicação de Zn no solo, com decréscimo de aproximadamente 50,0 % na maior dose de Zn via foliar (Figura 4A). Porém, nos tratamentos com a inoculação e sem a aplicação de Zn no solo, bem como nos tratamentos sem a inoculação, com e sem aplicação de Zn no solo, os dados não se ajustaram a nenhum modelo testado (Figura 4A).

Para a PG, as doses de Zn foliar no tratamento com a inoculação e sem a aplicação de Zn no solo promoveram redução linear, com decréscimo de aproximadamente 48,0 % entre a maior e a menor dose de Zn aplicada via foliar. Por outro lado, sem a inoculação e sem a aplicação de Zn no solo, a PG aumentou até a dose máxima estimada de 6,96 mg dm⁻³ de Zn aplicada via foliar, com incremento de 9,8 %, em relação à dose zero. Já os tratamentos com aplicação das doses de Zn via foliar, com a inoculação e com aplicação de Zn no solo, e sem a inoculação e com aplicação de Zn no solo, não se ajustaram aos modelos testados (Figura 4B). Para *mMSR*, as doses de Zn foliar, com a inoculação e com aplicação de Zn no solo proporcionaram aumento da *mMSR* até a dose máxima estimada de 9,36 mg dm⁻³ de Zn foliar com incremento de 51,0 %, em relação a dose zero (Figura 4C).

Entretanto, nos tratamentos com a inoculação das sementes com microrganismos e sem aplicação de Zn no solo, a maior dose de Zn foliar proporcionou um aumento de 29,4 % na *mMSR* em relação à dose zero foliar. Porém, as doses de Zn foliar sem a inoculação, com e sem aplicação de Zn no solo, não se ajustaram a nenhum modelo testado (Figura 4C).

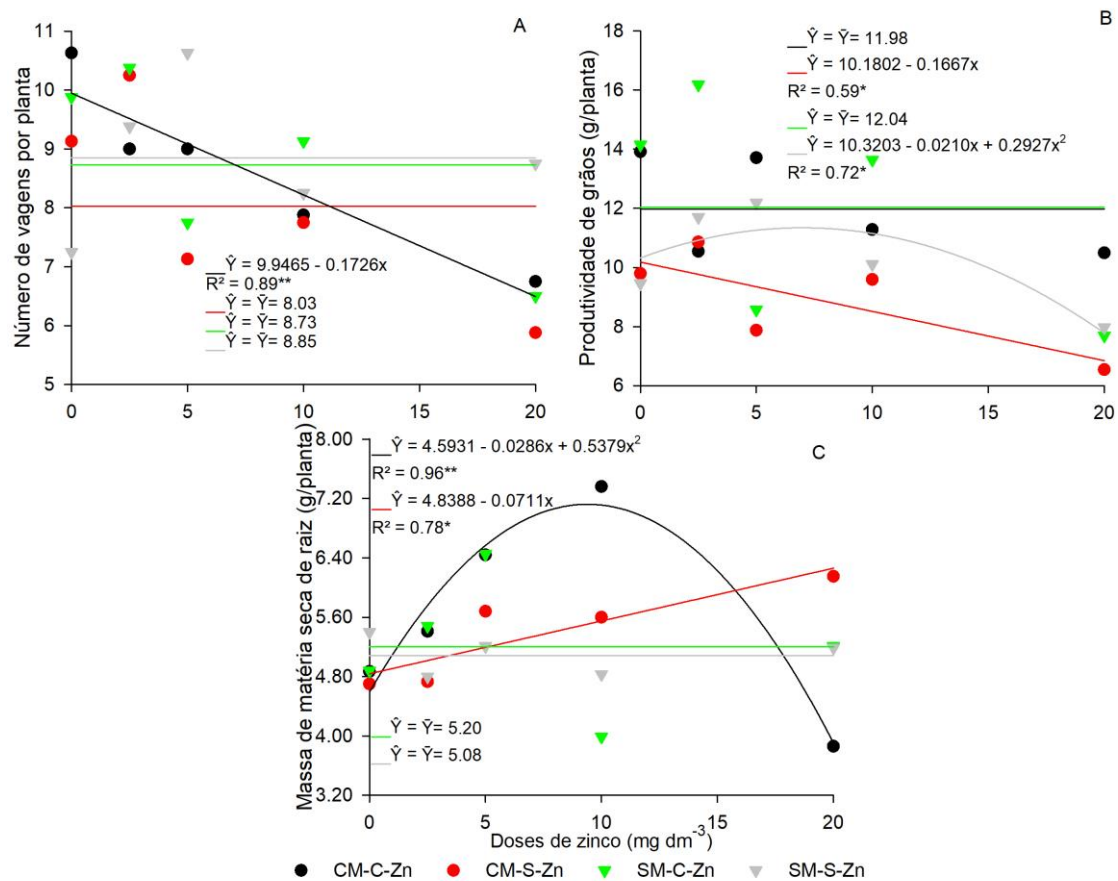


Figura 4 – Número de vagens (A), produtividade de grãos (B) e massa de matéria seca de raiz (C), em função de doses de Zn aplicadas via foliar, em plantas de feijoeiro oriundas de sementes inoculadas, ou não, com *P. chlamydosporia* e com aplicação, ou não, de Zn ao solo.

SM-S-Zn = sem inoculação das sementes e sem adição de Zn ao solo; SM-C-Zn = sem inoculação das sementes e com adição de 2,5 mg dm⁻³ de Zn ao solo; CM-S-Zn = com inoculação das sementes e sem adição de Zn ao solo; CM-C-Zn = com inoculação das sementes e com adição de 2,5 mg dm⁻³ de Zn ao solo.

A aplicação de doses crescentes de Zn via foliar afetou o PCG, promovendo uma redução de 11,6 % entre a maior e a menor dose de Zn aplicada via foliar (Figura 5).

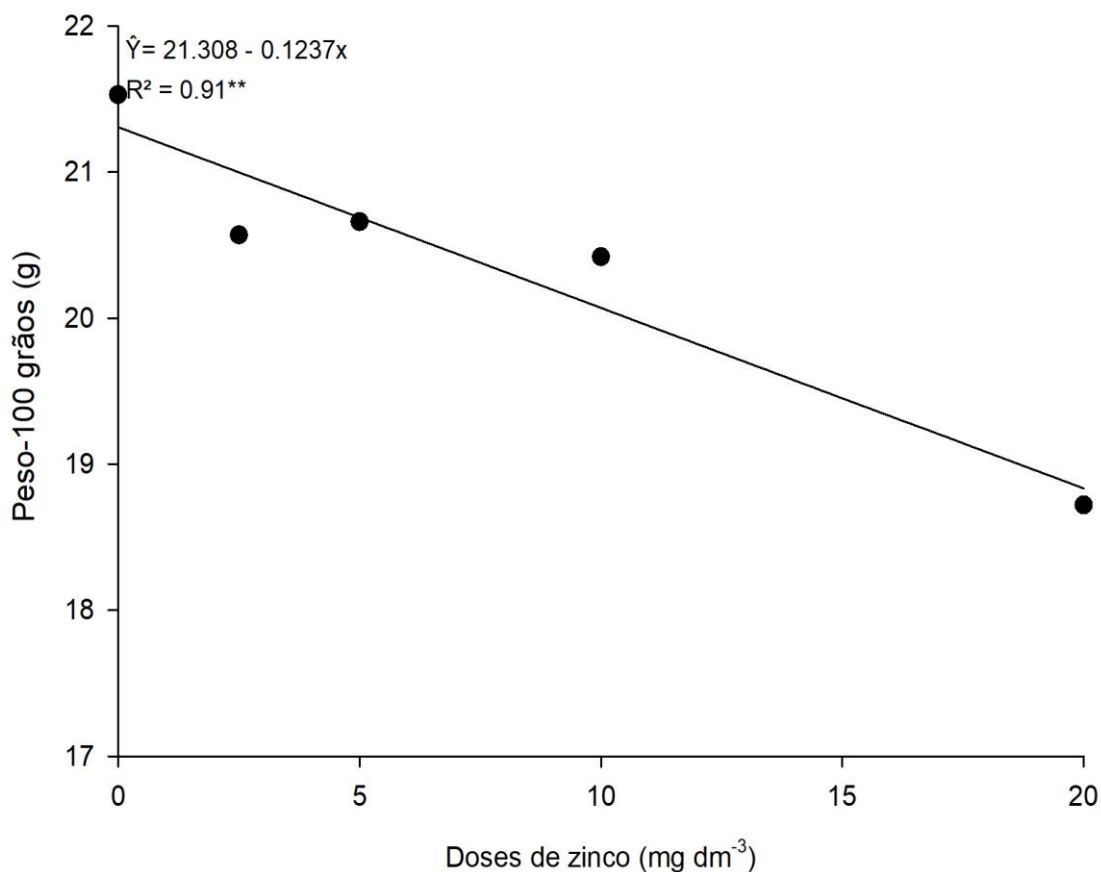


Figura 5 – Peso de cem grãos de feijão em função da aplicação de doses de Zn via foliar, no estágio R8 da cultura

3.3 Efeitos dos tratamentos nas características químicas dos grãos de feijão

A interação inoculação das sementes com microrganismos × níveis de Zn no solo × Zn foliar exerceu efeitos sobre os teores de K, Fe e Mn nos grãos de feijão (Tabela 7). Nos tratamentos sem a inoculação das sementes com microrganismos, com aplicação de Zn no solo e nas doses zero e 10 mg dm⁻³ de Zn foliar, bem como nos tratamentos sem aplicação de Zn no solo nas doses zero e 2,5 mg dm⁻³ de Zn foliar, os teores de K nos grãos de feijão foram de 7,46, 7,35, 8,76 e 8,97 g kg⁻¹ e aumentaram nos tratamentos com a inoculação para 10,82, 10,75, 10,45 e 10,91 g kg⁻¹. Já nos tratamentos sem a aplicação de Zn no solo e sem a inoculação nas doses 5 e 10 mg dm⁻³ de Zn foliar, os teores médios de K nos grãos foram de 10,58 e 10,23 g kg⁻¹ e reduziram para 8,96 e 7,35 g kg⁻¹ nos tratamentos com aplicação de Zn no solo.

Os teores de Fe nos grãos, nos tratamentos sem a inoculação e com a aplicação de Zn no solo e na dose 10 mg dm⁻³ de Zn foliar, e sem aplicação de Zn no solo, nas doses

zero e 2,5 mg dm⁻³ de Zn foliar, foram de 52,08, 67,61 e 77,49 mg kg⁻¹, enquanto que, para os tratamentos com a inoculação, os teores de Fe aumentaram para 68,87, 97,65 e 94,08 mg kg⁻¹. Por outro lado, no tratamento sem a inoculação, sem aplicação de Zn no solo e na dose 5 mg dm⁻³ de Zn foliar, o teor de Fe nos grãos foi de 98,70 mg kg⁻¹ e reduziu para 79,33 mg kg⁻¹ no tratamento com a inoculação. Nesse âmbito, observou-se nos tratamentos com aplicação de Zn no solo, e com a inoculação em todas as doses de Zn foliar, que as médias dos teores de Fe nos grãos foram inferiores quando comparadas às médias dos tratamentos sem aplicação de Zn no solo. Os tratamentos com aplicação de Zn no solo e sem inoculação nas doses 5, 10 e 20 mg dm⁻³ de Zn foliar também apresentaram médias inferiores nos teores de Fe quando comparados aos tratamentos sem aplicação de Zn no solo.

O teor de Mn do tratamento sem a inoculação e sem aplicação de Zn no solo, na dose zero mg dm⁻³ de Zn foliar, foi de 14,23 mg kg⁻¹ e aumentou para 23,09 mg kg⁻¹ no tratamento com a inoculação. Já no tratamento sem aplicação de Zn no solo e com a inoculação de microrganismo, na dose zero mg dm⁻³ de Zn foliar, o teor de Mn nos grãos foi de 23,09 mg kg⁻¹ e reduziu para 13,91 mg kg⁻¹ no tratamento com Zn no solo.

Tabela 7 – Desdobramento dos teores de K, Fe e Mn em grãos de feijão em resposta à inoculação das sementes do feijoeiro com o microrganismo, à aplicação ou não de Zn ao solo e à aplicação de doses foliares de Zn no estágio R8 da cultura

Microrganismo	2,5 mg dm ⁻³ de Zn adicionado ao solo					0,0 mg dm ⁻³ de Zn no solo				
	Doses de Zn via foliar (mg dm ⁻³)					Doses de Zn via foliar (mg dm ⁻³)				
	0,0	2,5	5,0	10,0	20,0	0,0	2,5	5,0	10,0	20,0
	----- Teor de K (g kg ⁻¹) -----									
Sem	7,46 bA	8,58 aA	8,96 aB	7,35 bB	10,17 aA	8,76 bA	8,97 bA	10,58 aA	10,23 aA	11,04 aA
Com	10,82 aA	9,61 aA	9,20 aA	10,75 aA	10,04 aA	10,45 aA	10,91 aA	9,62 aA	9,71 aA	11,18 aA
	----- Teor de Fe (mg kg ⁻¹) -----									
Sem	62,52 aA	66,35 aA	70,71 aB	52,08 bB	73,73 aB	67,61 bA	77,49 bA	98,70 aA	98,10 aA	92,34 aA
Com	55,52 aB	66,37 aB	60,29 aB	68,87 aB	76,11 aB	97,65 aA	94,08 aA	79,33 bA	85,78 aA	96,44 aA
	----- Teor de Mn (mg kg ⁻¹) -----									
Sem	16,02 aA	18,89 aA	18,17 aA	16,51 aA	18,18 aA	14,23 bA	18,17 aA	20,79 aA	18,31 aA	19,18 aA
Com	13,91 aB	16,45 aA	20,42 aA	20,40 aA	17,09 aA	23,09 aA	19,61 aA	20,38 aA	18,11 aA	17,72 aA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste F a 5 % de significância.

Para o desdobramento das doses de Zn aplicadas via foliar dentro dos níveis de microrganismos e Zn aplicado no solo, observou-se que, para as doses de Zn aplicadas via foliar sem a inoculação das sementes com microrganismos e sem aplicação de Zn no solo, os teores de K nos grãos ajustaram-se ao modelo Mitscherlich, apresentando, portanto, teor máximo de $11,06 \text{ g kg}^{-1}$ de K, que corresponde a um incremento de 27,6 % em relação à dose zero de Zn foliar. No entanto, nos tratamentos em que as sementes foram inoculadas com e sem aplicação de Zn no solo, e nos tratamentos sem a inoculação e com aplicação de Zn no solo, não houve ajuste para nenhum dos modelos testados (Figura 6A).

Para os teores de Fe nos grãos, observou-se que, nos tratamentos com a inoculação e com aplicação de Zn no solo, as doses de Zn aplicadas via foliar promoveram um incremento linear de 30,6 % da menor para a maior dose de Zn foliar (Figura 6B). Entretanto, sem a inoculação e sem aplicação de Zn no solo, as doses de Zn aplicadas via foliar proporcionaram um aumento no teor de Fe nos grãos até a dose de máxima eficiência física de $12,61 \text{ mg dm}^{-3}$ de Zn foliar, com incremento de 52,3 %, quando comparado à dose zero de Zn foliar. Porém, as doses de Zn aplicadas via foliar, nos tratamentos com a inoculação e sem aplicação de Zn no solo, bem como nos tratamentos sem a inoculação e sem aplicação de Zn no solo, não se ajustaram a nenhum modelo testado (Figura 6B).

Para os teores de Mn nos grãos, as doses de Zn foliar nos tratamentos com a inoculação e com aplicação de Zn no solo, e nos tratamentos sem inoculação e sem aplicação de Zn no solo, se ajustaram aos modelos quadráticos e raiz quadrática, com doses de máxima eficiência de 11,29 e $9,81 \text{ mg dm}^{-3}$ de Zn foliar, e com incrementos de 51,0 e 37,7 %, respectivamente, em relação à dose zero de Zn foliar (Figura 6C). No entanto, as doses de Zn foliar, com a inoculação e sem aplicação de Zn no solo, e sem a inoculação e com aplicação de Zn no solo, não se ajustaram a nenhum modelo testado (Figura 6C).

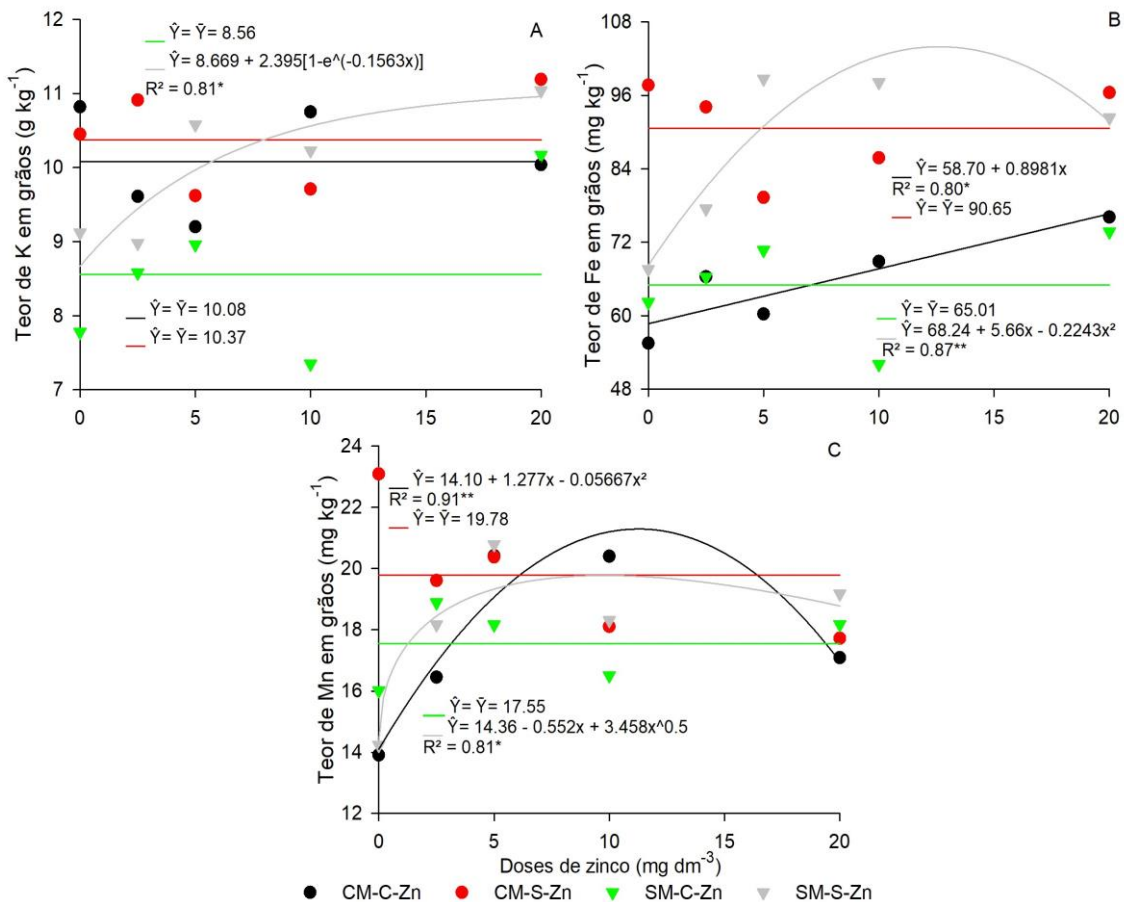


Figura 6 – Teores de K (A), Fe (B) e Mn (C) em grãos de feijão em função da aplicação de Zn via foliar, da inoculação, ou não, das sementes com *P. chlamydosporia*, e da aplicação, ou não, de Zn ao solo.

SM-S-Zn = sem inoculação das sementes e sem adição de Zn ao solo; SM-C-Zn = sem inoculação das sementes e com adição de 2,5 mg dm⁻³ de Zn ao solo; CM-S-Zn = com inoculação das sementes e sem adição de Zn ao solo; CM-C-Zn = com inoculação das sementes e com adição de 2,5 mg dm⁻³ de Zn ao solo.

A interação entre a inoculação das sementes com microrganismos × aplicação de Zn no solo influenciou os teores de S nos grãos (Tabela 8). Na ausência da inoculação e sem a aplicação de Zn no solo, o teor médio de S nos grãos foi de 7,37 g kg⁻¹ e reduziu para 6,12 g kg⁻¹ sem a inoculação e com aplicação de Zn no solo. Na ausência da aplicação de Zn no solo, com e sem a inoculação das sementes, não houve diferença entre as médias dos teores de S nos grãos. Já a aplicação de Zn no solo e com a inoculação o teor médio de S nos grãos foi de 6,97 g kg⁻¹ e reduziu para 6,12 g kg⁻¹ com aplicação de Zn no solo e sem a inoculação (Tabela 8).

Tabela 8 – Teores de S nos grãos de feijão de plantas originadas de sementes inoculadas, ou não, com *P. chlamydosporia*, cultivadas em solo que recebeu, ou não, adição de Zn uma semana após a germinação das sementes

<i>P. chlamydosporia</i>	Zn no solo (mg dm ⁻³)	
	0,0	2,5
	----- S nos grãos (g kg ⁻¹) -----	
Com	7,27 aA	6,97 aA
Sem	7,37 aA	6,12 bB

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste F a 5 % de significância.

Os teores de S nos grãos também foram influenciados pela interação entre a inoculação de sementes com microrganismos dentro das doses de Zn aplicadas via foliar (Tabela 9). Observou-se que, na presença da inoculação e nas doses zero e 10 mg dm⁻³ de Zn via foliar, os teores médios de S nos grãos foram de 7,28 e 7,31 mg kg⁻¹ e que reduziram na ausência da inoculação para 5,75 e 6,50 mg kg⁻¹, respectivamente (Tabela 9). Analisando o desdobramento das doses de Zn via foliar, dentro dos níveis de microrganismos, com a inoculação, observou-se uma redução quadrática até o ponto de inflexão estimado 6,21 mg dm⁻³ de Zn foliar, para os teores de S nos grãos. Porém, não houve ajuste para nenhum modelo testado, sem a inoculação nas doses de Zn via foliar (Figura 7).

Tabela 9 – Teores de S nos grãos de feijão colhidos de plantas originadas de sementes inoculadas, ou não, com *P. chlamydosporia*, e que receberam doses foliares de Zn no estágio R8 da cultura

<i>P. chlamydosporia</i>	Doses de Zn via foliar (mg dm ⁻³)				
	0,0	2,5	5,0	10,0	20,0
	----- S nos grãos (g kg ⁻¹) -----				
Com	7,28 a	6,85 a	6,38 a	7,31 a	7,77 a
Sem	5,75 b	6,82 a	6,97 a	6,50 b	7,66 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste F a 5 % de significância.

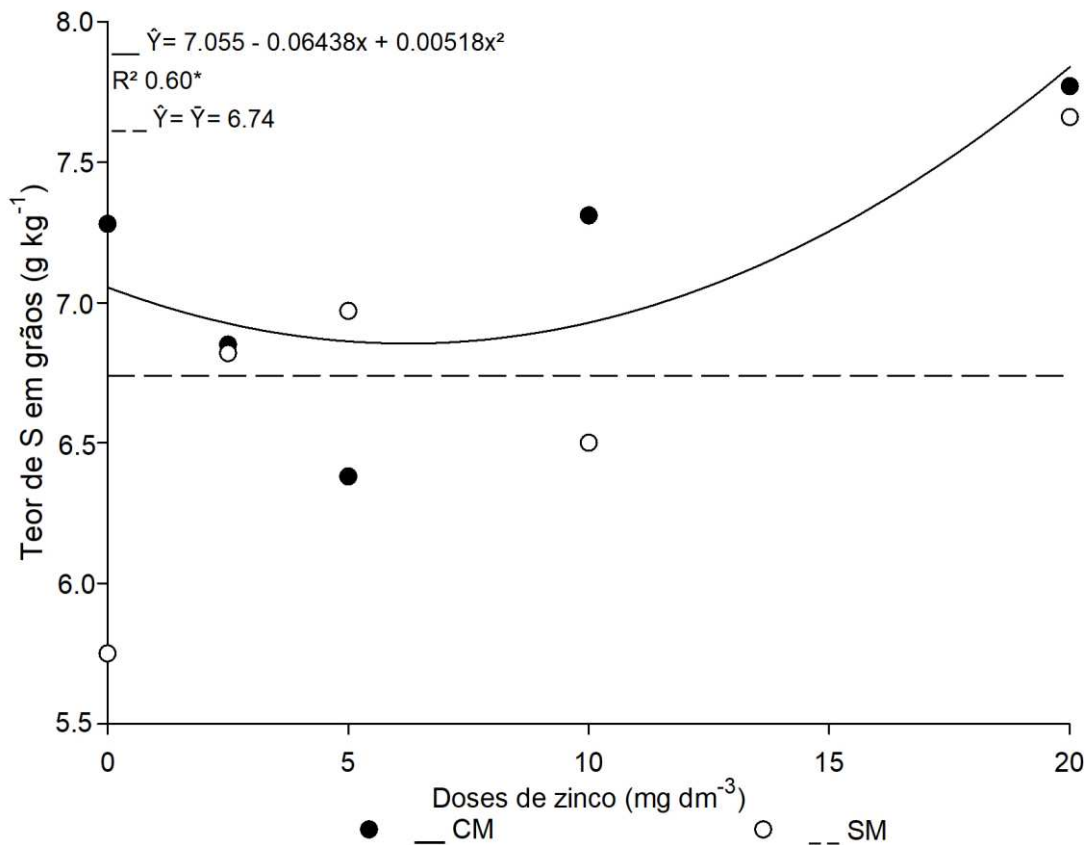


Figura 7 – Teores de S nos grãos de feijão colhidos de plantas originadas de sementes inoculadas (_CM), ou não (_SM), com *P. chlamydosporia*, em função da aplicação de doses de Zn via foliar no estágio R8 da cultura.

Verificou-se que a inoculação de microrganismos não influenciou nos teores de Zn nos grãos de feijão, porém, aumentou os teores de N e de proteína em 4,7 %, em relação ao tratamento sem a inoculação. Por outro lado, reduziu o PCG em 5,6 % (Tabela 10).

Tabela 10 – Teores de Zn, N e de proteínas em grãos e peso de cem grãos (PCG) nos grãos de feijão colhidos de plantas originadas de sementes inoculadas, ou não, com *P. chlamydosporia*

<i>P. chlamydosporia</i>	Zn	N	Proteína	PCG
	--- mg kg ⁻¹ ---	----- g kg ⁻¹ -----	----- g -----	---
Com	44,72 a	38,72 a	242,03 a	19,79 b
Sem	45,54 a	36,99 b	231,18 b	20,97 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste F a 5 % de significância.

Ao avaliar a aplicação de Zn no solo dentro das doses de Zn aplicadas via foliar, observou-se que na aplicação de Zn no solo, sem aplicação de Zn foliar, houve diferença entre as médias no teor de Zn nos grãos, apresentando incremento de 112 %, em relação ao tratamento sem aplicação de Zn no solo. Por outro lado, foi observado que na aplicação de Zn no solo, nas

doses 10 e 20 mg dm⁻³ de Zn foliar, os teores de Zn nos grãos reduziram 17 e 14 % em relação às médias sem aplicação de Zn no solo (Tabela 11). Observou-se, também, que as doses de Zn via foliar, com e sem aplicação de Zn no solo, aumentaram os teores de Zn nos grãos até as doses de máxima eficiência física de 14,63 e 14,48 mg dm⁻³ de Zn via foliar, com incrementos de 344,9 e 128,0 % nos teores de Zn nos grãos em relação à dose zero de Zn foliar (Figura 8).

Tabela 11 – Teores de Zn nos grãos de feijão colhidos de plantas cultivadas em solo que recebeu, ou não, adição de Zn no solo uma semana após a germinação das sementes, e aplicação de doses foliares de Zn no estágio R8 da cultura

Adição de Zn ao solo	Doses de Zn via foliar (mg dm ⁻³)				
	0,0	2,5	5,0	10,0	20,0
	----- Zn nos grãos (g kg ⁻¹) -----				
0,0	9,46 b	43,12 a	50,67 a	61,29 a	66,14 a
2,5 mg dm ⁻³	20,09 a	44,67 a	48,67 a	50,77 b	56,71 b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste F a 5 % de significância.

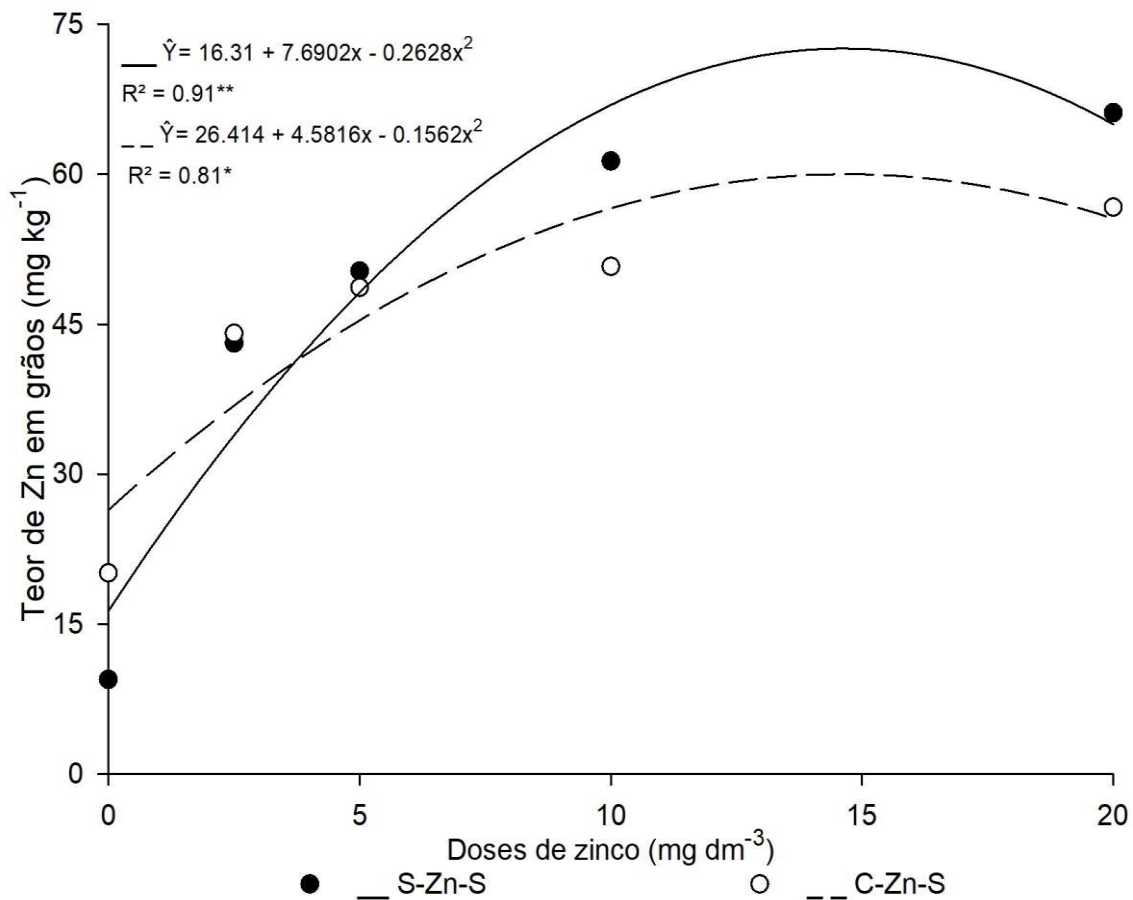


Figura 8 – Teores de Zn nos grãos de feijão colhidos de plantas cultivadas em solo que recebeu, ou não, adição de Zn uma semana após a germinação das sementes, e aplicação de doses foliares de Zn no estágio R8 da cultura.

C-Zn-S = adição de 2,5 mg dm⁻³ de Zn ao solo; S-Zn-S = sem adição de Zn ao solo.

A aplicação de Zn no solo aumentou os teores de N e de proteína nos grãos de feijão em 3,4 % quando se compara aos grãos produzidos por plantas que cresceram em solo que não recebeu aplicação de Zn. Por outro lado, reduziu os teores de P, Ca e Mg nos grãos em 9,4, 13,0 e 9,2 %, respectivamente (Tabela 12).

Tabela 12 – Teores de N, P, Ca, Mg e de proteínas nos grãos de feijão colhidos de plantas cultivadas em solo que recebeu, ou não, adição de Zn uma semana após a germinação das sementes

Adição de Zn ao solo	N	P	Ca	Mg	Proteína
	----- g kg ⁻¹ -----				
0,0	37,21 b	4,69 a	1,68 a	1,31 a	232,61 b
2,5 mg dm ⁻³	38,49 a	4,25 b	1,46 b	1,19 b	240,61 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste F a 5 % de significância.

Observou-se que a aplicação de doses crescentes de Zn via foliar promoveu um aumento de 7,8, 25,7, 15,0 e 7,8 % nos teores de N, P, Mg e de proteína nos grãos de feijão, respectivamente, com o aumento das doses de Zn foliar de 0 para 20 mg dm⁻³ (Figura 9).

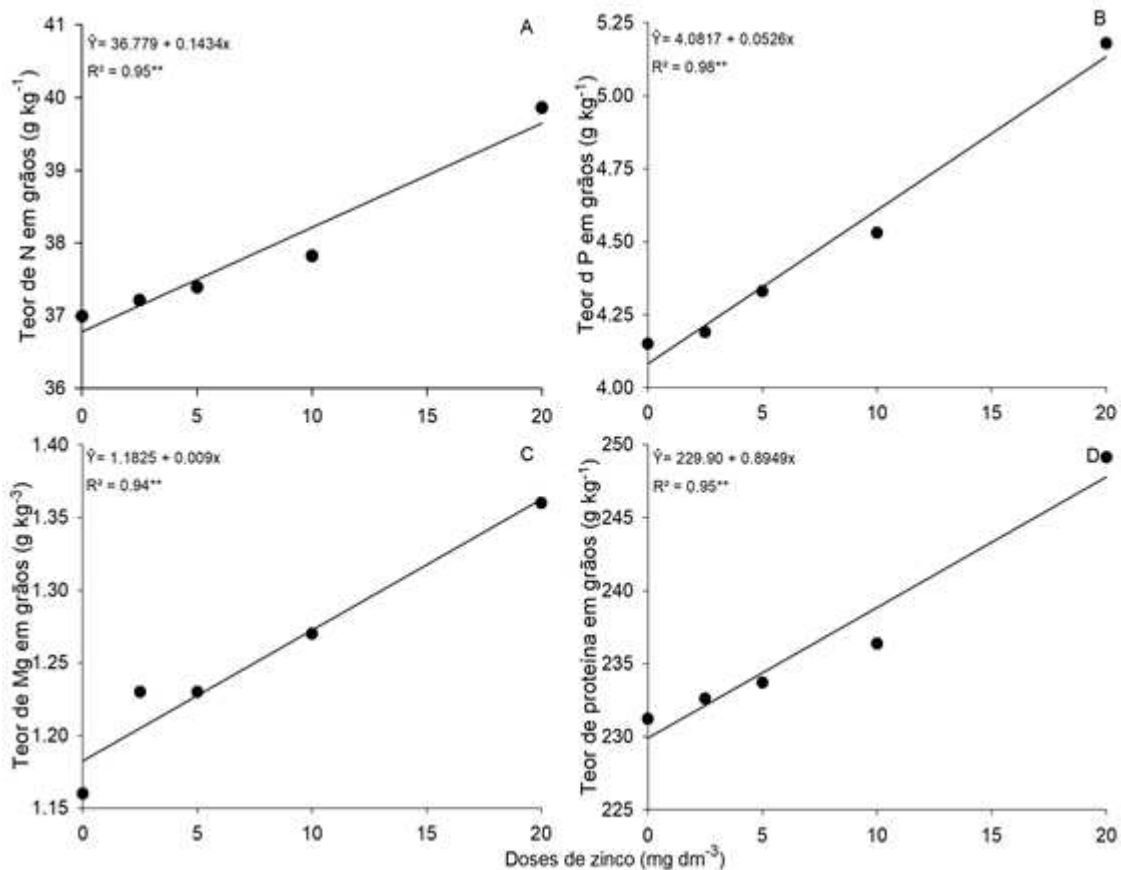


Figura 9 – Teores de N (A), P (B), Mg (C), e de proteína (D) em grãos de feijão em função da aplicação de doses de Zn via foliar, no estágio R8 da cultura.

Ao analisar os mapas microquímicos, observou-se que independente dos tratamentos, constatou-se que o Zn está distribuído em todo grão de feijão, porém, com maior teor no eixo embrionário, como pode ser observado pela intensidade de cores, variando do azul ao vermelho e quanto mais próximo do vermelho, maiores são os teores de Zn (Figura 10).

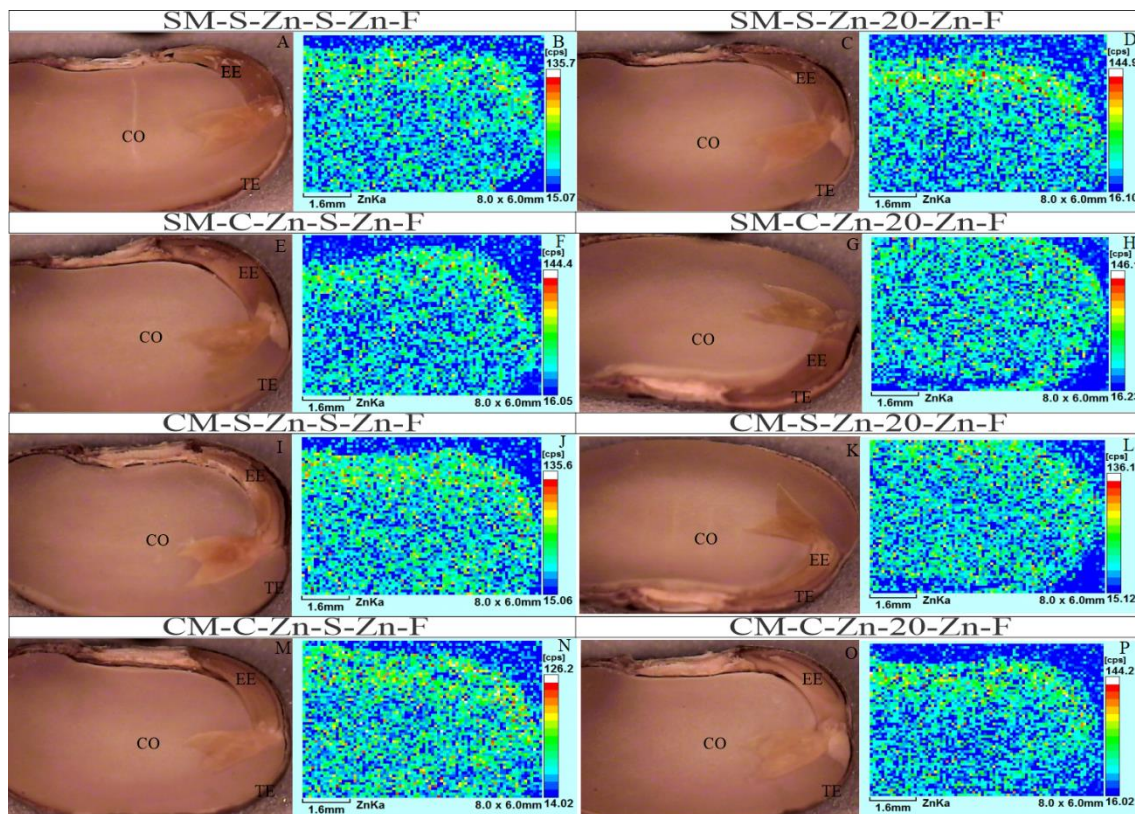


Figura 10 – Localização do Zn* no cotilédone (CO), tegumento (TE) e eixo embrionário (EE) de grãos de feijão colhidos de plantas originadas de sementes inoculadas, ou não com *P. chlamydosporia*, cultivadas em solo que recebeu, ou não, adição de Zn no solo uma semana após a germinação das sementes, e que receberam aplicação de doses foliares de Zn no estágio R8 da cultura.

A, C, E, G, I, K, M e O = regiões do grão selecionadas para leituras; B, D, F, H, J, L, N e P = teores qualitativos de Zn nos grãos; cps = contagem de fótons que chegam ao detector por segundo (as μA^{-1}); *quanto mais próximo do vermelho é a coloração, maiores são os teores de Zn. T1 - A, B = sem inoculação das sementes, sem adição de Zn ao solo e sem Zn foliar; T5 - C, D = sem inoculação das sementes, sem adição de Zn ao solo e com adição de 20 mg dm^{-3} de Zn foliar; T6 - E, F = sem inoculação das sementes, com adição de $2,5 \text{ mg dm}^{-3}$ de Zn ao solo e sem Zn foliar; T10 - G, H = sem inoculação das sementes, com adição de $2,5 \text{ mg dm}^{-3}$ de Zn ao solo e com adição de 20 mg dm^{-3} de Zn foliar; T11 - I, J = com inoculação das sementes e sem adição de Zn ao solo e sem Zn foliar; T15 - K, L = com inoculação das sementes, sem adição de Zn ao solo e com adição de 20 mg dm^{-3} de Zn foliar; T16 - M, N = com inoculação das sementes, com adição de $2,5 \text{ mg dm}^{-3}$ de Zn ao solo e sem Zn foliar; T20 - O, P = com inoculação das sementes, com adição de $2,5 \text{ mg dm}^{-3}$ de Zn ao solo e com adição de 20 mg dm^{-3} Zn foliar.

4. Discussão

4.1 Efeitos dos tratamentos nas características químicas do solo

Uma possível explicação para a redução dos teores disponíveis de P, K, Fe e Mn no solo com plantas de sementes inoculadas com *P. chlamydosporia* (Tabelas 2 e 3) é a maior absorção de nutrientes por essas plantas. A colonização do rizoplasma e dos tecidos das raízes das plantas pelo fungo (Escudero e Lopez-LLorca, 2012) faz com que ele atue promovendo o crescimento de plantas como trigo (Monfort et al., 2005), alface (Dias-Aieira et al., 2011) e tomate (Escudero e Lopez-LLorca, 2012). Em plantas de tomate, o *P. chlamydosporia* coloniza as raízes produzindo hifas e clamidósporos no rizoplasma (Dallemole-Giaretta et al., 2015). Assim, é plausível que as raízes das plantas inoculadas com *P. chlamydosporia* tenham maior eficiência de absorção dos nutrientes pelas plantas de feijão, diminuindo, comparativamente o nutriente extraído do solo quando na extração para determinação do disponível. O fungo *P. chlamydosporia* pode auxiliar positivamente na eficiência de utilização dos fertilizantes, como na cultura do tomate, uma vez que ele melhora a aquisição de nutrientes (Monteiro et al., 2018).

Para o pH do solo, uma possível explicação para a redução devido à inoculação (Tabela 3) é a produção de ácidos orgânicos pelo fungo *P. chlamydosporia* (Gouveia et al., 2019) que têm a capacidade acidificar o solo (Israr et al., 2016; Ying et al., 2017). Já a redução do pH do solo, com a adição de Zn ao solo e a suplementação via foliar (Tabela 4; Figura 1), pode estar relacionada ao SO_4^{2-} derivados das aplicações do ZnSO_4 que pode induzir a redução do pH do solo (Li e Christie). Possivelmente, o SO_4^{2-} aderido as folhas que não foi absorvido pode ter contribuído para à redução do pH, pois as folhas senescentes eram colocadas nos vasos e a água da irrigação pode ter lavado o SO_4^{2-} dessas indo para a solução do solo. Estudos têm mostrado que a aplicação de doses crescentes de Zn com a fonte de ZnSO_4 no solo reduziu o pH (Li e Christie; Ibiang e Sakamoto, 2018).

Nesse sentido, a ação mais efetiva do Zn adicionado ao solo, sobre a disponibilidade do K, comparada ao Mg, em termos relativos (Tabela 5), deveu-se possivelmente à diferença de carga entre esses cátions básicos, monovalente (K^+) e bivalente (Mg^{2+}). Pois, de acordo com a série liotrópica de adsorção de cátions ao solo, o primeiro e principal fator que determina a força de retenção de um cátion é sua carga (Raij, 2017). Um estudo mostrou que a força de adsorção do Mg^{2+} é maior do que do K^+ (Liu et al., 2013).

É possível que a aplicação de Zn ao solo tenha contribuído para uma maior absorção de K pelas plantas de feijoeiro e que a diminuição desse cátion no complexo de troca do solo

resultou, proporcionalmente, em menos K extraível pelo extrator. A diminuição do K disponível no solo no tratamento em que houve a adição de Zn dias após a germinação (Tabela 5) sugere efeito do micronutriente diminuindo, comparativamente, o K extraível pelo extrator Mehlich-1. Interação de sinergismo entre Zn e K foi observado também no sorgo, sendo que a aplicação de Zn no solo aumentou a absorção de K pelas plantas (Moinuddin e Imas, 2010).

A adição de Zn via solo e via foliar dobrou praticamente os teores de Zn disponível no solo (Tabela 5; Figura 2). Isso ocorreu porque o Zn aplicado via foliar movimenta-se para as raízes da planta pelo floema (Haslett et al., 2001), sendo possível a sua liberação para o solo por meio da decomposição das raízes, contribuindo para maior teor de Zn retido no complexo de troca e na solução do solo. Além disso, o Zn que não foi absorvido, mantendo-se aderido no material vegetal das folhas, pode ter contribuído também, pois as folhas senescentes, que se desprendiam das plantas, eram mantidas na superfície do solo do vaso e, com a irrigação, a água pode ter lavado o Zn dessas indo para a solução do solo.

4.2 Efeitos dos tratamentos nas características agronômicas das plantas de feijão

O aumento do número de vagens no tratamento com inoculação das sementes com o fungo *P. chlamydosporia* em ausência de qualquer aplicação de Zn (Tabela 6) pode estar relacionado ao melhor desenvolvimento do sistema radicular das plantas de sementes inoculadas com o fungo (Zavala-Gonzalez et al., 2015). A colonização das raízes das plantas pelo fungo favorece a absorção do Zn e de outros nutrientes (Monfort et al., 2005; Dias-Aieira et al., 2011; Escudero e Lopez-LLorca, 2012).

Em geral, com Zn aplicado ao solo, a aplicação das doses de Zn via foliar não resultou em resposta para o NV, com exceção da dose 5 mg dm⁻³ de Zn foliar. Porém, na ausência de microrganismo as doses 5 e 20 mg dm⁻³ de Zn foliar reduziu o NV. Esses resultados indicam que a inoculação com o fungo, a aplicação do Zn ao solo e sua aplicação foliar até a dose 5 mg dm⁻³ resultaram em melhor resposta do NV produzidas (Tabela 6). Já nas doses acima de 5 mg dm⁻³ de Zn aplicado via foliar, ficou evidente que ocorreu maior fitotoxidez nas plantas na presença do microrganismo (Figura 3). Com inoculação das sementes, as doses de Zn via foliar e a adição de Zn ao solo reduziram o NV (Figura 4A), resultado similar ao relatado por Haider et al. (2018) no feijão-mungo, cujo grão tem coloração esverdeada.

Observou-se, de forma geral, que na ausência da inoculação, com e sem a aplicação de Zn no solo, as doses de Zn via foliar proporcionaram melhores respostas para a PG, quando comparada com a inoculação, com exceção da dose 5 mg dm⁻³ de Zn aplicado via foliar. Isso

pode estar relacionado ao investimento de mais carbono pelas plantas, para manter a associação simbiótica com o microrganismo em suas raízes (Johson et al., 1997). Já a resposta em PG à aplicação de Zn ao solo, com e sem inoculação, quando foram aplicadas as doses de Zn via foliar, foi melhor se comparada ao tratamento sem aplicação de Zn no solo, com exceção da aplicação foliar de 5 mg dm⁻³ Zn no tratamento sem inoculação (Tabela 6).

Constatou-se que a aplicação das doses de Zn foliar, sem a inoculação e sem a aplicação de Zn no solo, aumentou a PG até a dose de 6,96 mg dm⁻³, enquanto que com a inoculação e a aplicação de Zn no solo, houve redução na PG (Figura 4B). Esses resultados, evidenciam que as doses crescentes de Zn via foliar tiveram mais efeitos negativos para PG no feijoeiro. Mesmo sem a inoculação e sem a aplicação de Zn no solo, houve decréscimo na PG a partir da dose 6,96 mg dm⁻³ de Zn foliar. A redução na PG com a aplicação de doses crescentes de Zn via foliar é relatada por Haider et al. (2018).

A diminuição das variáveis de produtividade do feijoeiro com a aplicação das doses foliares (Tabela 6) também foi observada em outro tipo de feijão (feijão mungo) e em trigo (Haider et al., 2018; Kirmani et al., 2018; Du et al., 2019). O excesso de Zn provoca redução da fotossíntese, pela indução do estresse oxidativo, causando alterações na estrutura foliar, contribuindo para a redução da transpiração, da condutância estomática, do conteúdo de clorofila e de carotenoides e, conseqüentemente, podendo comprometer a produtividade (Shi e Cai, 2009; Wang et al., 2009; Vassilev et al., 2011).

A *mMSR* das plantas oriundas de sementes inoculadas, que receberam 10 mg dm⁻³ de Zn via foliar, em solo que recebeu Zn, teve melhor resposta quando comparado ao tratamento sem inoculação e sem Zn adicionado ao solo. Porém, esse efeito positivo não ocorreu quando se aplicou a maior dose de Zn foliar (20 mg dm⁻³) (Tabela 6). No primeiro caso, a produção de auxina pelo fungo pode ter favorecido o desenvolvimento das raízes das plantas de feijoeiro (Zavala-Gonzalez et al., 2015). Já o efeito negativo da maior dose de Zn (20 mg dm⁻³ de Zn) pode estar relacionado à fitotoxidez causada pela maior concentração de Zn disponível no solo, que afetou o crescimento das raízes como verificado por Du et al. (2019) em plantas de trigo.

Observou-se que a aplicação de Zn no solo e doses acima de 9,36 mg dm⁻³ de Zn via foliar, na presença da inoculação, reduziu a *mMSR*, enquanto que, sem a aplicação de Zn no solo, houve um aumento da *mMSR* (Figura 4C). No primeiro caso, parece que a aplicação de Zn no solo, suplementada com doses acima de 9,36 mg dm⁻³ de Zn via foliar, elevou as concentrações do elemento, assim, prejudicando o desenvolvimento das raízes. Estudos demonstraram que o crescimento de raízes é altamente reduzido quando submetido a elevadas concentrações de Zn (Sresty e Madhava Rao, 1999; Lin e Xing, 2008; Du et al., 2019). Essa

redução está inteiramente relacionada ao efeito inibitório do Zn na divisão e alongamento celular, em elevadas concentrações do nutriente (Sresty e Madhava Rao, 1999).

A diminuição do PCG do feijão com o aumento do Zn aplicado via foliar (Figura 5) teve resultado semelhante ao observado por Haider et al. (2018) para o feijão-mungo. Essa ocorrência está provavelmente relacionada ao efeito do Zn no enchimento dos grãos. O excesso de Zn reduz a fotossíntese dificultando a condutância estomática, reduzindo, conseqüentemente, a produção de fotoassimilados (Sagardoy et al., 2010) com reflexo negativo no enchimento dos grãos.

4.3 Efeitos dos tratamentos nas características químicas dos grãos de feijão

No geral, a inoculação das sementes com o fungo *P. chlamydosporia*, com e sem adição de Zn ao solo, e com aplicação de Zn via foliar, aumentou o teor de K nos grãos de feijão, com ganho de qualidade nutricional. Aumento da absorção de K por plantas de tomateiro com a inoculação do fungo *P. chlamydosporia* também foi observado por Monteiro et al. (2019). Por outro lado, constatou-se que a aplicação de Zn no solo, reduziu o teor de K nos grãos (Tabela 7). Esse resultado sugere que a aplicação de Zn no solo suplementada com Zn via foliar pode ter comprometido a translocação do K para os grãos. Desse modo, observou-se que as doses de Zn via foliar sem inoculação e sem a aplicação de Zn no solo, proporcionaram teor máximo de K de 11,06 g kg⁻¹, nos grãos de feijão (Figura 6A).

Aumento dos teores de Fe e Mn nos grãos de feijão foi observado na presença da inoculação do microrganismo com e sem a aplicação de Zn no solo e via foliar nas menores doses (0 e 2,5 e 10 mg dm⁻³ de Zn foliar) (Tabela 7). De maneira semelhante, um aumento do teor de Fe e Mn em grãos-de-bico e alface foi relatado com a inoculação de fungos (Pellegrino e Bedini et al., 2014; Padash et al., 2016).

A redução do pH do solo na região das raízes colonizadas pelo *P. chlamydosporia* (Tabela 3) pode ter aumentado os teores de Fe e Mn na solução do solo, similarmente ao observado por Dehghanian et al. (2018) com o fungo micorriza arbuscular em milho, favorecendo a maior absorção de nutrientes pelas plantas. Com a maior disponibilidade desses nutrientes na solução, o processo de absorção é favorecido, possibilitando uma maior translocação para parte aérea e posteriormente para os grãos. Já a aplicação de Zn no solo, de forma geral, com e sem a inoculação e aplicação de Zn foliar, reduziu os teores de Fe e Mn nos grãos de feijão (Tabela 7). Isso pode ter sido devido às interações competitivas do Zn com o Fe e Mn que ocorrem nos locais de absorção das raízes (Padash et al., 2016), pois o transportador

IRT1 que está localizado na membrana plasmática, pode transportar Fe, Mn e também o Zn (Korshunova et al., 1999).

A resposta quadrática para os teores de Fe e Mn nos grãos em função das doses de Zn via foliar ocorreu nos tratamentos sem a inoculação das sementes com microrganismos e sem a aplicação de Zn no solo. O mesmo ocorreu com a inoculação de microrganismo e com a aplicação de Zn no solo (Figura 6B e 6C). Isso se deu devido aos micronutrientes serem translocados em sua maioria no floema na forma quelatada com aminoácido nicotianamina e devido ao fato de a aplicação de Zn em doses elevadas ter aumentado os teores dos mesmos na parte aérea, o que favoreceu a quelação desse aminoácido com o Zn em detrimento do Fe e Mn (Clemens et al., 2013; Ibiang et al., 2017). Constatou-se que o teor de Fe nos grãos foi aumentado, nas plantas de sementes inoculadas com *P. chlamydosporia* e quando foi aplicado Zn no solo e foliar (Figura 6C). Isso pode estar relacionado à produção de ácidos orgânicos nas raízes colonizadas pelo fungo, os quais, liberados na rizosfera, contribuíram para diminuição do pH do solo (Gouveia et al., 2019). O menor pH do solo aumenta a disponibilidade de Fe em solução (Ei-Kherbawy et al., 1989), o que favoreceu o aumento da absorção de Fe pelas plantas.

No geral, a aplicação de Zn no solo, como também as doses de Zn aplicadas via foliar, em raízes colonizadas com o microrganismo resultaram em aumento dos teores de S nos grãos de feijão (Tabela 8 e 9), sugerindo sinergismo entre Zn e S na planta de feijão. Na literatura tem sido relatado tanto o antagonismo como o sinergismo entre Zn e S (Prasad et al., 2016). Ainda nesse contexto, um aumento nos teores de S foi relatado na cultura do milho, com a inoculação do fungo micorrízico *Rhizophagus irregulares* (Ramírez-Flores, et al., 2019). A resposta do teor de S nos grãos às doses de Zn foliar em plantas inoculadas foi quadrática decrescente até a dose 7 mg dm⁻³, aproximadamente, quando passou a ser crescente (Figura 7).

As plantas com raízes colonizadas com o *P. chlamydosporia* apresentou menor teor de Zn nos grãos, quando comparada as plantas não colonizadas, porém não houve diferença significativas (Tabela 11). Esse resultado pode estar relacionado ao mecanismo do fungo em proteger as plantas do excesso de Zn, como relatado na literatura com outros fungos (Li e Christie 2001; Monnet et al., 2001; Watts-Williams et al., 2013). A imobilização de Zn pelos micélios fúngicos pode ser um mecanismo que protege as plantas da toxicidade a elevadas concentrações desse elemento (Monnet et al., 2001; Chen et al., 2003).

O aumento nos teores de N e proteínas nos grãos de feijão foi observado nas plantas com raízes colonizadas com o *P. chlamydosporia* (Tabela 10), resultado similar ao encontrado em grão-de-bico inoculado com o fungo *M. arbusculares* (Pellegrino e Bedini, 2014). Em plantas de tomateiro a absorção de N foi aumentada com a inoculação do *P. chlamydosporia*

(Gouveia et al., 2019). O peso de cem sementes diminuiu com a inoculação do fungo nas sementes do feijoeiro (Tabela 10). A redução do PCG pode estar relacionada à partição de maior quantidade de carbono pelas plantas para manter a associação simbiótica entre as raízes e o microrganismo (Johson et al., 1997).

O maior teor de Zn nos grãos com aplicação de Zn ao solo e sem Zn via foliar, comparado ao correspondente tratamento sem Zn adicionado ao solo (Tabela 11), ocorreu porque a aplicação de Zn aumentou, comparativamente, sua concentração na solução do solo, assim favorecendo a maior absorção do Zn pelas plantas. O aumento de seu teor no grão possibilita a disponibilização do micronutriente na dieta alimentar por meio do feijão. Já a diminuição dos teores de Zn nos grãos, nas maiores doses de Zn via foliar com adição de Zn ao solo, comparado ao tratamento sem adição (Tabela 11), pode estar relacionado ao menor crescimento das raízes (Figura 4C). A redução no crescimento das raízes devido à exposição a elevadas concentrações de Zn no solo pode ter comprometido a absorção desse micronutriente. Além disso, as plantas usam como mecanismo para tolerar altas concentrações de Zn, a estratégia de exclusão, imobilizando o Zn nas raízes e impedindo sua translocação para a parte aérea (Arrivault et al., 2006).

A aplicação das doses de Zn via foliar, com e sem a aplicação de Zn no solo aumentou o teor do nutriente nos grãos de feijão, com maior incremento no tratamento sem a aplicação de Zn no solo (Figura 8). Aumento dos teores de Zn nos grãos de feijão com aplicação de doses de Zn via foliar tem sido relatado na literatura (Cambraia et al., 2019). A biofortificação agrônômica do feijão com Zn é de extrema importância para melhorar a qualidade nutricional dos grãos (Sida-Arreola et al., 2017) e concomitantemente, atender a demanda de Zn na população que tem essa cultura como base alimentar. Além disso, foram verificados que o aumento de Zn nos grãos de feijão caupi, promove uma redução dos teores de ácido fítico, contribuindo para a maior disponibilidade do elemento para o organismo humano e, dessa forma, futuros estudos de biofortificação agrônômica com Zn, são necessários para compreender como esse aumento de Zn nos grãos pode influenciar na produção de ácido fítico (Silva et al., 2021).

Mediante esses achados, este estudo evidenciou que a aplicação do Zn no solo pode melhorar a qualidade dos grãos de feijão com aumento dos teores de N e de proteína, porém, o contrário pode ocorrer para os teores P, Ca e Mg (Tabela 12). Dessa forma, tem sido sugerido que a aplicação de Zn pode influenciar positivamente na absorção e translocação de N nas plantas (Guo et al., 2015). A redução do Mg nos grãos pode estar relacionada a menor absorção

do elemento pelas plantas do solo, sugerindo um efeito antagônico do Zn na absorção e translocação desse nutriente, o que resultou em menor chegada do Mg nos grãos.

Esse efeito antagônico é sugerido por Vassilev et al. (2011) que associaram a inibição da síntese de clorofila em feijoeiro perante as maiores doses de Zn em solução nutritiva. Segundo esses autores, o Zn contribuiu para diminuir a absorção e translocação de Mg na planta, interferido na síntese de clorofila. O Mg^{2+} ocupa posição central na molécula de clorofila, sendo imprescindível para sua síntese. Já a redução do P nos grãos pode ter ocorrido devido ao maior acúmulo nas raízes, pois estudos com excesso de Zn em cana de açúcar e soja constataram maior acúmulo de P nas raízes e menor na parte aérea (Jain et al., 2010; Ibiang et al., 2017). O antagonismo entre Ca e Zn tem sido relatado na literatura (Sadana e Takkar, 1983; Prasad et al., 2016), podendo ter reduzido a absorção e translocação do Ca para os grãos, como observaram Kawasaki e Mortisuga (1987) em plantas de cevada.

A aplicação de doses crescentes de Zn via foliar, aumentou os teores de N, P, Mg e proteína (Figura 9). Aumentos nos teores de N em grãos de feijão comum e de proteína em grãos de feijão-mungo, em função do aumento da dose de Zn em solução nutritiva, têm sido relatados (Samreen et al., 2017; Sida-Arreola et al., 2017).

Neste estudo, constatou-se que a maior parte do Zn nos grãos de feijão está localizada no eixo embrionário. Esse achado corrobora os estudos realizados na cultura do feijão e cultivares M_PL27 e NM_PL35 de *Arabidopsis halleri* (Cabraia et al., 2019; Babst-Kostecka et al., 2020). A maior concentração de Zn no eixo embrionário pode estar relacionada ao fato de o nutriente ter importante função na ativação das enzimas peptidases, que tem papel importante na hidrólise das proteínas responsáveis por fornecer esqueleto de carbono para o desenvolvimento inicial do eixo embrionário. Além disso, o Zn atua na ativação das RNAs e DNAs polimerases, promovendo a síntese de novas proteínas no eixo embrionário, o qual, no processo de germinação, vai dar origem às plântulas (Ohse et al., 2012).

O Zn desempenha importante papel no processo germinativo das sementes, pois, está envolvido no processo de diferenciação das células metabolicamente ativas que formam os tecidos de raízes e caules em plântulas. Além disso, há relatos da importância de altas concentrações de Zn nas sementes que atuam na proteção das mesmas durante a germinação e desenvolvimento das plântulas contra a infecção de patógenos presentes no solo e nas próprias sementes (Ozturk et al., 2006).

5. Conclusão

A colonização de raízes do feijoeiro com o fungo *P. chlamydosporia* não foi efetiva para aumentar a absorção de Zn de modo a contribuir para seu acúmulo nos grãos, entretanto, aumentou a absorção de P, K, Fe e Mn pelas raízes. Também resultou em aumento dos teores de N, K, S, Fe, Mn e proteína nos grãos, porém, reduziu o peso de cem grãos. O solo com raízes colonizadas com o fungo tem seu pH diminuído. Nesse sentido, a aplicação de doses crescentes de Zn via foliar foi eficiente para aumentar o teor de Zn nos grãos, com maiores teores acumulados, nas doses 10 e 20 mg dm⁻³ de Zn, principalmente, sem a adição de Zn ao solo. O maior acúmulo de Zn ocorreu no eixo embrionário dos grãos de feijão.

Referências

- Alencar LP, Sediya GC, Mantovani EC, Martinez MA (2011) Tendências recentes nos elementos do clima e suas implicações na evapotranspiração da cultura do milho em Viçosa – MG. Engenharia Agrícola. 31:631-642. <https://doi.org/10.1590/S0100-69162011000400002>
- Alloway, BJ (2009) Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. Environ Geochem Health. 31:537–548. <https://doi.org/10.1007/s10653-009-9255-4>
- Arrivault S, Senger T, Krämer U (2006) The Arabidopsis metal tolerance protein AtMTP3 maintains metal homeostasis by mediating Zn exclusion from the shoot under Fe deficiency and Zn oversupply. The Plant Journal. 46:861-879. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02746.x>
- Alvarez VVH, Dias LE, Ribeiro AC, Souza RB (1999) Uso de gesso agrícola. In: Ribeiro AC, Guimarães PTG, Alvarez VVH. Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª Aproximação. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, pp 67-78.
- Babst-Kostecka A, Przybyłowicz WJ, Seget B, Mesjasz-Przybyłowicz J (2020) Zinc allocation to and within Arabidopsis halleri seeds: Different strategies of metal homeostasis in accessions under divergent selection pressure. Plant-Environment Interactions. 1:207-220. <https://doi.org/10.1002/pei3.10032>
- Bhandari S, Banjara MR (2015) Micronutrients Deficiency, a Hidden Hunger in Nepal: Prevalence, Causes, Consequences, and Solutions. International Scholarly Research Notices. [s.v]:1-9. <https://doi.org/10.1155/2015/276469>

- Black RE, Victora CG, Walker SP, Bhutta ZA, Christian P, Onis M, Ezzati M, Grantham-McGregor S, Katz J, Martorell R, Uauy R (2013). Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries. *Lancet*. 382:427-451. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60937-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60937-X)
- Cakmak I (2008) Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? *Plant Soil*. 302:1-17. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-007-9466-3>
- Cambraia TLL, Fontes RLF, Vergütz L, Vieira RF, Neves JCL, Corrêa Netto OS, Dias RFN (2019) Agronomic biofortification of common bean grain with zinc. *Pesquisa. agropecuária brasileira*. 54:1-7. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2019.v54.01003>
- Cavagnaro TR (2008) The role of arbuscular mycorrhizas in improving plant zinc nutrition under low soil zinc concentrations: a review. *Plant Soil*. 304:315–325 <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-008-9559-7>
- Carvalho AMX, Mendes FQ, Mendes FQ, Tavares LF (2020) SPEED Stat: a free, intuitive, and minimalist spreadsheet program for statistical analyses of experiments. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 20:1-6. <https://doi.org/10.1590/1984-70332020v20n3s46>
- Chen BD, Li XL, Tao HQ, Christie P, Wong MH (2003) The role of arbuscular mycorrhiza in zinc uptake by red clover growing in a calcareous soil spiked with various quantities of zinc. *Chemosphere*. 50:839–846. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00228-X](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00228-X)
- Clemens S (2014) Zn and Fe biofortification: The right chemical environment for human Bioavailability. *Plant Science* 225:52-57. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.05.014>
- Clemens S, Deinlein U, Ahmadi H, Höreth S, Uraguchi S (2013) Nicotianamine is a major player in plant Zn homeostasis. *Biometals*. 26:623-32. <https://doi.org/10.1007 / s10534-013-9643-1>
- Corguinha APB, Carvalho CA, Souza GA, Carvalho TS, Vieira EA, Fialho JF, Guilherme LRG (2019) Potential of cassava clones enriched with β -carotene and lycopene for zinc biofortification under different soil Zn conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 99:666-674. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9231>
- Dallemole-Giaretta R, Freitas LG, Lopes EA, Silva MCS, Kasuya MCM, Ferraz S (2015) *Pochonia chlamydosporia* promotes the growth of tomato and lettuce plants. *Acta Scientiarum. Agronomy*. 37:417-423. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v37i4.25042>
- Dallemole-Giaretta R, Freitas LG, Lopes EA, Ferraz S, Podesta GS, Agnes EL (2011) Cover crops and *Pochonia chlamydosporia* for the control of *Meloidogyne javanica*. *Nematology*. 13:919-926. <https://doi.org/10.1163/138855411X563875>

- Dehghanian H, Halajnia A, Lakzian A, Astarai AR (2018) The effect of earthworm and arbuscular mycorrhizal fungi on availability and chemical distribution of Zn, Fe and Mn in a calcareous soil. *Applied Soil Ecology*. 130:98-103. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.06.002>
- Dias-Arieira CR, Santana SM, Freitas LG, Cunha TPL, Biela F, Puerari HH, Chiamoleira FM (2011) Efficiency of *Pochonia chlamydosporia* in *Meloidogyne incognita* control in lettuce crop (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Food, Agriculture and Environment*. 9: 561-563. <https://doi.org/10.1234/4.2011.2333>
- Du W, Yang J, Peng Q, Liang X, Mao H (2019) Comparison study of zinc nanoparticles and zinc sulphate on wheat growth: From toxicity and zinc biofortification. *Chemosphere* 227:109-116. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.168>
- EI-Kherbawy M, Angle JS, Heggo A, Chaney (1989) Soil pH, rhizobia, and vesicular-arbuscular mycorrhizae inoculation effects on growth and heavy metal uptake of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Biol Fertil Soils*. 8:61-65. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00260517>
- Escudero N, Lopez-Llorca LV (2012) Effects on plant growth and root-knot nematode infection of an endophytic GFP transformant of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. *Symbiosis*. 57:33–42. <https://doi.org/10.1007/s13199-012-0173-3>
- Galvani F, Gaertner E (2006) Adequação da Metodologia Kjeldahl para determinação de Nitrogênio Total e Proteína Bruta. Corumbá. 2006. Available online: . pdf (accessed on 22 June 2021)
- Gao H, Dai W, Zhao L, Min J, Wang F (2018) The Role of Zinc and Zinc Homeostasis in Macrophage Function. *Journal of Immunology Research*. [s.v]:1-11. <https://doi.org/10.1155/2018/6872621>
- Gouveia AS, Monteiro TSA, Valadares SV, Sufiate BL, Freitas LG, Ramos HJO, Queiroz JH (2019) Understanding How *Pochonia chlamydosporia* Increases Phosphorus Availability. *Geomicrobiology Journal*. 36:747-751. <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1616857>
- Guo JX, Feng XM, Hu XY, Tian GL, Ling N, Wang JH, Shen QR, Guo SW (2015) Effects of soil zinc availability, nitrogen fertilizer rate and zinc fertilizer application method on zinc biofortification of rice. *The Journal of Agricultural Science*. 154:584-597. <https://doi.org/10.1017/S0021859615000441>
- Haider MU, Farooq M, Nawaz A, Hussain M (2018) Foliage Applied Zinc Ensures Better Growth, Yield and Grain Biofortification of Mungbean. *International Journal of Agriculture & Biology*. 20: 2817–2822. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0840>

- Haslett BS, Reid RJ, Rengel Z (2001) Zinc Mobility in Wheat: Uptake and Distribution of Zinc Applied to Leaves or Roots. *Annals of Botany*. 87:379-386. <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1349>
- Hussain S, Maqsood MA, Rahmatullah (2010) Increasing grain zinc and yield of wheat for the developing world: A Review. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 22: 326-339. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v22i5.4821>
- Ibiang YB, Sakamoto K (2018) Synergic effect of arbuscular mycorrhizal fungi and bradyrhizobia on biomass response, element partitioning and metallothionein gene expression. of soybean-host under excess soil zinc. *Rhizosphere*. 6:56-66. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2018.03.002>
- Ibiang YB, Mitsumoto H, Sakamoto K (2017) Bradyrhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi modulate manganese, iron, phosphorus, and polyphenols in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) under excess zinc. *Environmental and Experimental Botany*. 137:1-13. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.01.011>
- Israr D, Mustafa G, Khan KS, Shahzad M, Ahmad N, Masood S (2016) Interactive effects of phosphorus and *Pseudomonas putida* on chickpea (*Cicer arietinum* L.) growth, nutrient uptake, antioxidant enzymes and organic acids exudation. *Plant Physiology and Biochemistry*. 108:304-312. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.07.023>
- Jain R, Srivastava S, Solomon S, Shrivastava AK, Chandra A (2010) Impact of excess zinc on growth parameters, cell division, nutrient accumulation, photosynthetic pigments and oxidative stress of sugarcane (*Saccharum* spp.). *Acta Physiol Plant*. 32:979-986. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0487-9>
- Johnson NC, Graham JH, SMITH FA, Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytol*. 135:575-585. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00729.x>
- Kirmani HF, Hussain M, Ahmad F, Shahid M, Asghar A (2018) impact of zinc uptake on morphology, physiology and yield attributes of wheat in Pakistan. *Cercetări Agronomice în Moldova*. 173:29-36. <https://doi.org/10.2478/cerce-2018-0002>
- Korshunova YO, Eide D, Clark WG, Guerinot ML, Pakasi HB (1999) The IRT1 from *Arabidopsis thaliana* is a metal transporter with a broad substrate range. *Plant Molecular Biology*. 40:37-44. <https://doi.org/10.1023/A:1026438615520>
- Kawasaki T, Moritsugu M (1987) Effect of calcium on the absorption and translocation of heavy metals in excised barley roots: Multi-compartment transport box experimente. *Plant and Soil*. 100:21-34. <https://doi.org/10.1007/BF02370930>

- Li X, Christie P (2001) Changes in soil solution Zn and pH and uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal red clover in Zn-contaminated soil. *Chemosphere* 42:201-207. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00126-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00126-0)
- Lin D, Xing B (2008) Root Uptake and Phytotoxicity of ZnO Nanoparticles. *Environmental Science & Technology* 42:5580–5585. <https://doi.org/10.1021/es800422x>
- Liu X, Li H, Du W, Tian R, Li R, Jiang X (2013) Hofmeister Effects on Cation Exchange Equilibrium: Quantification of Ion Exchange Selectivity. *Journal of Physical Chemistry*. 117:6245–6251. <https://doi.org/10.1021/jp312682u>
- Lorenzon AS, Dias HCT, Leite HG (2013) precipitação efetiva e interceptação da chuva em um fragmento florestal com diferentes estágios de regeneração. *Revista Árvore*. 37:619-627. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622013000400005>
- Manzeke MG, Mtambanengwe F, Nezomba H, Watts MJ, Broadley MR, Mapfumo P (2017) Zinc fertilization increases productivity and grain nutritional quality of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) under integrated soil fertility management. *Field Crops Research*. 213:231–244. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.08.010>
- Martínez-Cuesta N, Carciochi W, Sainz-Rozas H, Salvagiotti F, Colazo JC, Wyngaard N, Miller DD, Welch RM (2013) Food system strategies for preventing micronutrient malnutrition. *Food Policy*. 42:115-128. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2013.06.008>
- Monteiro TSA, Valadares SV, Mello INK, Moreira MC, Kasuya MCM, Araújo JV, Freitas LG (2018) Nematophagus fungi increasing phosphorus uptake and promoting plant growth. *Biological Control*. 123:71–75. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.05.003>
- Monfort E, Lopez-Llorca LV, Jansson HB, Salinas J, Park JO, Sivasithamparam K (2005) Colonisation of seminal roots of wheat and barley by egg-parasitic nematophagous fungi and their effects on *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and development of root-rot. *Soil Biology & Biochemistry*. 37:1229–1235. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.11.019>
- Moura AD, Brito LM (2015) Aspectos Socioeconômicos. In: Carneiro JES, Paula Júnior TJ, Borém A (eds) *Feijão: do plantio à colheita* 1ª ed. UFV, Viçosa, pp 16-36.
- Monnet F, Vaillant N, Hitmi A, Coudret A, Sallanon H (2001) Endophytic *Neotyphodium lolii* induced tolerance to Zn stress in *Lolium perenne*. *Physiologia Plantarum*. 113:557–563.
- Myers JR, Kmiecik K (2017) Common Bean: Economic Importance and Relevance to Biological Science Research. In: M. Pérez de la Vega et al. (eds.), *The Common Bean Genome, Compendium of Plant Genomes*, https://doi.org/10.1007/978-3-319-63526-2_1

- Moinuddin, Imas P (2010) Effect of zinc nutrition on growth, yield, and quality of forage sorghum in respect with increasing potassium application rates. *Journal of Plant Nutrition*. 33:2062–2081. <https://doi.org/10.1080/01904167.2010.519081>
- Novais RF, Neves JCL, Barros NF (1991) Ensaio em ambiente controlado. In: Oliveira A. J. et al. (Coords.). *Métodos de pesquisa em fertilidade do solo*. Brasília, DF: Embrapa-SEA, pp 189-253
- Ohse S, Rezende BLA, Lisik D, Otto RF (2012) Germinação e vigor de sementes de melancia tratadas com zinco. *Revista Brasileira de Sementes*. 34:282-292. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222012000200014>
- Ozturk L, Yazic MA, Yucel C, Torun A, Cekic C, Bagci A, Ozkan H, Braun HJ, Sayers Z, Cakmak I (2006) Concentration and localization of zinc during seed development and germination in wheat. *Physiologia Plantarum*. 128: 144–152. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00737.x>.
- Padash A, Shahabivand S, Behtash F, Aghaee A (2016) A practicable method for zinc enrichment in lettuce leaves by the endophyte fungus *Piriformospora indica* under increasing zinc supply. *Scientia Horticulturae*. 213:367-372. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.10.040>
- Pellegrino E, Bedini S (2014) Enhancing ecosystem services in sustainable agriculture: Biofertilization and biofortification of chickpea (*Cicer arietinum* L.) by arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology & Biochemistry*. 68:429-439. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.09.030>
- Phattarakul N, Rerkasem B, Li LJ, Wu LH, Zou CQ, Ram H, Sohu VS, Kang BS, Surek H, Kalayci M, Yazici A, Zhang FS, Cakmak I (2012) Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries. *Plant Soil*. 361:131–141. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1211-x>
- Prasad R, Shivay YS, Kumar D (2016) Interactions of Zinc with Other Nutrients in Soils and Plants - A Review. *Indian Journal of Fertilisers*. 12:16-26.
- Ramírez-Flores MR, Bello-Bello E, Rellán-Álvarez R, Sawers RJH, Olalde-Portugal V (2019) Inoculation with the mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregulares* modulates the relationship between root growth and nutrient content in maize (*Zea mays* ssp. *mays* L.). *Plant Direct*. 3:1-12. <https://doi.org/10.1002/pld3.192>
- Raij Bv (2017) *Fertilidade do solo e manejo de nutrientes*. International Plant Nutrition Institute, Piracicaba.
- Roriz M, Carvalho SMP, Castro PML, Vasconcelos MW (2020) Legume Biofortification and the Role of Plant Growth-Promoting Bacteria in a Sustainable Agricultural Era. *Agronomy*. 435:1-13. <https://doi.org/10.3390/agronomy10030435>

- Ruel MT, Alderman H (2013) Nutrition-sensitive interventions and programmes: how can they help to accelerate progress in improving maternal and child nutrition? *The Lancet*. 382:536-551. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60843-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60843-0)
- Sadana US, Takkar PN (1983) Effect of calcium and magnesium on ⁶⁵zinc absorption and translocation in rice seedlings. *Journal of Plant Nutrition*. 6:705-715. <https://doi.org/10.1080/01904168309363137>
- Sadeghzadeh B (2013) A review of zinc nutrition and plant breeding. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 13: 905-927. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162013005000072>
- Samreen T, Humaira, Shah HU, Ullah S, Javid M (2017) Zinc effect on growth rate, chlorophyll, protein and mineral contents of hydroponically grown mungbeans plant (*Vigna radiata*). *Arabian Journal of Chemistry*. 10:1802-1807. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.07.005>
- Sagardoy R, Vázquez S, Florez-Sarasa ID, Albacete A, Ribas-Carbó M, Flexas J, Abadía J, Morales F (2010) Stomatal and mesophyll conductances to CO₂ are the main limitations to photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*) plants grown with excess zinc. *New Phytologist*. 187:145–158. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03241.x>
- Saltzman A, Birol E, Oparinde A, Andersson MS, Asare-Marfo D, Diressie MT, Gonzalez G, Lividini K, Moursi M, Zeller M (2017) Availability, production, and consumption of crops biofortified by plant breeding: current evidence and future potential. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1390:104-114. <https://doi.org/10.1111/nyas.13314>
- Shi GR, Cai QS (2009) Photosynthetic and anatomic responses of peanut leaves to zinc stress. *Biologia Plantarum*. 53: 391-394. <https://doi.org/10.1007/s10535-009-0074-3>
- Sida-Arreola JP, Sánchez E, Ojeda-Barrios DL, Ávila-Quezada GD, Flores-Córdova MA, Márquez-Quiroz C, Reciado-Rangel P (2017) Can biofortification of zinc improve the antioxidant capacity and nutritional quality of beans? *Emirates Journal Food and Agriculture*. 29:237-241. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-04-367>
- Silva VM, Nardeli AJ, Mendes NAC, Rocha MM, Wilson L, Young SD, Broadley MR, White PJ, Reis AR (2021) Agronomic biofortification of cowpea with zinc: Variation in primary metabolism responses and grain nutritional quality among 29 diverse genotypes. *Plant Physiology and Biochemistry*. 162: 378-387. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.02.020>
- Sresty TVS, Madhava Rao KV (1999) Ultrastructural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cells of pigeonpea. *Environmental and Experimental Botany*. 41:3–13. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(98\)00034-3](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(98)00034-3)

- Suganya A, Saravanan A, Baskar M, Pandiyarajan P, Kavimani R (2020) Agronomic biofortification of maize (*Zea mays* L.) with zinc by using of graded levels of zinc in combination with zinc solubilizing bacteria and Arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Plant Nutrition*. 44:988-994. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1845383>
- Teixeira PC, Donagemma GK, Fontana A, Teixeira WG (2017) Manual de métodos de análise de solo. Brasília. 2017. Available online: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1085209/manual-de-metodos-de-analise-de-solo.pdf> (accessed on 22 January 2021)
- Tran BTT, Cavagnaro TR, Watts-Williams SJ (2019) Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation and soil zinc fertilisation affect the productivity and the bioavailability of zinc and iron in durum wheat. *Mycorrhiza*. 29:445-457. <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00911-4>
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2019). *World Population Prospects 2019: Highlights (ST/ESA/SER.A/423)*. Available via DIALOG. https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019_Highlights.pdf. Accessed 15 Jul 2021
- Wang C, Zhang SH, Wang PF, Hou J, Zhang WJ, Li W, Lin ZP (2009) The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings. *Chemosphere*. 75:1468–1476. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.02.033>
- Watts-Williams S, Patti AF, Cavagnaro TR (2013) Arbuscular mycorrhizas are beneficial under both deficient and toxic soil zinc conditions. *Plant Soil*. 371:299–312. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1670-8>
- Wessells KR, Brown KH (2012) Estimating the Global Prevalence of Zinc Deficiency: Results Based on Zinc Availability in National Food Supplies and the Prevalence of Stunting. *Plos One*. 7:1-11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050568>
- Welch RM, Graham RD, Cakmak I. *Linking Agricultural Production Practices to Improving Human Nutrition and Health*. 2013. Available online: (accessed on 11 January 2021).
- Valença AW, Bake A, Brouwer ID, Giller KE (2017) Agronomic biofortification of crops to fight hidden hunger in sub-Saharan Africa. *Global Food Security*. 12:8-14. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2016.12.001>
- Yadav R, Ror P, Rathore P, Ramakrishna W (2020) Bacteria from native soil in combination with arbuscular mycorrhizal fungi augment wheat yield and biofortification. *Plant Physiology and Biochemistry*. 150:222–233. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.02.039>
- Vassilev A, Nikolova A, Koleva L, Lidon F (2011) Effects of Excess Zn on Growth and Photosynthetic Performance of Young Bean Plants. *Journal of Phytology*. 3:58-62.

Yaseen MK, Hussain S (2020) Zinc-biofortified wheat required only a medium rate of soil zinc application to attain the targets of zinc biofortification. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 67:551-562. <https://doi.org/10.1080/03650340.2020.1739659>

Ying J, Li X, Wang N, Lan Z, He J, Bai Y (2017) Contrasting effects of nitrogen forms and soil pH on ammonia oxidizing microorganisms and their responses to long-term nitrogen fertilization in a typical steppe ecosystem. *Soil Biology & Biochemistry*. 107:10-18. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.12.023>

Zavala-Gonzalez EA, Escudero N, Lopez-Moya F, Aranda-Martinez A, Exposito A, Ricaño-Rodríguez J, Naranjo-Ortiz MA, Ramírez-Lepe M, Lopez-Llorca LV (2014) Some isolates of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* promote root growth and reduce flowering time of tomato. *Annals of Applied Biology*. 166:472–483. <https://doi.org/10.1111/aab.12199>

Conclusões Gerais

No presente estudo, comprovou-se que as fontes de Zn via foliar influenciam nos teores de Zn nos grãos de feijão, bem como nos demais nutrientes, principalmente quando aplicadas às fontes orgânicas, sendo, portanto, uma estratégia interessante na biofortificação do feijoeiro.

A aplicação de fontes orgânicas de Zn elevou os teores de Zn nos grãos, e promoveu menores reduções nas variáveis de produtividade, principalmente quando aplicado o Zn-EDTA. Além disso, a fonte de Zn-EDTA não provocou fitotoxidez nas plantas e acarretou aumentos nos teores da maioria dos nutrientes, credenciando essa fonte como grande potencial de melhorar a qualidade dos alimentos.

No presente estudo, também foi possível verificar que a aplicação isolada de Zn via foliar contribuem para os maiores teores de Zn nos grãos, em comparação a quando aplicada associado à adubação via solo. Além disso, verificamos que a inoculação com o microrganismo *P. chlamydosporia*, apesar de não ser eficiente no aumento dos teores de Zn nos grãos, contribuiu para elevar os teores de outros nutrientes como o N, K, S, Fe e Mn.

Apesar de comprovar no presente estudo que as fontes de Zn aplicadas via foliar elevam os teores desse nutriente nos grãos, mais estudos devem ser realizados, para compreender os mecanismos que o Zn-EDTA exerce na redução da fitotoxidez e no aumento de outros nutrientes pelas plantas, especialmente Zn e Fe, devido aos sérios problemas de saúde pública apresentados pela população que consome alimentos com baixos teores desses elementos. Estudos com o fungo *P. chlamydosporia* também devem ser aprofundados, principalmente utilizando diferentes tipos de solos e diferentes teores totais de Zn, visto que esse apresenta capacidade solubilizadora de nutrientes.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Resumo da Análise de Variância com Fonte de Variação, Graus de Liberdades e Quadrado Médio do experimento I

		NV	PG	PCG	Teor N	Teor P	Teor K	Teor S	Teor Ca	Teor Mg	Teor Zn	Teor Fe	Teor Mn
FV	GL	QM											
Fontes (F)	2	9,63333**	8,582624**	5,935812*	20,21829**	0,280212**	1,678449*	0,097884**	0,102798**	0,12764 ^{ns}	258,3895	1460,246**	1065,904**
Doses (D)	4	1,422917 ^{ns}	24,40161**	20,88927*	6,209277 ^{ns}	0,150088*	1,961899**	0,027294**	0,014777 ^{ns}	0,011972*	551,6781	37,70657 ^{ns}	67,13222**
F x D	8	2,738542**	2,970889**	2,930225*	4,723143 ^{ns}	0,123639 ^{ns}	0,25122 ^{ns}	0,015843*	0,018884 ^{ns}	0,003915 ^{ns}	44,5572	124,7326**	32,42461**
Resíduo	54	0,907895	0,8134	1,34373	3,455188	0,041887	0,35756	0,006008	0,014995	0,004115	9,7114	20,27881	6,372309
CV		9,13	5,38	4,71	5,26	6,2	5,77	6,72	9,75	6,44	7,02	9,06	12,35
		Conteúdo N	Conteúdo P	Conteúdo K	Conteúdo S	Conteúdo Ca	Conteúdo Mg	Conteúdo Zn	Conteúdo Fe	Conteúdo Mn			
FV	GL	QM											
Fontes (F)	2	16155,34 ^{ns}	1394,457**	9947,037**	282,2106**	328,6357**	96,41714**	473018,5**	2378300**	1482488**			
Doses (D)	4	36626**	527,6634**	3629,414**	152,0878**	124,0321**	66,43594**	192362,2**	102903,6**	28993,35**			
F x D	8	4612,204 ^{ns}	117,6287 ^{ns}	844,3401 ^{ns}	30,50578**	52,45513**	14,63005**	120785,2**	213396,1**	50048,18**			
Resíduo	54	5691,481	64,312224	554,9081	9,477959	16,75061	12,4504	14835,37	29862,72	8152,828			
CV		8,78	7,25	6,79	7,95	9,71	10,11	8,24	10,33	13,14			

^{ns}, ** e * : não significativo e significativo a 1 e a 5 % de probabilidade pelo teste F.

APÊNDICE B – Resumo da Análise de Variância com Fonte de Variação, Graus de Liberdade e Quadrado Médio do experimento II

FV	GL	NV	PG	PCG	<i>m</i> MSR	Teor N	Teor P	Teor K	Teor Ca	Teor Mg	Teor S	Teor Zn
		QM										
Micro	1	16,200 ^{ns}	40,143 ^{ns}	27,930 [*]	9,119 ^{ns}	60,239 ^{**}	0,292 ^{ns}	20,777 ^{**}	0,023 ^{ns}	0,009 ^{ns}	2,835 [*]	13,670 ^{ns}
Zn-solo	1	5,000 ^{ns}	463,925 ^{**}	10,767 ^{ns}	2,254 ^{ns}	32,742 [*]	3,960 ^{**}	14,492 ^{**}	0,968 ^{**}	0,313 ^{**}	11,997 ^{**}	70,857 ^{ns}
Dose Zn foliar	4	71,718 ^{**}	167,038 ^{**}	16,872 [*]	10,097 [*]	21,548 [*]	2,816 ^{**}	4,047 [*]	0,110 ^{ns}	0,078 [*]	3,463 ^{**}	5305,647 ^{**}
Micro x Zn solo	1	11,250 ^{ns}	33,553 ^{ns}	1,845 ^{ns}	0,207 ^{ns}	27,031 ^{ns}	0,273 ^{ns}	6,3118 [*]	0,083 ^{ns}	0,014 ^{ns}	4,569 ^{**}	19,276 ^{ns}
Micro x dose Zn foliar	4	18,106 ^{ns}	42,916 [*]	7,895 ^{ns}	15,805 ^{**}	2,888 ^{ns}	0,800 ^{ns}	5,578 ^{**}	0,105 ^{ns}	0,062 ^{ns}	2,631 ^{**}	72,970 ^{ns}
Zn-solo x dose Zn foliar	4	19,718 ^{**}	24,593 ^{ns}	3,175 ^{ns}	11,403 [*]	4,366 ^{ns}	0,325 ^{ns}	0,204 ^{ns}	0,054 ^{ns}	0,022 ^{ns}	0,547 ^{ns}	300,235 ^{**}
Micro x Zn solo x dose Zn foliar	4	36,406 ^{**}	125,844 ^{**}	1,180 ^{ns}	12,744 [*]	14,467 ^{ns}	0,904 ^{ns}	3,528 [*]	0,163 ^{ns}	0,022 ^{ns}	0,515 ^{ns}	30,172 ^{ns}
Resíduo	57	4,953	12,078	5,223	3,825	7,366	0,428	1,148	0,082	0,026	0,612	38,573
CV		13,00	18,85	11,21	18,41	7,17	14,62	11,02	18,26	12,92	11,28	13,76
FV	GL	Teor Fe	Teor Mn	P solo	K solo	Ca solo	Mg solo	Zn solo	Fe solo	Mn solo	Cu solo	pH solo
		QM										
Micro	1	89,063 ^{ns}	15,1181 ^{ns}	1003,377 ^{**}	136,764 [*]	0,135 ^{ns}	0,00036 ^{ns}	1,161 ^{ns}	2420,220 [*]	13,563 ^{**}	0,062 ^{ns}	0,144 [*]
Zn-solo	1	11070,159 ^{**}	36,788 [*]	282,075 ^{ns}	205,248 ^{**}	0,015 ^{ns}	0,00171 [*]	62,163 ^{**}	36,072 ^{ns}	4,195 ^{ns}	0,141 ^{ns}	0,050 ^{ns}
Dose Zn foliar	4	396,830 [*]	19,894 ^{ns}	189,377 ^{ns}	22,371 ^{ns}	0,015 ^{ns}	0,00003 ^{ns}	18,193 ^{**}	139,272 ^{ns}	0,476 ^{ns}	0,036 ^{ns}	0,027 ^{ns}
Micro x Zn solo	1	57,647 ^{ns}	11,989 ^{ns}	686,440 [*]	0,776 ^{ns}	0,001 ^{ns}	0,00001 ^{ns}	0,010 ^{ns}	300,7001 ^{ns}	0,224 ^{ns}	0,056 ^{ns}	0,008 ^{ns}
Micro x dose Zn foliar	4	420,218 [*]	13,733 ^{ns}	61,928 ^{ns}	26,391 ^{ns}	0,008 ^{ns}	0,00002 ^{ns}	0,314 ^{ns}	251,753 ^{ns}	0,417 ^{ns}	0,058 ^{ns}	0,014 ^{ns}
Zn-solo x dose Zn foliar	4	36,3853 ^{ns}	8,361 ^{ns}	102,943 ^{ns}	20,046 ^{ns}	0,051 ^{ns}	0,00013 ^{ns}	0,097 ^{ns}	265,391 ^{ns}	2,638 ^{ns}	0,038 ^{ns}	0,057 [*]
Micro x Zn solo x dose Zn foliar	4	624,260 ^{**}	36,831 ^{**}	104,957 ^{ns}	26,815 ^{ns}	0,053 ^{ns}	0,00056 ^{ns}	0,247 ^{ns}	261,208 ^{ns}	0,333 ^{ns}	0,072 ^{ns}	0,002 ^{ns}
Resíduo	57	123,619	8,689	105,315	25,337 ^{ns}	0,05	0,00035	0,487	388,954	1,739	0,088	0,02
CV		14,44	16,12	13,14	12,85	11,53	13,16	20,96	18,38	16,72	19,69	2,36

^{ns}, ^{**} e ^{*}: não significativo e significativo a 1 e a 5 % de probabilidade pelo teste