UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

RIVIANE MARIA ALBUQUERQUE DONHA

Fungos micorrízicos arbusculares e nível de potássio no solo na absorção de ^{137}césio e efeitos na resposta antioxidativa do feijoeiro

Piracicaba
2014

RIVIANE MARIA ALBUQUERQUE DONHA

Fungos micorrízicos arbusculares e nível de potássio no solo na absorção de ^{137}césio e efeitos na resposta antioxidativa do feijoeiro

Versão revisada de acordo com Resolução CoPGr 6018 de 2011

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

Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. José Lavres Júnior

Piracicaba

2014

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

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Donha, Riviane Maria Albuquerque

Fungos micorrízicos arbusculares e nível de potássio no solo na absorção de ^{137}césio e efeitos na resposta antioxidativa do feijoeiro / Riviane Maria Albuquerque Donha; orientador José Lavres Junior. - - versão revisada de acordo com Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2014.
90 f.: il.

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

1. Enzimas oxirredutoras 2. Feijão 3. Metais alcalinos 4. Nutrientes minerais do solo 5. Poluição do solo I. Título

CDU 633.33: 577.152.1

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ser onipresente em minha vida.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, da Universidade de São Paulo pela oportunidade do desenvolvimento deste trabalho.

À Capes pelo financiamento deste trabalho e concessão de bolsa de estudo.

Ao Professor José Lavres Junior pela orientação e incentivo na atividade científica.

Ao Professor Ricardo Antunes de Azevedo pelo apoio técnico e pessoal, disponibilizando materiais e o seu laboratório para a realização de análises deste experimento.

Ao Professor Antônio Enedi Boaretto, pela disponibilização de material contaminado com ^{137}Cs para a realização deste trabalho.

Ao Professor Virgílio Franco do Nascimento Filho por acompanhar o trabalho e disponibilizar seu laboratório para a realização das análises durante todo o experimento.

Aos funcionários do Centro de Energia Nuclear na Agricultura pelos esclarecimentos e amizade durante a realização do trabalho em especial, à técnica do Laboratório de Nutrição de Plantas, a Cleusa Pereira Cabral, ao técnico Eduardo de Almeida do Laboratório de Instrumentação Nuclear e a técnica Denise de Lourdes Colombo Mescolotti do Laboratório de Microbiologia do Solo, do Departamento de Ciência do Solo, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo.

Aos colegas de pós-graduação que tanto ajudaram no dia a dia para a finalização do trabalho Felipe Furlan, Dra. Cristiane Prezotto Silveira, Fernando Giovannetti de Macedo, André Luiz Franscisco, Elcio Ferreira dos Santos, Bruno Zanchim, Fabiana Manarelli, Raphael Garrone, Aline Grella e Keyla Boralli.

A todos que de alguma forma ajudou para a realização deste trabalho, minha enorme gratidão.

RESUMO

DONHA, R. M. A. **Fungos micorrízicos arbusculares e nível de potássio no solo na absorção de ^{137}césio e efeitos na resposta antioxidativa do feijoeiro.** 2014. 90 f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

Associações entre fungos micorrízicos arbusculares e plantas hospedeiras podem transferir césio (^{137}Cs) para o vegetal. A mobilidade do césio (Cs^+) nos solos e sua similaridade química com o potássio (K^+) constituem a principal ameaça à contaminação da vegetação pelo radionuclídeo. Foi realizado experimento com plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) variedade Iapar Tangará, com o objetivo de avaliar o coeficiente de transferência direta do ^{137}Cs do solo para a planta, a absorção, o transporte e o acúmulo do radionuclídeo ^{137}Cs nas folhas, caule e raízes das plantas, a produção de massa seca do feijoeiro, o diâmetro do caule das plantas, a peroxidação lipídica, avaliar as enzimas do sistema antioxidativo (catalase, ascorbato peroxidase, glutationa redutase e superóxido dismutase), o teor de clorofila em unidade SPAD, em função dos efeitos da: (I) inoculação ou não com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e (II) do nível de potássio em quatro tipos de solos: Nitossolo, Chernossolo, Argissolo e Gleissolo. O delineamento experimental foi o de blocos completos ao acaso, utilizando esquema fatorial de quatro tipos de solo x dois níveis de potássio x presença e ausência de micorrizas com três repetições, totalizando 48 unidades experimentais. Foi calculada a atividade específica do ^{137}Cs no solo e na planta e, por fim, a determinação do coeficiente de transferência direta do ^{137}Cs do solo para o vegetal. Nas plantas cultivadas em Argissolo, Chernossolo e Gleissolo, foi observada maior atividade específica de ^{137}Cs nas raízes do feijão em relação às folhas e ao caule, na condição de baixo nível de potássio e ausência de inoculação de FMA. O coeficiente de transferência solo-planta do ^{137}Cs e a atividade na planta foram maiores no Argissolo e Nitossolo, com baixo teor de potássio e sem a presença de FMA. Constatou-se interação entre os tipos de solo, teor de K e presença de FMA quanto à peroxidação de lipídeos, sendo que houve maior dano nas folhas das plantas cultivadas no Chernossolo, principalmente no tratamento sem aplicação de FMA e com baixo teor de K. Não foi observada interação entre os solos e a inoculação com FMA para a quantificação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nas folhas, todavia, constatou-se efeito para os teores de K no solo. Quanto ao sistema enzimático antioxidativo, a atividade da catalase, glutationa redutase, ascorbato peroxidase e superóxido dismutase houve interação entre os tipos de solo, níveis de K e presença ou ausência de FMA. Maior atividade da superóxido dismutase (SOD) foi demonstrada nas plantas cultivadas no Argissolo, sem a presença de FMA, também independente dos teores de K. O aumento nos teores de K nos solos não impediu a transferência direta de ^{137}Cs do solo para as plantas, porém, reduziu a absorção do nuclídeo pelo feijoeiro. O tipo de solo influenciou na disponibilidade de ^{137}Cs às plantas de feijão e por sua vez, nas atividades das enzimas do sistema de defesa da planta. A inoculação com os FMA não foi efetiva para evitar a transferência e a absorção de ^{137}Cs pelas plantas.

Palavras-chave: Atividade específica. Coeficiente de transferência. *Phaseolus vulgaris*. Espécies reativas de oxigênio.

ABSTRACT

DONHA, R. M. A. **Arbuscular mycorrhizal fungi and soil potassium supply on the ^{137}césio uptake and its effects on the antioxidative response of common bean**. 2014. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

Associations between arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and host plants might transfer cesium (^{137}Cs) for the plant. The mobility of cesium (Cs^+) in soils and their chemical similarity to potassium (K^+) are the main threat to contamination of vegetation by radionuclide. Experiment with common bean *(Phaseolus vulgaris* L.) variety Iapar Tangara was conducted with the objective of evaluating the coefficient of direct transfer of ^{137}Cs from soil to the plant, absorption, transport and accumulation of the radionuclide ^{137}Cs in the leaves, stem and plant roots, the dry mass of bean stem diameter of plants, lipid peroxidation, evaluate the antioxidant system enzymes (catalase, ascorbate peroxidase, glutathione reductase and superoxide dismutase), the content of chlorophyll SPAD unit, due to the effects of: (I) or without inoculation with mycorrhizal fungi (AMF) and (II) the level of potassium in four types of soil: Nitosol Chernosol, Alfisol and Ultisol. The experimental design was a randomized complete block, factorial design using four soil types x two levels of potassium x presence and absence of mycorrhizae with three replications, totaling 48 experimental units. The specific activity of ^{137}Cs in soil and plant and finally, the coefficient of ^{137}Cs direct transfer from soil to plant was calculated. In plants grown in Alfisol and Ultisol Chernosol, higher specific activity of ^{137}Cs in bean roots compared to the leaves and the stem was observed under the condition of low potassium and absence of AMF inoculation. The coefficient of soil-plant transfer of ^{137}Cs activity and yield were higher in the Ultisol and Alfisol with low potassium and without the presence of AMF. Found an interaction between soil types, K content and the presence of AMF as to lipid peroxidation, and there was more damage on the leaves of plants grown at Chernosol, primarily in the treatment without application of AMF and low in K. No interaction between soil and AMF inoculation for quantification of hydrogen peroxide (H_2O_2) in the leaves was observed, however, it was found to effect the K in the soil. As for the antioxidant enzyme system, the activity of catalase, glutathione reductase, ascorbate peroxidase and superoxide dismutase was no interaction between soil types, levels of K and the presence or absence of AMF. Increased activity of superoxide dismutase (SOD) has been demonstrated in plants grown in Ultisol without the presence of AMF, independent of the levels of K. The increase of K in the soil did not prevent the direct transfer of ^{137}Cs from soil to plants, however, reduced the uptake of the nuclide by bean. Soil type influenced the availability of ^{137}Cs to bean plants and in turn, the enzyme activities of the plant defense system. Inoculation with AMF was not effective to prevent the transfer and uptake of ^{137}Cs by plants.

Keywords: Specific activity. Transfer coefficient. *Phaseolus vulgaris*. Reactive oxygen species.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Raízes colonizadas com as espécies de fungos micorrízicos arbusculares *Glomus clarum* e *G.etunicatum* nas plantas de feijão variedade Iapar Tangará nos solos contaminados com ^{137}Cs, mostrando as estruturas dos fungos: hifas, vesículas, arbúsculos e esporos. A1: Argissolo em menor nível de K no solo e A2: Argissolo em maior nível de K no solo; B1: Chernossolo em menor nível de K no solo e B2: Chernossolo em maior nível de K no solo; C1: Gleissolo em menor nível de K no solo e C2: Gleissolo em maior nível de K no solo; D1: Nitossolo em menor nível de K no solo e D2: Nitossolo em maior nível de K no solo.....45

Figura 2 - Teor de clorofila em unidades SPAD nas plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função do nível de K e presença ou ausência de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo.....47

Figura 3 - Produção de matéria seca das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas em solos contaminados com ^{137}Cs, em função dos tipos de solo e na média da inoculação ou não com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (A) e presença ou ausência de inoculação com FMA, na média dos tipos de solo (B). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: S/M: na ausência de inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e C/M: na presença de inoculação de fungos micorrízicos arbusculares.....49

Figura 4 - Diâmetro do caule das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas em solo contaminados com ^{137}Cs, em função dos níveis de K no solo. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em K0: menor nível de potássio no solo e K1: maior nível de potássio no solo.....50

Figura 5 - Atividade específica de ^{137}Cs nas folhas das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função dos níveis de K no solo. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0: menor nível de potássio no solo e K1: maior nível de potássio no solo.....52

Figura 6 - Atividade específica de ^{137}Cs no caule das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função do nível de K no solo. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0: menor nível de potássio no solo; K1: maior nível de potássio no solo.....53

Figura 7 - Atividade específica do ^{137}Cs na raiz das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função das propriedades do solo, nível de K no solo e com a presença ou ausência de inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0: menor nível de potássio no solo; K1: maior nível de potássio no solo.....54

Figura 8 - Coeficiente de transferência (FTsp) de ^{137}Cs do solo para as plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função da presença ou ausência de inoculação de FMA. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: baixo nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: baixo nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo.....57

Figura 9 - Teor de potássio (g kg^{-1}) nas folhas das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função da presença ou ausência de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: S/M na ausência de inoculação de FMA no solo; K1: com a presença de inoculação FMA no solo.....60

Figura 10 - Teor de potássio (g kg^{-1}) nas folhas das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função do nível de K no solo. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0: baixo nível de potássio no solo; K1: alto nível de no solo.....61

Figura 11 - Teor de K no caule das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função do nível de potássio e presença ou ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: baixo nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: baixo nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo.....62

Figura 12 - Teor de potássio nas raízes das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função do nível de potássio e presença ou ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo.....64

Figura 13 - Produção de malondialdeído (MDA) nas folhas das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, a partir do cultivo nos diferentes tipos de solos, níveis de potássio e ausência ou presença de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de potássio na presença de inoculação FMA no solo.....66

Figura 14 - Produção de malondialdeído (MDA) nas raízes das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, a partir do cultivo nos diferentes tipos de solos, níveis de potássio e ausência ou presença de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de potássio na presença de inoculação FMA no solo.....68

Figura 15 - Quantificação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nas folhas das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, a partir do cultivo nos diferentes tipos de solos, nível de potássio e ausência ou presença de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em µmol g^{-1} de massa fresca. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo.....70

Figura 16 - Quantificação de peróxido de hidrogênio nas raízes das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, a partir do cultivo nos diferentes tipos de solos e níveis de potássio em µmol g^{-1} de massa fresca. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo.....71

Figura 17 - Atividade da enzima Catalase (CAT) das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função do tipo de solo utilizado para cultivo, níveis de K e ausência ou presença de inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no solo. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de

potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo.....73

Figura 18 - Atividade da Ascorbato peroxidase (APX) das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função do tipo de solo, níveis de K e presença ou ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo.....75

Figura 19 - Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função do tipo de solo utilizado para cultivo, níveis de K e ausência ou presença de inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no solo. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo.....77

Figura 20 - Atividade da enzima glutationa redutase (GR) das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função do tipo de solo utilizado para cultivo, níveis de K e ausência ou presença de inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no solo. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo.....79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise mineralógica inicial dos solos estudados (adaptado de ROQUE et al., 2003).....34

Tabela 2 - Resultados da interpretação dos difratogramas de raio-X (adaptado de ROQUE et al.,2003).....34

Tabela 3 - Potencial de interceptação do radiocesio (PIR) e teor de argila em cada solo contaminado com ^{137}Cs (adaptado de ROQUE et al., 2003).....34

Tabela 4 - Análise física inicial dos solos (adaptado de ROQUE et al., 2003).....35

Tabela 5 - Análises químicas dos macronutrientes nos solos realizadas antes da implantação dos tratamentos em 2012, nas condições de baixo e alto nível de K.....36

Tabela 6 - Atividade específica de ^{137}Cs nos solos utilizados no experimento em março de 2012.....37

Tabela 7 - Porcentagem de colonização de fungos micorrízicos arbusculares nas raízes do feijoeiro (no estágio fenológico R6) cultivado nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função da inoculação.....44

SUMARIO

1. INTRODUÇÃO.....19

2. HIPÓTESE 19

3. OBJETIVOS.....19

3.1 Objetivo geral 19

3.2 Objetivos específicos.....19

4. REVISÃO DA LITERATURA 20

4.1 Cultura do feijão 20

4.2 ^{137}césio no solo e planta.....21

4.3 Potássio no solo e na planta.....24

4.4 Competição de ^{137}Cs e K no solo e na planta 25

4.5 Plantas e associações micorrízicas 26

4.6 Fitoextração de metais por fungos micorrízicos arbusculares.....27

4.7 Mecanismos de defesa ao estresse oxidativo devido à exposição a metais.....28

4.8 Atividade enzimática na presença de metais alcalinos.....29

5. MATERIAL E MÉTODOS.....31

5.1 Local, período e espécie vegetal.....31

5.2 Instalação, desenvolvimento do experimento e delineamento estatístico 31

5.3 Análise química dos solos 33

5.4 Análise química do teor de potássio na raiz e parte aérea e contagem do ^{137}césio 35

5.5 Cálculos de atividade específica do ^{137}Cs no solo e na planta.....35

5.6 Determinação do coeficiente de transferência direta do ^{137}Cs do solo para a planta 36

5.7 Produção de massa de matéria seca das plantas 36

5.8. Índice SPAD.....36

5.9. Peroxidação de lipídeos.....37

5.10 Quantificações de H_2O_2.....37

5.11 Método de extração de proteínas.....37

5.12 Determinação de proteínas 38

5.13 Enzimas antioxidantes em folha de feijão 38

5.13.1. Catalase (CAT) 38

5.13.2. Glutationa redutase (GR) 38

5.13.3. Atividade da superóxido desmutase – SOD 39

5.13.4 Ascorbato peroxidase (APX) 39

5.14 Análise de colonização de fungo micorrízico arbuscular nas raízes 39

5.15. Análise dos resultados 40

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO 41

6.1 Inoculação de FMA nos solos contaminados com ^{137}Cs 41

6.2 Teor de clorofila em unidades SPAD, produção de massa seca e diâmetro do caule das plantas de feijão 43

6.3 Atividade específica de ^{137}césio nos órgãos vegetais das plantas de feijão 48

6.4 Teor de potássio nas plantas de feijão cultivadas em contaminados com ^{137}Cs 60

6.5 Quantificação de malondialdeído (MDA) em espectrofotômetro nas folhas e raízes de feijão cultivado em solos contaminado com ^{137}Cs 66

6.6 Quantificação de peróxido de hidrogênio nas folhas e raízes de feijão cultivado em solo contaminado com ^{137}Cs 70

6.7 Atividade da enzima catalase em espectrofotômetro 73

6.8 Atividade da ascorbato peroxidase em espectrofotômetro 75

6.9 Atividade da superóxido dismutase em espectrofotômetro 77

6.10 Atividade da glutationa redutase em espectrofotômetro 79

7. CONCLUSÕES 82

REFERÊNCIAS 83

1. INTRODUÇÃO

O radiocésio compreende dois dos radionuclídeos artificiais mais importantes produzidos por fissão nuclear. A contaminação dos solos com césio representa um impacto em longo prazo, devido à sua longa meia-vida física (30 anos para ^{137}Cs e 2 anos para ^{134}Cs), bem como pela sua elevada disponibilidade biológica. Pesquisas referentes ao comportamento de adsorção e dessorção do ^{137}C sem solos tropicais ainda são escassos em virtude da baixa contaminação, característica dessas latitudes. As características dos solos tropicais, como o pH, baixa capacidade de troca catiônica e baixo teor de argila 2:1 afetam a mobilidade de ^{137}Cs com menor adsorção no solo e maior disponibilidade para as plantas (ROQUE et al., 1998).

A mobilidade do césio (Cs) nos solos e sua similaridade química com o potássio (K^+), elemento essencial para as plantas, constituem a principal ameaça à contaminação da vegetação. Devido às semelhanças físico-químicas entre o Cs e o K, os elementos podem ser facilmente absorvidos pelas plantas e, assim, o Cs consegue entrar na cadeia alimentar, sendo este efeito mais prejudicial com a ocorrência de elementos radioativos, tais como ^{137}Cs (KANTER et al., 2010).

Os processos rizosféricos envolvendo microrganismos do solo são conhecidos por influenciarem a absorção de vários elementos químicos, de forma que aplicações de técnicas de fitorremediação baseadas em associação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) podem auxiliar na descontaminação de radionuclídeos. Vinichuk et al. (2010) descreveram a ação dos fungos micorrízicos arbusculares no aumento da absorção de césio (^{137}Cs), bem como de metais alcalinos como o K e rubídio (Rb), em plantas hospedeiras, de forma que a absorção do ^{137}Cs pode ser reduzida com a adição de Rb e K.

A exposição da planta a fatores bióticos e abióticos podem influenciar a formação de subprodutos reativos e potencialmente tóxicos conhecidos como espécies reativas de oxigênio (ROS) durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular. A presença do metal alcalino ^{137}Cs pode ser considerado um fator portanto de interesse científico avaliar seu potencial para formação de ROS e a tolerância à exposição ao ^{137}Cs pelo sistema de defesa da cultura do feijão. Os mecanismos de defesa da planta são responsáveis pela função de reparar as biomoléculas oxidadas pelo estresse oxidativo causado pelas espécies reativas de oxigênio (ânion radical superóxido O_2^-, peróxido de hidrogênio H_2O_2 e radical hidroxila HO^-, etc.) na membrana celular.

Em geral, as pesquisas em ciências agrárias com o uso do césio (^{137}Cs ou ^{134}Cs) abordam os seguintes focos: (I) mecanismos de absorção do césio pelas plantas, (II) regulação da absorção de césio em função de algumas características morfológicas, por exemplo, geometria e arquitetura radicular; (III) teores de potássio no solo e associações micorrízicas; e (IV) formulação de medidas agrícolas para mitigação e remediação de solos contaminados (GYURICZA et al., 2010; ZHU; SMOLDERS, 2000).

2. HIPÓTESE

Partindo do princípio que a presença de fungos micorrízicos arbusculares aumenta a capacidade de absorção de elementos disponíveis na rizosfera, bem como considerando o efeito interiônico de inibição competitiva entre o césio e o potássio, a hipótese desta pesquisa foi que: (I) a absorção e o transporte de ^{137}Cs são menores em solos com altos teores de potássio; (II) as plantas micorrizadas podem reter mais ^{137}Cs no sistema radicular quando cultivadas em solos com menores teores de potássio; (III) ou ambos os fatores, ou seja o transporte a longa distância e o acúmulo no feijoeiro serão menores nas plantas micorrizadas e cultivadas em solos com altos teores de potássio, em função da maior compartimentação do Cs na associação “raiz-hifas”, na cultura de feijão, espécie Iapar Tangará do grupo carioca.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo do presente estudo foi avaliar o acúmulo, o transporte de ^{137}césio e a resposta antioxidativa em plantas de feijão em função: (I) da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares ou plantas não inoculadas, bem como (II) do menor e maior nível de potássio no solo e (III) em função das propriedades químicas e físicas dos quatro tipos de solos (Nitossolo, Chernossolo, Argissolo e Gleissolo).

3.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos do plano de pesquisa foram:

1) Avaliar a absorção, o transporte e o acúmulo de césio pelas plantas, na presença e ausência de fungos micorrízicos arbusculares, em função das propriedades químicas e físicas dos solos.
2) Avaliação da produção de massa de matéria seca da planta, diâmetro do caule da planta e teor de clorofila, por meio do índice SPAD.
3) Determinar o coeficiente de transferência direta do ^{137}Cs do solo para planta.
4) Avaliar a peroxidação lipídica e quantificação de peróxido de hidrogênio pela absorção do radioisótopo ^{137}Cs em função dos níveis de potássio no solo e pela presença ou ausência de micorrizas arbusculares.
5) Avaliar a resposta enzimática antioxidativa pela absorção do radioisótopo ^{137}Cs em função dos níveis de potássio no solo e pela presença ou ausência de micorrizas arbusculares.
6) Avaliar o efeito de concentração de potássio no solo na absorção e transporte de ^{137}Cs na planta em função da presença e ausência de fungos micorrízicos arbusculares.

4. REVISÃO DA LITERATURA

4.1 Cultura do Feijão

A cultura do feijão faz parte dos sistemas produtivos dos pequenos e médios produtores com os gêneros *Phaseolus* e *Vigna*. O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a espécie mais cultivada entre as demais do gênero *Phaseolus* com 95% da produção mundial, sendo considerada uma planta de grande importância para a alimentação da população brasileira (ASSIS SILVA et al., 2011).

Sua posição taxonômica é na subdivisão: Angiospermae, classe: Dicotyldoneae, Ordem: Rosales, Família: Fabaceae, Subfamília: Faboideae (Papilioideae), Tribo: Phaseoleae, Gênero: Phaseolus, Espécie: *Phaseolus vulgares* L.

O gênero *Phaseolus* contêm em média 55 espécies, com apenas cinco sendo cultivadas: o feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.); o feijão de lima (*P. lunatus* L.); o *P. polyanthus* L.; o feijão Ayocote (*P. coccineus* L.) e o feijão tepari (*P. acutifolius* L.). É uma das diversas espécies de leguminosas do Novo Mundo que se originou e disseminou no norte do México, através da América Central e os Andes ao noroeste da Argentina (San Luis) (BROUGHTON et al., 2003).

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é cultivado nas mais variadas condições edafoclimáticas e em diferentes épocas e sistemas de cultivo (FARIA et al., 2009). É cultivado em sistemas de produção no cultivo solteiro, consorciado e intercalado, sendo cultivado em três safras anuais. Além de ser uma leguminosa importante ao consumo humano, também é uma cultura que pode ser utilizada para diversificação de renda em propriedades rurais (SILVA; SILVEIRA, 2004).

A cultura do feijão comum tem merecido grande destaque no cenário nacional e internacional, suprindo as necessidades dos consumidores como fonte básica de proteínas e calorias (BOTELHO et al., 2010), sendo considerado um produto de destacada importância nutricional, econômica e social (MESQUITA et al., 2007).

4.2 Isótopo ^{137}césio no solo e planta

Em 26 de abril de 1986, ocorreu o mais grave acidente nuclear da história, em Chernobyl, na atual Ucrânia, assim com em 13 de setembro de 1987, uma cápsula de ^{137}césio, abandonada há 2 anos nos escombros do antigo Instituto Goiano de Radiologia (IGR) – desativado depois de sofrer uma ação de despejo – foi removida por dois sucateiros, violada e vendida como ferro-velho assim como (Xavier et al., 2007). Esses acidentes despertaram o interesse pelo estudo do radiocésio e seu comportamento no solo e na planta, bem como os efeitos nos seres humanos.

O césio (Cs) é um metal alcalino do grupo 1A, na classificação periódica dos elementos com simbologia Cs e número atômico 55. Os oligoelementos alcalinos do subgrupo 1A como Li, Rb, Cs apresentam a característica em comum de um único elétron no nível de energia externa o que resulta em um comportamento químico altamente reativo (KABATA PENDIAS; PENDIAS, 2000).

Com somente um isótopo natural estável o ^{133}Cs, os radioisótopos mais relevantes são ^{134}Cs e ^{137}Cs produzidos por fontes antropogênicas, os quais tornam-se disponíveis para as plantas e organismos do solo (WHITE; BROADLEY, 2000). Em termos de radiação biológica, o ^{137}Cs é um dos isótopos mais perigosos, sendo um elemento com elevada mobilidade em sistemas biológicos (ZHIYANSKI et al., 2008). Foi introduzido no ambiente terrestre por meio de testes de armas nucleares, descarga autorizada de resíduos nucleares e lançamento acidental de instalações nucleares, como o acidente de Chernobyl, em abril de 1986 (ZHU; SMOLDERS, 2000).

O ^{137}Cs uma vez sendo introduzido no ambiente, é depositado sobre o solo, tornando-se disponível para as plantas e organismos do solo, assim sendo distribuído dentro da cadeia alimentar (SREENIVASA et al., 2012). A contaminação do solo com Cs radioativo ainda é um problema não resolvido em muitas partes do mundo, e que o conhecimento sobre a absorção de césio será importante para a elaboração de estratégias eficazes e desenvolvimento de técnicas, tais como contramedidas agrícolas e fitorremediação, para minimizar a transferência de césio radioativo do solo para seres humanos (ZHU; SMOLDERS, 2000).

Durante a absorção de elementos minerais através do sistema radicular, as plantas podem não ser capazes de distinguir os isótopos quimicamente semelhantes, os elementos essenciais junto com ^{226}Ra, ^{137}Cs, ^{40}K e ^{90}Sr são transferidos para diferentes partes de plantas a partir de solo (JOSHY et al., 2011). No entanto, poucos resultados estão disponíveis acerca

da transferência de^{137}C s no solo e a absorção pelos vegetais em ecossistemas tropicais e subtropicais (MONIRA et al., 2005; SANDEEP et al., 2009).

Há poucos estudos abordando a absorção, bem como o transporte e a redistribuição do radionuclídeo ^{137}Cs nas plantas em solos tropicais. A absorção pela planta dos elementos não essenciais demonstra o comportamento dos elementos essenciais análogos, por exemplo, K por Cs e Rb, e Ca por Sr e Ba (HURTEVENT et al., 2013). O^{137}C s se mostra semelhante aos demais cátions inorgânicos monovalentes, tais como amônio (NH_4^+) e os elementos alcalinos (Na, K, Rb e Cs).

O ^{137}Cs é um poluente radioativo de grande preocupação ambiental, sendo que os estudos científicos deste metal alcalino tem apresentado enfoque quanto à descontaminação do solo e avaliação da eficiência das plantas na fitorremediação deste nuclídeo. As abordagens científicas e os estudos referentes à contaminação de plantas tropicais pelo ^{137}Cs também são de grande preocupação, visto que estas espécies não seguem necessariamente o mesmo padrão daquelas de clima temperado (ANJOS et al., 2009). Desta forma, é interessante avaliar o comportamento de ^{137}Cs e seu efeito para a nutrição das plantas em solos tropicais.

Os estudos têm como foco a identificação de contramedidas eficazes para reduzir a transferência do radiocésio (^{137}Cs e ^{134}Cs) para o sistema solo-planta. Uma medida seria a remediação eficaz, em que um fitorremediador de potencial agrícola deve ter a capacidade de acumular o Cs nas partes aéreas (KANG et al., 2012). No entanto, vários fatores parecem ser de suma importância na eventual transferência de radiocésio do solo para as plantas (SANDEEP; MANJAIAH, 2008).

A disponibilidade do ^{137}Cs e a absorção pelo vegetal são fortemente influenciadas pelas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, além das características da própria planta intervir na transferência de Cs do solo (MASSAS et al., 2010). Segundo Chari et al., 2012, as informações referentes à aquisição do ^{137}Cs por espécies de plantas leguminosas ainda são limitadas, portanto este estudo busca maiores resultados em relação à família *Fabaceae.*

A atividade de césio na planta pode apresentar variação entre as espécies devido as diferenças no padrão de enraizamento, grau de micorrização, as taxas de exsudação de compostos orgânicos (ácidos orgânicos aniônicos, compostos fenólicos, prótons, mucilagens), características de absorção da superfície radicular, etc. (ZHU, 2001). Além disso, a transferência do ^{137}Cs na cadeia alimentar depende fortemente da composição do solo e do comportamento de migração de ^{137}Cs no solo.

A maior concentração de ^{137}Cs é demonstrada na camada superficial de 0-15 cm com pequena quantidade abaixo de 35 cm de solo, este comportamento tem como principal causa as proporções típicas de silte e argila e a elevada quantidade de matéria orgânica, normalmente encontrados nos solos equatoriais (HANDLA et al., 2008). A presença da matéria orgânica do solo pode ter um efeito complexo sobre a mobilidade de ^{137}Cs no solo, pois oferece sítios de adsorção não específicos, ou interfere com a absorção de minerais de argila (GRI et al., 2000)

Em relação aos solos tropicais, a partir do predomínio de minerais de argila 1:1 e óxidos de ferro possuem há um baixo potencial de interceptação de ^{137}Cs com menor adsorção portanto o elemento está disponível na solução do solo para absorção das plantas, o teor de silte dos solos foi observado como um fator de impedimento da absorção de ^{137}Cs (ROQUE, 2003).

A influência de importantes propriedades do solo na capacidade de transferência do césio ocorre principalmente devido ao tipo de mineral argila e sua quantidade, teor de matéria orgânica, pH, teor de amônio e teor de potássio (LIVENS; LOVELAND, 1988). A diferença de atividade específica de ^{137}Cs nos solos tropicais pode ser explicada devido os solos com predominância em argilominerais 2:1 apresentam maior adsorção em relação aos solos com predominância de argilo minerais 1:1 (ROQUE, 2003).

A relação do césio com o solo, sua absorção e transporte na planta são importantes para a contagem da atividade específica na raiz, caule e nas folhas. Em experimento avaliando o cultivo de trigo em solução nutritiva contendo ^{134}Cs, foi demonstrado maior o coeficiente de transferência em partes recém formadas da raiz principal e nas folhas em expansão, comportamento diferente do apresentado por outros metais alcalinos (MINDER; FELLER, 2003).

Monira et al. (2005) demonstraram na cultura de trigo cultivado em solo contaminado com ^{137}Cs, que houve menor transporte de ^{137}Cs e baixa atividade nos grãos, com a maior atividade nas raízes das plantas. Diferentes partes da planta apresentam capacidades distintas de acumular ^{137}Cs. Do ponto de vista fisiológico, as determinações das atividades de ^{137}Cs em plantas podem ser usadas para entender os processos de transporte e de acumulação nos tecidos vegetais (CID et al., 2013).

4.3 Potássio no solo e na planta

O potássio, após o nitrogênio, é o macronutriente exigido pelas plantas em maior quantidade no feijão. A disponibilidade de K, assim como a capacidade de suprimento deste nutriente pelo solo, depende da presença dos minerais primários e secundários, da aplicação de fertilizantes e da CTC do solo, além da ciclagem do nutriente pelas plantas (WERLE; GARCIA; ROSOLEM, 2008).

Na natureza, o potássio é um elemento constante, com reservatório composto por mica e feldspato, ambos sendo silicatos de alumínio. A adsorção do potássio no solo depende da natureza das superfícies de troca como o tipo de argila, matéria orgânica, óxidos e hidróxidos (NEVES; ERNANI; SIMONETE, 2009). Há equilíbrio entre as formas de K no solo com as formas não-trocáveis e estruturais de K, sendo as reservas de médio e longo prazo para as plantas (MELO et al., 2003).

Como funções importantes do elemento no crescimento e desenvolvimento da planta há o papel fundamental como agente osmótico, assim como na ativação de enzimas e participação no transporte de solutos e água pela membrana. O potássio se encontra presente no citosol e no vacúolo como íon livre (K+) em altas concentrações, não sendo constituinte integral de qualquer metabólito no material vegetal (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

O potássio é absorvido pelas plantas na forma catiônica (K^+), sendo um ativador enzimático e importante na manutenção do pH em níveis adequados para o funcionamento da célula (MARSCHNER, 1995). É muito importante no balanço das cargas negativas gerada pelos ácidos orgânicos aniônicos dentro das células e no balanço dos ânions absorvidos pelas raízes. Além disso, o K está envolvido em funções fisiológicas quanto à resistência a estresses bióticos e abióticos nas plantas (DECLERCK et al., 2013).

Esse elemento também exerce papel-chave na manutenção do turgor nas células-guarda, por meio da elevação do seu potencial osmótico, o que resulta em absorção de água por essas células e por aquelas adjacentes, e, consequentemente, gera maior turgor e abertura dos estômatos (LANGER et al., 2004).

4.4 Competição de ^{137}Cs e K no solo e na planta

Os estudos quanto à competição de K e absorção de Cs em planta tiveram início a partir dos estudos de Collander et al. (1941), baseado no fato destes elementos pertencerem ao mesmo grupo de metal alcalino e apresentarem propriedades químicas semelhantes. O potássio é um elemento essencial para os organismos vivos, enquanto o Cs não é essencial e potencialmente tóxico para as plantas, animais e para o ser humano.

Na literatura, a partir do estudo de Hampton, Bowen e Broadley (2004) foram consideradas três hipóteses de estudo entre os elementos na planta: a inibição do Cs no crescimento da planta, pela redução na absorção de K^+; a absorção de Cs intracelular é tóxica por si só, e o Cs^+ compete com K^+ nas funções bioquímicas essenciais, de forma que a toxicidade do Cs está relacionada com a relação entre a concentração de Cs e K.

A contaminação por metais do solo é um problema crescente em muitos países com o solo sendo a principal fonte de elementos traços para plantas e microrganismos, que afetam o rendimento das culturas e fertilidade do solo (ANDRADE et al., 2009).Em sistema de cultivo in vitro com *Medicago truncatula* e a espécie *Glomus intraradices* foi observada a influência do potássio e do fósforo no transporte de ^{137}Cs pelo fungos micorrízicos arbusculares (FMA), sendo demonstrado que K e P, individualmente e em combinação, influenciaram o transporte do Cs por fungos micorrízicos arbusculares (GYURICZA et al., 2010). Ainda no trabalho de Gyuricza et al. (2010) foi destacado que a absorção de ^{134}Cs por FMA foi aumentada de 34%, da atividade inicialmente fornecida, a 44% e 53%, quando reduziu-se a concentração de K no substrato de 10 mmol L^{-1} para 1 mmol L^{-1} e, por fim, para 0 mmol L^{-1}, respectivamente. Estes autores concluíram que esta relação inversa entre o aumento do suprimento de K e a redução na absorção de ^{134}Cs pode ser explicada pelo fato dos mesmos transportadores transmembrana estarem atuando neste processo de absorção, como também discutido por Zhu (2001) e por Rodriguez-Navarro (2000).

A absorção do ^{137}Cs depositado no solo arável é geralmente quantificado pelo coeficiente de transferência baseada na massa (TFm) expressa como a proporção entre a concentração da planta (Bq.kg^{-1}) para a concentração no solo (Bq .kg^{-1}) (BUTKUS; LUKSIENE; KONSTANTINOVA, 2009).O coeficiente de transferência do solo para a planta é considerado como um dos parâmetros mais importantes na avaliação da segurança ambiental, sendo que este parâmetro é necessário para a validação dos modelos de transferência de íons contaminantes no ambiente, que são úteis na previsão da concentração de radionuclídeos em culturas agrícolas para estimar a dose de impacto para o ser humano

(CIUFFO et al., 2003). Seu valor pode variar de acordo com a cultura utilizada, com o elemento (nuclídeo) estudado e as condições ambientais presentes, sendo necessários maiores estudos nas diversas condições de cultivo.

4.5 Plantas e associações micorrízicas

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são a forma mais comum e generalizada de simbiose da planta (BONNEAU et al., 2013). A presença dos FMA, bem como a sua composição da comunidade e a riqueza de espécies são afetadas por vários fatores, incluindo atributos químicos e físicos do solo, bem como pela fisiologia da planta hospedeira (LEAL; SIQUEIRA; STURMER, 2013). Estes fungos são mutualistas obrigatórios incluindo mais de 250 espécies conhecidas pertencentes ao filo *Glomeromycota,* e gêneros *Gigaspora, Scutellospora, Glomus, Acaulospora* e *Archaeospora* (BRUNDRETT; ASHWATH, 2013).

Os FMA colonizam o córtex da raiz e formam a estrutura intracelular chamado arbúsculos, como um local de troca de nutrientes com a planta (MAYA; MATSUBARA, 2013). Desempenham papel significativo proporcionando o acesso aos nutrientes do solo (DUTT; SHARMA; KUMAR, 2013), como decorrência da maior área e melhor distribuição da rede de absorção devido à presença das hifas dos fungos micorrízicos arbusculares.

Estudos recentes sobre estresse bióticos em plantas indicam os microorganismos como forma de auxílio para as plantas (JUNG et al., 2012). Os fungos micorrízicos arbusculares têm importância contra o estresse oxidativo em diversas espécies e condições ambientais. Os FMA são as únicas espécies de fungos do solo proporcionando uma ligação direta entre solo, raízes das plantas e metais em condições de estresse da planta (ZHANGA et al., 2010). Apresentam a capacidade de proteger as plantas contra a salinidade e metais pesados por mediar as interações entre íons tóxicos e raízes de plantas em feijão guandu (GARG; CHANDEL, 2012), com resultados indicando a simbiose de FMA desempenhando papel integrador na tolerância ao estresse de seca em azevém (LEE et al., 2012), melhorando altamente a tolerância ao frio em tomate (LATEF; HE, 2011).

Apesar de pouco se saber sobre as respostas antioxidantes, estudos têm demonstrado que os FMA possuem sistemas de eliminação de espécies reativas de oxigênio (*Reactive Oxygen Species* - ROS) (ABDEL LATEF et al., 2012). Desta maneira há a importância da compreensão do efeito da FMA no metabolismo de espécies reativas de oxigênio e na

atividade antioxidante de plantas sob condições de estresse na presença de metais alcalinos como o Cs, bem como pela contaminação do solo por ^{137}Cs.

4.6 Fitoextração de metais por fungos micorrízicos arbusculares

Os processos de descontaminação do solo ou desintoxicação das plantas são comumente referidos como "fitorremediação". Uma vez que cada um dos solos contaminados apresenta propriedades químicas, físicas e biológicas específicas, o potencial das plantas na absorção de elementos químicos irá depender de uma série de fatores, como: a sua concentração no substrato, a espécie de fungo micorrízico arbuscular (FMA) presente no solo, a sobrevivência do FMA ao contato com o elemento químico e o potencial de colonização e a espécie vegetal (RAJKUMAR et al., 2012).

Os fungos micorrízicos arbusculares podem atuar como uma barreira contra a absorção de elementos químicos a partir das raízes das plantas. Todavia, se os resultados obtidos até o momento têm demonstrado a capacidade de fungos micorrízicos arbusculares para influenciar a aquisição e acumulação de césio pelas plantas por meio da imobilização, transporte e afetando a sua redistribuição, a sua capacidade para participar em estratégias de fitorremediação permanece questionável e precisaria de mais estudos (DUPRÉ DE BOULOIS et al., 2005; 2008).

Segundo Dupré de Boulois et al. (2005), a capacidade de fungos micorrízicos arbusculares para transferir radiocésio para seu hospedeiro foi demonstrada com as estruturas intrarradiculares do FMA com o papel de induzir uma acumulação local de césio e, ao mesmo tempo, reduzir sua transferência das raízes para a parte aérea. Em determinadas circunstâncias, os FMA afetam a absorção de ^{137}Cs, de forma que pode haver um potencial para a seleção de estirpes de fungos que estimulem a acumulação do metal alcalino nas culturas (ROSÉN ; ZHONG; MARTENSSON, 2005). Em clima temperado, com solos apresentando altos teores de argila e de K não há quantidades significativas de césio transportadas pelos fungos micorrízicos arbusculares para as plantas hospedeiras (WHITE; BROADLEY, 2000).

A contribuição desses fungos e a absorção pelas raízes no acúmulo de césio nas plantas necessitam de maiores estudos para comparação, além de experimentos sob várias condições de cultivo, espécies de plantas e fungos micorrízicos, incluindo o aumento dos teores de P e K no solo para a compreensão da relação entre esses nutrientes e a simbiose com

os fungos micorrízicos arbusculares na absorção de césio (DUPRÉ DE BOULOIS et al., 2008).

Dados sobre sistemas antioxidantes na presença de FMA em cultura pura e em simbiose são escassos, podendo ser uma estratégia promissora para as medidas de fitorremediação e do um melhor aproveitamento da fertilidade e do solo pela planta (SCHUTZENDUBEL; POLLE, 2002).

Os processos microbianos podem dissolver minerais metálicos, aumentando assim a biodisponibilidade de metais e potencial de toxicidade enquanto outros podem imobilizar esses metais no micélio intra e extrarradicular dos fungos micorrízicos arbusculares reduzindo sua disponibilidade e translocação para a parte aérea (FOMINA et al., 2005). As diferentes respostas das plantas a essa simbiose podem ser atribuídas à diversidade funcional dos FMAs, em função da interação FMA-planta-condições ambientais (FOLLI-PEREIRA et al., 2012).

As respostas fisiológicas da planta bem como o comportamento dos microrganismos do solo dependem da natureza do elemento presente no solo. As respostas dos FMA para os cátions de metais tóxicos são diversas, pelo fato de a diversidade desses fungos ser normalmente alta mesmo em locais altamente contaminados (MEHARG et al., 2003).

4.7 Mecanismos de defesa da planta devido à exposição a metais

Em sistema de cultivo *in vitro* com *Medicago truncatula* e a espécie *Glomus intraradices* foi observada a influência do potássio e do fósforo no transporte de ^{137}Cs pelo FMA, sendo demonstrado que K e P, individualmente e em combinação, influenciaram o transporte do ^{137}Cs por fungos micorrízicos arbusculares (GYURICZA et al., 2010). Ainda no trabalho de Gyuricza et al. (2010) foi destacado que a absorção de ^{134}Cs por FMA foi aumentada 34%, da atividade inicialmente fornecida, a 44% e 53%, quando reduziu-se a concentração de K no substrato de 10 mmol L^{-1} para 1 mmol L^{-1} e, por fim, para 0 mmol L^{-1}, respectivamente. Estes autores concluíram que esta relação inversa entre o aumento do suprimento de K e a redução na absorção de ^{134}Cs pode ser explicada pelo fato dos mesmos transportadores transmembrana estarem atuando neste processo de absorção, como também discutido por Zhu (2001) e por Rodriguez-Navarro (2000).

As moléculas orgânicas e inorgânicas e os átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados, com existência independente, podem ser classificados como radicais livres (HALLIWELL, 1994). Espécies reativas de oxigênio (*ROS - Reactive Oxygen Species*) são

importantes moléculas de sinalização que desempenham papel importante em numerosos processos nas plantas, incluindo o estresse de nutrientes, o desenvolvimento das raízes e as interações planta-microrganismos (BONNEAU et al., 2013).

Quando o equilíbrio entre a geração de ROS e sua eliminação antioxidante mediada é alterado, estes ROS e /ou seus produtos de reação alteram os processos metabólicos normais em células, fazendo com que o estresse oxidativo provoque o desencadeamento principalmente a peroxidação de lipídios da membrana e danos graves em moléculas biológicas (ANJUMA et al., 2012).

As ROS originadas a partir de estresses abióticos e bióticos podem reagir diretamente nas proteínas, aminoácidos e ácidos nucléicos. A peroxidação lipídica pode ser avaliada pela determinação da concentração de malondialdeído (MDA) em tecidos de folhas, a qual quantifica os danos causados na estrutura das células vegetais (JABEEN et al., 2012).

Está bem estabelecido que organelas como cloroplastos, mitocôndrias ou peroxisomes com uma atividade metabólica altamente oxidante ou com taxa de intenso fluxo de elétrons são uma importante fonte de ROS em células vegetais (Gill et al., 2013). Tem sido observado que as plantas expostas a várias tensões abióticas exibem um aumento da peroxidação lipídica devido à geração de ROS, sendo considerado o processo mais prejudicial conhecido para ocorrer nos organismos vivos (GILL; TUTEJA, 2010).

Considerando que o aumento dos níveis de ROS sob estresse, eles também podem agir como sinais de ativação de estresse e caminhos de defesa (KEUNEN et al., 2013). Baixos níveis de ROS atuam como moléculas sinalizadoras para regular e coordenar os processos vitais, incluindo o crescimento, ciclo celular, a morte celular programada, as respostas aos estresses abióticos, a defesa contra o patógeno, a sinalização sistêmica e desenvolvimento (GILL et al., 2013).

Compreender as estratégias de desintoxicação que as plantas adotam contra o estresse oxidativo induzido por íons metálicos acumulados é a informação chave para manipular geneticamente plantas tolerantes aos diversos tipos de estresses (HAN et al., 2013).

4.8 Atividade enzimática na presença de metais alcalinos

O césio ao ser absorvido pela planta pode ocasionar danos ao metabolismo celular devido aos íons metálicos induzirem o estresse oxidativo. Compreender os efeitos do estresse oxidativo da toxicidade de Cs em resposta antioxidante é ainda um assunto limitado.

Além dos danos pela presença do ^{137}Cs nas plantas, caso o elemento proporcione baixa absorção de potássio pode ocorrer um aumento da produção de radicais livres nas plantas, pois a deficiência do nutriente causa distúrbio no mecanismo de abertura e fechamento dos estômatos, o que reduz a fotossíntese e causa sobra de elétrons, os quais são desviados para a produção de formas reativas de oxigênio (CATUCHI et al., 2012).

A fim de se proteger contra os danos dos ROS, as plantas desenvolveram um sistema para reduzir os efeitos nocivos desses radicais livres, compreendendo o mecanismo enzimático (WENG et al., 2012). Várias espécies de ROS são continuamente produzidas em plantas como subproduto do metabolismo aeróbico (APEL; HIRT, 2004).

Altas atividades de enzimas antioxidantes e alto teor em componentes não enzimáticos são importantes para que as plantas tolerem os estresses ambientais (QIU et al., 2013). A atividade enzimática celular é um dos mecanismos utilizados para reduzir ou mitigar a fitotoxidez ocasionada pela absorção excessiva de metais pela planta. As espécies reativas de oxigênio podem ser altamente instáveis, desempenhando função como componentes celulares prejudiciais e agindo como um importante mensageiro secundário para induzir o sistema de defesa da planta (SYTAR et al., 2013).

Os antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poliinsaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular.

Os diferentes mecanismos para a indução da defesa da planta pode variar de acordo com as propriedades químicas do íon absorvido. A acumulação de ROS nas células ocasiona alteração na atividade das enzimas antioxidantes. Os principais modos de limpeza enzimática de ROS são a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), o ciclo de ascorbato glutationa e o ciclo da glutationa peroxidase (APEL; HIRT, 2004). Por sua vez, estas enzimas desempenham sua ação na proteção oxidativa das plantas, com maior atividade em condições de estresse. Compreender a inter-relação entre o estresse oxidativo em plantas e o papel de enzimas antioxidantes pode resultar no desenvolvimento de plantas que toleram o dano oxidativo pela indução da super atividade das enzimas (BHADURI; FULEKAR, 2012).

A tolerância a uma combinação de diferentes condições de estresse, particularmente aqueles que imitam o ambiente de campo, deve ser o foco de futuros programas de investigação destinados a desenvolver plantas com tolerância aprimorada que ocorram naturalmente nas condições ambientais (MITTLER, 2005).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Local, período e espécie vegetal

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), da Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba – SP, no período de 10 de novembro de 2012 a 10 de janeiro de 2013, utilizando plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), variedade Iapar Tangará do grupo carioca.

5.2 Instalação, desenvolvimento do experimento e delineamento estatístico

A escolha dos quatro tipos de solos foi realizada em função da composição mineralógica contrastante, os quais já foram descritos e utilizados no estudo de Roque (2003) classificados como: Nitossolo Vermelho eutroférrico, Chernossolo Argilúvico órtico, Argissolo Vermelho amarelo distrófico e Gleissolo Melânico alumínico. Os solos contaminados artificialmente com ^{137}Cs foram utilizados para o estudo da transferência deste do solo para a cultura do feijoeiro e sua interação com os fungos micorrízicos arbusculares, em função da atividade específica do ^{137}Cs, bem como dos teores de K nos solos.

Os solos estudados apresentam comportamento diferenciado quanto à adsorção de ^{137}Cs, como descrito por Roque et al., (2003), com abrangência no Estado de São Paulo. O Gleissolo, caracterizado por valores intermediários de adsorção de césio, e o Chernossolo apresentando menor intemperização e composição de argila 2:1 com maior valor de CTC com alto valor de adsorção de Cs, foram coletados em São Simão-SP. O Argissolo foi coletado em Leme-SP (caracterizado com valores intermediários de adsorção de césio) e o Nitossolo foi coletado em Ribeirão Preto-SP (solos com alta CTC e com alta adsorção de césio). As amostras foram coletadas nas camadas de 0 a 20 cm.

As análises granulométricas, obtidas de Roque et al., (2003), estão descritas na Tabela 1. Os resultados da interpretação dos difratogramas de raio-X, também obtidos de Roque et al., (2003), estão apresentados na Tabela 2. O comportamento diferenciado quanto à adsorção de Cs no solo relacionado ao teor de argila com variação quanto ao potencial de interteptação do radiocesio (PIR) e as características dos solos estudados foram descritos na Tabela 3 adaptado de Roque, (2003). A análise física inicial dos solos estudados foi descrita na Tabela 4, adaptado de Roque (2003).

Tabela 1 - Análise granulométrica inicial dos solos estudados, avaliado por Roque et al., (2003)

Solos	**Areia**	**Silte**	**Argila**
	.....g kg^{-1}.....		
Argissolo	490	140	370
Nitossolo	300	380	320
Gleissolo	550	130	320
Chernossolo	200	450	350

Tabela 2 - Resultados da análise mineralógica inicial com a interpretação dos difratogramas de raio-X (ROQUE et al., 2003)

Solos	**Componentes minerais na fração argila**	
	Principal	**Secundário**
Nitossolo	Caulinita	Gibbisita/ Vermiculita
Argissolo	Caulinita	Esmectita/ Gibbisita
Gleissolo	Caulinita	Gibbisita/ Vermiculita
Chernossolo	Esmectita	Vermiculita

Tabela 3 - Potencial de interceptação do radiocesio (PIR) e teor de argila em cada solo contaminado com ^{137}Cs, adaptado de Roque et al.,(2003).

Solo	**PIR**	**Argila %**
	µeq g^{-1} solo	
Argissolo	392	37
Chernossolo	2097	35
Gleissolo	169	32
Nitossolo	1026	32

Tabela 4 - Análise química inicial dos solos adaptado de Roque et al., (2003)

Solos	**SiO**	**Al_2O_3**	**FeO_3**	**TiO_2**	**Si:Al**
		.....%.....			
Argissolo	11,8	10,9	7,0	2,50	1,84
Chernossolo	18,5	7,7	23,6	6,60	4,08
Gleissolo	16,4	16,6	0,5	1,00	1,68
Nitossolo	15,7	10,2	13,3	2,57	2,62

Foram cultivadas três plantas por vaso com capacidade de 2,0 L e preenchido com 1,0 dm^3 de terra, sendo os solos submetidos à autoclavagem feita a 157,5 Pa por duas horas (GROSS; CORDEIRO; CAETANO, 2004). Nos tratamentos com a inoculação de fungos micorrizicos arbusculares (FMA) foram utilizadas as espécies *Glomus clarum* e *Glomus etunicatum* em conjunto, com cerca de 300 esporos no total por vaso.

As plantas foram cultivadas até o estágio de florescimento (R6), devido à maior exigência do potássio pelo feijoeiro ser observada até 40 ou 50 dias após a emergência da planta (ROSOLEM, 1996).

As análises enzimáticas, peroxidação lipídica e quantificação de peróxido de hidrogênio descritas no experimento foram realizadas nas folhas e nas raízes da planta, a partir da maceração e conservação a -80°C, obtidas no estágio fenológico R6 da planta, a qual corresponde ao estágio de florescimento pleno (50% da plantas com flores abertas).

O delineamento experimental foi o de blocos completos ao acaso, utilizando esquema fatorial 4x2x2 (quatro tipos de solo x dois níveis de potássio x presença e ausência de fungos micorrízicos arbusculares), com três repetições, totalizando 48 vasos (unidades experimentais).

5.3 Análise química dos solos

As análises químicas dos solos dos macronutrientes K, P, Ca, Mg, S foram realizadas para determinação dos atributos químicos antes do cultivo (Tabela 5). As metodologias

utilizadas foram as descritas por Cantarella et al. (2001) e por Raij; Quaggio (2001). A determinação do pH foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Quaggio e Raij (2001).

Após a análise química (Tabela 5), os tratamentos com maior nível de K do Argissolo e do Nitossolo precisaram ser adubados com KCl (fonte de K) para deixar todos os tratamentos com maior nível de potássio semelhantes.

Inicialmente nos solos utilizados para este estudo, foram acrescentados por Roque et al., (2003), a cada um dos vasos 50 mL de solução aquosa preparada com atividade específica de 1 kBq mL^{-1} em ^{137}Cs, a fim de que fosse promovida a atividade específica de cerca de 25 kBq kg^{-1} de solo e após uma semana foram aplicados os tratamentos com as doses de potássio com 180 dias de incubação para ocorrer o equilíbrio entre o ^{137}Cs e os colóides do solo. Estes valores de atividade de ^{137}Cs são comumente encontrados em solos europeus devido aos acidentes nucleares e abaixo dos valores permitidos pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (ROQUE et al., 2003). Em 18 de abril de 2012 para realização deste experimento foi realizada a contagem da atividade final dos solos em terra fina seca em estufa revelando atividade específica entre 13,57 a 15,85 kBq kg^{-1} de solo de acordo com o tipo de solo.

Tabela 5 - Análises químicas dos macronutrientes nos solos realizadas antes da implantação dos tratamentos em 2012, nas condições de baixo e alto nível de K

			P	**S**	**K**	**Ca**	**Mg**	**Al**	**H+Al**	**SB**	**CTC**
Solos		**pH**	**...mg.dm³...**		**.....mmol$_c$.dm³.....**						
Argissolo	Menor nível de K	5,5	190	93	1,2	78	40	0	12	118,8	130,7
	Maior nível de K	5,9	107	113	2,6	81	53	0	11	136,2	146,9
Chernossolo	Menor nível de K	4,7	61	69	1,9	130	28	1	64	159,7	224,1
	Maior nível de K	5,0	58	61	3,5	120	29	0	58	152,1	210,0
Gleissolo	Menor nível de K	4,9	36	160	3,7	69	36	1	109	108,0	217,0
	Maior nível de K	4,9	43	217	5,8	57	30	2	121	92,6	213,7
Nitossolo	Menor nível de K	5,4	28	119	1,2	60	23	0	47	84,0	130,9
	Maior nível de K	5,3	28	130	1,9	64	23	0	47	88,0	134,9

A análise da atividade específica foi realizada utilizando-se o detector de iodeto de sódio dopado com tálio NaI(Tl). Para se obter a atividade específica, deve-se dividir a atividade em Bq (decaimento por segundo) pela massa seca da amostra, na Tabela 6 é demonstrada a atividade específica do ^{137}Cs nos solos tropicais antes da instalação do experimento.

Tabela 6 - Atividade específica de ^{137}Cs nos solos utilizados no experimento

Solos		Massa (g)	Atividade (Bq)	Atividade específica (Bq/g)
Chernossolo	Menor nível de K	26,95	380,6	14,12
	Maior nível de K	29,83	445,6	14,94
Gleissolo	Menor nível de K	19,37	268	13,83
	Maior nível de K	17,47	277	15,85
Argissolo	Menor nível de K	28,8	428	14,86
	Maior nível de K	30,28	431	14,23
Nitossolo	Menor nível de K	30,24	450	14,88
	Maior nível de K	28,85	391,5	13,57

5.4 Análise química do teor de potássio na raiz e parte aérea e contagem do ^{137}Césio

Para a análise das concentrações de potássio nas folhas, caule e raiz de feijão foi realizada a digestão nitrico-perclórica segundo metodologia descrita por Malavolta; Vitti; Oliveira (1997), a qual foi realizada no estágio fenológico R6.

5.5 Avaliação das atividades específicas do ^{137}Cs no solo e na planta

5.5.1 Preparo das amostras

5.5.1.1 Amostra de solo

Fez-se o peneiramento das amostras de solo para que possíveis materiais presentes fossem removidos e ter uma homogeneidade nas amostras em peneira de malha de 2 mm.

5.5.1.2 Amostra vegetal

Nas plantas de feijão a atividade de ^{137}Cs foi determinada nas raízes, caules e folhas (pecíolo mais limbo), durante o estágio de florescimento (R6), para a avaliação da absorção e distribuição deste radionuclídeo nesta cultura - nestas mesmas amostras foi avaliada a produção de matéria seca total. As amostras de folhas, caules e raízes do Iapar Tangará foram acondicionadas em sacos papel. Seguiu-se a secagem a 60°C em estufa com circulação forçada de ar até peso constante.

Aproximadamento 200 mg da amostra foram acondicionadas em tubos de plástico com tampa (55 mm de altura e 12 mm de diâmetro).

5.5.2 Deteminação das atividades específicas de ^{137}Cs

5.5.2.1. Equipamento

As atividades de ^{137}Cs foram determinadas por espectrometria gama, utilizando-se um detector de cintilação sólida NaI (Tl), 3 x 3", tipo poço, modelo 3MW3/3, fabricado pela Bicron, disponibilizado no Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN/CENA).

5.5.2.2 Eficiência de detecção

Para a determinação da eficiência (ε) de detecção do ^{137}Cs fez a leitura de uma fonte selada de ^{137}Cs com atividade de 2228,86 decaimentos por segundo (15/abril/2013), produzida pela New England Nulcear, e a "ε" foi calculada através da Equação 1:

$$\varepsilon = C / A\ f \quad \text{(Eq.1)}$$

onde: C, A e f representam a taxa de contagem (cps), a atividade (dps), e o fator f (número de gamas produzidos por decaimento; para o ^{137}Cs o valor de f = 0,85), respectivamente.

5.5.2.3 Atividade específica das amostras

As amostras foram lidas no espectrômetro gama com detector NaI(Tl) por 1 h . Atráves da Equação 2 fez o calculo da atividade específica (Aesp) da amostra.

$$Aesp = C / \varepsilon\ f\ m \quad \text{(Eq.2)}$$

Onde: é Aesp e m representam a atividade específica (dps / g) e massa (g), respectivamente.

5.6 Determinação do coeficiente de transferência direta do ^{137}Cs do solo para a planta

O fator de transferência de ^{137}Cs do solo – planta (FTsp) foi determinado pela equação 2, conforme proposta por Roque (1998):

$$FTsp = \frac{\text{Atividade na planta (Bq / kg de matéria seca)}}{\text{Atividade no solo (Bq /kg de solo seco)}} \quad \text{(Eq.3)}$$

5.7 Produção de massa de matéria seca das plantas

As plantas de feijão foram coletadas de cada vaso quando atingiram o estágio fenológico R6. Posteriormente, foram secas em estufa de circulação forçada de ar, por 72 horas, a cerca de 65 ºC. Logo em seguida foram amostradas, acondicionadas em sacos de papel devidamente identificados e mantidos em estufa com circulação forçada de ar com temperatura variando de 60 a 70°C, até ocasião das extrações dos elementos dos tecidos vegetais, por meio da digestão via úmida.

5.8. Índice SPAD

O índice SPAD foi determinado semanalmente até o estágio de florescimento pleno (estágio fenológico R6). As leituras foram efetuadas no primeiro trifólio completamente desenvolvido, a partir do ápice da planta, em uma folha por planta, em três plantas por tratamento. As leituras foram realizadas no início da manhã (entre 8 e 10 horas), com uso do clorofilômetro modelo *Minolta SPAD-502*®.

5.9. Peroxidação de lipídeos

A peroxidação de lipídeos foi determinada segundo Buege; Aust (1978) nas folhas e raízes do feijão no estágio fenológico R6. A metodologia consiste em determinar a produção

de metabólitos reativos ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), principalmente o malondialdeído (MDA), conforme os trabalhos de Buege; Aust (1978).

As amostras de 0,2 g foram maceradas com 5 mL de TCA (ácido tricloroacético) (0,1%) na presença de 20% (p/v) de PVPP (polivinil polipirrolidona). Após a homogeneização as amostras em tubos *eppendorf* foram centrifugadas a 10.000 rpm por 5 minutos. Do sobrenadante foram retirados 250 µL em 1 mL de TCA 20% + TBA 0,5% sendo incubado em banho maria de 95°C por 30 minutos e com a reação foi paralisada em gelo por 10 minutos em seguida. Após a alteração da cor houve a centrifugação a 10.000 rpm por 10 minutos. Depois as amostras foram vertidas em cubetas de plástico e deixadas estabilizar por pelo menos 15 minutos, à temperatura ambiente protegido da luz. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 535 e 600 nm. A quantidade de MDA foi expressa em mmol/mg de tecido fresco.

5.10 Quantificações de H_2O_2

A quantificação de H_2O_2 foi determinada nas folhas e raízes do feijoeiro, no estágio fenológico R6, de cada tratamento. As amostras foram maceradas em TCA (ácido tricloroacético) 0,1 % na relação de 100 mg mL^{-1} (m/v). Após a homogeneização, foram centrifugadas a 10.000 rpm por quinze minutos a 4°C. Coletaram-se 200 µL do sobrenadante, no qual foram adicionados 200 µL de tampão fosfato de potássio 100 mmol L^{-1} (pH 7,5) e 800 µL de iodeto de potássio 1,0 mol L^{-1}, sendo posteriormente adicionados no gelo e no escuro durante uma hora. Para estabilizar a reação, as amostras permanecem por 20 minutos em temperatura ambiente no escuro, para posterior leitura em espectrofotômetro a 390 nm. A quantidade de H_20_2 foi expressa em µmol g^{-1} de massa fresca.

5.11 Método de extração de proteínas

Após a pesagem das folhas, adicionou-se N_2 líquido e macerou-se a amostra até formar um homogeneizado fino. Posteriormente, foi adicionado o tampão de extração (na proporção de 1g de material/3 mL de tampão). O material então foi homogeneizado em tampão fosfato de potássio 100 mmol L^{-1} (pH 7,5), contendo 1 mmol L^{-1} de ácido etileno diamino tetracético (EDTA) (0,372 g/L tampão), 3 mmol L^{-1} de ditiotreitol (DTT) (0,462 g/L tampão) e 4% de

polivinil polipirrolidona (PVPP). O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 rpm por 30 min a 4°C. O sobrenadante foi coletado, dividido em alíquotas e congelado à -80°C, sendo utilizado para os ensaios das atividades enzimáticas, enquanto o precipitado foi descartado.

5.12 Determinação de proteínas

A concentração de proteína foi feita utilizando-se o Kit de Biorad, segundo o método de Bradford (BRADFORD, 1976) e o soro albumina bovina (BSA) como padrão. Os valores foram determinados utilizando-se uma curva padrão de concentrações conhecidas de BSA por meio de regressão linear. A leitura de espectrofotômetro foi realizada em comprimento de onda de 595 nm.

5.13 Enzimas antioxidantes em folha de feijão

5.13.1. Catalase (CAT)

A atividade da catalase foi determinada em espectofotômetro como descrito por Kraus et al. (1995) e modificado por Azevedo et al. (1998) nas folhas feijoeiro, no estágio R6. O ensaio foi realizado a 25°C em uma solução contendo 1 mL de tampão fosfato de potássio 100 mmol L^{-1} (pH 7,5) acrescida de 25 µL de H_2O_2 (solução 25%) preparado imediatamente antes do uso. A reação foi iniciada pela adição de 25 µL de extrato proteico. A atividade da enzima foi monitorada pela degradação de H_2O_2 no período de um minuto a 240 nm (pico de absorção do H_2O_2). Os resultados foram expressos em µmol/min/mg proteína.

5.13.2. Glutationa redutase (GR)

A atividade da enzima glutationa redutase foi determinada de acordo por Azevedo (1998) com algumas modificações, nas folhas de feijão no estágio fenológico R6, em espectofotômetro a 30°C.A atividade foi determinada em uma solução contendo 1 mL de tampão de fosfato de potássio 100 mmol L^{-1} (pH 7,5), com 1 mmol L^{-1} de 5,5 “ – ditiobi (2 – ácido nitrobenzóico) (DTNB), 1 mmol L^{-1} de glutationa oxidada (GSSG) e 0,1 mmol L^{-1} de

nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH). A reação foi iniciada com a adição de 50 µL de extrato protéico.

A atividade de GR foi estimada pela taxa de redução da GSSG acompanhada por monitoramento na alteração da absorbância, a cada 1 segundo, utilizando comprimento de onda de 412 nm por minuto. Os resultados foram expressos em µmol/min/mg proteína.

5.13.3. Atividade da superóxido desmutase – SOD

A atividade da superóxido dismutase foi determinada pela adição de 30 µL do extrato enzimático bruto de cotilédone e eixo embrionário a 2,97 mL de um meio de reação constituído de tampão fosfato de sódio 50 mmol L^{-1}, pH 7,8, contendo metionina 13 mmol L^{1}, azul de p-nitro tetrazólio (NBT) 75µM, EDTA 0,1 mmol L^{-1} e riboflavina 2 µmol L^{-1}.A reação foi conduzida a 25°C numa câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W mantida no interior de uma caixa fechada. Após 5 min de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul produzida pela fotorredução do NBT foi medida a 560 nm (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). A absorbância a 560 nm, de um meio de reação exatamente igual ao anterior, mas mantido no escuro, por igual tempo, serviu de "branco" e foi subtraído da leitura da amostra que recebeu iluminação. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade da enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT.

5.13.4 Ascorbato peroxidase (APX)

A atividade da ascorbato peroxidase foi determinada de acordo com a técnica descrita por Matsuno e Uritani (1972), padronizada no laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Clima temperado, em solução contendo 650 µL de tampão fosfato de potássio 80 mmol L^{-1} (pH 7,5), 100 µL de ascorbato 5 mmol L^{-1}, 100 µL de EDTA 1 mmol L^{-1} e 100 µL de H_2O_2 1 mmol L^{-1}. A reação foi iniciada com a adição de 50µL de amostra. A leitura foi realizada a 290 nm e os resultados expressos em µmol/min/mg prot, de acordo com Nakano e Assada (1981).

5.14 Análise de colonização de fungos micorrízicos arbusculares nas raízes

A coloração e a análise nas raízes foram realizadas a partir da coleta das amostras do terço médio das raízes do feijoeiro logo no estágio fenológico R6 da cultura, para quantificação da colonização intrarradicular pelo fungo micorrízico arbuscular. As raízes foram colocadas em frascos contendo etanol 70% e armazenadas em geladeira até a etapa da análise. O conteúdo citoplasmático foi removido com KOH 10% por 60 min a 90ºC e as raízes serão em seguida coradas com tinta de caneta esferográfica a 5% (v/v), em solução de ácido acético, a 90ºC por 3 minutos. Em seguida, serão lavadas em ácido acético a 5% (v/v) e armazenadas em lacto-glicerol (VIERHEILIG et al., 1998). Nas raízes assim preparadas, apenas as estruturas fúngicas como hifas, vesículas e arbúsculos são coloridas. A observação foi realizada utilizando-se microscópio estereoscópico e placas reticulares para determinar a taxa de colonização pela presença de estruturas fúngicas no tecido cortical da raiz (GIOVANETTI ; MOSSE, 1980).

5.15. Análise dos resultados

O delineamento experimental utilizado no experimento foi o de blocos completos ao acaso, com os tratamentos arranjados em esquema fatorial 4 x 2 x 2 (quatro tipos de solo x plantas micorrizadas ou não x dois níveis de potássio no solo), com três repetições. Os resultados foram submetidos às análises estatísticas utilizando-se o programa estatístico SAS - *System for Windows 6.11* (SAS, 1996). Foi realizada a análise de variância e de acordo com o nível de significância no teste F para os tratamentos, foi adotado o teste de comparação de médias (Tukey, $P<0,05$).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Colonização de fungos micorrízicos arbusculares no feijoeiro

Foi observada alta taxa de colonização de FMA nas raízes de feijão (Tabela 7), nos tratamentos que receberam a inoculação com as espécies *Glomus clarum* e *Glomus etunicatum*. Quanto aos solos que não receberam a inoculação foi verificada baixa taxa de colonização nas raízes, com valores entre 0% no Chernossolo e de 2% no Nitossolo.

Tabela 7 - Porcentagem de colonização de fungos micorrízicos arbusculares nas raízes do feijoeiro (no estágio fenológico R6) cultivado nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função da inoculação

Solos	**Sem inoculação de FMA**	**Com inoculação de FMA**
Argissolo	0%	95%
Chernossolo	1%	93%
Gleissolo	1%	96%
Nitossolo	2%	97%

Com relação aos tratamentos (solos) que receberam a inoculação com os FMA, e a partir das observações da porcentagem de colonização nas raízes das plantas, quando estavam no estágio fenológico R6, foram observadas as diversas estruturas dos fungos micorrízicos arbusculares, como a presença de esporos, hifas, vesículas e arbúsculos (Figura 1), indicando a efetividade nos procedimentos da inoculação, logo após a autoclavagem dos solos. Ademais, em função dos menores valores de porcentagem de colonização observados nas plantas cultivadas nos solos que não receberam a inoculação com os FMA (Tabela 7), optou-se por não proceder às avaliações de microscopia de luz.

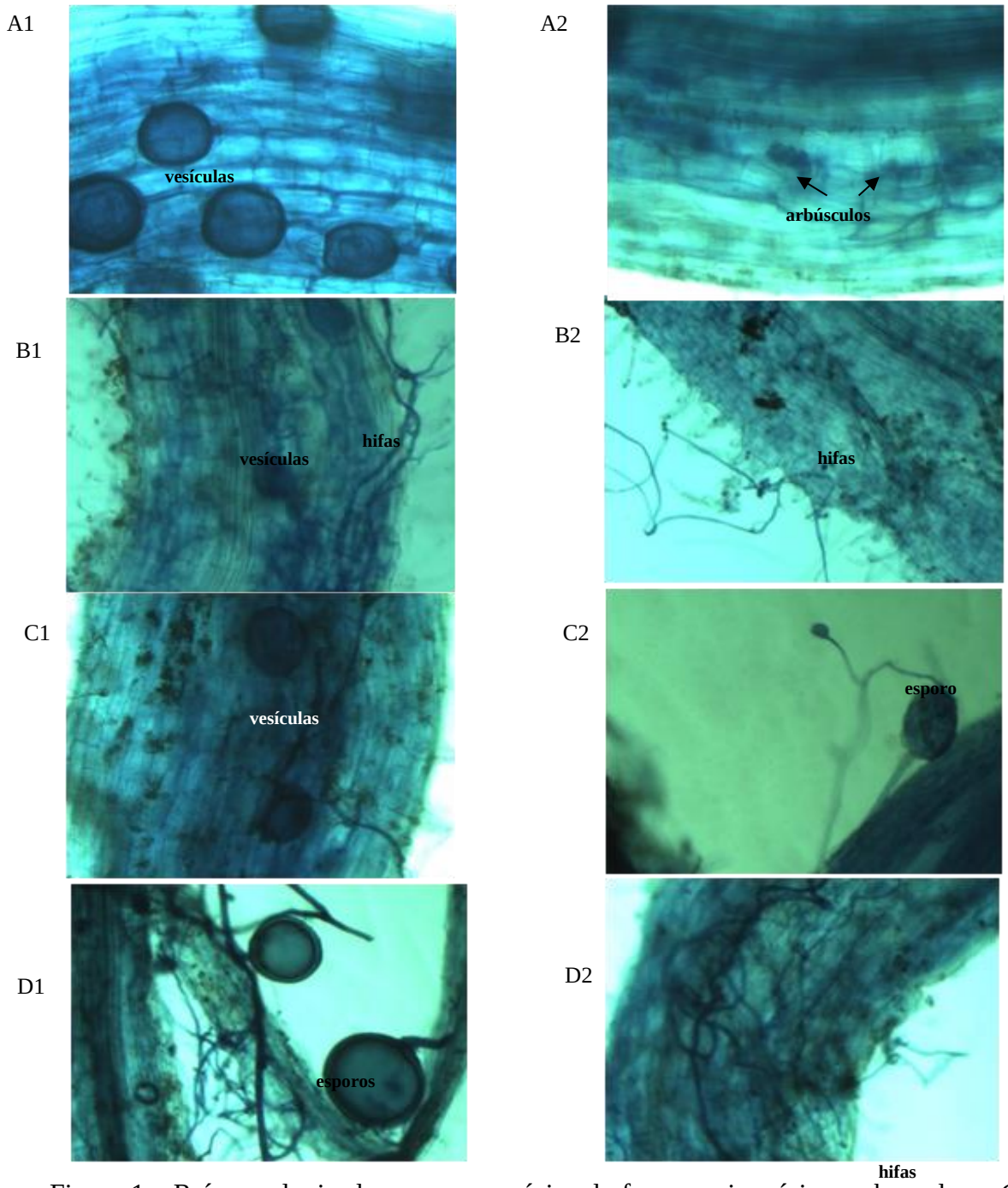

Figura 1 - Raízes colonizadas com as espécies de fungos micorrízicos arbusculares *Glomus clarum* e *G.etunicatum* nas plantas de feijão variedade Iapar Tangará nos solos contaminados com ^{137}Cs, mostrando as estruturas dos fungos: hifas, vesículas, arbúsculos e esporos. A1: Argissolo em menor nível de K no solo e A2: Argissolo em maior nível de K no solo; B1: Chernossolo em menor nível de K no solo e B2: Chernossolo em maior nível de K no solo; C1: Gleissolo em menor nível de K no solo e C2: Gleissolo em maior nível de K no solo; D1: Nitossolo em menor nível de K no solo e D2: Nitossolo em maior nível de K no solo

6.2 Teor de clorofila em unidades SPAD, produção de massa seca e diâmetro do caule das plantas de feijão

No experimento realizado com os solos contaminados com ^{137}Cs foi realizada a avaliação do teor de clorofila em unidade SPAD, a produção de matéria seca total e o diâmetro das plantas de feijão, sendo observada interação entre os tipos de solo, presença ou ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e níveis de potássio no solo para o teor de clorofila e para o diâmetro do caule.

O índice SPAD apresentou variação entre os tratamentos, variando de 31,7 a 49,7 (Figura 2), com maior valor observado nas plantas de feijão cultivadas no Gleissolo e Chernossolo.

Nas plantas cultivadas no Gleissolo, o maior índice SPAD foi observado com a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e maior nível de potássio (Figura 2D). Em relação ao Chernossolo, o maior teor de clorofila (em unidades SPAD) foi verificado no tratamento com a presença de FMA e menor nível de potássio no solo (Figura 2C). Não foram observadas diferenças significativas dos tratamentos para os teores de clorofila nas plantas cultivadas no Argissolo e Nitossolo (Figura 2A e 2B). Na média dos níveis de K, foi demonstrada que a presença das espécies *Glomus clarum* e *Glomus etunicatum* em associação com as plantas de feijão promoveram aumento no teor de clorofila tanto no Gleissolo, quanto no Chernossolo de 12% e de 11% em relação a ausência de inoculação nestes solos, respectivamente.

O cultivo de plantas na presença de FMA em geral tem demonstrado incremento na produtividade, crescimento, índice de clorofila e maior absorção de nutrientes (ABDEL-LATEF, 2011; ANDRADE et al., 2009). Tem sido bastante relatado os efeitos benéficos da presença de FMA no desenvolvimento de plantas cultivadas na presença de diversos elementos químicos – principalmente em condição de excesso/toxidez -, sendo constatado por Zhanga et al. (2010) que, em plantas de milho cultivadas na presença do metal pesado cádmio, o teor de clorofila foi maior com a presença de FMA quando comparado ao controle não inoculado.

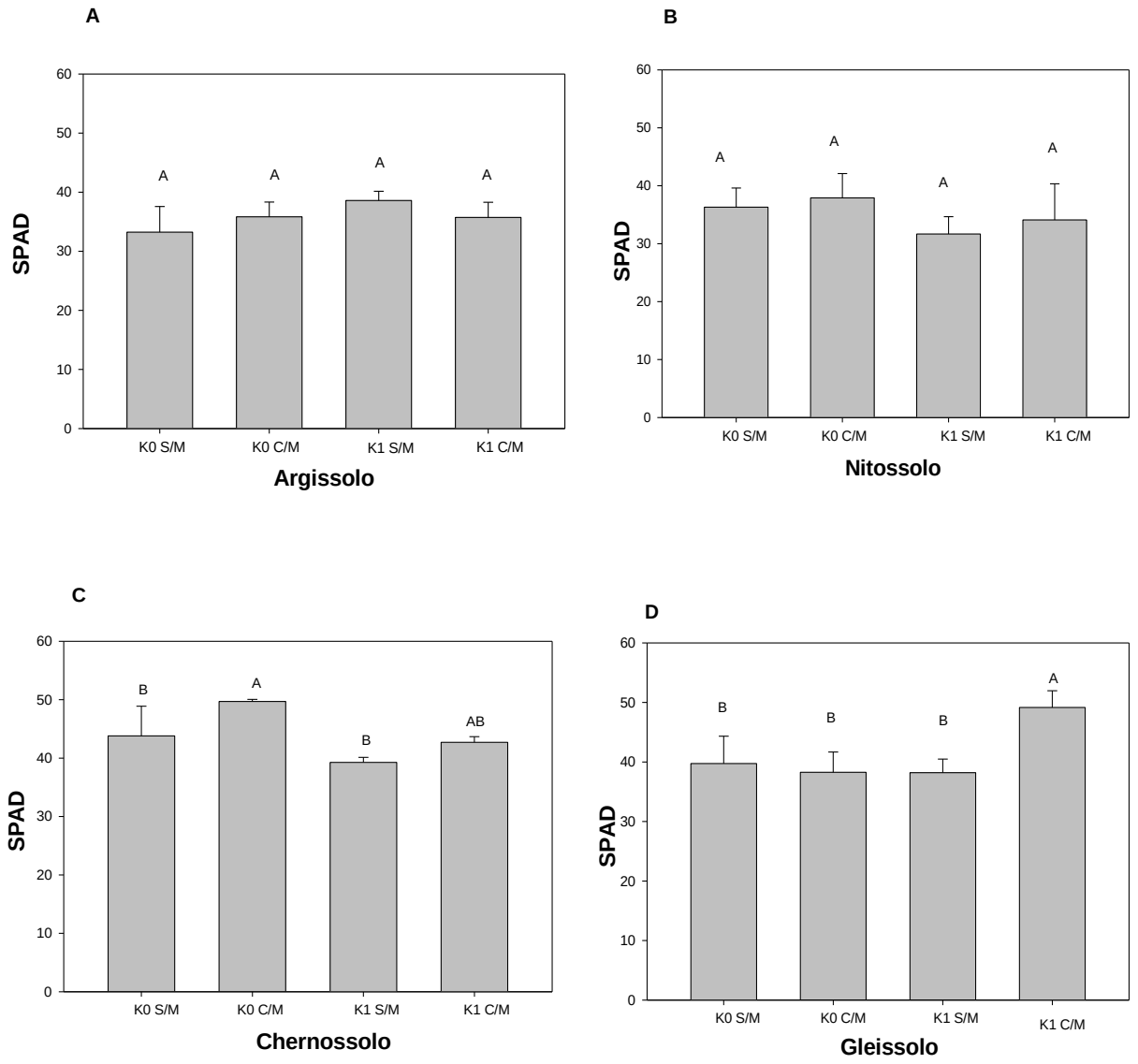

Figura 2 - Teor de clorofila em unidades SPAD nas plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função do nível de K e presença ou ausência de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo

Deve-se destacar que no cultivo das plantas no Gleissolo, houve diferença significativa do teor de clorofila no tratamento com maior nível de K e na presença de FMA em relação aos demais tratamentos, evidenciando que a concentração de K no solo e a simbiose das plantas com estas espécies de fungos podem interferir positivamente na concentração de clorofila (Figura 2D). Ademais, a disponibilidade de N e de outros nutrientes como Mg, S, Mn e Fe, o estágio de desenvolvimento e teor de água na planta, densidade de plantas e diferenças genotípicas podem afetar as medições de intensidade da cor verde da folha pelo medidor de clorofila (BLACKMER; SCHEPERS; VIGIL, 1993).

Em relação à produção de massa de matéria seca total das plantas de feijão, não foi constatada interação entre os tratamentos, ou seja, entre os tipos de solo, ausência ou presença de FMA e níveis de K no solo, sendo observados somente efeitos isolados do tipo de solo (Figura 3A) e da inoculação ou não com FMA (Figura 3B). A produção de massa de matéria seca total das plantas cultivadas no Nitossolo foi 13% e 6% superior àquelas obtidas no Argissolo e Chernossolo, respectivamente (Figura 3A). Por sua vez, a produção de massa de matéria seca total das plantas e inoculados com FMA foi 6% superior em relação ao tratamento sem inoculação com FMA (Figura 3B), sem diferença significativa entre os níveis de K nos solos.

A inoculação das espécies de FMA *Glomus clarum* e *Glomus etunicatum* foi eficaz para uma maior produção de massa de matéria seca das plantas. Estas duas espécies demonstraram que podem manter simbiose eficiente na cultura de feijão nas condições de cultivo por contaminação moderada de ^{137}Cs, promovendo incremento no rendimento produtivo de biomassa vegetal, além do aumento do teor de clorofila nas plantas. O comportamento benéfico da presença de FMA em solos contaminados com metais já foi evidenciado para milho, sendo observados aumentos nos valores de altura, diâmetro basal e biomassa das mudas, com a inoculação de FMA (ZHANGA et al., 2010).

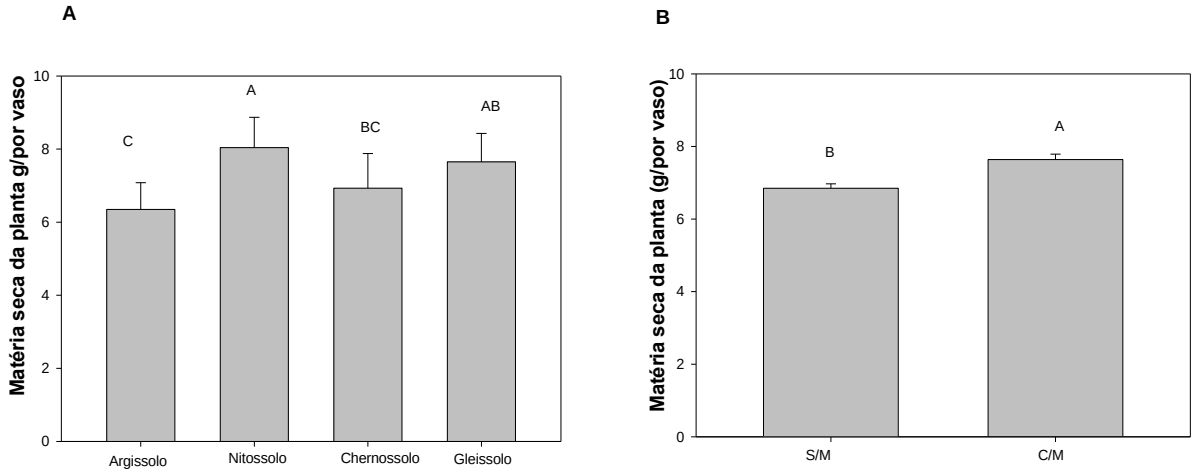

Figura 3 - Produção de massa de matéria seca das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas em solos contaminados com ^{137}Cs, em função dos tipos de solo e na média da inoculação ou não com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (A) e presença ou ausência de inoculação com FMA, na média dos tipos de solo (B). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: S/M: na ausência de inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e C/M: na presença de inoculação de fungos micorrízicos arbusculares

Em relação ao diâmetro do caule das plantas de feijão foi observada interação entre os tipos de solo contaminados com ^{137}Cs e os níveis de K no solo, com variação entre 2,05 a 2,51 mm entre os tratamentos (Figura 4). Ademais, não foi verificado efeito significativo da inoculação com as espécies de FMA *Glomus clarum* e *G. etunicatum* no diâmetro do caule.

O maior nível de K nos solos contaminados com ^{17}Cs promoveu aumento de 37% e de 15% no diâmetro do caule das plantas de feijão cultivadas no Chernossolo e Gleissolo, respectivamente (Figura 4C e 4 D). Em contraste, nas plantas cultivadas no Argissolo, verificou-se incremento no diâmetro do caule de 65% na condição do menor nível de K no solo em relação ao maior nível de K (Figura 4 A). Sandeep; Manjaiah (2008) relataram que o fornecimento de potássio para trigo e mostarda cultivados na presença de ^{134}Cs também promoveu efeito positivo na produção de biomassa, na produção de grãos e na concentração de K na planta.

No cultivo no Nitossolo não houve diferença entre os níveis de K no solo para o diâmetro do caule das plantas de feijão. Foram observadas que as propriedades físicas (teor de areia, argila e silte, relação de Si:Al representado nas Tabelas 1 e 4) e químicas químicas

(como teor de P, de Ca, acidez potencial e soma de bases como descrito na Tabela 5) nos também parecem interferir no diâmetro do caule das plantas de feijão.

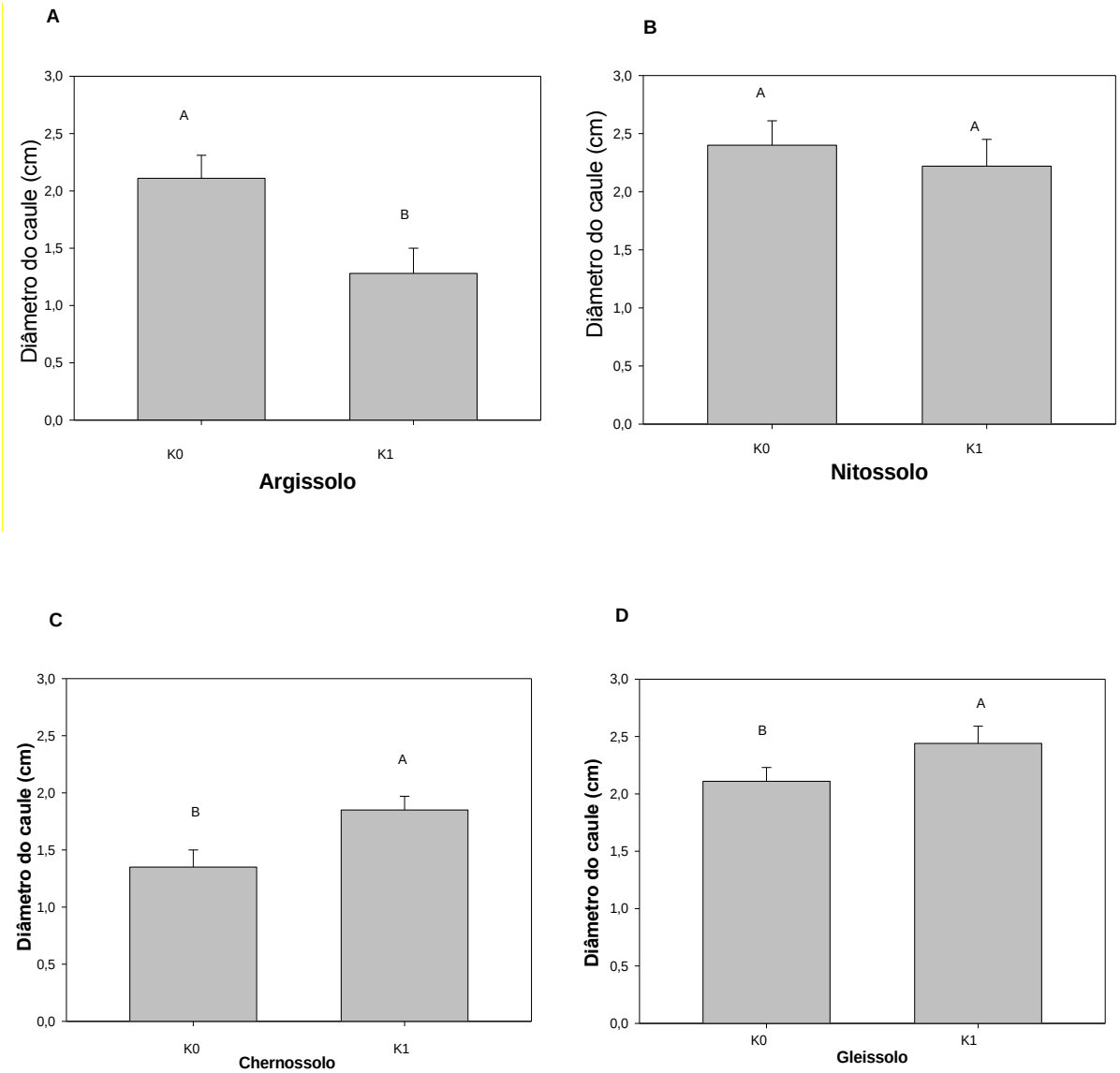

Figura 4 - Diâmetro do caule das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas em solo contaminados com ^{137}Cs, em função dos níveis de K no solo. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0: menor nível de potássio no solo e K1: maior nível de potássio no solo

6.3 Atividade específica de ^{137}césio nos órgãos vegetais das plantas de feijão

As atividades específicas de ^{137}Cs nas folhas, caule e raízes das plantas são mostradas nas Figuras 5, 6 e 7. Quanto à atividade específica de césio nas folhas, foi verificada interação entre os tipos de solo e níveis de potássio (Figura 5), sendo os mais altos valores das atividades específicas observadas para as condições de menor nível de potássio (exceto para o Gleissolo, na Figura 5D). Para esta condição, constatou-se aumento de 399% e 209% do valor de atividade específica do menor para o maior nível de K no Nitossolo e Argissolo, respectivamente.

A proporção do acúmulo de césio nos tecidos vegetais depende das espécies de plantas, sendo que os resultados de estudos científicos sugerem maior atividade de ^{137}Cs nas partes mais novas em relação às mais velhas (ANJOS et al., 2009), o que é facilmente compreensível pela similaridade química e fisiológica entre o Cs e o K, os quais são altamente móveis quanto à redistribuição na planta.

Não foi observado efeito da presença de fungos micorrízicos inoculados no solo e colonizando as plantas de feijão nos diferentes solos. Diferentes resultados são encontrados de acordo com a cultura, em experimento de solo contaminado com ^{137}Cs, em condições de casa de vegetação, a inoculação com diversas espécies de FMA aumentou a absorção de ^{137}Cs por alho-poró, enquanto nenhum efeito foi observado na absorção deste nuclídeo pelo azevém (ROSÉN et al., 2005). Portanto, as espécies vegetais não podem ser agrupadas de acordo com a sua família ou aspecto arbóreo em relação à capacidade de absorção e acúmulo de ^{137}Cs, bem como de outros elementos químicos, uma vez que existem diferenças inter e intra específicas quanto aos processos de aquisição, absorção, aos mecanismos de exclusão, compartimentação nas raízes e transporte a longa distância, por exemplo (HANDLA et al., 2008).

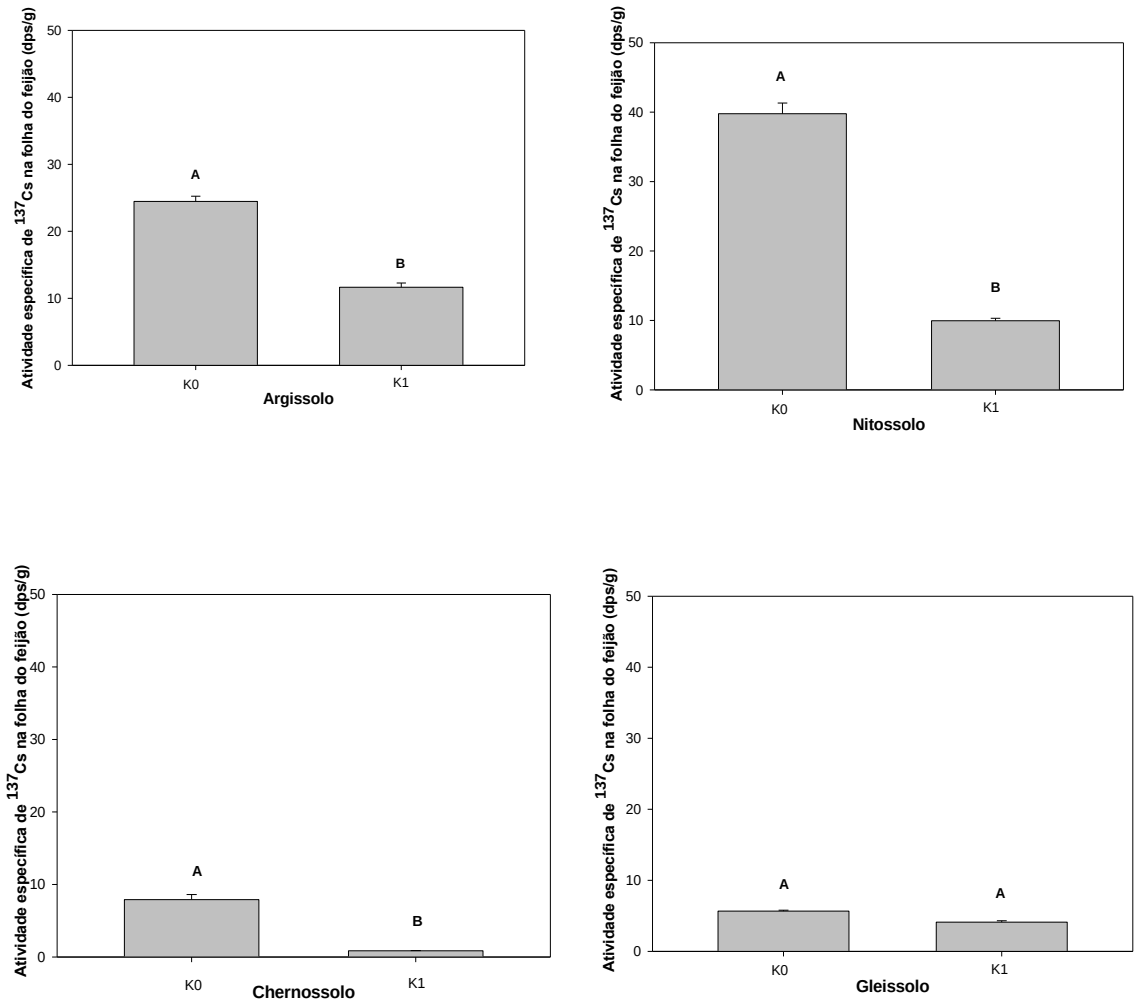

Figura 5 - Atividade específica de ^{137}Cs nas folhas das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função dos níveis de K no solo. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0: menor nível de potássio no solo e K1: maior nível de potássio no solo

Para a atividade específica de ^{137}Cs no caule das plantas, foi constatada interação entre os tipos de solo e os níveis de K no solo (Figura 6).

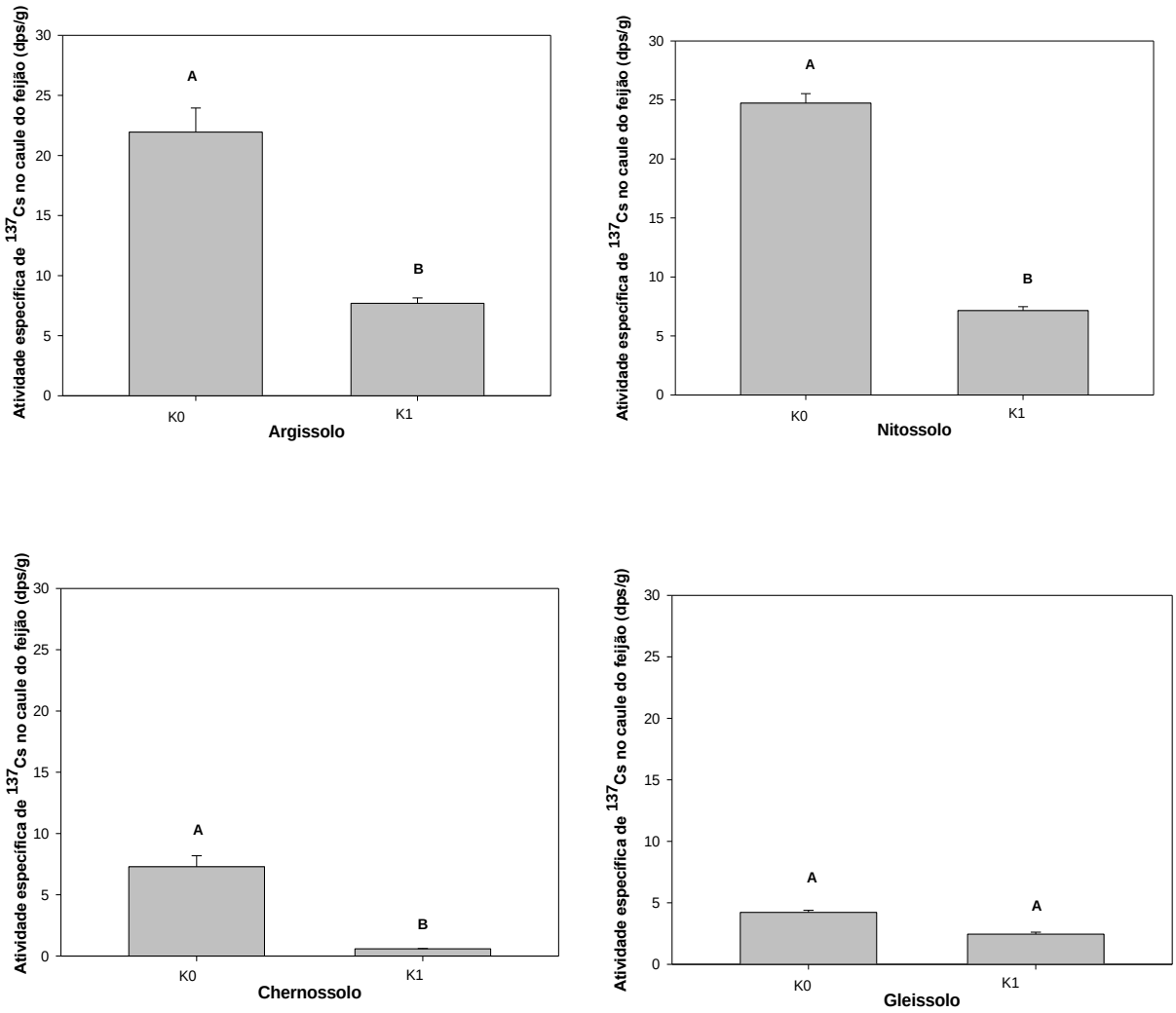

Figura 6 - Atividade específica de ^{137}Cs no caule das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs em função do nível de K no solo. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0: menor nível de potássio no solo; K1: maior nível de potássio no solo

Em relação ao cultivo das plantas nos diferentes solos não foi observada diferença entre ausência ou presença da inoculação de FMA para a atividade de césio no caule do feijão. Foi observada a maior atividade de césio no tratamento com menor nível de potássio no caule das plantas de feijão crescidas nos diferentes solos (Figura 6), com maior atividade específica cultivo no Nitossolo (Figura 6B). Para o Nitossolo e Argissolo, observou-se maior atividade específica do ^{137}Cs para o menor nível de K em relação ao maior nível, com incremento de 345% e 285% nas atividades, respectivamente.

Para as raízes das plantas de feijoeiro cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, ocorreu interação entre os tipos de solo e níveis de potássio, como demonstrado na Figura 7.

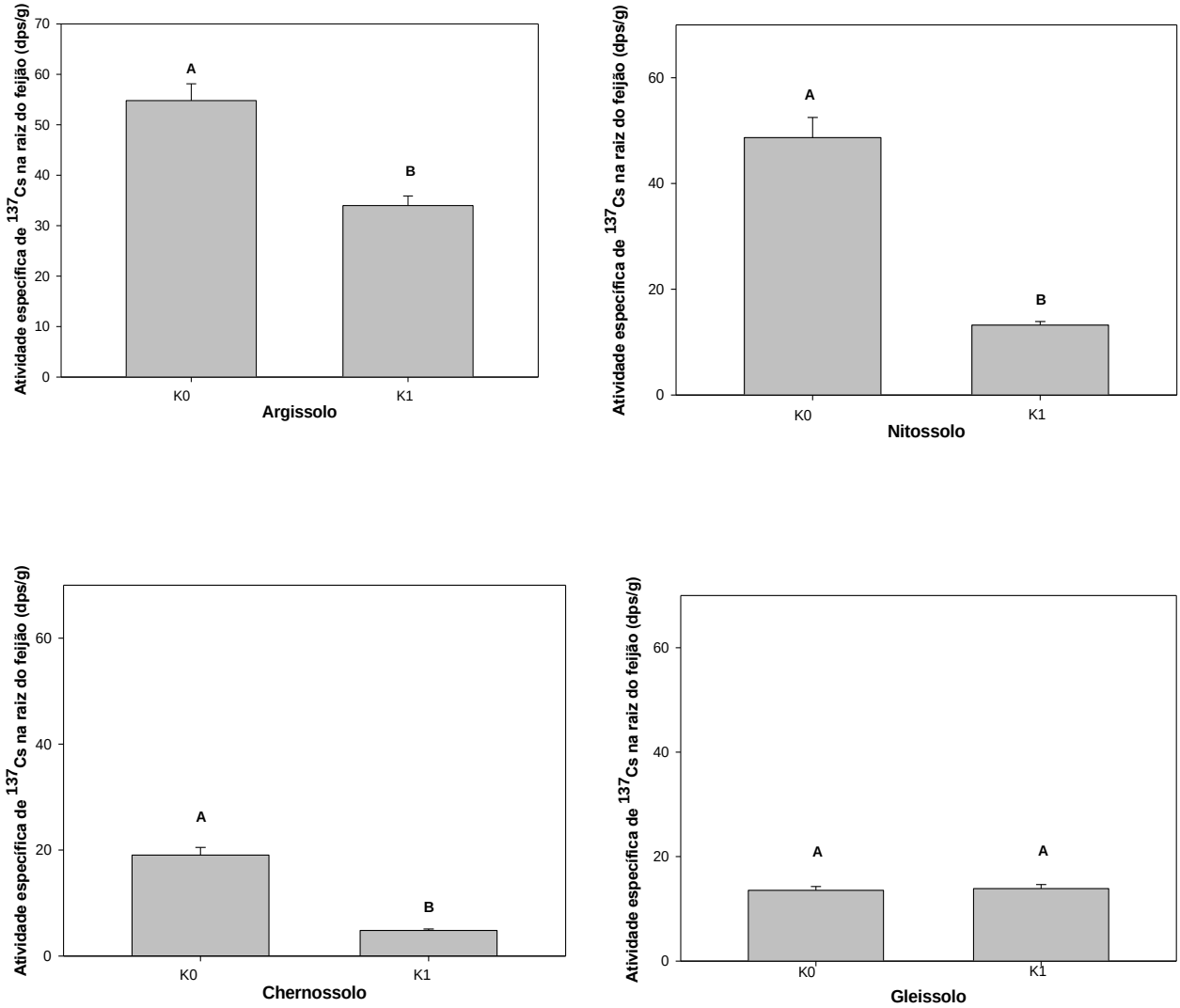

Figura 7 - Atividade específica do ^{137}Cs nas raízes das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função das propriedades do solo, nível de K no solo e com a presença ou ausência de inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0: menor nível de potássio no solo e K1: maior nível de potássio no solo

A maior atividade específica de ^{137}Cs nas raízes foi verificada em cultivo no Nitossolo e Argissolo, com incrementos de 368 % e 62% respectivamente, em relação ao tratamento com maior nível de K (Figura 7A e 7B), indicando o processo interiônico de inibição competitiva entre K^+ e Cs^+. Quanto ao Gleissolo, não houve diferença significativa entre as atividades específicas de ^{137}Cs entre os níveis de K (Figura 7D).

Entre os tipos de solos contaminados com ^{137}Cs, de maneira geral as espécies de FMA *Glomus clarum* e *G. etunicatum* não exerceram influência para uma maior atividade específica de ^{137}Cs nas raízes.

A atividade do ^{137}Cs na planta é fortemente influenciada pelas características do solo (MASSAS et al., 2010). A absorção e o transporte de ^{137}Cs na planta depende da capacidade de adsorção do elemento químico pelos solos. Os solos estudados apresentam diferenças quanto ao grau de intemperização e pelo conteúdo de minerais de argila, teor de carbono e capacidade de troca catiônica, dessa forma a capacidade de adsorção do ^{137}Cs tem variação nos solos de clima tropical. Em estudo desenvolvido por Roque et al., (2003), foi observado que o Chernossolo exibiu maior valor de adsorção inicial de^{137}Cs, com comportamento semelhante do Nitossolo devido ao seu alto teor de argila, enquanto o Argissolo e Gleissolo apresentaram capacidade intermediária de adsorção do ^{137}Cs no solo (ROQUE et al.,, 2003), características estas que ajudam a explicar, em parte, a absorção e o transporte de ^{137}Cs nas plantas de feijão, nos tratamentos com níveis de K.

Handla et al. (2008) relataram que somente alguns parâmetros do solo (como por exemplo, teor de argila, teor de matéria orgânica e tipos de minerais de argila 2:1 e 1:1) correlacionam-se com a disponibilidade de ^{137}Cs no solução do solo devido à menor retenção nas partículas do solo, com consequência na absorção do ^{137}Cs pelos vegetais que crescem neste substrato. Além disso, a absorção de radionuclídeos por raízes depende da disponibilidade no solo, das propriedades químicas dos radionuclídeos e da seletividade de absorção radicular da planta (ROCA et al., 1995). Considerando-se os fatores que influenciam a absorção do ^{137}Cs pelas plantas, deve-se observar a semelhança do comportamento químico entre Cs e K, bem como as diferenças inter e intra específicas quanto à exigência em K – geralmente maior em gramíneas – e as propriedades químicas e físicas do solo na disponibilização do K na solução do solo (MASSAS; SKARLOU; HAIDOUTI, 2002).

Segundo o estudo de Carvalho et al. (2006), há ocorrência de competição direta entre íons Cs e K durante o processo de acumulação em toda a planta, indicando que os dois elementos apresentam mecanismos de absorção comuns e que esta competição pode ser descrita por meio do número carregadores transmembrana disponíveis. Todavia, resultados na

literatura semelhantes aos encontrados na presente dissertação, evidenciaram que a absorção de ^{134}Cs não foi completamente inibida, ou reduzida mesmo em condição de alta concentração de K no substrato, o que sugere a possível existência de outros mecanismos de absorção do elemento além dos canais e das proteínas carregadoras de K.

Observou-se interação entre tipo de solo, presença ou ausência de inoculação com FMA e níveis de potássio no solo (Figura 8) no coeficiente de transferência de ^{137}Cs do solo para as plantas de feijão.

No cultivo de feijão no Argissolo, Nitossolo e Chernossolo foi observado alto coeficiente de transferência com menor nível de potássio e a presença de FMA (Figura 8A, 8B e 8C). Para o Gleissolo não houve diferença significativa para os valores de coeficiente de transferência de ^{137}Cs para as condições de ausência ou presença de FMA no solo e níveis de potássio (Figura 8D).

Em cultivo *in vitro* desenvolvido por Gyuricza et al. (2010), as estruturas dos fungos micorrízicos arbusculares atuaram transferindo césio para as plantas hospedeiras. Neste sentido, Dupré de Boulois et al. (2006) aventaram o potencial envolvimento de FMA no ciclo biogeoquímico do Cs e no seu acúmulo pela planta. Todavia, em estudos desenvolvidos em solos de regiões de clima temperado, foi demonstrado que a presença de argilas no solo e adição de K (adubação), não interferiu significativamente na quantidade do radionuclídeo transportado dos FMA para as plantas hospedeiras (DUPRÉ DE BOULOIS, 2008). Por outro lado, a inoculação com os FMA pode desempenhar a função de barreira, evitando a transferência de ^{137}Cs do solo para as plantas, com as estruturas fúngicas intrarradiculares com a capacidade de induzir a uma acumulação local de césio radioativo e ao mesmo tempo reduzir a sua translocação dentro raízes micorrízicos, como observado por Dupré de Boulois et al. (2005). Entretanto, este fato é importante por apresentar resultados contraditórios na literatura, colocando em discussão a capacidade dos FMA participarem em estratégias de fitorremediação e, portanto, é necessário maior número de investigações (DUPRÉ DE BOULOIS et al., 2008).

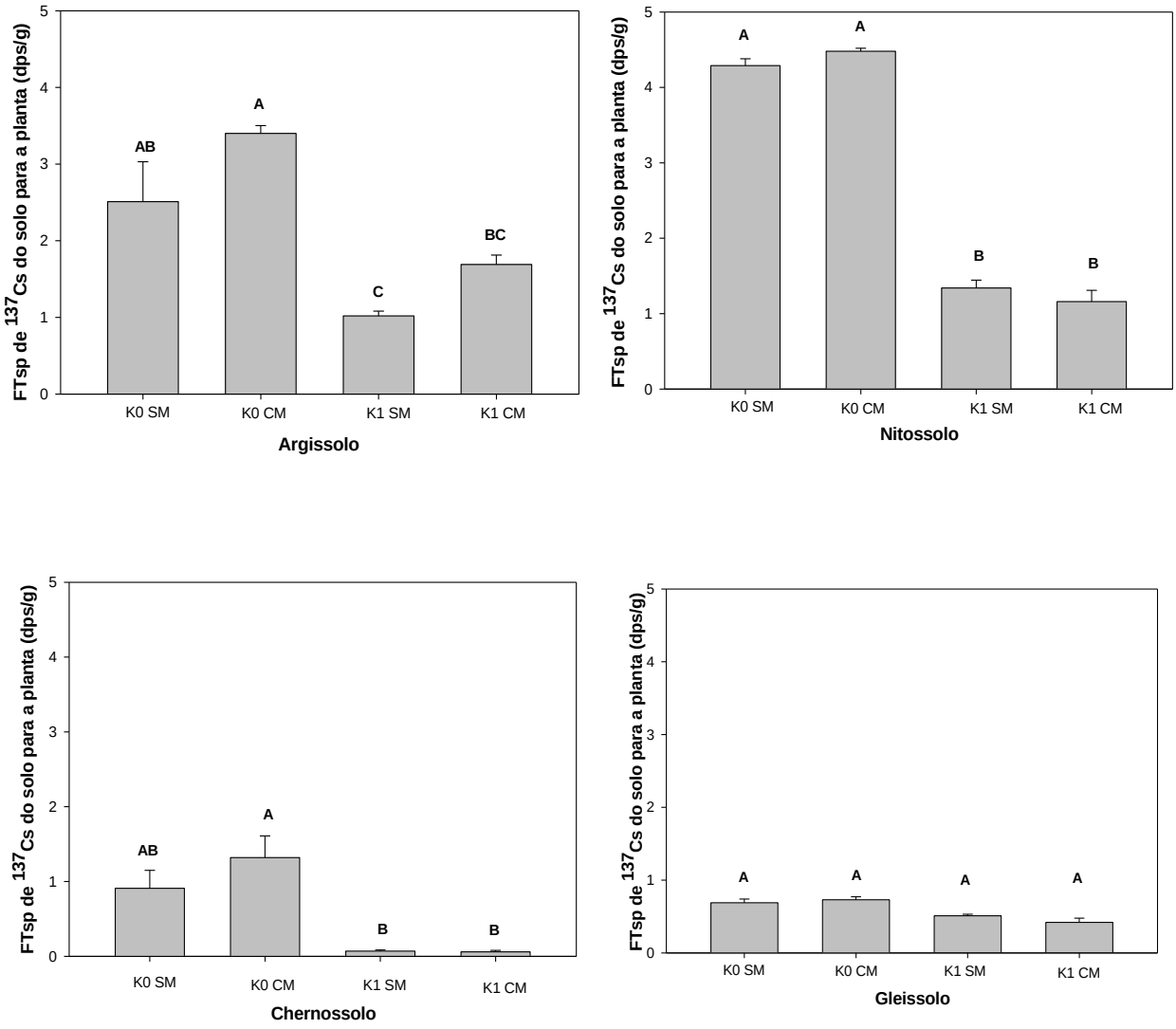

Figura 8 - Coeficiente de transferência (FTsp) de ^{137}Cs do solo para as plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função da presença ou ausência de inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo

Como o fator de transferência do solo para as plantas (TF) tem uma forte dependência do ambiente geoquímico em torno das raízes (e até rizosfera), o teor de potássio no solo irá determinar a capacidade de adsorção do ^{137}Cs no solo e absorção pela planta (AJAY KUMAR et al., 2008). Contudo esse comportamento em relação ao teor de potássio ocorre abaixo de 0,05 cmol /kg no solo, com uma forte influência do nutriente para um menor coeficiente de transferência do elemento químico Cs do solo para a planta, enquanto que acima desse limite outros fatores determinam o TF do ^{137}Cs (BUTKUS; LUKSIENE; KONSTANTINOVA, 2009).

O fator de transferência (TF) pode ser significativamente reduzido a partir da aplicação de potássio, mas de fato, o conteúdo de argila no solo é uma das principais variáveis que afetam a disponibilidade de Cs e a absorção pelas plantas, em que para o aumento no teor de argila há diminuição na absorção de Cs (ANDERSEN, 1967). Os solos com maior teor de argila tendem a apresentar menor coeficiente de transferência para as plantas, com diferença entre os solos de clima temperado e clima tropical, com maior potencial de transferência de ^{137}Cs para as culturas em solos de região de clima tropical devido a maior presença de minerais 1:1 e menor adsorção do ^{137}Cs. (ROQUE et al., 1998).

Nos solos de clima tropical utilizados nesse estudo (Chernossolo, Argissolo, Chernossolo e Gleissolo), Roque et al., (2003) mostrou que os processos de sorção e adsorção do Cs foram depende do tamanho das partículas minerais, estrutura, seletividade, força iônica da solução do solo e da presença de íons com propriedades químicas semelhantes ao K (Rb e Li, por exemplo). A mobilidade de ^{137}Cs no solo demonstra baixa resposta ao teor de esmectita (mineral de argila 2:1) no solo, de forma que deve ocorrer um papel simultâneo das características físico-químicas do solo, como pH e teor de matéria orgânica (MATSUNAGA et al., 2013).

Em relação aos estudos dos isótopos de Cs (^{134}Cs e ^{137}Cs), diversos fatores referentes às propriedades químicas, física e biológicas dos solos têm sido relatados na transferência do Cs do solo para as plantas (SANDEEP; MANJAIAH, 2008). A elevada variabilidade dos fatores de transferência do elemento para as culturas pode ser explicada em vista do grande número de processos independentes capazes de influenciar a absorção de ^{137}Cs (SREENIVASA et al., 2012).

As espécies vegetais também diferem significativamente na sua capacidade de acumular os radionuclídeos (SCHIMMACK et al., 2004), bem como não há um padrão de acúmulo do nuclídeo em diferentes tecidos e órgãos da planta (CID et al., 2013). Monira et al.

(2005) observaram menor fator de transferência de ^{137}Cs do solo para as plantas de trigo e na atividade específica nos grãos, a enquanto a maior atividade foi determinada nas raízes.

6.4 Teor de potássio nas plantas de feijão

Constatou-se interação entre os tipos de solo e a presença ou ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (Figura 9) para os teores de K nas folhas, bem como interação entre os fatores tipo de solo e níveis de K no solo (Figura 10), para esta variável resposta.

Para as folhas das plantas cultivadas no Nitossolo na presença dos FMA, constatou-se maior teor de K (17,5 g kg^{-1}), correspondendo a incremento de 36% em relação à ausência de FMA (Figura 10B). Entretanto, não foram observadas diferenças significativas entre presença e ausência de FMA para os teores de K nas folhas das plantas cultivadas no Argissolo (Figura 10A), Chernossolo (Figura 10C) e Gleissolo (Figura 10D), com valor médio de concentração de K de 21,6 g kg^{-1}.

Com relação ao teor de K nas folhas das plantas cultivadas no Nitossolo, no maior nível de K, o valor da concentração foi 71% maior (19,3 g kg^{-1}) em relação aquele do tratamento com o menor nível de K (Figura 11B), este resultado pode ter sido devido a menor CTC deste solo em relação aos demais. Ademais, não foram observadas diferenças quanto as concentração de K nas folhas dos tratamentos com menor e maior nível de K no Argissolo (Figura 11A) e Chernossolo (Figura 11C) Gleissolo (Figura 11D).

Quanto ao teor de K no caule das plantas de feijão houve interação para os tipos de solo, níveis de K no solo e presença ou ausência de inoculação de FMA (Figura 12).

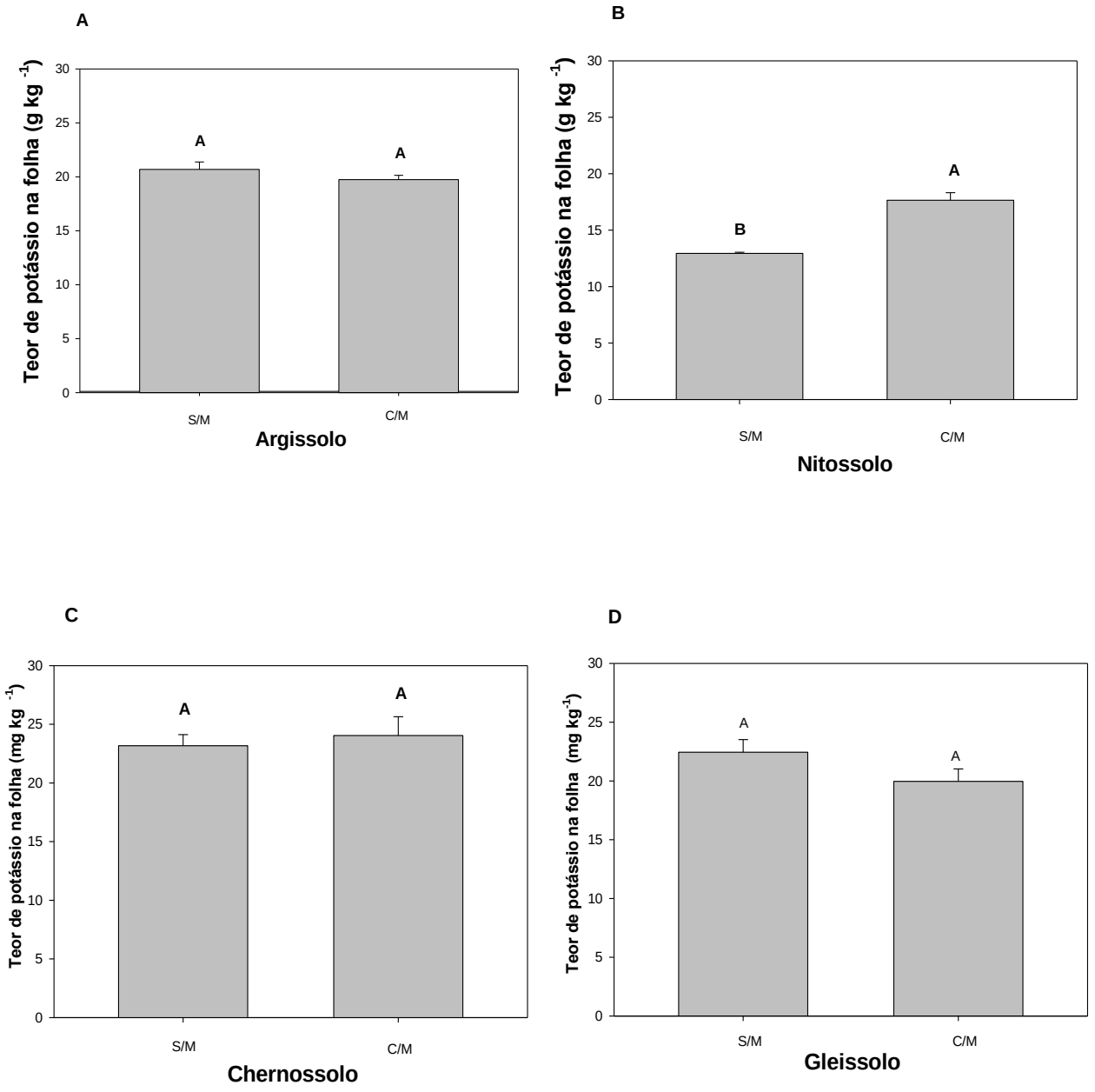

Figura 9 - Teor de potássio (g kg^{-1}) nas folhas das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função da presença ou ausência de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: S/M na ausência de inoculação de FMA no solo; C/M: com a presença de inoculação FMA no solo

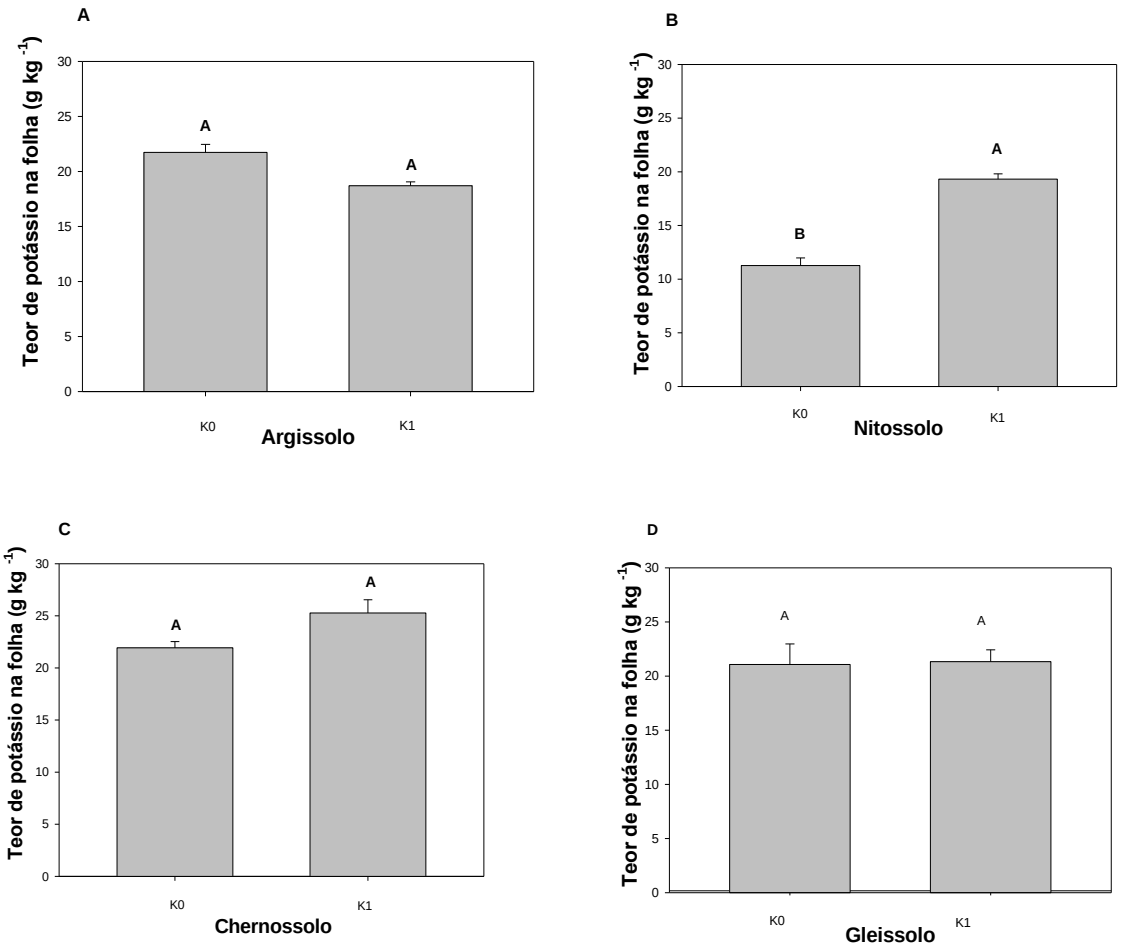

Figura 10 - Teor de potássio (g kg^{-1}) nas folhas das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função do nível de K no solo. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0: menor nível de potássio no solo; K1: maior nível de potássio no solo

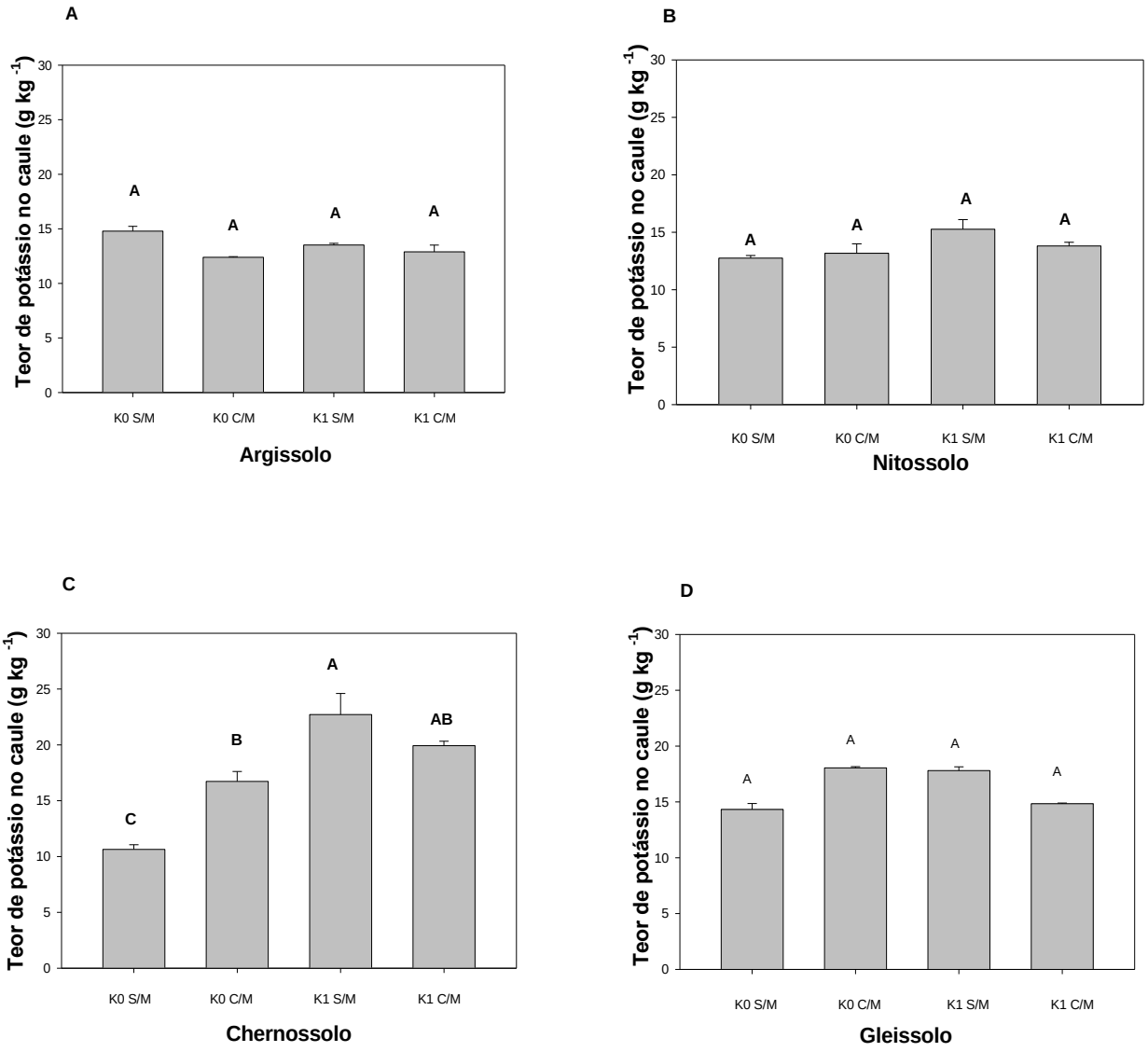

Figura 11 - Teor de K no caule das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função do nível de potássio e presença ou ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo

Em cultivo de feijão no Chernossolo, no tratamento com maior nível de K e na ausência de FMA foi observado o maior teor de K no caule (Figura 11C), com incremento de 36% em relação ao menor nível de K e na presença de FMA e 113% comparado ao menor nível de K e na ausência de FMA no solo. Por sua vez, comparando-se os tratamentos com menor nível de K no solo, constatou-se efeito da micorrização no aumento do teor de K em 57% em relação à ausência da inoculação com os FMA (Figura 11C). Não foram constadas diferenças entre os valores das concentrações de K nos caules das plantas cultivadas Argissolo, Nitossolo e Gleissolo.

Para o teor de K nas raízes, foi verificada interação entre os tipos de solo, níveis de K no solo e pela presença ou ausência de FMA inoculado no solo (Figura 12). O teor de K nas raízes das plantas cultivadas no Argissolo, com maior nível de K e na presença de FMA, foi 174% superior em relação ao teor observado no tratamento com maior nível de K e ausência de FMA, bem como 104% maior em comparação ao tratamento com menor nível de K e na presença de FMA, e 80% superior quando comparado ao tratamento com maior nível de K no solo e sem a presença de FMA (Figura 14A).

No Chernossolo, o teor de K nas raízes de feijão foi mais alto para o maior nível de K no solo e sem a presença de FMA, com incremento de 135% em relação aos tratamentos com baixo nível de K no solo, tanto na ausência como na presença de FMA no solo, e 36% maior em relação ao tratamento com maior nível de K no solo e com a presença de FMA (Figura 12C). Para o cultivo das plantas de feijão no Nitossolo e Gleissolo, não foram observadas diferenças significativas quanto aos níveis de K e presença ou ausência de FMA no solo para os teores de K nas raízes (Figuras 12B e 12D).

O potássio é geralmente considerado um inibidor eficaz da aquisição/absorção de ^{137}Cs devido a este ser absorvido pelas plantas principalmente pelos sistemas de transporte de K (SANPEEP et al., 2008). O Cs pode ser absorvido e acumulado nas plantas principalmente pelos sistemas de transporte de potássio, e por este motivo, pode-se explicar como o potássio influencia na absorção do Cs. Todavia, mesmo com a possibilidade de ocorrer uma competição entre os elementos análogos na absorção pela planta, o K é mais eficientemente absorvido do que o elemento Cs (CIUFFO et al., 2003).

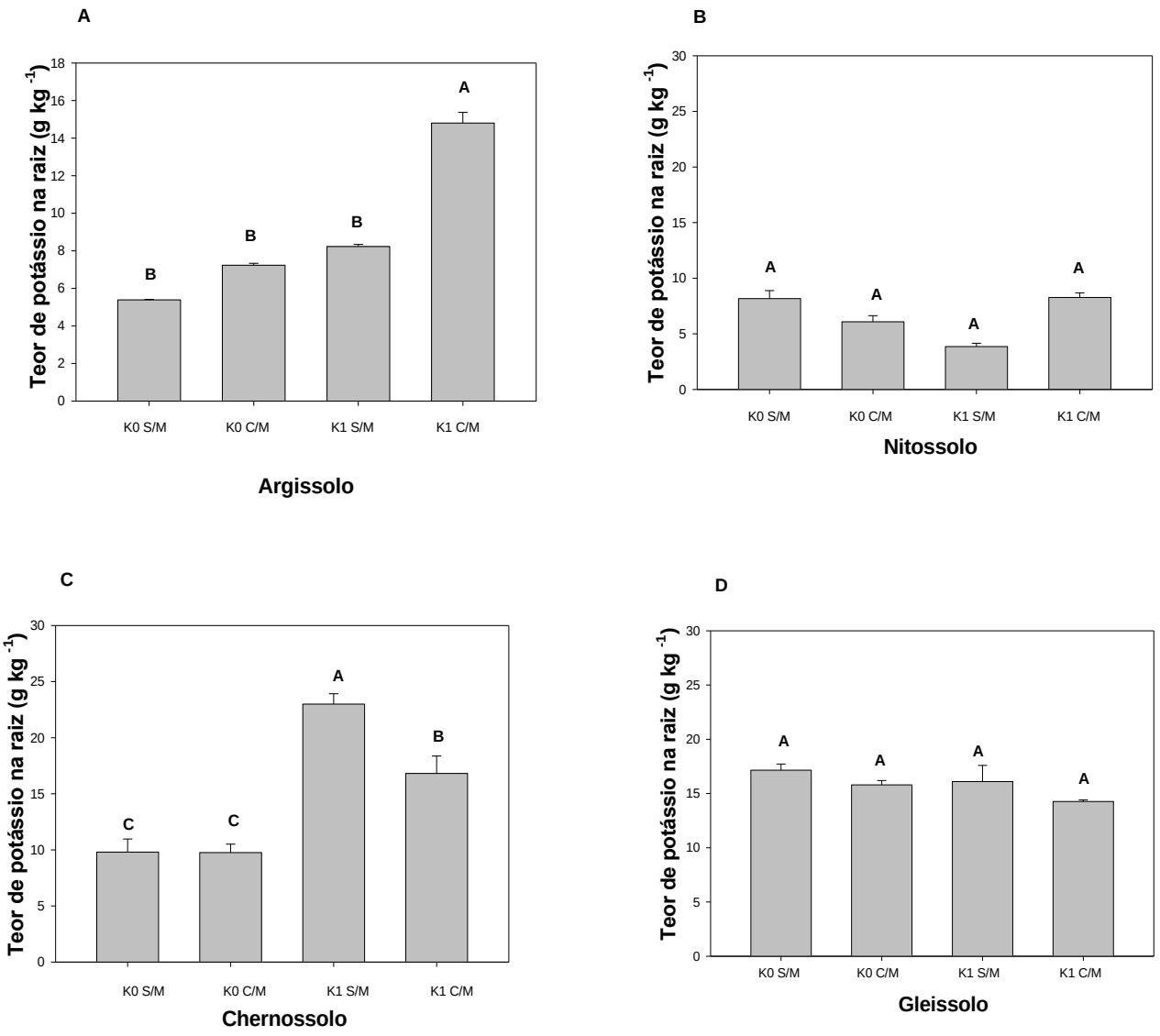

Figura 12 - Teor de potássio nas raízes das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função do nível de potássio e presença ou ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo

A maior concentração de potássio no solo e na planta reduziu a capacidade de absorção e o coeficiente de transferência de Cs do solo para as espécies leguminosas *Vigna radiata* (L.) e *Glycine max* (L.) (SREENIVASA et al., 2012). O K apresenta baixa capacidade de competição com o césio pelos sítios de troca específica do solo com maior adsorção do ^{137}Cs, mas competem entre si para em relação à absorção pelas plantas (ROQUE, 2003).

6.5 Quantificação de malondialdeído (MDA) em espectofotômetro nas folhas e raízes de feijão cultivado em solos contaminado com ^{137}Cs

A produção de malondialdeído (MDA) foi avaliada por teste colorimétrico com base na reação entre o MDA e o ácido tiobarbitúrico, chamado de teste do TBA. O ensaio de MDA foi realizado em todos os tratamentos, utilizado como indicativo da peroxidação lipídica entre os tipos de solo, níveis de K e na presença ou ausência de inoculação de fungos micorrízicos arbuscualres (FMA) no solo.

Houve comportamento diferenciado quanto à peroxidação lipídica nas folhas das plantas cultivadas nos solos, em comparação com o conteúdo de MDA nas raízes. Este comportamento da peroxidação lipídica apresentou relação direta com a absorção, transporte e acúmulo de ^{137}Cs nos órgãos vegetais da planta a partir das propriedades químicas dos solos, dos níveis de K no solo e a presença ou ausência de FMA.

Nos tratamentos utilizados, constatou-se interação entre os solos, níveis de K e presença de FMA quanto à concentração de MDA nas folhas (Figura 13).

No cultivo de feijão no Chernossolo verificou-se a maior concentração de MDA nas plantas do tratamento com maior nível de potássio no solo e sem a presença de FMA. Nos demais solos estudados (Argissolo, Nitossolo e Gleissolo), não houve diferença significativa entre os tratamentos para o teor de MDA nas folhas do feijoeiro.

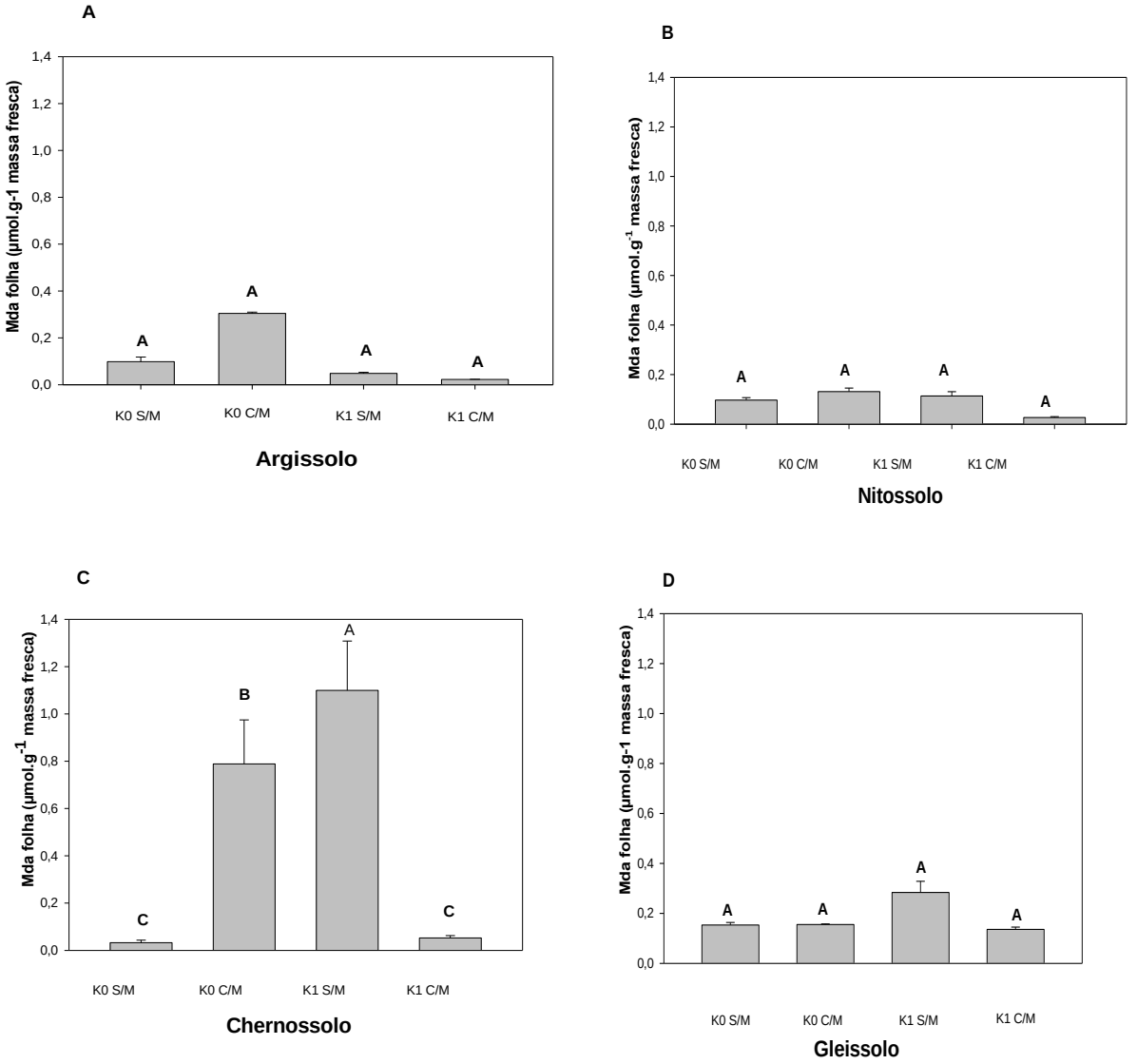

Figura 13 - Produção de malondialdeído (MDA) nas folhas das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, a partir do cultivo nos diferentes tipos de solos, nível de potássio e ausência ou presença de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo

Em relação à peroxidação lipídica nas raízes, foi observada interação entre os tipos de solo, níveis de K e presença ou ausência de FMA, a partir da produção de MDA como demonstrado na Figura 14. Para o Nitossolo, não foi observada diferença entre os tratamentos para o conteúdo de MDA nas raízes. A maior peroxidação de lipídeos nas raízes de feijão foi verificada em cultivo no Argissolo, na condição de maior nível de K e na presença de FMA; no Chernossolo no menor nível de K e sem FMA; bem como no Gleissolo tanto no tratamento com menor nível de K e ausência de FMA, quanto no tratamento com maior nível de K e sem de FMA, evidenciando a presença dos FMA na redução da produção de MDA. Nestes tratamentos descritos, também foram demonstrados os maiores coeficientes de transferência de ^{137}Cs do solo para a planta (Figuras 8 e 9). Pode-se inferir, portanto, que houve indução de estresse oxidativo pela maior transferência do ^{137}Cs.

Desta forma, podem-se elaborar as seguintes alternativas: o alto teor de K nas plantas do Argissolo (Figura 14A) e alta transferência de Cs podem ser considerados juntos como fatores para o aumento no conteúdo de MDA nas raízes do feijão, ou mesmo nas plantas bem supridas em K (nas folhas) o ^{137}Cs ainda pode atuar interferindo nas funções fisiológicas do nutriente K promovendo estresse oxidativo. Estudos recentes revelaram que a resposta das plantas para uma combinação de fatores abióticos e bióticos, (no caso, presença de ^{137}Cs no solo e inoculação com FMA) é única e não pode ser extrapolada a partir da resposta para cada uma das diferentes imposições (*e.g.*, estresse somente pelo baixo nível de K, ou simplesmente pela ausência de FMA) aplicadas individualmente (MITTLER, 2006).

O maior nível de K foi verificado como um dos fatores que pode favorecer a menor absorção, transporte e acúmulo de ^{137}Cs no feijão, porém, não foi verificado efeito na redução do conteúdo de MDA nas raízes desenvolvidas no Gleissolo. Neste solo, a maior produção de MDA na raiz foi verificada nos tratamentos sem a presença de FMA.

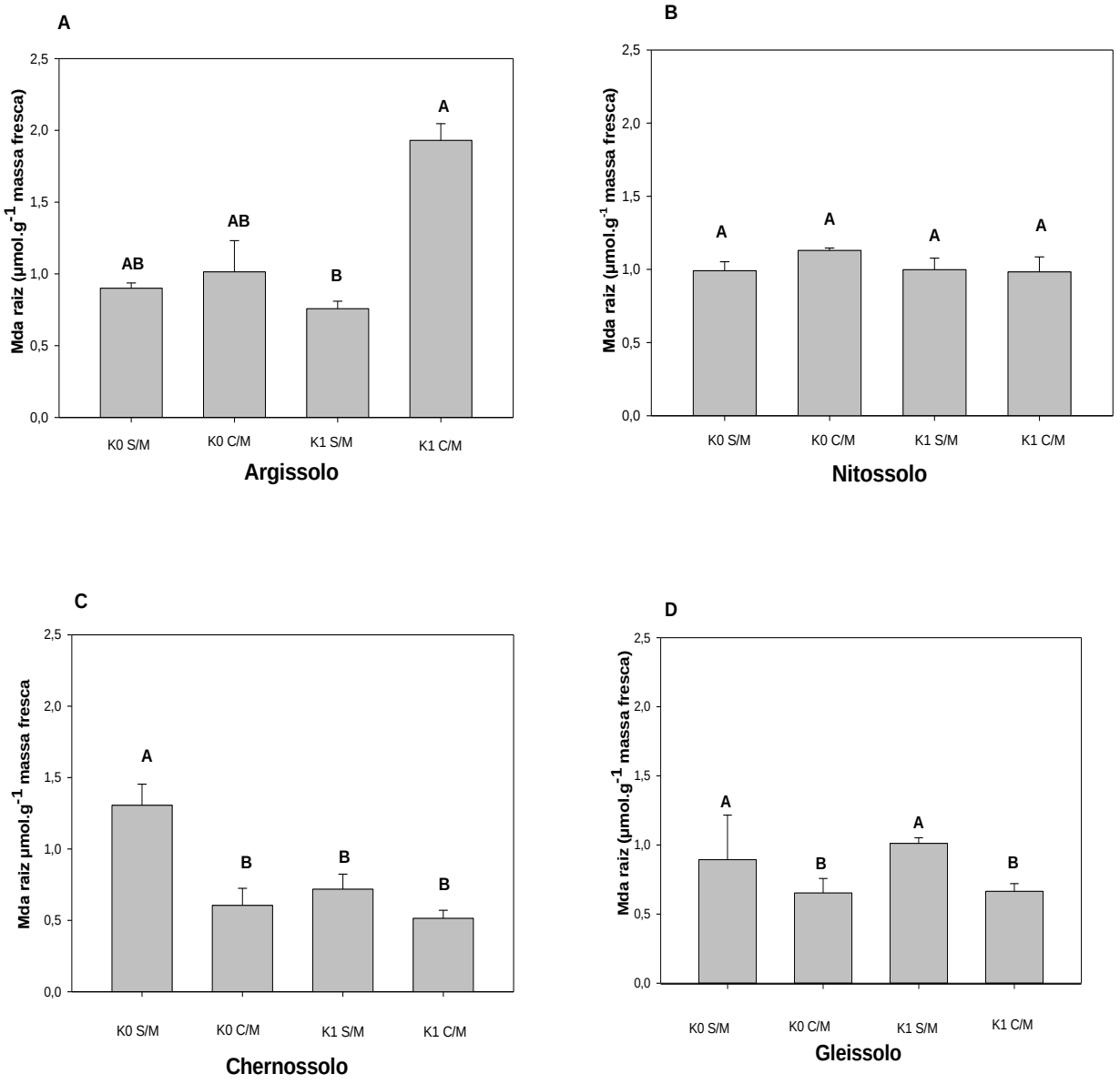

Figura 14 - Produção de malondialdeído (MDA) nas raízes das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, a partir do cultivo nos diferentes tipos de solos, nível de potássio e ausência ou presença de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo

6.6 Quantificação de peróxido de hidrogênio nas folhas e raízes de feijoeiro

Em relação à quantificação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nas folhas de feijoeiro foi verificada interação entre os tipos de solo, níveis de potássio e presença ou ausência de inoculação com FMA no solo (Figura 15).

A maior produção de H_2O_2 foi observada nas folhas das plantas cultivadas no Nitossolo do tratamento com menor nível de potássio e sem a presença de FMA em relação ao maior nível de potássio e sem a presença de FMA. Para o Gleissolo, constatou-se mais alto valor de H_2O_2 nas folhas do tratamento com maior nível de K e também sem a presença de FMA em relação ao menor nível sem FMA.

Nas folhas de feijão cultivadas no Chernossolo, dois tratamentos promoveram maiores conteúdos de H_2O_2 gerados, sendo com menor nível de potássio e sem a presença de FMA e no tratamento com maior nível de potássio com a presença de FMA. Para o Argissolo, o maior valor de H_2O_2 foi observado com menor nível de potássio, tanto no tratamento na presença de FMA como na ausência de FMA.

Em relação à quantificação de peróxido de hidrogênio nas raízes houve interação somente entre os tipos de solo e os níveis de potássio (Figura 16). As espécies de FMA *Glomus Clarum* e *G. etunicatum* não demonstraram influenciar na formação do peróxido de hidrogênio nas raízes de feijão. Nas raízes desenvolvidas no Argissolo contaminado com ^{137}Cs foi verificado maior conteúdo de H_2O_2 no tratamento com menor nível de potássio, a quantificação de peróxido demonstrou ser maior 327% em relação ao maior nível de K (Figura 16A). Para os demais solos (Nitossolo, Chernossolo e Gleissolo) não foram constatadas diferenças significativas para os tratamentos com os níveis de K no solo (Figuras 16B; 16C e 16D).

O H_2O_2 pode atuar na membrana plasmática como sinalizador secundário do estresse oxidativo a partir do aumento das espécies reativas de oxigênio na planta. O excesso de H_2O_2 nas células da planta ocasiona estresse oxidativo, além de inativar as enzimas antioxidantes (GILL; TUTEJA, 2010).

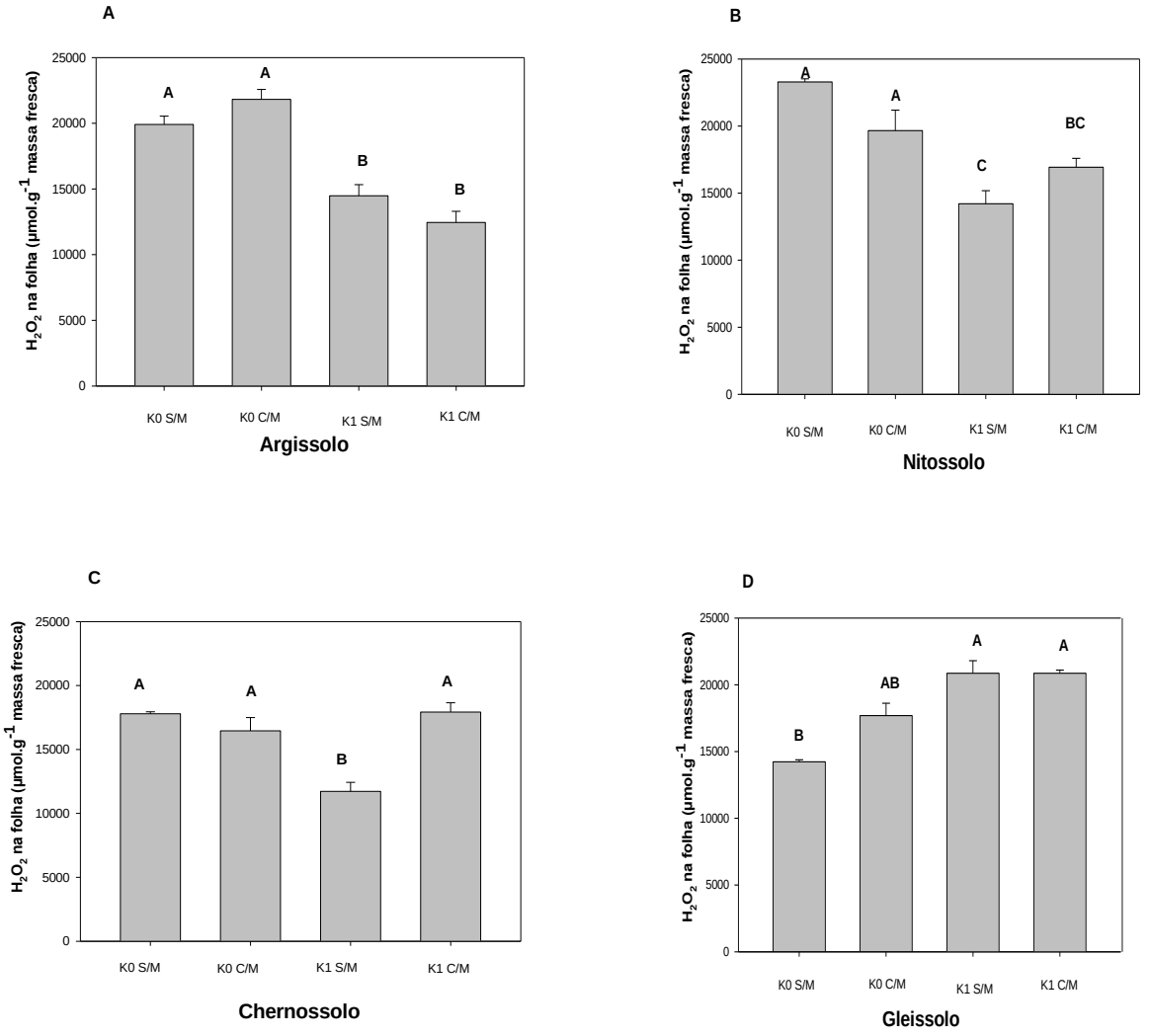

Figura 15 - Quantificação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nas folhas das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs,a partir do cultivo nos diferentes tipos de solos, nível de potássio e ausência ou presença de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em µmol g^{-1} de massa fresca. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo

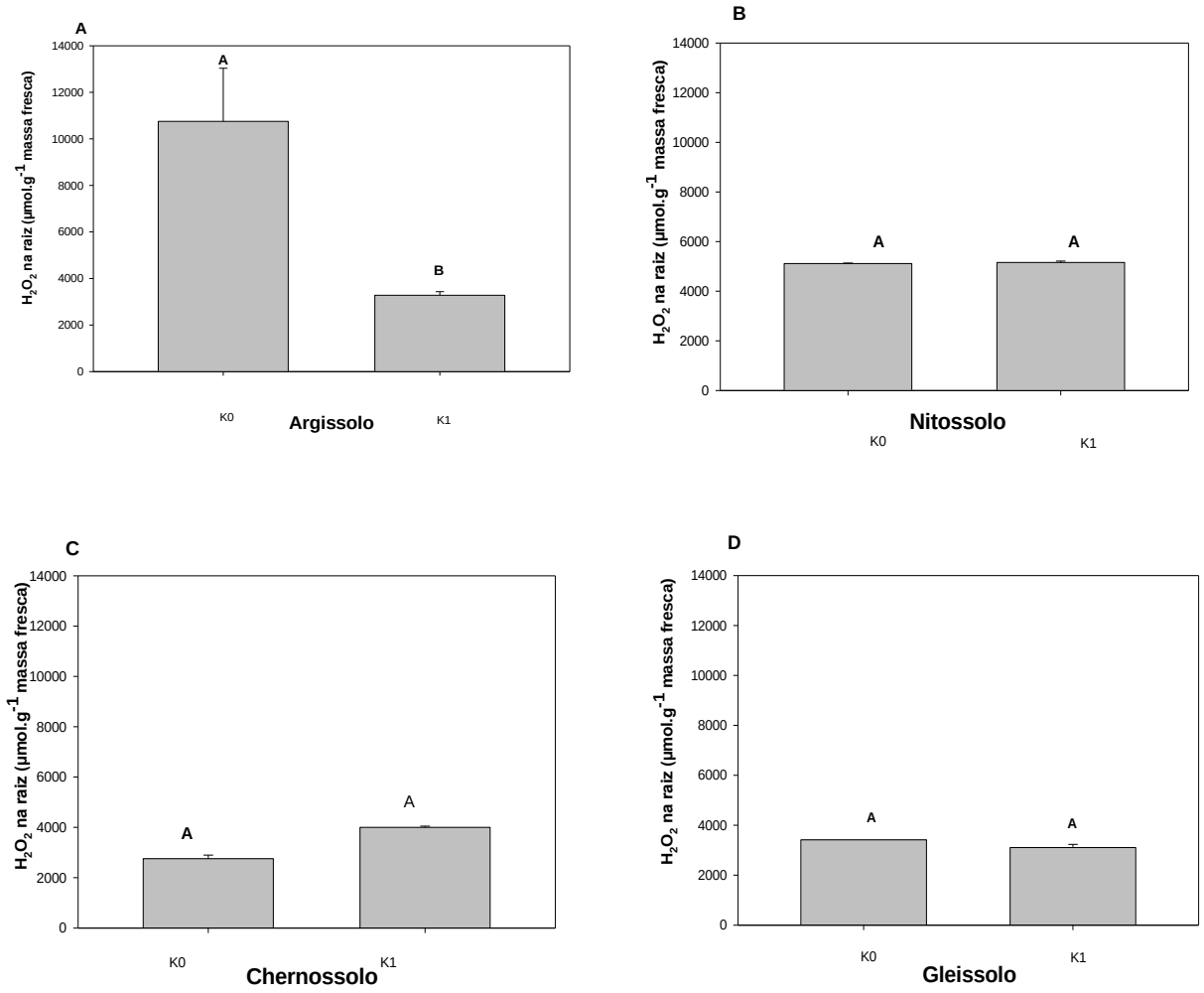

Figura 16 - Quantificação de peróxido de hidrogênio nas raízes das plantas de feijão variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, a partir do cultivo nos diferentes tipos de solos e níveis de potássio em µmol g^{-1} de massa fresca. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo

6.7 Atividade da enzima Catalase em espectofotômetro

Para a atividade da catalase (CAT) foi confirmada a interação entre os tipos de solo, níveis de potássio e presença ou ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (Figura 17). Nas folhas de feijão em cultivo no Argissolo, a maior atividade da enzima CAT foi expressa nos tratamentos sem a inoculação dos FMA em ambos os níveis de K (Figura 17A). Nos tratamentos com maior nível de K, com a ausência de FMA em referência ao tratamento na presença de FMA ocorreu adição de 54% na atividade enzimática, além do aumento em 158% em comparação ao tratamento com menor nível de K e presença de FMA. Para o Nitossolo, nas folhas de feijão a maior atividade de CAT foi observada no tratamento com menor nível de K e sem a presença de FMA. Neste tratamento, em relação à média dos demais, foi observado o acréscimo de 231% na atividade enzimática da catalase (Figura 17B).

No Gleissolo, nas folhas do feijoeiro a maior atividade da enzima CAT foi observada no maior nível de K e sem a inoculação de FMA (Figura 17D). Neste mesmo tratamento, foi comprovado alta atividade específica de ^{137}Cs nas folhas de feijão (Figura 5). Dessa forma pode-se inferir que a CAT no cultivo de feijão no Gleissolo é uma enzima atuante na defesa antioxidante nas folhas devido à presença do metal alcalino ^{137}Cs na planta.

Nas folhas de feijão em condição da presença de FMA nos solos contaminados com ^{137}Cs foi observado menor atividade enzimática da CAT. Todavia, para as folhas de feijão no Chernossolo foi verificada maior atividade da enzima CAT no tratamento com a presença de FMA no solo e maior nível de K tendo em consideração os demais tratamentos. Nesta condição, houve o incremento de 20% em referência ao tratamento sem a presença de FMA e menor nível de K e acréscimo de 72% em relação ao maior nível de K e na presença de inoculação (Figura 17C).

Nas folhas de feijão cultivados em todos os solos estudados, onde foi observado alta produção de H_2O_2 foi confirmado a maior atuação da enzima CAT. Como mecanismo de limpeza das ROS, a enzima catalase tem a função de converter o peróxido de hidrogênio em água, em conjunto com as enzimas ascorbato peroxidase e o ciclo da glutationa peroxidase (APEL; HIRT, 2004). A defesa antioxidante exerce o controle das cascatas de oxidação incontrolada e protegem as células das plantas dos danos oxidativos com a eliminação das ROS (GILL; TUTEJA, 2010).

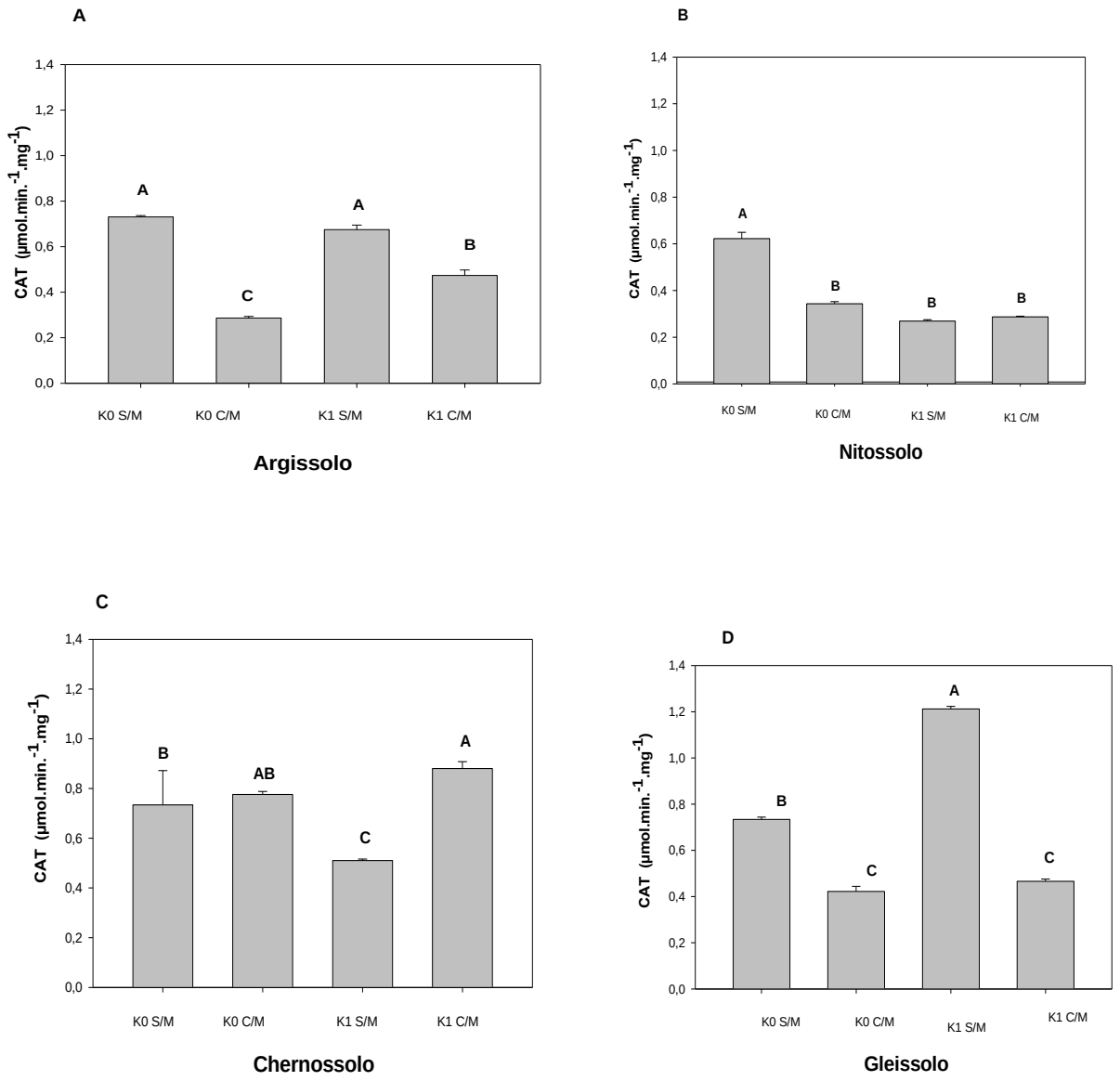

Figura 17 - Atividade da enzima Catalase (CAT) nas folhas de feijoeiro em função do tipo de solo utilizado para cultivo, níves de K e ausência ou presença de inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no solo. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo

6.8 Atividade da ascorbato peroxidase em espectofotômetro

Ocorreu interação entre os tipos de solo, níveis de K e presença ou ausência de FMA na atividade da enzima ascorbato peroxidase nas folhas do feijão (APX) (Figura 18). A maior atividade da APX foi observada nas folhas do feijoeiro cultivado no Gleissolo, no tratamento com a presença de FMA e menor nível de K (Figura 18D). Para o Gleissolo, foi observada alta atividade específica de ^{137}Cs nas folhas de feijão (Figura 5), deste modo a enzima APX em conjunto com a CAT (Figura 16) podem ter sido produzidas nas folhas do feijoeiro para reduzir o estresse oxidativo causado pela presença do metal alcalino ^{137}Cs. Nesta condição em cultivo do feijão no Gleissolo, em referência aos tratamentos com maior nível de K e na ausência ou presença de FMA, a atividade enzimática da APX foi 44 vezes maior que a CAT e 23 vezes maior no tratamento com menor nível de K e a ausência de FMA.

Tanto no Argissolo quanto no Nitossolo contaminados com ^{137}Cs, a maior atividade da APX nas folhas do feijão foi verificada na condição de maior nível de K e sem a presença de FMA no solo em relação aos demais tratamentos (Figuras 18A e 18B), nessa condição as folhas do feijoeiro apresentaram maior atividade da APX em 155% no Argissolo em comparação ao Nitossolo. Nestes solos, a inoculação de FMA demonstrou efeito para a baixa da atividade da APX nas folhas do feijão em referencia aos demais tratamentos avaliados.

No Chernossolo, o tratamento de maior nível de K e presença de FMA nas folhas de feijão apresentou maior atividade da APX, e a produção de H_2O_2 pela planta foi observada com alta quantificação de peróxido de hidrogênio (Figura 15). Portanto, a maior geração de peróxido de hidrogênio nas folhas do feijão em cultivo no Chernossolo pode ter ocasionado a atividade da enzima APX.

A APX é considerada como a forma mais importante para a limpeza de H_20_2 tanto no citossol como cloroplastos (INZÉ; MONTAGU, 1995), desempenhando papel de maior importância na eliminação de ROS e na proteção das células de plantas superiores, com atividade enzimática em diferentes condições de estresse em comparação com outras enzimas antioxidantes (GILL; TUTEJA, 2010).

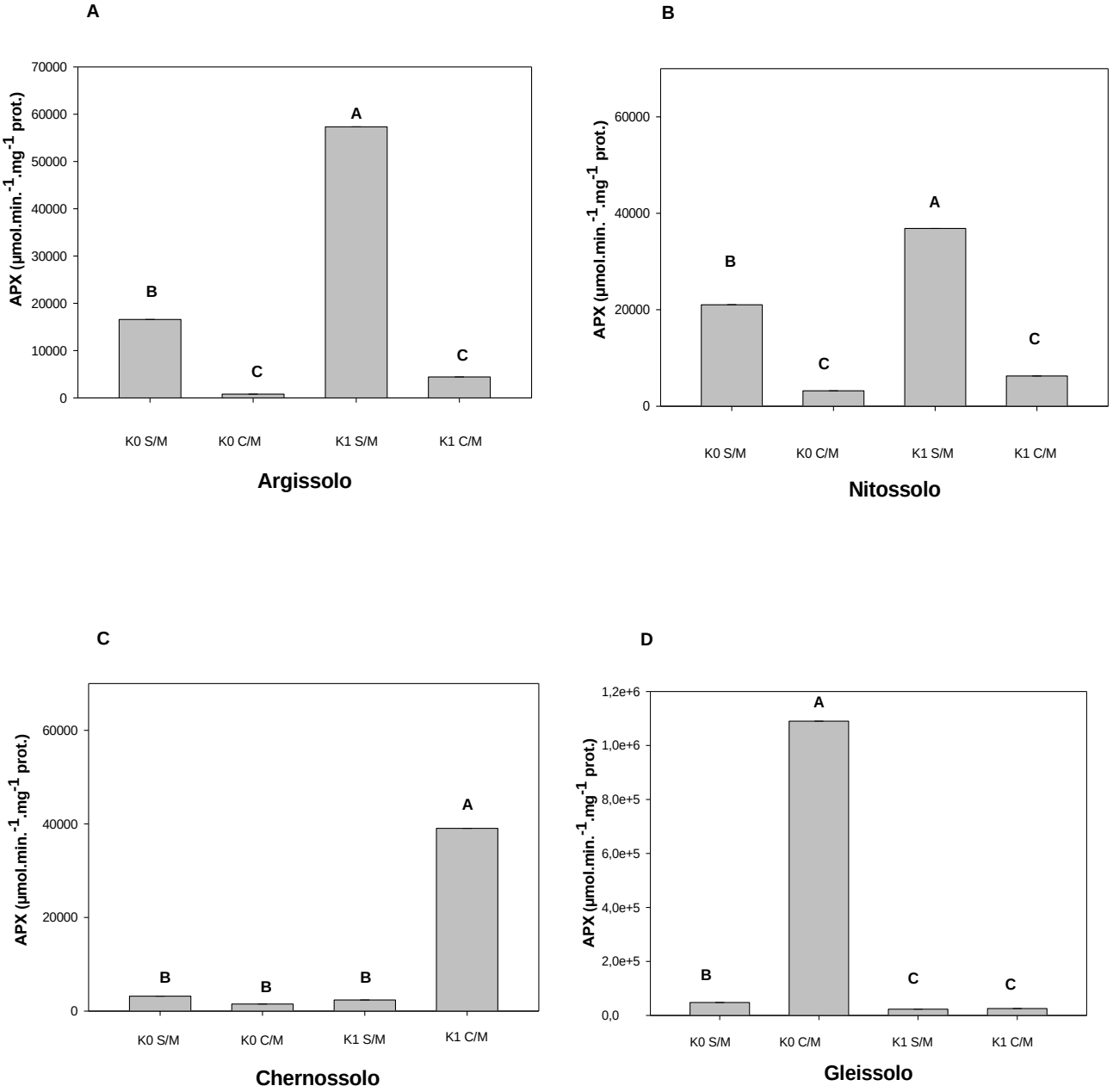

Figura 18- Atividade da Ascorbato peroxidase (APX) nas folhas de feijoeiro da variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função do tipo de solo, nível de K e presença ou ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de potássio na presença de inoculação FMA no solo

Em condições de estresse para a planta há alterações metabólicas ativando a produção de enzimas antioxidativas nas folhas do feijão, o que pode ocasionar aumento na atividade enzimática para o controle das espécies reativas de oxigênio formadas.

As diferentes afinidades de APX e CAT para H_2O_2 sugerem que estas pertencem a duas classes diferentes que reduzem a quantificação de H_2O_2, podendo ser a APX responsável pela produção de ROS para a sinalização de defesa vegetal (MITTLER, 2002). Em contraste com a CAT, a APX requer um ascorbato e a glutationa reduzida (GSH) que regeneram o sistema, e o ciclo de ascorbato-glutationa.

6.9 Atividade da superóxido dismutase em espectofotômetro

Para a atividade da enzima superóxido dismutase nas folhas de feijão (SOD) foi observada a interação entre os tipos de solo, níveis de K e presença ou ausência de FMA (Figura 19). Alta atividade da enzima SOD foi verificada nas folhas de feijão cultivadas no Argissolo, sem a presença de FMA e em maior nível de K, em relação aos demais tratamentos (Figura 19A). Também nesta condição, houve elevada atividade da APX nas folhas de feijão em relação à média dos demais tratamentos, porém a atividade da APX em referência à SOD apresentou aumento de 106% na atividade enzimática (Figura 18A). Para as folhas de feijão cultivadas no Nitossolo contaminado com ^{137}Cs, não foi verificado diferença entre os níveis de K e presença ou ausência de FMA para a atividade da enzima SOD (Figura 19B).

A atividade de SOD no feijão cultivado no Chernossolo, nas folhas de feijão foi maior na condição de menor nível de K e sem a presença de FMA no solo (Figura 19C), com alta produção de peróxido de hidrogênio observada nesse tratamento (Figura 14C). Em respeito àquela condição, houve aumento da atividade da SOD em dez vezes quando comparada aos demais tratamentos no Chernosolo. Assim como no cultivo de feijão no Chernossolo, e para as folhas de feijão cultivado no Gleissolo foi verificada a maior atividade de SOD, no menor nível de K e sem a presença de FMA no solo (Figura 19D), com incremento de sete vezes na atividade da SOD em relação aos demais tratamentos. Houve o incremento de 25% da atividade da SOD nas folhas de feijão cultivado no Chernossolo em relação ao cultivado no Gleissolo, na condição com maior atividade enzimática em ambos os solos.

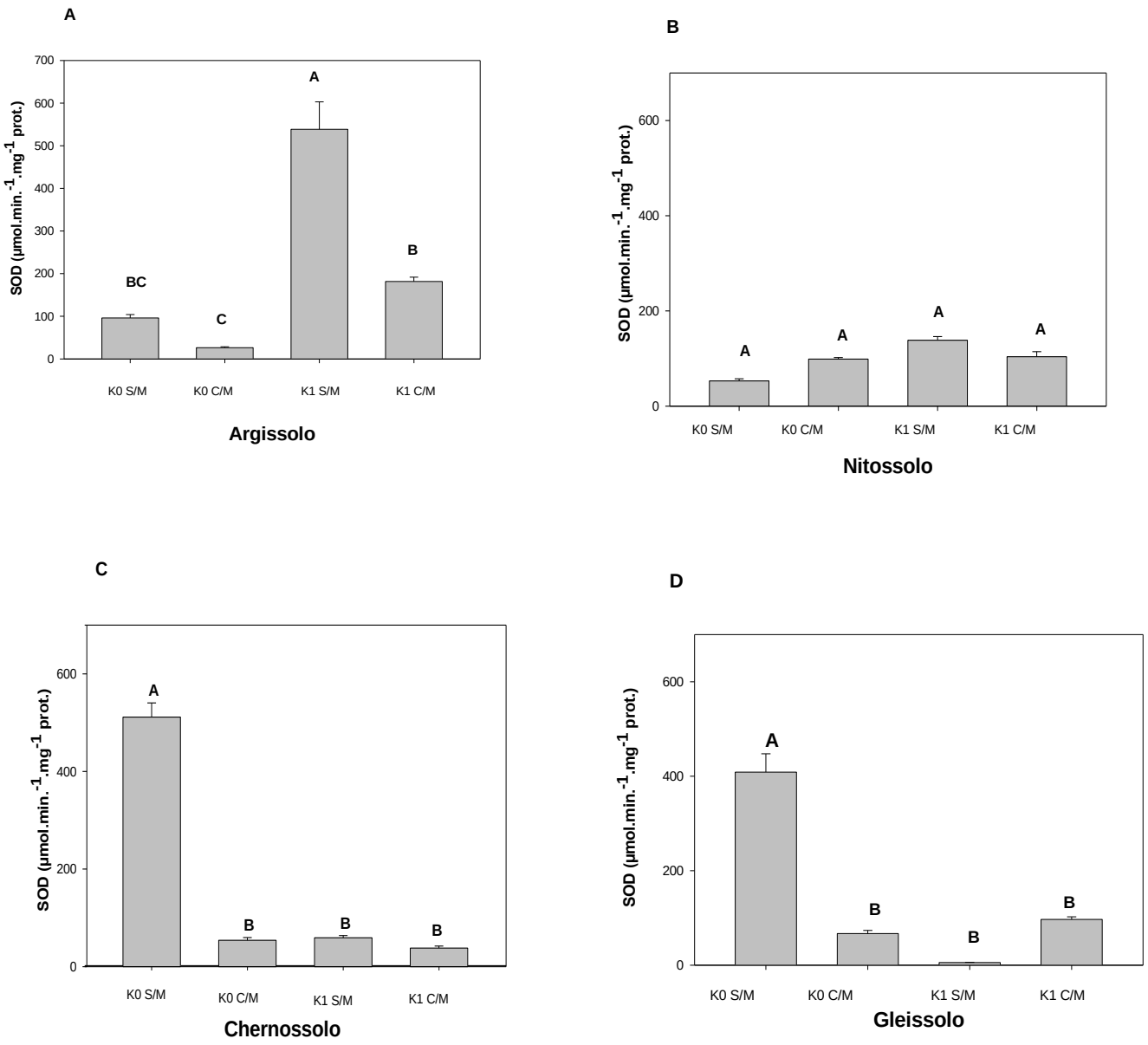

Figura 19 - Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) das folhas do feijoeiro na variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função do tipo de solo utilizado para cultivo, níveis de K e ausência ou presença de inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no solo. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo

No cultivo de feijão, as espécies de FMA não demonstraram aumentar a atividade da enzima SOD nas folhas das plantas.

Embora os resultados em literatura apresentem a SOD como uma enzima chave responsável pela degradação de radicais superóxido, a inoculação de FMA pode melhorar o sistema antioxidante para aliviar o estresse destrutivo nas plantas (ZHANGA et al., 2010). A enzima SOD converte superóxido de hidrogênio em peróxido de hidrogênio, agindo como a primeira linha de defesa contra ROS para as demais enzimas como APX e CAT e posteriormente desintoxicar o H_2O_2 (APEL; HIRT, 2004), sendo a metaloenzima antioxidante enzimática intracelular mais eficiente e onipresente em todos os organismos aeróbicos e compartimentos intracelulares propensas ao estresse oxidativo (GILL ;TUTEJA, 2010).

6.10 Atividade da Glutationa redutase em espectofotômetro

Para a atividade da enzima glutationa redutase (GR), nas folhas de feijão foi observado interação entre os tipos de solo, níveis de K e presença ou ausência de FMA (Figura 20). Foi verificada maior atividade da GR nas folhas das plantas cultivadas no Nitossolo, com maior nível de K tanto com a ausência de FMA como na presença das espécies de *Glomus clarum* e *G. etunicatum* inoculadas (Figura 20B). Para as folhas de feijão neste solo, em relação à média dos demais tratamentos, nas condições de baixo nível de K houve aumento de quatro vezes quanto à média dos valores nos tratamentos com maior nível de K. Nas folhas em cultivo no Nitossolo, na condição descrita foi verificado alto coeficiente de transferência de ^{137}Cs do solo para a planta (Figura 8 e 9), dessa maneira pode se afirmar que a presença desse metal alcalino ocasionou o estresse oxidativo com formação de ROS nas folhas do feijoeiro e como um dos mecanismos de defesa da planta houve maior produção da enzima GR.

Para o cultivo de feijão no Argissolo, nas folhas com maior nível de K e na presença de FMA foi verificada maior atividade da GR (Figura 20A). Quanto à atividade da GR nas folhas de feijão no Nitossolo foi comprovado aumento de 188% em relação ao mesmo tratamento em cultivo de feijão no Argissolo.

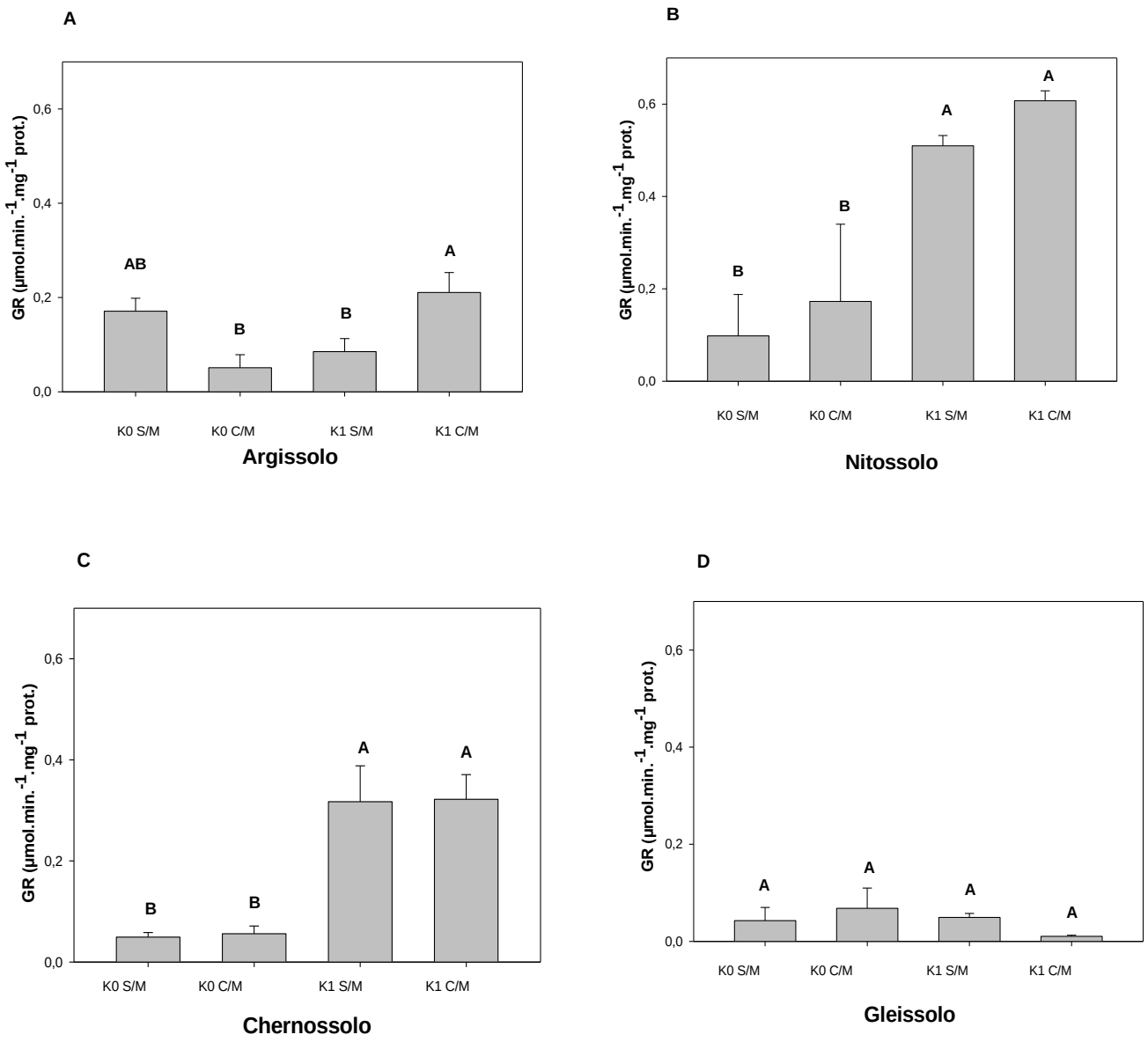

Figura 20- Atividade da enzima glutationa redutase (GR) das folhas de feijoeiro na variedade Iapar Tangará, cultivadas nos solos contaminados com ^{137}Cs, em função do tipo de solo utilizado para cultivo, níves de K e ausência ou presença de inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no solo. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos consistem em: K0 S/M: menor nível de potássio e ausência de inoculação de FMA no solo; K0 C/M: menor nível de potássio e presença de inoculação de FMA; K1 S/M: maior nível de potássio e na ausência de inoculação FMA no solo e K1 C/M: maior nível de K na presença de inoculação FMA no solo

A atividade da GR em folhas de feijão cultivado no Chernossolo, nos tratamentos com maior nível de K e na presença de FMA, foi maior em relação aos demais tratamentos (Figura 21 C), evidenciando uma maior atividade enzimática de 62% em relação ao Nitossolo. No tratamento com maior nível de K e presença de FMA, além da alta atividade da GR em folhas de feijoeiro cultivado no Chernossolo, foi confirmando a alta atividade da enzima APX. Entretanto, a atividade da GR nas folhas de feijão foi 120% maior em relação à atividade enzimática da APX (Figura 19C). Para o cultivo no Gleissolo, a atividade da enzima GR não foi afetada significativamente pelos tratamentos de níveis de K e ausência ou presença de FMA no solo (Figura 21 D).

A glutationa redutase (GR) pertence à família de oxidorredutase dependente de NADPH e ocorre nos organismos procariotos e eucariotos, com sua atividade conferindo maior tolerância ao estresse (GILL et al., 2013). A GR é a enzima de baixo peso molecular mais abundante nas células (ANJUMA et al., 2012), com papel essencial no sistema de defesa contra ROS, sustentando o estado reduzido de GSH (GILL; TUTEJA, 2010).

7. CONCLUSÕES

A atividade específica de ^{137}Cs na planta foram menores em solos com altos teores de potássio em cultivo de feijão no Nitossolo, Argissolo e Chernossolo.

As plantas micorrizadas reduziram o coeficiente de transferência de ^{137}Cs do sistema radicular para a parte aérea em cultivo com menores teores de potássio no Nitossolo, Argissolo e Chernossolo

REFERÊNCIAS

ABDEL LATEF, A. A. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and copper on growth, accumulation of osmolyte, mineral nutrition and antioxidant enzyme activity of pepper (*Capsicum annuum* L.). **Mycorrhiza**, Berlin, v. 21, p. 495-503, 2011.

ANDRADE, S. A. L.; GRATÃO, P. L.; SCHIAVINATO, M. A.; SILVEIRA, A. P. D.; AZEVEDO, R. A.; MAZZAFERA, P. Zn uptake, physiological response and stress attenuation in mycorrhizal jack bean growing in soil with increasing Zn concentrations. **Chemosphere**, Oxford, v. 75, p. 1363–1370, 2009.

ANJOS, R. M.; MOSQUERA, B.; SANCHES, N.; CAMBU, C. A.; MERCIER, H. Caesium, potassium and ammonium distributions in differents organs of tropical plants. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 65, p. 111–118, 2009.

ANJUMA, N. A.; AHMADA, I.; MOHMOOD, I.; PACHECO, M.; DUARTE, A. C.; PEREIRA, E.; UMAR, S.; AHMAD, A.; KHAN, A. N.; IQBAL, M.; PRASAD, M. N. V. Modulation of glutathione and its related enzymes in plants' responses to toxic metals and metalloids. A review. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 75, p. 307–324, 2012.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biololgy**, Palo Alto, v. 55, p. 373-399, 2004.

ASSIS SILVA, S.; BUCKER MORAES, W.; SOARES DE SOUZA, G. Doses de cálcio no crescimento do feijoeiro cultivado em solução nutritiva na presença de alumínio. **Idesia**, Arica, v. 29, p. 53-58, 2011.

AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M.; SMITH, R. J.; LEA, P. J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia. Plantarum,** Copenhagen, v. 104, p. 280-292, 1998.

BERNARDI, A. C. C.; OKA, S. H.; SOUZA, G. B. DE. Comparação de técnicas analíticas para a extração de potássio de amostras de tecido vegetal com água e soluções ácidas concentradase diluída. **Eclética Química**, Marília, v. 35, p. 45-49, 2010.

BHADURI, A. M.; FULEKAR, M. H. Antioxidant enzyme responses of plants to heavy metal stress. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, Cham, Switzerland, v. 11, p. 55-69, 2012.

BLACKMER, T. M.; SCHEPERS, J. S.; VIGIL, M. F. Chlorophyll meter reading in corn as affected by plant spacing. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 24, p. 2507-2516, 1993.

BONNEAU, L.; HUGUET, S.; WIPF, D.; PAULY, N.; TRUONG, H. N. Glomeromycotan mycorrhizal fungi from tropical Australia III. Measuring diversity in natural and disturbed habitats. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 370, p. 419-433, 2013.

BOTELHO, F. J. E.; GUIMARÃES, R. M.; OLIVEIRA, J. A.; EVANGELISTA, J. R. E.; ELOIIV, T. de A.; BALIZAII, D. P. Desempenho fisiológico de sementes de feijão colhidas em diferentes períodos do desenvolvimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, p. 900-907, 2010.

BOULOIS, H. D.; JONER, E. J.; LEYVAL, C.; JAKOBSEN, I.; CHEN, B. D.; ROOS, P.; THIRY, Y.; RUFYIKIRI, G.; DELVAUX, B.; DECLERCK, S. Role and influence of mycorrhizal fungi on radiocesium accumulation by plants. **Journal of Environmental Radioactivity**, Barking, v. 99, p. 785-800, 2008.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein- dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-259, 1976.

BROUGHTON, W. J.; HERNÁNDEZ, G.; BLAIR, M.; BEEBE, S.; GEPTS, P.; VANDERLEYDEN, J. Beans (*Phaseolus* spp.) - model food legumes. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 252, p. 55-128, 2003.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid, peroxidation. **Methods in Enzymology**, New York, v. 52, p. 302–310, 1978.

BUTKUS, D.; LUKSIENE, B.; KONSTANTINOVA, M**.** Evaluation of (^{137})Cs soil-to-plant transfer: Natural and model experiments. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v. 279, p. 411-416, 2009.

BRUNDRETT, M. C.; ASHWATH, N. Glomeromycotan mycorrhizal fungi from tropical Australia III. Measuring diversity in natural and disturbed habitats. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 370, p.419-433, 2013.

CARVALHO, C.; ANJOS, R. M.; MOSQUERA, B.; MACARIO, K.; VEIGA, R. Radiocesium contamination behavior and its effect on potassium absorption in tropical or subtropical plants. **Journal of Environmental Radioactivity**, Barking, v. 86, p. 241-250, 2006.

CATUCHI, T. A.; GUIDORIZZI, F. V. C.; GUIDORIZI, K. A.; BARBOSA, A. DE M.; SOUZA, G. M. Respostas fisiológicas de cultivares de soja à adubação potássica sob diferentes regimes hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 47, p. 519-527, 2012.

CHARI, M. S.; MANJAIAH, K. M.; SACHDEV, P.; SACHDEV, M. S. ^{134}Cs transfer factors to green gram and soybean as influenced by waste mica. **Journal of Environmental Radioactivity**, Barking, v. 104, p. 46–54, 2012.

CID, A. S.; ANJOS, R. M.; ZAMBONI, C. B.; VELASCO, H.; MACARIO, K.; RIZZOTTO, M.; MEDEIROS, I. M. A.; JURI AYUB, J.; AUDICIO, P. Temporal evolution of $^{137}Cs^{+}$, K^{+} and Na^{+} in fruits of South American tropical species. **Science of the Total Environment,** Amsterdam, v. 444, p. 115–120, 2013.

CIUFFO, L.; VELASCO, H.; BELLI, M.; SANSONE. Cs-137 soil-to-plant transfer for individual species in a semi-natural grassland. Influence of potassium soil content. **Journal of Radiation Research**, Oxford, v. 44, p. 277- 283, 2003.

COLLANDER R. Selective absorption of cations by higher plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 4, p. 691–720, 1941.

DARAOUI, R.; MICHEL, M.; GORNY, D.; JAKOB, R.; SACHSE, H. A.; SYNAL, V. ALFIMOV. Iodine-129, Iodine-127 and Caesium-137 in the environment: soils from Germany and Chile. **Journal of Environmental Radioactivity**, Barking, v. 112, p. 8-22, 2012.

DECLERCK, S.; DUPRE DE BOULOIS, H.; BIVORT, C.; DELVAUX, B. Extraradical mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus lamellosum* can take up, accumulate and translocate radiocaesium under root-organ culture conditions. **Environmental Microbiology**, Oxford, v. 5, p. 510-516, 2003.

DUPRÉ DE BOULOIS, H.; DELVAUX, B.; DECLERCK, S. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the root uptake and translocation of radiocaesium. **Environmental Pollution**, London, v. 3, p. 515-524, 2005.

DUTT, S.; SHARMA, S. D.; KUMAR, P. Arbuscular mycorrhizas and Zn fertilization modify growth and physiological behavior of apricot (*Prunus armeniaca* L.). **Scientia Horticulturae,** Amsterdam, v. 155, p. 97-104, 2013.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas**: princípios e perspectivas. Londrina: Editora Planta, 2006. 403 p.

FARIA, A. P.; MODA-CIRINO, V.; BURATTO, J. S.; SILVA, C. F. B. da; DESTRO, D. Interação genótipo x ambiente na produtividade de grãos de linhagens e cultivares de feijão. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, p. 579-585, 2009.

FOLLI-PEREIRA, M. da S.; MEIRA-HADDAD, L. S.; BAZZOLLI, D. M. S.; KASUYA, M. C. M. Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, p. 1663-1679, 2012.

FOMINA, M. A.; ALEXANDER, I. J.; COLPAERT, J. V.; GADD, G. M. Solubilization of toxic metal minerals and metal tolerance of mycorrhizal fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 37, p. 851–866, 2005.

GARG, N.; CHANDEL, S. Role of arbuscular mycorrhizal (am) fungi on growth, cadmium uptake, osmolyte, and phytochelatin synthesis in *Cajanus cajan* (L.) Mill sp under NaCl and Cd stresses. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 31, p. 292-308, 2012.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. **Plant Physiology**, Rockville, v. 59, p. 309-314, 1977.

GILL, S. S.; ANJUM, N. A.; HASANUZZAMAN, M.; GILL, R.; TRIVEDI, D. K.; AHMAD, I.; PEREIRA, E.; TUTEJA, N. Glutathione and glutathione reductase: A boon in disguise for plant abiotic stress defense operations. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 70, p. 204–212, 2013.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 48, p. 909–930, 2010.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular infection in roots. **New Phytologist**, London, v.84, p.489-500, 1980.

GROSS, E.; CORDEIRO, L.; CAETANO, F. H. Nodulação e micorrização em *Anadenanthera peregrina* var. *falcata* em solo de cerrado autoclavado e não autoclavado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.28, p.95-101, 2004.

GYURICZA, V.; DECLERCK, S.; DUPRE DE BOULOIS, H. Arbuscular mycorrhizal fungi decrease radiocesium accumulation in *Medicago truncatula*. **Journal of Environmental Radioactivity**, Barking, v. 101, p. 591–596, 2010.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, New York, v. 52, n. 8, p. 253-265, 1994.

HAMPTON, C. R.; BOWEN, H. C.; BROADLEY, M. R.; HAMMOND, J. P.; MEAD, A.; PAYNE, K. A.; PRITCHARD, J.; WHITE, P. J. Cesium toxicity in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Rockville, v. 136, p. 3824-3837, 2004.

HAN, Y. L.; HUANG, S. Z.; YUAN, H. Y.; ZHAO, J. Z.; GU, J. Organic acids on the growth, anatomical structure, biochemical parameters and heavy metal accumulation of *Iris lactea* var. chinensis seedling growing in Pb mine tailings. **Ecotoxicology**, London, v. 22, p. 1033-1042, 2013.

HANDLA, J.; SACHSEA, R.; JAKOBA, D.; MICHELA, R.; EVANGELISTA, H.; GONÇALVES, A. C.; DE FREITAS A. C. Accumulation of ^{137}Cs in Brazilian soils and its transfer to plants under different climatic conditions. **Journal of Environmental Radioactivity**, Barking, v. 99, p. 271–287, 2008.

HURTEVENT, P.; THIRY, Y.; LEVCHUK, S.; YOSCHENKO, V.; HENNER, P.; MADOZ-ESCANDE, C.; LECLERC, E.; COLLE, C.; KASHPAROV, V. Translocation of ^{125}I, ^{75}Se and ^{36}Cl to Wheat edible parts following wet foliar contamination under field conditions. **Journal of Environmental Radioactivity**, Barking, v. 121, p. 43–54, 2013.

INZÉ, D.; MONTAGU, M. V. Oxidative stress in plants. **Current Opinion in Biotechnology**, Philadelphia, v. 6, p. 153–158, 1995.

JABEEN , F. ; HUSSAIN, D. ; FÁTIMA, B. ; MUSHARRAF, S. G. ; HUCK, C. W. ; BONN, G. K. ; NAJAM-UL-HAQ, M. Silica-Lanthanum Oxide: pioneer composite of rare-earth metal oxide in selective phosphopeptides enrichment. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 84, p. 10180-10185, 2012.

JONER, E. J.; ROOS, P.; JANSA, J.; FROSSARD, E.; LEYVAL, C.; JAKOBSEN, I. No significant contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to transfer of radiocesium from soil to plants. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 70, p. 6512-6517, 2004.

JOSHY, P. J.; DILEEPA, B. N.; RAVIB, P. M.; JOSHIA, R. M.; AJITHA, T. L.; HEGDEB, A. G.; SARKARB, P. K. Soil to leaf transfer factor for the radionuclides ^{226}Ra, ^{40}K, ^{137}Cs and ^{90}Sr at Kaiga region, India. **Journal of Environmental Radioactivity**, Barking, v. 102, p. 1070–1077, 2011.

JUNG, S. C.; MARTINEZ-MEDINA, A.; LOPEZ-RAEZ, J. A.; POZO, M. J. Mycorrhiza - Induced Resistance and Priming of Plant Defenses. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 38, p. 651-664, 2012.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants.** 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2000. 331 p.

KANG, D. J.; SEO, Y. J.; SAITO, T.; SUZUKI, H.; ISHII, Y. Uptake and translocation of cesium-133 in napiergrass (*Pennisetum purpureum Schum*.) under hydroponic conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 82, p. 122–126, 2012.

KEUNEN, E.; JOZEFCZAK, M.; REMANS, T.; VANGRONSVELD, J.; CUYPERS, A. Alternative respiration as a primary defence during cadmium-induced mitochondrial oxidative challenge in Arabidopsis thaliana. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 91, p. 63-73, 2013.

KRAUS, T. E.; MCKERSIE B. D.; FLETCHER R. A. Paclobutrazol induced tolerance of wheat leaves to paraquat may involve increased antioxidant enzyme activity. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 145, p. 570-576, 1995.

LANGER, K.; LEYCHENKO, V.; FROMM, J.; GEIGER, D.; STEINMEYER, R.; LAUTNER, S.; ACHE, P.; HEDRICH, R. The poplar $K^{(+)}$ channel KPT1 is associated with $K^{(+)}$) uptake during stomatal opening and bud development. **The Plant Journal**, New York, v. 37, p. 828 – 838, 2004.

LATEF, A. A. H. A. ;HE, C. Arbuscular mycorrhizal influence on growth, photosynthetic pigments, osmotic adjustment and oxidative stress in tomato plants subjected to low temperature stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 33, p. 1217-1225, 2011.

LEAL, P. L.; SIQUEIRA, J. O.; STUERMER, S. L. Switch of tropical Amazon forest to pasture affects taxonomic composition but not species abundance and diversity of arbuscular mycorrhizal fungal community. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 71, p. 72-80, 2013.

LEE, B. R.; MUNEER, S.; JUNG, W. J.; AVICE, J. C.; OURRY, A.; KIM, T. H. Mycorrhizal colonization alleviates drought-induced oxidative damage and lignification in the leaves of drought-stressed perennial ryegrass (*Lolium perenne*). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 145, p. 440-449, 2012.

LIVENS, F. R.; LOVELAND, P. J. The influence of soil properties on the environmental mobility of cesium in Cumbria. **Soil Use and Management**, New York, v. 4, p. 69-75, 1988.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional de plantas: Princípios e aplicações.** Piracicaba, POTAFOS, 1997. 308 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. New York: Academic Press, 1995. 889 p.

MASSAS, I.; SKARLOU, V.; HAIDOUTI, C.; GIANNAKOPOULOU, F. ^{134}Cs uptake by four plant species and Cs-K relations in the soil-plant system as affected by $Ca(OH)_2$ application to an acid soil. **Journal of Environmental Radioactivity**, Barking, v. 101, p. 250-257, 2010.

MASSAS, I.; SKARLOU, V.; HAIDOUTI, C. Plant uptake of ^{134}Cs in relation to soil properties and time. **Journal of Environmental Radioactivity**, Barking, v. 59, p. 245-255, 2002.

MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). **Journal of Biology Chemistry**, Rockville, v. 244, p. 6049-55, 1968.

MATSUNAGA, T.; KOARASHI, J.; ATARASHI-ANDOH, M.; NAGAO, S.; SATO, T.; NAGAI, H. Comparison of the vertical distributions of Fukushima nuclear accident radiocesium in soil before and after the first rainy season, with physicochemical and mineralogical interpretations. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 447, p. 301–314, 2013.

MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidases isoenzymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 13, p. 1091-1101, 1972.

MAYA, M. A.; MATSUBARA, Y. Influence of arbuscular mycorrhiza on the growth and antioxidative activity in cyclamen under heat stress. **Mycorrhiza**, Berlin, v. 23, p. 381-390, 2013.

MEHARG, A. A. The mechanistic basis of interactions between mycorrhizal associations and toxic metal cations. **Mycological Research**, Cambridge, v. 107, p. 1253-1265, 2003.

MELO, V. F.; CORRÊA, G. F.; MASCHIO, P. A.; RIBEIRO, A. N.; LIMA, V. C. Importância das espécies minerais no potássio total da fração argila de solos do Triângulo Mineiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 9-10, 2003.

MESQUITA, F. R.; CORRÊA, A. D.; ABREU, C. M. P. DE ; LIMA, R. A. Z.; ABREU, A. DE F. B. Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lines: chemical composition and protein digestibility. **Ciencia e Agrotecnologia,** Lavras, v. 31, p. 1114-1121, 2007.

MINDER, S; FELLER, U. Dynamics of sodium-22 and cesium-134 in young wheat plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 26, p. 731-744, 2003.

MITTLER R. Abiotic stress, the field environment and stress combination. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 11, p. 9-15, 2005.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 7, p. 405–410, 2002.

MONIRA, B.; ULLAH, S. M.; MOLLAH, A. S.; CHOWDHURY, N. ^{137}Cs-uptake into wheat (*triticum vulgare*) plants from five representative soils of Bangladesh. **Environmental Monitoring and Assessment**, Dordrecht, v. 104, p. 59–69, 2005.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxyde is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in Spinach Chloroplast. **Plant & Cell Physiology**, Tokyo, v. 22, p. 867-880, 1981.

NEVES, L. S. das; ERNANI, P. R.; SIMONETE, M. A. Mobilidade de potássio nos solos decorrente da adição de doses de cloreto de potássio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 25-32, 2009.

OKUMURA, M.; NAKAMURA, H. E MACHIDA, M. Mechanism of strong affinity of clay minerals to radioactive cesium: first-principles calculation study for adsorption of cesium at frayed edge sites in Muscovite. **Journal of the Physical Society of Japan**, Tokyo, v. 82, p. 33802-1-33802-5, 2013.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C.; CANTARELA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais.** Campinas: Instituto Agronômico, 2001. 285 p.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo.** 2. ed. rev. e atual. Campinas: Instituto Agronômico/Fundação IAC, 1997. 285 p. (Boletim Técnico, 100).

RAJKUMAR, M.; SANDHYA, S.; PRASAD, M. N. V.; FREITAS, H. Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 30, p. 1562-1574, 2012.

RANJAN, C. S.; REZAUL, A.; RAHMAN, R. A. K. M , RASHMI, S. Radioactivity concentrations in soil and transfer factors of radionuclides from soil to grass and plants in the Chittagong City of Bangladesh. **Journal of Physical Science**, Kuala Lumpur, v. 24, p. 95–113, 2013.

ROCA, M. C.; VALLEJO, V. R. Effect of soil potassium and calcium on cesium and strontium uptake by plant-roots. **Journal of Environmental Radioactivity**, Barking, v. 28, p. 141-159, 1995.

RODRÍGUEZ-NAVARRO, A. Potassium transport in fungi and plants. **Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Biomembranes**, Amsterdam, v. 1469, p. 1–30, 2000.

ROQUE, M. L. **Sorção de radiocésio em solos tropicais.** Medidas de contenção e de remediação de solos contaminados por ^{137}Cs. 2003. 152 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

ROQUE, M. L.; TAGLIAFERRO, F. S.; FERNANDES, E. A. N. Comportamento de ^{137}Cs e elementos terrígenos in solos e respectivas frações finas. In: CONGRESSO GERAL DE ENERGIA NUCLEAR, 7., 1998, Belo Horizonte. Belo Horizonte: ABEN, 1998. 1 CD-ROM.

ROSÉN, K.; ZHONG, W. L.; MARTENSSON, A. Arbuscular mycorrhizal fungi mediated uptake of ^{137}Cs in leek and ryegrass . **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 3, p. 283-290, 2005.

ROSOLEM, C. A. Calagem e adubação mineral. In: ARAUJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. (Coord.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil.** Piracicaba: POTAFOS, 1996. p. 169-221.

SANDEEP, S.; MANJAIAH, K. M. Transfer factors of ^{134}Cs to crops from Typic Haplustept under tropical region as influenced by potassium application. **Journal of Environmental Radioactivity**, Barking, v. 99, p. 349–358, 2008.

SANDEEP, S.; MANJAIAH, K. M.; SACHDEV, P.; SACHDEV, M. S. Effect of nitrogen, potassium and humic acid on ^{134}Cs transfer factors to wheat from tropical soils in Neubauer growth units. **Environmental Monitoring and Assessment**, Dordrecht, v. 149, p. 43–52, 2009.

SCHIMMACK, W.; ZIMMERMANN, G.; SOMMER, M.; DIETL, F.; SCHULTZ, W.; PARETZKE, H. G. Soil-to-grain transfer of fallout Cs-137 for 28 winter wheat cultivars as observed in field experiments. **Radiation and Environmental Biophysics**, Berlin, v. 42, p. 275-284, 2004.

SCHUTZENBEL, A.; POLLE, A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 1351-1365, 2002.

SILVA, J. G.; SILVEIRA, P. M. Colheita mecanizada do feijoeiro**. Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 25, n. 223, p. 138-144, 2004.

SMIRNOFF, N. Plant resistance to environmental stress. **Current Opinion in Biotechnology**, Philadelphia, v. 9, p. 214-219, 1998.

SREENIVASA CHARIA, M.; MANJAIAHA, K. M.; SACHDEVB, P.; SACHDEVB, M. S.^{134}Cs transfer factors to green gram and soybean as influenced by waste mica. **Journal of Environmental Radioactivity**, Barking, v. 104, p. 46–54, 2012.

SYTAR, O.; KUMAR, A.; LATOWSKI, D.; KUCZYNSKA, P.; STRZALKA, K.; PRASAD, M. N. V. Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 35, p. 985-999, 2013.

TRABER, M. G. Cellular and molecular mechanisms of oxidants and antioxidants. **Mineral and Electrolyte Metabolism**, Basel, v. 23, p. 135-139, 1997.

VIERHEILIG, H.; COUGHLAN, A. P.; WYSS, U.; PICHE, Y. Ink and vinegar, a simple technique for arbuscular mycorrhizal fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 64, p. 5004-5007, 1998.

VINICHUK, M.; TAYLOR, A. F.; ROSÉN, K.; JOHANSON, K. J. Accumulation of potassium, rubidium and caesium (Cs-133 and Cs-137) in various fractions of soil and fungi in a Swedish forest. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 408, p. 2543-2548, 2010.

VOSS, I.; SUNIL, B.; SCHEIBE, R.; RAGHAVENDRA, A. S. Emerging concept for the role of photorespiration as an important part of abiotic stress response. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 15, p. 713-722, 2013.

WANDER, A. E. **Cultivo de feijão irrigado na região noroeste de Minas Gerais**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. (Sistemas de Produção, 5). Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>. Acessado em: 30 jan. 2014.

WENG, B. S.; XIE, X. Y.; WEISS, D. J.; LIU, J. C.; LU, H. L.; YAN, C. L. Kandelia obovata (S., L.) Yong tolerance mechanisms to Cadmium: Subcellular distribution, chemical forms and thiol pools. **Marine Pollution Bulletin**, London, v. 64, p. 2453-2460, 2012.

WERLE, R.; GARCIA, R. A.; ROSOLEM, C. A. Lixiviação de potássio em função da textura e da disponibilidade do nutriente no solo. **Revista Brasileira de Ciência de Solo**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 2297-2305, 2008.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Mechanisms of caesium uptake by plants. **New Phytologist**, London, v. 147, p. 241–256, 2000.

XAVIER, A. M.; LIMA, A. G. DE ; VIGNA, C. R. M.; VERBI, F. M.; BORTOLETO, G. G.; GORAIEB, K.; COLLINS, C. H.; BUENO, M. I. M. S. Marcos da história da radioatividade e tendências atuais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, p. 83-91, 2007.

ZHANGA, H. H.; TANG, M.; CHENB, H.; ZHENG, C. L.; NIUA, Z. C. Effect of inoculation with AM fungi on lead uptake, translocation and stress alleviation of *Zea mays* L. seedlings planting in soil with increasing lead concentrations. **European Journal of Soil Biology**, Montrouge, v. 46, p. 306–311, 2010.

ZHIYANSKI, M.; BECHB, J.; SOKOLOVSKA, M.; LUCOT, E.; BECH, J.; BADOT, P. M. Cs-137 distribution in forest floor and surface soil layers from two mountainous regions in Bulgaria. **Journal of Geochemical Exploration**, Amsterdam, v. 96, p. 256–266, 2008.

ZHU, Y. J.; MCBRIDE, J. D.; HANSEN, T. A.; BEEBE, T. P. Controlled production of molecule corrals using cesium ion bombardment: A TOF-SIMS, XPS, and STM study. **Journal of Physical Chemistry**, Ithaca, v. 105, p. 2010-2018, 2001.