UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

MILTON FERREIRA DE MORAES

Micronutrientes e metais pesados tóxicos: do fertilizante ao produto agrícola

Piracicaba
2009

MILTON FERREIRA DE MORAES
Engenheiro Agrônomo

Micronutrientes e metais pesados tóxicos: do fertilizante ao produto agrícola

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

Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Eurípedes Malavolta (*In Memoriam*)

Co-orientador: Prof. Dr. Cassio Hamilton Abreu Junior

Piracicaba

2009

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

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

Moraes, Milton Ferreira de
Micronutrientes e metais pesados tóxicos: do fertilizante ao produto agrícola / Milton Ferreira de Moraes; orientador Eurípedes Malavolta. - - Piracicaba, 2009.
108 f. : fig.

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

1. Arroz de terras altas 2. Biofortificação 3. Cádmio 4. Isótopos estáveis 5. Nutrição vegetal 6. Variação genética em plantas 7. Zinco I. Título

CDU 631.85:633.18.05

A Deus, onipotente, nosso criador e guardião,
pela concessão da fé, indicação dos caminhos
e alegria do dia a dia.

DEDICO

A minha noiva Fernanda S. Bernardes,
pelo amor, carinho, constante incentivo e pelas
as inúmeras ajudas durante esta jornada.

A minha mãe Maria Coracy, ao meu padrasto Vilson e
ao meu irmão Jefferson, pelas lições de vida,
confiança e carinho.

Ao meu pai Valdivino (*In Memoriam*),
tendo a certeza que, aqui se faz o cumprimento
de um de seus desejos.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Eurípedes Malavolta e a Cleusa Pereira Cabral, pela amizade, carinho, orientação incondicional e ensinamentos científicos e de vida. Os quais serão para sempre lembrados.

Ao Prof. Cassio H. Abreu Jr pela orientação, colaboração e incentivo.

À FAPESP (Proc. 04/15897-7), CAPES (PDEE Proc. 2988-07-0), CNPq (Proc. 575060/2008-5), USDA-ARS, Cornell University, HarvestPlus Brasil e Produquímica, pelos financiamentos e bolsas concedidas.

Ao amigo e companheiro José Lavres Junior, pela amizade, apoio e constante incentivo.

À Suzi Manesco, pela amizade, carinho e constantes ajudas.

Aos colegas e amigos do LNMP e de antes: Denis, Henrique, Luiz Henrique, Thiago, Paulo Boaventura, Eduardo Severiano, Marcos Faria e família, Tércio Novais, Maria Cláudia, André Reis, Larissa Moraes, Adônis Moreira e Reges Heinrichs, pelo convívio salutar e momentos de alegria no Lab.

Á Seção Técnica de Biblioteca do CENA, especialmente à Marília Henyei, Renata Fini, Raquel e Celso, pela indispensável colaboração na busca de artigos, cópias e revisão das normas da tese.

Aos orientadores dos EUA: Ross M. Welch, Jon Hart e Leon Kochian, pelo apoio e ensino.

Aos colegas da PG-CENA: Lílian, Lúcia, Raul, Victor, Leila, Ademir, Vinícius, Fernanda, Anderson, Henrique Coutinho, Virgínia, Carlos Faroni, Edson Cabral, Marcelo, Carlos.

Aos Profs do CENA: Takashi, Trivelin, Klaus, Krug, Virgílio, Neusa Nogueira, Boaretto, Bertinho, Tulmann, Adriana, Beatriz e Ando, pelo incentivo e ensinamentos em aulas e Lab.

Aos funcionários do CENA pelo apoio e suporte: Henriqueta, Mônica, Iolanda, Raquel, Renata Cruz, Glauco, Juliana Wlamir, Francisco Carlos, João Salvador, Antônio Guerreiro, Marileusa, Sandra, Alfredinho, Inês, José Luiz e outros que porventura tenha sido esquecidos.

À Vera Lúcia e Adarlete Santiago, pela atenção e colaboração no envio de cartas e processos.

À Seção de Apoio Acadêmico e PG-CENA, em especial à Profª Adriana, Alzira, Cláudia Corrêa, Neuda e Sônia Aparecida, pela atenção, paciência e atendimento.

Aos companheiros da Vigilância: Ludmar, Rodrigo, Souza e tantos outros pela atenção e muitos “cafezinhos” e prosas compartilhadas.

Ao IAC, em especial à Aline Coscione, Heitor Cantarella, Adriana P. Dias, Sara e Luiz Azzini, pela colaboração em análises químicas, microbiológicas, fornecimento dos solos e sementes de arroz.

À Embrapa/UFLA pela colaboração nas sementes e informações, em especial aos pesquisadores Antônio Soares, Orlando, Luciano, Kleber, Fageria e Marcão.

Homenagem ao eterno mestre.

Professor Eurípedes Malavolta

13.08.1926 - 19.01.2008

Conheci o nome do Prof. Eurípedes Malavolta ainda no meu primeiro ano do curso Técnico Agrícola (EAFC-MT, Cuiabá-1995), estudando cálculos de adubação em um dos seus livros clássicos, o "ABC da Adubação". Em 2001, já em meu 4º ano do curso de Agronomia (UFG, Gyn) descobri que o Prof. Malavolta ainda estava na ativa e, então, por indicação do Prof. H.J. Kliemann, um de seus discípulos, em outubro de 2002 vim para o Lab. de Nutrição Mineral de Plantas do CENA/USP, fazer meu estágio curricular de conclusão de curso. Enquanto cursava mestrado no IAC (2003-2004), tive a oportunidade de assistir suas memoráveis aulas na disciplina CEN 5715 - Avaliação do Estado Nutricional e da Fertilidade do Solo. Em abril de 2005, comecei o curso de doutorado no CENA/USP sob a orientação do Prof. Malavolta e durante 3 anos trabalhando intensamente no campo da Nutrição Mineral de Plantas. A cada problema trazido ao nosso Laboratório por alunos, professores e produtores, nascia a oportunidade de aprender mais e também de contribuir, essa era sua visão.

Sem dúvidas, o tempo que convivi com o Prof. Malavolta foi, não somente de muito trabalho, mas de um enorme engrandecimento de vida. Transcrevo abaixo, não apenas sua mensagem de fim de curso, mas da pessoa que ele era.

MENSAGEM DE FIM DE CURSO [1]

Ser professor -
É gostar de aprender, de ensinar, de repartir, de abrir-se, de abrir, de conviver, de viver;
É perdoar a ignorância e abominar a prepotência;
É tolerar a burrice e vencer a burocracia – companheiras inseparáveis da inveja e da mediocridade;
É gostar da luz no rosto do aluno, iluminado pelo conhecimento novo, mais do que os reais no fim do mês;
É amar a terra em que nasceu, ainda que pobre e ingrata, e não deixá-la por nenhuma outra;
É estar sempre não conformado com o que afirma ou nega o papel impresso;
É saber que o mundo não acaba no meio nos quatro cantos de sua sala ou no meio dos aparelhos de laboratório, e que há toda uma rosa-dos-ventos no campo com plantas, animais, terra e, sobretudo, com gente, irmãos para ajudar;
É saber que a sua missão não é profissão porque não é meio, mas fim de vida;
É saber que o ensino, a pesquisa e a extensão são as simetrias das monásticas castidade, obediência e pobreza;
É saber que o ano tem trezentos e sessenta e cinco dias, 12 meses, cada mês com 30 dias, cada dia com 24 horas, que é necessário dividir e usar completamente;
É saber que o pouco que se sabe, pelo muito que não sabe, não deve ser motivo de humilhação para ninguém;
É saber que sua única virtude, como a do homem próximo, deve ser a honestidade;
É saber que existe porque existe o homem próximo, na cidade ou na roça, ao qual deve servir, pois é ele que o sustenta;
É saber que se esquecer de qualquer disso terá vivido à toa, sem benefício e sem beleza;
É saber que Deus é amor e sabedoria;
Ser professor é saber, em fim, que "mestre não é quem sempre ensina, mas quem, de repente, aprende".

CENA/USP, junho 1997.

---

[1] In: MALAVOLTA E. **Cantos de um poeta silencioso**. Piracicaba: Ed. Agronômica Ceres, 2008. p.108-109.

RESUMO

MORAES, M.F. **Micronutrientes e metais pesados tóxicos: do fertilizante ao produto agrícola**. 2009. 108f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

A presença de metais pesados tóxicos em fertilizantes tem sido motivo de preocupação e apontada como um dos obstáculos à produção sustentável de alimentos. Por outro lado, há uma crescente busca por produtos agrícolas de melhor qualidade, com maior teor de micronutrientes e menos fatores antinutricionais, como os metais pesados tóxicos. No Brasil, há poucos trabalhos relacionando fertilização e qualidade dos produtos agrícolas, em termos de micronutrientes e metais pesados tóxicos. Neste contexto, no presente trabalho foram realizados quatro experimentos tendo como objetivos avaliar: 1) a eficiência de métodos de extração e de quantificação simultânea de micronutrientes e de metais pesados tóxicos em fertilizantes; 2) a influência da fertilização nos teores de micronutrientes e metais pesados tóxicos no solo, nos indicadores microbiológicos, nas atividades enzimáticas em plantas e na qualidade dos produtos agrícolas; 3) a variação genotípica para teor de Cd, micronutrientes e suas relações em 35 cultivares de arroz de terras altas do Brasil; 4) a influência do estado nutricional e genotípica nos teores de Cd e ^{70}Zn no arroz. Quando se usa reagentes e água de alta pureza, a análise de metais pesados tóxicos em amostras de fertilizantes pode ser realizada por micro-ondas ou sistema aberto, sendo que as quantificações dos elementos por ICP-MS e ICP-AES produzem resultados semelhantes. Porém, na análise dos teores naturais de Cd, Cr e Pb apenas a quantificação por ICP-MS foi adequada. Nas condições deste trabalho, tanto os subprodutos e rocha fosfática quanto os fertilizantes foram capazes de fornecer nutrientes às plantas, sem causar aumentos excessivos de metais pesados tóxicos nos solos e nos produtos agrícolas. Os indicadores microbiológicos do solo e as atividades enzimáticas em plantas de alface reagiram positivamente à fertilização. Foram identificadas variedades de arroz de terras altas com baixo e alto teor de Cd nos grãos. Os teores de Fe, Zn e Se apresentaram relações inversas ao teor de Cd. Observou-se interação entre estado nutricional da planta e genótipo no teor de Cd em grãos de arroz de terras altas cultivado em solução nutritiva. Concluiu-se que, com manejo adequado, a fertilização aumenta a produtividade e melhorar qualidade dos produtos agrícolas para alimentação humana e animal.

Palavras-chave: Nutrição de plantas. Poluição do solo. Variação genotípica. Zn estável

ABSTRACT

MORAES, M.F. **Micronutrients and toxic heavy metals: from fertilizer to agricultural product**. 2009. 108f. Thesis (Doctoral) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

The presence of toxic heavy metals in fertilizers has been a big concern. It has been indicated as one of the obstacles to sustainable food production. On the other hand, there is a growing demand for better-quality products, with high micronutrient content and low malnutrition factors, such as toxic heavy metals. In Brazil there are scarce number of studies regarding fertilization and the quality of agricultural products for micronutrients and toxic heavy metals. In this context, the present study, involving four experiments, was conducted with the objectives: 1) to assess the efficiency of methods to extract and quantify micronutrients and toxic heavy metals in fertilizers; 2) to study the influence of fertilization on the levels of micronutrients and toxic heavy metals in agricultural products; 3) to evaluate the genotypic variation in response to the content of Cd, micronutrients and their relations in 35 upland rice cultivars from Brazil; and 4) to determine the influence of the nutritional status and genotype on the levels of Cd and ^{70}Zn in rice plant. The results showed that with the use of reagents and water of high purity, toxic heavy metals can be extracted for analysis by microwave or an open air system, and that quantification of the elements by ICP-MS and ICP-AES yields similar results. However, for the analysis of natural contents of Cd, Cr and Pb only ICP-MS quantification was appropriate. Further, both by-products and phosphate rock, as fertilizers were able to supply nutrients to the plants without causing excessive increases of toxic heavy metals in soil and agricultural products. Microbiological soil indicators and enzyme activities in plants responded positively to fertilization. Furthermore, results also showed that there were upland rice cultivars with low and high Cd content in the grains, and the levels of Fe, Zn and Se showed inverse relations with the Cd content. There was an interaction between plant's the nutritional status and genotype for Cd content in grains of upland rice cultivars. Based on the results, it can be concluded that with adequate management, fertilization can increase crop yields and improve the quality of agricultural products for human and animal consumption.

Keywords: Plant nutrition. Soil pollution. Biofortification. Genotypic variation. Stable zinc.

SUMÁRIO

Página

1 INTRODUÇÃO 11

2 REVISÃO DE LITERATURA 13

3 MATERIAL E MÉTODOS 18

3.1 ESTUDO 1: Análises químicas e avaliação agronômica de fontes de fósforo e de micronutrientes obtidas de subprodutos industriais..... 18

3.1.1 Caracterização de fontes e avaliação de métodos de extração de micronutrientes e de metais pesados tóxicos em fertilizantes..... 18

3.1.1.1 Análise química das fontes de micronutrientes para o primeiro experimento.... 18

3.1.1.2 Análise química de fontes de P e de micronutrientes para o segundo experimento, com quantificação dos micronutrientes e metais pesados tóxicos por espectrometria de emissão atômica com plasma (ICP-AES) e espectrometria de massas com plasma (ICP-MS)..... 19

3.1.1.3 Avaliação de métodos de extração de nutrientes e metais pesados tóxicos em fertilizantes minerais..... 23

3.1.2 Primeiro experimento: resposta das culturas de arroz de terras altas e de alface a fontes de micronutrientes obtidas de subprodutos industriais..... 24

3.1.2.1 Local e solo..... 25

3.1.2.2 Caracterização física e química do solo..... 25

3.1.2.3 Tratamentos e delineamento experimental..... 25

3.1.2.4 Desenvolvimento experimental..... 26

3.1.2.5 Análises químicas de planta e solo..... 27

3.1.2.6 Atividade de enzimas antioxidativas em plantas de alface..... 28

3.1.2.6.1 Quantificação de proteínas..... 28

3.1.2.6.2 Determinação da atividade da catalase..... 28

3.1.2.6.3 Determinação da atividade da guaiacol peroxidase..... 28

3.1.2.6.4 Gel de isoenzimas dismutase de superóxido..... 29

3.1.2.7 Análises microbiológicas indicadoras de qualidade do solo..... 29

3.1.2.8 Análise estatística..... 29

3.1.3 Segundo experimento: resposta do arroz de terras altas a fontes de fósforo e de zinco com teores variáveis de metais pesados tóxicos..... 30

3.1.3.1 Local e solo..... 30

3.1.3.2 Caracterização física e química do solo..... 31

3.1.3.3 Tratamentos e delineamento experimental..... 33

3.1.3.4 Desenvolvimento experimental..... 35

3.1.3.5 Análises químicas de planta e solo..... 35

3.1.3.6 Análise estatística..... 36

3.2 ESTUDO 2: Variação genotípica quanto ao teor de micronutrientes e de cádmio em cultivares de arroz de terras altas..... 37

3.3 ESTUDO 3: Influência genotípica e do estado nutricional na absorção e no teor de Cd e ^{70}Zn em grãos de dois cultivares de arroz de terras altas..... 39

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 44

4.1 ESTUDO 1: Análises químicas e avaliação agronômica de fontes de fósforo e de micronutrientes obtidas de subprodutos industriais..... 44

4.1.1 Avaliação de métodos de digestão e de quantificação de micronutrientes e metais pesados tóxicos em fertilizantes..... 44

4.1.2 Respostas das culturas do arroz de terras altas e de alface a fontes de fósforo e de micronutrientes obtidas de subprodutos industriais..... 49

4.1.2.1 Taxas de adições máximas de micronutrientes e metais pesados tóxicos..... 49

4.1.2.2 Avaliação agronômica de fontes de nutrientes do primeiro e segundo experimento..... 50

4.1.2.3 Teores de metais pesados tóxicos nos solos e nos produtos agrícolas em função da fertilização com fontes de fósforo e micronutrientes..... 57

4.1.3 Atividade de enzimas antioxidativas em plantas de alface e de indicadores microbiológicas do solo para avaliação do potencial de contaminação dos metais pesados tóxicos adicionados via fertilizantes..... 77

4.2 ESTUDO 2: Variação genotípica quanto ao de micronutrientes e de cádmio em cultivares de arroz de terras altas..... 82

4.3 ESTUDO 3: Influência genotípica e do estado nutricional na absorção e no teor de Cd e ^{70}Zn em grãos de dois cultivares de arroz de terras altas..... 90

5 CONCLUSÕES..... 94

REFERÊNCIAS..... 95

1 INTRODUÇÃO

A demanda por alimentos cresce com o aumento da população mundial. Em 1800, havia 1 bilhão de habitantes no planeta terra. Atualmente, crescendo a uma taxa média de 1,37%, a população mundial é de 6,7 bilhões de habitantes (ONU, 2007; ZHANG, 2008). Para 2050, estima-se que a população mundial atinja 9,4 bilhões de pessoas (LAL, 2000). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a população brasileira aumentou em 10 vezes no período de 1900 a 2000, passando de 17,4 milhões de pessoas para aproximadamente 170 milhões. Atualmente, a população brasileira é de 187 milhões e, em 2050, estima-se que haverá 260 milhões de brasileiros (IBGE, 2008).

A produção mundial de cereais seguiu o mesmo ritmo do apresentado pelo crescimento populacional, passando de 275 kg por pessoa, nos anos 50, para 370 kg por pessoa, nos anos 80. Sendo assim, a demanda global por alimentos pode facilmente duplicar no período de 1990-2030, com aumento de duas vezes e meia a três nos países em desenvolvimento (DAILY et al., 1998).

O uso de fertilizantes pode ser considerado a base para a produção sustentável de alimentos, havendo correlação linear positiva entre crescimento populacional e consumo de fertilizantes (ZHANG; ZHANG, 2007). Experimentos de longa-duração realizados no Brasil e no exterior demonstraram que, dentre os fatores responsáveis pelo sucesso no rendimento de grãos, os fertilizantes minerais contribuem com 30 a 50% (STEWART et al., 2005; MALAVOLTA; MORAES, 2009). Com base em uma gama enorme de experimentos, em vários países, a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) considera que “é razoável aceitar que 1 kg de nutriente do fertilizante ($N+P_2O_5+K_2O$) produza cerca de 10 kg de grãos de cereais” (FAO, 1984).

O consumo anual global de fertilizantes aumentou de 46 milhões de toneladas em 1960 para 157,3 milhões de toneladas em 2006, e precisará chegar a 260 milhões de toneladas até o ano de 2030, se mantida a corrente tendência de aumento de produção de cereais (AYOUB, 1999; DAHER, 2008). Segundo informações da Associação Nacional para Difusão de Adubos (ANDA), o consumo anual brasileiro de fertilizantes (NPK) aumentou de aproximadamente 100 mil toneladas no início dos anos 50 para 8,9 milhões de toneladas em 2006 (MALAVOLTA; MORAES, 2009). De forma semelhante, o consumo de micronutrientes no Brasil aumentou 13,3 vezes no período de 1990 a 2003 (YAMADA, 2004).

Os aumentos recordes da produção agrícola e medidas políticas de distribuição de renda têm reduzido a fome mundial na última década. Entretanto, segundo a FAO (2008), devido à alta dos preços dos alimentos nos últimos 5 anos, o número de famintos voltou a subir em todo o mundo, totalizando 907 milhões de pessoas em 2007 (13,5% da população mundial). Adicionalmente, a desnutrição, consequência direta da deficiência de minerais e vitaminas, tem sido crescente, afetando mais de 3 bilhões de pessoas no mundo todo (WELCH, 2008).

A qualidade dos alimentos apresenta relação direta com os elementos químicos presentes nos solos cultivados. Os fertilizantes e corretivos podem, além de aumentar a produtividade, melhorar a qualidade dos produtos agrícolas (alimentos) por meio de incrementos no teor de micronutrientes na parte comestível. Por outro lado, a presença de contaminantes (metais pesados tóxicos, ex.: cádmio, chumbo, etc.) em fertilizantes tem sido motivo de preocupação sobre suas conseqüências ao ambiente e a saúde humana, devido à possibilidade do aumento do teor destes nos produtos agrícolas. Os efeitos prejudiciais dos metais pesados tóxicos no organismo humano são cumulativos. Eles, além de carcinogênicos e mutagênicos, podem causar doenças cardiovasculares e reduzir a absorção de micronutrientes pelo organismo. É importante destacar que o consumo de vegetais e cereais contribui com a maior parte da ingestão humana de metais pesados tóxicos.

O Brasil tem sua economia baseada na produção agrícola, sendo o agronegócio, o principal responsável pelo crescimento da economia. Atualmente, o agronegócio representa 33% do Produto Interno Bruto, 37 % dos empregos e 40% das exportações. O Brasil é o maior exportador dos seguintes produtos agrícolas: açúcar, café, carne bovina, carne de frango, soja em grão e suco de laranja (LOPES; GUILHERME, 2007).

Tendo em vista a importância dos fertilizantes para sustentar a demanda mundial por alimentos e do seu valor para o agronegócio brasileiro, neste trabalho são estudados alguns fatores envolvidos (direta ou indiretamente) na transferência de micronutrientes e de metais pesados tóxicos dos fertilizantes ao produto agrícola, a saber: métodos de análise e teores em fertilizantes, solubilidade, avaliação da disponibilidade no solo, teores na parte comestível em função da fertilização, variação genotípica no teor em grãos de arroz e influência do estado nutricional das plantas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A revolução verde foi um importante marco no desenvolvimento da humanidade. A obtenção de variedades de porte baixo, melhoradas para responder ao fertilizante nitrogenado sem acamamento, foi um avanço da agricultura que permitiu altas produções de cereais por área. Deste modo, conseguiu-se suprir a demanda por alimentos decorrente do crescimento populacional. Embora a produção de alimentos tenha acompanhado o crescimento populacional, problemas de deficiência nutricional têm aumentado, afetando quase metade da população mundial, especialmente mulheres grávidas, adolescentes e crianças (WELCH; COMBS; DUXBURY, 1997; WELCH, 2001; GRAHAM et al., 2007).

As deficiências ocasionadas pela falta de ferro (Fe), iodo (I), selênio (Se), vitamina A e zinco (Zn) são atualmente as que causam maior preocupação em relação à saúde humana, principalmente nos países em desenvolvimento. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), mais de 2 bilhões de pessoas são anêmicas em decorrência da deficiência de Fe (ALLEN et al., 2006). Estima-se que um terço da população mundial vive em países considerados de alto risco em relação à deficiência de Zn, sendo sugerido que um quinto da população mundial pode não estar ingerindo este nutriente em quantidade suficiente (HOTZ; BROWN, 2004). Combs Junior (2001) estima que haja de 0,5 a 1,0 bilhão de pessoas com provável carência de Se, ao passo que mais de 800 milhões de pessoas são deficientes em I (WELCH, 2008).

Na América Latina, as primeiras constatações de deficiência de micronutrientes na população, ocorreram por volta de 1950. As deficiências mais comuns são de Fe e vitamina A. No Brasil, a deficiência de Fe é a mais generalizada. Crianças e gestantes são as mais afetadas, em níveis muito variáveis, dependendo da região, devido às diferenças de hábitos alimentares e de desenvolvimento social (SILVA et al., 2002; BRESSANI, 2000).

Não existem levantamentos sobre a ocorrência da deficiência de Zn e Se na população brasileira. Ferreira et al. (2002b), analisando diversos gêneros alimentícios consumidos no Brasil, observaram que os valores de Zn nos alimentos eram normais e compatíveis com os da literatura internacional. Entretanto, Ferreira et al. (2002a) relatam que a concentração de Se nos alimentos de origem vegetal consumidos no Brasil é considerada baixa, em relação aos padrões internacionais, e aventam como possível fator determinante os baixos teores de Se nos solos agrícolas. Estudos sobre a quantidade de Se ingerida pela população em alguns Estados brasileiros demonstraram baixa ingestão do elemento em São Paulo e Mato Grosso, e alta ingestão no Pará (BOAVENTURA; COZZOLINO, 1993; MAIHARA et al., 2004).

As principais causas da desnutrição são: a) alta taxa de ingestão de alimentos com baixo teor de minerais e vitaminas (ex.: arroz, milho e trigo), em detrimento de grãos de leguminosas, frutas, verduras e produtos de origem animal, comum em países de regiões em desenvolvimento, como Ásia, África e América Latina (WELCH, 2001; DIBB; ROBERTS; WELCH, 2005); b) baixo teor do nutriente no solo; c) perdas na qualidade nutricional devido ao sistema de industrialização, por exemplo, o polimento do arroz acarreta perda de minerais dos grãos; d) fatores antinutricionais, como metais pesados tóxicos e fitatos, que reduzem a absorção de micronutrientes pelo organismo humano.

O baixo teor de minerais em grãos, se deve em parte, ao melhoramento genético vegetal voltado para ganho em produtividade sem a devida consideração pela melhoria da qualidade. Em trabalhos recentes, foi demonstrado que, ao longo dos anos, o aumento de produtividade obtido por intermédio do melhoramento vegetal apresentou relação inversa ao teor de micronutrientes em grãos de trigo (GARVIN; WELCH; FINLEY, 2006; MURPHY; REEVES; JONES, 2008).

No presente trabalho, o termo “metal pesado” será usado para todo elemento que tem peso específico maior que 5 g cm^{-3} ou possui número atômico maior que 20 (MALAVOLTA et al., 2006). Porém, os metais pesados essenciais, tais como: cobalto (Co), cobre (Cu), Fe, manganês (Mn), níquel (Ni) e Zn, serão denominados “micronutrientes” e para os até então sem função conhecida para as plantas, tais como: cádmio (Cd), crômio (Cr) e chumbo (Pb), será usado o termo “metais pesados tóxicos”. Vale ressaltar que qualquer macro, micronutriente ou elemento benéfico pode tornar-se tóxico quando em concentração excessiva no meio, ou seja, “a dose faz o veneno”.

O Ni satisfaz o critério direto (DIXON et al., 1975) e indireto (BROWN; WELCH; CARY, 1987) de essencialidade e sua deficiência foi constatada em condições de campo (WOOD; REILLY; NYCZEPIR, 2004; RUTER, 2005). O Ni passou da categoria de tóxico para essencial e tem sido incluído nas legislações de fertilizantes, cita-se o exemplo dos casos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos e do Brasil, que em 2003 e 2007, respectivamente, admitiram o Ni na lista de micronutrientes (MALAVOLTA; MORAES, 2007). O selênio, classificado como metalóide, foi o mais recente elemento incluído na lista dos micronutrientes de plantas (WEN; LI; CHEN, 1988), embora sua essencialidade já tivesse sido comprovada para os animais e o homem no início da década de 60. O crômio, que desempenha função essencial no metabolismo da glicose e do colesterol no homem, pode ser o próximo a ser incluído na lista de micronutrientes de plantas.

Os teores de micronutrientes e/ou metais pesados tóxicos nos solos estão estreitamente relacionados com o material de origem. Em função da ação do intemperismo das rochas matrizes, os elementos passam então a fazer parte do solo e podem estar disponíveis para as plantas que, por conseguinte, por meio dos produtos agrícolas, podem entrar na cadeia alimentar (OMS, 1998; ADRIANO, 2001; KABATA-PENDIAS; MUKHERJEE, 2007). Quando os solos apresentam baixos teores de micronutrientes, como acontece com muita freqüência em solos intemperizados de regiões de clima tropical, principalmente em relação ao B e Zn, o fornecimento via fertilizante se faz necessário. Os cultivos sucessivos que sempre retiram nutrientes dos solos pelas colheitas e o uso de cultivares mais exigentes também são fatores que determinam a necessidade do fornecimento regular de macro e micronutrientes para manutenção da produtividade agrícola.

Por outro lado, os fertilizantes minerais podem conter metais pesados em concentrações variáveis. Nos fosfatados, os metais pesados tóxicos são devido, em sua maioria, a rocha matriz usada na fabricação dos mesmos (McLAUGHLIN; PARKER; CLARKE, 1999; GRANT; SHEPPARD, 2008). Rochas sedimentares contêm maiores teores de metais pesados. No caso de fertilizantes fontes de micronutrientes, no Brasil e no exterior, subprodutos industriais tem sido utilizados para fabricação de fertilizantes (MORTVEDT, 2001; MALAVOLTA, 1994), tais materiais podem conter metais pesados tóxicos em altas concentrações.

A problemática dos metais pesados tóxicos em fertilizantes minerais tem sido motivo de muitas discussões. Há uma ampla faixa de variação nos limites toleráveis de teores desses metais nos fertilizantes, nas taxas de adições por hectare e nos teores máximos no solo, entre as legislações de diversos países (MALAVOLTA et al., 2006). Isso demonstra orientações não uniformes no estabelecimento das normas e necessidade de mais pesquisas sobre o assunto. Alguns estudos nacionais e internacionais indicam que os metais pesados tóxicos adicionados via fertilizantes podem aumentar seus teores na parte comestível das plantas (PAN; STEVENS; LABNO, 2004; SILVA; FURTINI NETO; CHANG, 2009) e/ou apenas no solo, sem atingir níveis críticos (MORTVEDT, 1985; RAMALHO; AMARAL SOBRINHO; VELLOSO, 1999), ou ainda, podem não contribuir de modo relevante para aumentar o teor no solo e na planta (MULLA; PAGE; GANJE, 1980; MORTVEDT, 1987; CAMARGO et al., 2000; SANTOS et al., 2002). Argumenta-se que, as taxas de metais pesados tóxicos adicionadas são relativamente baixas, seja devido às doses aplicadas para suprimento dos micronutrientes serem sempre pequenas, ou pelo baixo teor nas fontes de macronutrientes (MALAVOLTA et al., 2006).

Geralmente, os teores de metais pesados tóxicos nos solos são baixos, todavia, são conhecidos alguns solos de regiões dos Estados Unidos, Canadá, Brasil e outros, que possuem teores naturalmente elevados (LUND et al., 1981; GARRETT, 1994; MONTAGNON et al., 2003; LOPES, 2009). É importante mencionar que: 1) além dos fertilizantes minerais e corretivos, os metais pesados tóxicos podem ser adicionados em áreas agrícolas por outras fontes antrópicas: fungicidas, dessecantes, lodo de esgoto, restos da produção intensiva de animais, queima de combustível fóssil, etc. (ALLOWAY, 1995; SANTOS; AMARAL SOBRINHO; MAZUR, 2003; CAMPOS, 2003; CAPDEVILA et al., 2003); 2) nem todo metal pesado adicionado ao solo está disponível para absorção pelas plantas, e, uma vez absorvido, apenas uma pequena quantia chega efetivamente à parte comestível, em se tratando de frutos e sementes.

O uso das variações genotípicas, intra e interespecíficas, no melhoramento de plantas visando a "biofortificação", maior teor de nutrientes e vitaminas na parte comestível (GRAHAM; WELCH, 1996; WELCH et al., 2005; NUTTI; CARVALHO; WATANABE, 2006; CAKMAK, 2008) ou a seleção de plantas para baixo teor de metais pesados tóxicos (LI et al., 1997; KURZ; SCHULZ; ROMHELD, 1999; ARAO; AE, 2003; CLARKE et al., 2005; GRANT et al., 2008) são abordagens recentes no meio científico, tendo despertado muito interesse devido ao potencial de aplicação na melhoria da qualidade dos alimentos. Atualmente, há também, crescente interesse no conhecimento da relação entre teores de micronutrientes e de metais pesados tóxicos na parte comestível das plantas, visando no futuro à seleção de cultivares que ao mesmo tempo apresentem maiores teores de micronutrientes e baixos de metais pesados tóxicos (CLARKE et al., 2002; LIU et al., 2003; CHEN et al., 2007; SHI et al., 2009).

Visando assegurar a qualidade dos alimentos e proteger a saúde da população, algumas medidas têm sido tomadas para evitar ou reduzir a entrada de metais pesados tóxicos na cadeia alimentar, sendo elas:

1) Legislações para estabelecer valores máximos permissíveis de metais pesados tóxicos em fertilizantes comerciais e/ou suas taxas de adição e também, o teor máximo no solo (CANADA, 1996; WSDA, 1999; CETESB, 2005; BRASIL, 2006).

2) Legislações, na área segurança alimentar, regulando limites máximos permissíveis de metais pesados tóxicos na parte comestível das plantas (ANVISA, 1965; CEC, 2001; CODEX, 2001; FSANZ, 2009).

3) Avaliação do teor e/ou da ingestão diária de metais pesados por meio de resultados de consumo *per capita* e de amostras de alimentos coletadas no comércio/locais de produção

(DePIERI; BUCKLEY; KOWALENKO, 1997; Al-SALEH; SHINWARI, 2001; SANTOS; LAURIA; SILVEIRA, 2004; RAGHUNATH et al., 2006).

Não há dúvidas de que as práticas de manejo da fertilidade do solo e da adubação constituem-se em estratégias necessárias para a manutenção ou aumento da produção agrícola. Entretanto, a produção de alimentos em quantidade e qualidade só será possível em um sistema de produção agrícola integrado, no qual o manejo da fertilidade do solo, a adubação e o melhoramento de plantas estejam baseados não somente nas exigências das culturas ou no aumento de produtividade, mas também na segurança do alimento e na sua capacidade de fornecer adequadamente nutrientes aos animais e ao homem. Para isso, é necessário o trabalho conjunto de profissionais de diversas áreas, principalmente agronomia, genética, biologia molecular, veterinária, nutrição e medicina (MORAES, 2008).

No Brasil, são escassas as pesquisas avaliando de forma integrada os diversos fatores envolvidos na transferência de micronutrientes e metais pesados tóxicos, desde sua quantificação nos fertilizantes até a avaliação de teor no produto agrícola. Esse tipo de avaliação permitirá demonstrar que, com manejo adequado, os fertilizantes podem contribuir tanto na produtividade quanto na melhoria da qualidade dos produtos agrícolas. Neste contexto, os objetivos deste trabalho foram:

(1) Avaliar métodos de extração e de quantificação de micronutrientes (Cu, Zn e Ni) e de metais pesados tóxicos (Cd, Cr e Pb) em fertilizantes comerciais, rochas fosfáticas e em subprodutos industriais utilizados na fabricação de micronutrientes;

(2) Determinar os teores disponíveis de P, micronutrientes e metais pesados tóxicos no solo após fertilização com fontes de fósforo e de micronutrientes;

(3) Avaliar o rendimento e determinar os teores de P, micronutrientes e metais pesados tóxicos em folhas de alface e grãos de arroz de terras altas cultivados em solos fertilizados com fontes de fósforo e de micronutrientes;

(4) Avaliar o efeito da fertilização com fontes de micronutrientes em indicadores microbiológicos do solo e atividades enzimáticas em plantas de alface;

(5) Identificar cultivares de arroz de terras altas com baixo e alto teor de Cd nos grãos e avaliar a relação entre teor de Cd e de micronutrientes nos grãos;

(6) Avaliar a influência do estado nutricional e das fases de crescimento no teor de Cd e ^{70}Zn nos grãos de dois cultivares de arroz de terras altas, com característica de baixo e alto teor de Cd nos grãos, respectivamente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ESTUDO 1: Análises químicas e avaliação agronômica de fontes de fósforo e de micronutrientes obtidas de subprodutos industriais

As amostras de fontes de fertilizantes utilizadas neste estudo foram obtidas no comércio e analisadas quimicamente para seleção das que contivessem altos teores de cádmio e chumbo, elementos de maior interesse por frequentemente serem encontrados em altos teores nos fertilizantes e devido ao potencial destes em causar danos ao ambiente e a saúde humana. Alguns dos produtos utilizados eram subprodutos industriais, compostos basicamente de óxidos de cobre ou zinco.

3.1.1 Caracterização de fontes e avaliação de métodos de extração de micronutrientes e de metais pesados tóxicos em fertilizantes

As análises químicas das fontes de fertilizantes utilizadas no primeiro e segundo experimento foram realizadas em duas etapas, sendo também, avaliados métodos de extração e de quantificação de micronutrientes e metais pesados tóxicos em fertilizantes. O trabalho foi realizado ao longo do desenvolvimento dos experimentos, procurando-se atender às mudanças na legislação brasileira de fertilizantes em relação aos métodos de análise de contaminantes em fertilizantes minerais.

3.1.1.1 Análise química das fontes de micronutrientes para o primeiro experimento

Durante o mês de abril de 2005, foram analisadas quatro fontes de micronutrientes para o primeiro experimento de calibração das doses de fertilizantes. Por não haver naquela época, regulamentação sobre contaminantes na legislação sobre fertilizantes, os metais pesados tóxicos foram quantificados aproveitando-se os extratos usados para análise dos teores totais de micronutrientes, segundo metodologia do Laboratório Nacional de Referência Vegetal (LANARV) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA).

As amostras de fertilizantes foram moídas e subdivididas em três subamostras, procedendo-se na ocasião a extração conforme LANARV (1988): transferiu-se 1,00 g de amostra para béquer de 250 mL e adicionaram-se 10 mL de HCl concentrado. O material foi fervido até a destruição da maior parte da matéria orgânica e, então, adicionados 20 mL de HCl 2 mol L^{-1}. Depois de nova fervura por 5 minutos, fez-se a filtragem e completou-se o volume para 50 mL. Os teores de Cu, Zn, Cd, Cr, Ni e Pb foram quantificados por espectrometria de absorção atômica (Tabela 1).

Tabela 1 - Caracterização química de subprodutos e fertilizantes fontes de micronutrientes.

Fontes	Cu	Zn	Cd	Cr	Ni	Pb
	g kg^{-1}		mg kg^{-1}			
Subproduto Cu	423	-[(1)]	19	250	302	1500
Fertilizante Cu	408	-	37	400	350	2500
Subproduto Zn	-	500	390	6	183	11100
Fertilizante Zn	-	423	93	4	12	3100

[(1)] Elementos não analisados.

3.1.1.2 Análise química de fontes de P e de micronutrientes para o segundo experimento, com quantificação dos micronutrientes e metais pesados tóxicos por espectrometria de emissão atômica com plasma (ICP-AES) e espectrometria de massas com plasma (ICP-MS)

Procurou-se analisar várias fontes de fósforo e de micronutrientes visando selecionar algumas delas para adubação do arroz de terras altas. Devido à grande variação encontrada nos teores de metais pesados tóxicos em levantamento das pesquisas realizadas no Brasil (MALAVOLTA; MORAES, 2006) e das discussões em andamento visando a definição de métodos oficiais para análise de contaminantes, decidiu-se avaliar dois métodos instrumentais para quantificação de metais pesados nos fertilizantes. Adicionalmente, para fins de comparação, foram analisadas novamente as fontes de Cu e Zn usadas no primeiro experimento (Tabela 1).

No período de agosto a outubro de 2006, antes do início do segundo experimento, foram analisadas 16 amostras de fertilizantes minerais, sendo duas fontes de Cu, duas fontes de Zn, quatro rochas fosfáticas e oito fertilizantes fosfatados. Embora a Instrução Normativa SDA Nº 24, do MAPA, tratando sobre teores máximos permissíveis de contaminantes em fertilizantes (BRASIL, 2006) houvesse sido publicada em 05/06/2006, conforme comentado, não haviam métodos oficiais recomendados para análise de contaminantes em fertilizantes. Desta forma, assim como na etapa anterior, os metais pesados tóxicos foram quantificados aproveitando-se os extratos usados para análise dos teores totais de P e de micronutrientes, conforme procedimento de preparo de amostra anteriormente descrito e seguindo-se as extrações abaixo (LANARV, 1988).

Extração para fontes de micronutrientes: transferiu-se 1,00 g de amostra para béquer de 250 mL e adicionaram-se 10 mL de HCl concentrado. O material foi fervido até destruir toda a matéria orgânica e, então, adicionados 20 mL de HCl 2 mol L^{-1}. Depois de nova fervura por 5 minutos, fez-se a filtragem e completou-se o volume para 50 mL.

Extração para fontes de fósforo: transferiu-se 1,00 g de amostra para béquer de 250 mL e adicionaram-se 30 mL de HNO_3 e 5 mL de HCl concentrados. O material foi fervido até a destruição da maior parte da matéria orgânica e, então, adicionados 20 mL água deionizada. Depois de nova fervura por 5 minutos, fez-se a filtragem e completou-se o volume para 50 mL.

O fósforo foi quantificado por colorimetria e os micronutrientes e metais pesados tóxicos quantificados por ICP-AES, no Centro de Solos e Recursos Agroambientais - IAC, e por ICP-MS, no Laboratório de Análise e Referência em Amostras Ambientais e Fertilizantes (LARAFERT), do CENA/USP. O elemento Cu foi determinado somente por ICP-AES, enquanto que o Zn foi quantificado por ambos os métodos (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2 - Teores de fósforo, determinado por colorimetria, e de micronutrientes e metais pesados tóxicos em fertilizantes, quantificados por ICP-AES.

Descrição[1]	P	Cu	Zn	Cd	Cr	Ni	Pb
	g kg^{-1}			mg kg^{-1}			
SFS Togo	75	-[2]	-	11	33	8	22
Rocha Togo	143	-	-	39	87	19	4
SFS importado	77	-	-	15	33	15	8
Rocha importada	75	-	-	17	33	14	4
SFS Lagamar	60	-	-	<1	8	6	2
Rocha Lagamar	101	-	-	<1	7	9	4
SFS Catalão 1	85	-	-	<1	5	22	13
Rocha Catalão	112	-	-	1	8	36	28
SFS Catalão 2	75	-	-	1	17	11	7
SFS Araxá	59	-	-	<1	10	16	16
SFS Irecê	65	-	-	<1	23	6	22
SFS Lagamar Acidulado	70	-	-	<1	11	9	4
Subproduto Zn	-	-	423	153	12	146	13392
Fertilizante Zn	-	-	415	47	7	7	3578
Subproduto Cu	-	437	-	16	231	283	1155
Fertilizante Cu	-	406	-	15	256	300	797

[1]Valores médios de três repetições; SFS: Superfosfato simples; [2] Elementos não analisados.

Tabela 3 - Teores de fósforo, determinado por colorimetria, de cobre e zinco, determinados por ICP-AES, e de metais pesados tóxicos em fertilizantes, quantificados por ICP-MS.

Descrição[1]	P	Cu	Zn	Cd	Cr	Ni	Pb
	g kg^{-1}			mg kg^{-1}			
SFS Togo	75	-[2]	-	17	48	13	35
Rocha Togo	143	-	-	57	114	26	7
SFS importado	77	-	-	23	50	24	14
Rocha importada	75	-	-	24	49	23	7
SFS Lagamar	60	-	-	<1	10	10	4
Rocha Lagamar	101	-	-	<1	10	16	7
SFS Catalão 1	85	-	-	<1	6	31	15
Rocha Catalão	112	-	-	1	7	39	28
SFS Catalão 2	75	-	-	2	22	16	7
SFS Araxá	59	-	-	1	12	20	20
SFS Irecê	65	-	-	<1	27	8	29
SFS Lagamar Acidulado	70	-	-	1	11	11	5
Subproduto Zn	-	-	383	183	14	164	6877
Fertilizante Zn	-	-	378	51	8	9	2214
Subproduto Cu	-	437	-	18	383	329	1733
Fertilizante Cu	-	406	-	14	322	381	1019

[1]Valores médios de três repetições; SFS: Superfosfato simples; [2] Elementos não analisados.

A rocha de Togo, o SFS obtido pela acidulação da rocha de Togo, o subproduto fonte de Zn e o fertilizante fonte de Zn obtido pela acidulação do mesmo subproduto, foram selecionados para uso na fertilização do segundo experimento devido aos seus maiores teores de Cd e Pb.

3.1.1.3 Avaliação de métodos de extração de nutrientes e metais pesados tóxicos em fertilizantes minerais

Visando avaliar a confiabilidade das análises anteriores, em dezembro de 2007, foram avaliadas quatro métodos de extração de nutrientes e contaminantes em fertilizantes minerais, sendo os mesmo adaptados com base nos métodos usados anteriormente (item 3.1.1.2), nos métodos em desenvolvimento pelo Grupo de Trabalho sobre Contaminantes em Fertilizantes (ANDA/MAPA) e nos métodos de análise de metais pesados tóxicos em fertilizantes reconhecidos em 20/06/2007 pela Instrução Normativa SDA Nº 27, do MAPA (BRASIL, 2007). A performance dos métodos de extração foi avaliada utilizando-se uma amostra certificada pelo "National Institute of Standards and Technology (NIST), SRM 695 - Trace Elements in Multi-Nutrient Fertilizer" (MACKEY et al., 2007).

Método 1 - extração em sistema micro-ondas milestone, modelo TC plus. Procedimento adaptado do método 3051A (USEPA, 2007a). Transferiu-se 0,5 g da amostra certificada para tubos de teflon e adicionou-se 5 mL de HNO_3 concentrado + 3 mL de HCl concentrado. Depois de procedida a digestão, completou-se o volume com água ultra pura para 50 mL.

Método 2 - extração em sistema micro-ondas milestone, Modelo TC Plus. Procedimento adaptado do método 3052 (USEPA, 1996b). Transferiu-se 0,5 g da amostra certificada para tubos de teflon e adicionou-se 5 mL de HNO_3 concentrado + 0,2 mL de HF concentrado. Depois de procedida a digestão, completou-se o volume com água ultra pura para 50 mL.

Método 3 - extração em bloco digestor. Método adaptado do Grupo de Trabalho sobre Contaminantes em Fertilizantes (ANDA/MAPA), por sua vez, inicialmente baseado no método 3050B (USEPA, 1996a). Transferiu-se 0,5 g da amostra certificada para béquer de 100 mL e adicionou-se 2,5 mL de HNO_3 concentrado + 10 mL de HCl concentrado. O material foi aquecido a 95 ºC ± 5 ºC por 15 minutos e, então, após resfriamento adicionou-se novamente 10 mL de HCl concentrado seguido de novo aquecimento por 15 minutos. Em seguida, completou-se o volume com água ultra pura para 50 mL.

Método 4 - extração em bloco digestor para determinação de mercúrio. Método adaptado do Grupo de Trabalho sobre Contaminantes em Fertilizantes (ANDA/MAPA), por sua vez, inicialmente baseado no método 7471B (USEPA, 2007b). Transferiu-se 0,5 g da amostra certificada para béquer de 100 mL e adicionou-se 5 mL de água deionizada e 5 mL de

água régia (1 volume de HNO_3 + 3 volumes de HCl concentrados). O material foi aquecido a 95 ºC ± 5 ºC por 30 minutos, adicionando-se água quando necessário. Em seguida, completou-se o volume com água ultrapura para 50 mL.

O Método 3, baseado no uso de ácido nítrico e clorídrico em sistema aberto, é semelhante aos métodos recomendados para teor total de P e micronutrientes (item 3.1.1.2) e também ao método 3050B (USEPA, 1996a), reconhecido pela legislação brasileira sobre contaminantes em fertilizantes (BRASIL, 2007). Portanto, ele será usado como referência para comparações das extrações usadas nos fertilizantes (item 3.1.1.2).

Para cada método, foram usadas três repetições. Determinaram-se os elementos para o qual a amostra possui valores certificados ou de referência. A quantificação foi efetuada por ICP-MS. Os resultados da avaliação dos métodos de extração de nutrientes e contaminantes em fertilizantes minerais são apresentados na Tabela 11.

3.1.2 Primeiro experimento: resposta das culturas de arroz de terras altas e de alface a fontes de micronutrientes obtidas de subprodutos industriais

As fontes de micronutrientes avaliadas (Tabela 1) possuíam teores de metais pesados tóxicos e solubilidade variada, motivo pelo qual foram selecionadas junto a indústria de fertilizantes para utilização nos estudos. Foram adicionadas doses de Cu e de Zn de modo a simular adições equivalentes a fertilizações de curto e médio prazo, para posteriormente definir as doses do segundo experimento, com adubações simulando experimentos de longa duração.

Neste experimento, teve-se como objetivos específicos, avaliar doses de fontes de micronutrientes nas seguintes variáveis resposta: a) taxa de adição e aumento dos teores disponíveis de Cu, Zn, Cd, Cr, Ni e Pb no solo; b) produção de massa seca e grãos pelas culturas; c) alterações na qualidade do produto agrícola (folhas de alface e grãos de arroz) em relação aos teores de micronutrientes e metais pesados tóxicos; d) atributos microbiológicos da qualidade do solo; e) atividade das enzimas antioxidantes em plantas como indicadores de estresses abióticos.

3.1.2.1 Local e solo

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA/USP), em Piracicaba, SP, no período de janeiro a outubro de 2005. Foi usado um Latossolo Vermelho-Amarelo, ácido, com textura média e coletado na profundidade de 0 a 20 cm, proveniente do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa - SP.

3.1.2.2 Caracterização física e química do solo

A análise granulométrica do solo, segundo CAMARGO et al. (1986), revelou teores de areia - 164 g kg^{-1}, silte - 218 g kg^{-1}, argila - 618 g kg^{-1}, classe textural: franco arenoso.

Os resultados das análises químicas (0-20 cm) foram os seguintes: pH ($CaCl_2$) - 4,3; MO - 20 g dm^{-3}; S-SO_4 (fosfato + ácido acético) - 5 mg dm^{-3}; K - 0,8 $mmol_c$ dm^{-3}; Ca - 10 $mmol_c$ dm^{-3}; Mg - 4 $mmol_c$ dm^{-3}; Al - 5 $mmol_c$ dm^{-3}; H+Al - 38 $mmol_c$ dm^{-3}; B (água quente) - 0,24 mg dm^{-3}, determinados segundo Raij et al. (2001). Fósforo, micronutrientes e metais pesados extraídos e determinados conforme EMBRAPA (1997): P - 2 mg dm^{-3}; Cu - 0,6 mg dm^{-3}; Fe - 208 mg dm^{-3}; Mn - 19,6 mg dm^{-3}; Ni – 0,02 mg dm^{-3}; Zn - 1,9 mg dm^{-3}; Cd - 0,00 mg dm^{-3}; Cr - 0,01 mg dm^{-3}; Pb - 0,89 mg dm^{-3}.

3.1.2.3 Tratamentos e delineamento experimental

Os tratamentos foram constituídos de seis produtos com micronutrientes, três fontes de Cu e três fontes de Zn, sendo as fontes de cada elemento aplicadas da seguinte forma: fertilizante (adicionado em duas doses), subproduto usado para fabricação do fertilizante (Tabela 1) e uma mistura de reagentes pró-análise com composição química idêntica ao subproduto. Adicionou-se também um tratamento testemunha, sem aplicação de Cu e Zn, totalizando-se 9 tratamentos.

As misturas de reagentes pró-análise foram usadas para avaliar a disponibilidade dos micronutrientes e metais pesados tóxicos nos fertilizantes e subprodutos. As misturas pró-análise foram preparadas a partir de óxido de Cu e óxido de Zn, respectivamente. Os metais pesados Cd, Cr, Ni e Pb foram adicionados na forma de nitrato, a exceção do Cr, fornecido como cromato de potássio. A massa da mistura foi completada a 100 g com sulfato de cálcio.

Na Tabela 4 são apresentadas as doses fornecidas por cada fonte de micronutriente e as adições de metais pesados tóxicos estimadas conforme caracterização química (Tabela 1).

Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, totalizando 36 parcelas.

Tabela 4 – Esquema de aplicação das doses de Cu e Zn e adições calculadas de Ni e metais pesados tóxicos pelos subprodutos e fertilizantes fontes de micronutrientes utilizados no primeiro experimento.

Tratamentos	Cu	Zn	Cd[1]	Cr	Ni	Pb
	mg dm^{-3}		μg dm^{-3}			
Testemunha	-[2]	-	-	-	-	-
Subproduto Cu	2	-	0,09	1,18	1,43	7,09
Subproduto Cu	4	-	0,18	2,36	2,86	14,18
Fertilizante Cu	3	-	0,27	2,94	2,57	18,38
Mistura pró-análise Cu[3]	3	-	0,13	1,77	2,14	10,64
Subproduto Zn	-	4	3,12	0,05	1,46	88,80
Subproduto Zn	-	8	6,24	0,10	2,93	177,60
Fertilizante Zn	-	6	1,32	0,06	0,17	43,97
Mistura pró-análise Zn[3]	-	6	4,68	0,07	2,20	133,20

[1]As taxas de adições foram calculadas multiplicando-se os teores de metais pesados nas fontes (Tabela 1) pela massa de cada produto necessária para fornecimento das doses de Cu e Zn; [2]Não calculada ou com dose/adição não significativa; [3]As misturas pró-análise tinham composição química idêntica aos subprodutos fontes de Cu e Zn e foram preparadas a partir de reagentes pró-análise.

3.1.2.4 Desenvolvimento experimental

As plantas teste utilizadas foram o arroz de terras altas, cultivar IAC 165 (cultivo principal) e a alface variedade Elisa (cultivo residual). Para a cultura do arroz, foi empregada uma mistura de $CaCO_3$ + $MgCO_3$ na proporção de 1:1, visando elevar a saturação por bases a 50% (CANTARELLA; FURLANI, 1997). Antes do cultivo da cultura da alface, a saturação por bases foi corrigida a 80% (TRANI; PASSOS; AZEVEDO FILHO, 1997). As correções de acidez foram baseadas nas recomendações oficiais para o estado de São Paulo.

Foram utilizados vasos de 3 dm^3 preenchidos com solo seco ao ar e passado em peneira de 2 mm. Os calcários e os fertilizantes, para a adubação básica e os tratamentos (fontes de Cu e Zn) foram misturados ao solo, que, após cada operação, foi incubado por 30 dias com umidade em 60% da capacidade de retenção de água. Os nutrientes da adubação básica foram fornecidos nas seguintes doses (mg dm^{-3}): N - 50; P - 200; K - 50; S - 50; B - 1;

Co - 0,1; Mn - 5 e Mo - 0,15. Após a aplicação dos tratamentos e antes da semeadura do arroz foram coletadas amostras de solo dos vasos para análise química. O fornecimento do N e K, feito em cobertura (perfilhamento pleno e início do florescimento) foi parcelado em duas aplicações, sendo adicionados na forma de solução (mg dm^{-3}): N - 100, K - 100 e S - 25 (aplicado somente na primeira cobertura). Foram colocadas 10 sementes por vaso e procederam-se desbastes periódicos até restarem três plantas por vaso. Ao final do ciclo (aproximadamente 120 dias), na ocasião da colheita, o arroz foi separado em raiz, parte aérea, raquis, casca e grãos. Posteriormente ao cultivo do arroz, a alface foi cultivada nos mesmos vasos e foi colhida aos 40 dias, separando-a em raiz, caule e folhas. O cultivo da alface foi efetuado com duas plantas por vaso visando avaliar o efeito residual dos tratamentos iniciais, fazendo-se apenas a correção de acidez e duas adubações de cobertura com N e K. Os procedimentos de manejo foram os mesmos do cultivo de arroz. Ao final do ciclo de cada cultura, o material vegetal colhido foi seco em estufa a 65ºC, medida a massa seca e armazenado para análise química.

3.1.2.5 Análises químicas de planta e solo

As amostras de grãos de arroz foram moídas, digeridas por solução nítrico-perclórica e quantificados os teores de Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn em ICP-AES (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997).

Em função dos altos teores de metais pesados tóxicos encontrados nas análises por digestão nítrico-perclórica e quantificação em ICP-AES (Tabela 21), procedeu-se novamente a digestão dos grãos por micro-ondas usando-se reagentes purificados e água ultrapura (0,25 g massa seca, 4 mL de HNO_3 3 mol L^{-1} e 2 mL de H_2O_2 30% v/v, conforme ARAÚJO et al., 2002), com quantificação dos metais pesados por ICP-MS (Tabela 22). Para garantir a confiabilidade dos resultados, nas digestões por micro-ondas e quantificação por ICP-MS foram usadas duas amostras de farelo de arroz certificadas para valor médio e alto de cádmio (OKAMOTO, 1991). As amostras de tecido vegetal de alface foram analisadas somente pelo segundo método (Tabela 22), por este ter apresentados resultados condizentes com os valores do material certificado (Tabela 23).

Nas amostras de solo coletadas antes do início do experimento, foram determinados os teores disponíveis de micronutrientes e metais pesados tóxicos, extraídos por Mehlich 1 (EMBRAPA, 1997).

3.1.2.6 Atividade de enzimas antioxidativas em plantas de alface

As folhas e raízes de alface, coletas na ocasião da colheita, foram finamente moídas em almofariz contendo nitrogênio liquido. Em seguida, adicionou-se o tampão de extração (fosfato de potássio 100 mM, pH 7,5, contendo 1 mM de EDTA, 3 mM de DTT e 4% de PVPP), na relação de 1 g de massa fresca para 3 mL de tampão. A mistura foi centrifugada a 10.000 rpm por 30 min a 4ºC. Coletou-se o sobrenadante e estocou-o em freezer a –80ºC até as determinações de proteínas, atividade da catalase e da guaiacol peroxidase e isoenzimas dismutase de superóxido.

3.1.2.6.1 Quantificação de proteínas

As determinações das concentrações de proteínas totais em extratos de folhas e raízes da alface foram realizadas pelo método de Bradford (1976). Para calibração foi utilizando uma curva padrão elaborada a partir da albumina de soro bovino (BSA).

3.1.2.6.2 Determinação da atividade da catalase

Para quantificar a atividade da catalase (CAT), foram seguidos os procedimentos sugeridos por Ferreira et al. (2002c). Usou-se uma mistura de reação a 25ºC contendo fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e 0,0075% v/v de H_2O_2. Adicionaram-se 25 µL de extrato para iniciar a reação, sendo a atividade mensurada em espectrofotômetro (absorbância a 240 nm) acompanhando-se a decomposição de H_2O_2 por um minuto. Os resultados foram expressos em nanomol min^{-1} mg de $proteína^{-1}$.

3.1.2.6.3 Determinação da atividade da guaiacol peroxidase

A atividade de guaiacol peroxidase (GOPX) foi quantificada conforme metodologia adaptada de Gomes Junior et al. (2006). O ensaio foi desenvolvido em uma mistura de reação contendo de tampão fosfato 0,2M + citrato 0,1M (solução de fosfato de sódio dibásico 0,2 M e ácido cítrico 0,1 M) a pH 5,0; 0,01% v/v de guaiacol e 0,06% v/v de H_2O_2 e 5 - 10 µL de extrato protéico. A mistura foi incubada a 30ºC por 15 minutos. Após o período de incubação, transferiu-se a mesma para banho de gelo e adicionaram-se 20 µL de solução de meta bissulfito de sódio a 2% (volume final 1 mL). Procedeu-se agitação em vortex, deixou-se em

repouso por 10 minutos e procedeu-se a leitura de absorbância em 450 nm. A atividade enzimática foi expressa em unidades de absorbância min^{-1} mg de proteína^{-1}.

3.1.2.6.4 Gel de isoenzimas dismutase de superóxido

O perfil de isoenzimas dismutase de superóxido (SOD) foi realizada por eletroforese em PAGE (9 %T). A corrida eletroforética foi feita a corrente constante de 30 mA por placa. Para revelação da SOD, foram seguidos os procedimentos sugeridos por Ferreira et al. (2002c). Os géis foram lavados rapidamente em água deionizada e incubados no escuro, a temperatura ambiente, em uma mistura de reação contendo: 50 mM de tampão fosfato de potássio (pH 7,8); 1 mM EDTA; 0,05 mM de riboflavina; 0,1 mM de NBT e 0,3% v/v TEMED. A mistura de reação foi removida após 30 minutos, os géis foram então enxaguados em água deionizada e colocados sob iluminação por alguns minutos até o desenvolvimento de bandas negativas com fundo roxo. Para fixação, usou-se solução de ácido acético (7% v/v).

3.1.2.7 Análises microbiológicas indicadoras de qualidade do solo

Nas amostras de solo obtidas apos a colheita das plantas de alface foram determinados os seguintes indicadores microbiológicos: 1) carbono da biomassa microbiana (C_{mic}), determinado pelo método da fumigação-extração (VANCE; BROOKES; JENKINSON, 1987); 2) respiração, medida pelo CO_2 liberado de 100 g de solo, que reagiu com NaOH 0,1 mol L^{-1}, sendo determinado por titulação com HCl 0,1 mol L^{-1}, após 9 dias de incubação a temperatura de 28°C±2. O CO_2 liberado foi expresso em µg CO2 g^{-1} dia^{-1}; 3) quociente metabólico (qCO_2), que representa a quantidade de C-CO_2 liberada por unidade de C_{mic}, calculado segundo Anderson e Domsch (1993), e expresso em ng CO_2/µg C_{mic} g^{-1} h^{-1} de solo seco; 4) atividade da desidrogenase no solo, determinada segundo Casida, Klein e Santoro (1964) e 5) atividade de proteases, determinada pelo método proposto por Alef e Nannipieri (1995).

3.1.2.8 Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F), e as diferenças entres os tratamentos avaliadas por meio do teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o software Statistical Analysis System - SAS (PIMENTEL-GOMES; GARCIA,

2002). Foi usado o teste de correlação de Pearson, pelo software SAS, para avaliar a correlação entre atividade de enzimas e teores de micronutrientes e metais pesados tóxicos nas folhas e raízes da alface. Para os resultados de indicadores microbiológicos do solo, devido a maior variação natural deste tipo de análise, adotou-se o teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

3.1.3 Segundo experimento: resposta do arroz de terras altas a fontes de fósforo e de zinco com teores variáveis de metais pesados tóxicos

As fontes de fósforo e de micronutrientes usadas neste experimento, da mesma forma que no primeiro experimento, possuíam teores de metais pesados tóxicos e solubilidade variada. As fontes de Zn (fertilizante e subproduto) foram as mesmas usadas anteriormente. Quanto às fontes de P, escolheu-se a rocha fosfática de Togo e o superfosfato simples obtido pela acidulação da mesma. A escolha das fontes foi devido aos seus altos teores de Cd e Pb, elementos de maior preocupação em relação à entrada na cadeia alimentar.

Devido aos pequenos aumentos dos teores de micronutrientes e metais pesados tóxicos, tanto no solo (Tabela 17) quanto nos produtos agrícolas (Tabelas 20 e 22), observados no primeiro experimento, no presente experimento foram adotadas doses de modo a simular adições de fertilizantes de longa duração. No entanto, no caso das fontes de Zn, foi respeitado o limite de adição (70 mg de Zn por kg de solo), capaz de causar toxidez para o arroz (FAGERIA, 2000).

Os objetivos principais foram avaliar doses de fontes de P e de micronutrientes nas seguintes variáveis resposta: a) taxa adição e aumento dos teores disponíveis de Zn, Cd, Cr, Ni e Pb no solo usando-se dois extratores; b) produção de grãos de arroz de terras altas; c) alterações na qualidade de grãos de arroz em relação aos teores de micronutrientes e metais pesados tóxicos.

3.1.3.1 Local e solo

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA/USP), Piracicaba, SP. Iniciou-se em Dezembro/2006, com a coleta e caracterização dos solos e em julho/2007 finalizou-se a etapa cultivo.

Foram utilizadas amostras de dois solos de características físicas e químicas contrastantes. Um Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA) distrófico típico, textura arenosa (IAC, Campinas-SP) e um Latossolo Vermelho (LV) distroférrico, textura muito argilosa (Centro de Citricultura, Cordeirópolis-SP). Ambas as amostras de solos foram coletadas na profundidade de 0 a 20 cm.

3.1.3.2 Caracterização física e química do solo

As amostras de solo foram caracterizadas quanto aos teores de areia, silte, argila e classe textural, conforme Camargo et al. (1986). Os teores totais de Si, Al, Fe, Mn e Ti foram determinados por meio de ataque sulfúrico. Os índices Ki e Kr, que indicam o grau de intemperismo dos solos, foram estimados pelas relações moleculares de SiO_2/Al_2O_3 e $SiO_2/Al_2O_3 + Fe_2O_3$ (Tabela 5).

Foram determinados pH ($CaCl_2$), matéria orgânica, fósforo, sulfato ($S\text{-}SO_4$), cátions trocáveis, micronutrientes e metais pesados tóxicos (RAIJ et al., 2001). O boro foi extraído com água quente e Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn por extração com DTPA (Tabela 6).

Tabela 5 - Características mineralógicas dos solos usados no segundo experimento.

Solos	SiO_2	Al_2O_3	Fe_2O_3	TiO_2	MnO	Ki[(1)]	Kr[(2)]
	g kg^{-1}					-	-
LVA	96,5	120,8	48,2	8,3	0,3	1,36	1,08
LVL	152,5	208,2	151,7	14,0	0,7	1,25	0,85

[(1)]Ki = relação molecular SiO_2 / Al_2O_3; [(2)]Kr = relação molecular SiO_2 / $Al_2O_3 + Fe_2O_3$. Valores médios de duas repetições.

Tabela 6 - Características químicas e físicas dos solos usados no segundo experimento[1].

Variáveis	Solos	
	Latossolo Vermelho-Amarelo	Latossolo Vermelho
pH ($CaCl_2$)	4,4	4,0
Matéria Orgânica (g dm^{-3})	26	42
P (mg dm^{-3}) [1]	4	5
K ($mmol_c$ dm^{-3})	2,4	1,5
Ca ($mmol_c$ dm^{-3})	7	9
Mg ($mmol_c$ dm^{-3})	4	3
Al ($mmol_c$ dm^{-3})	4	15
H+Al ($mmol_c$ dm^{-3})	34	98
SB ($mmol_c$ dm^{-3})	13,4	13,5
CTC ($mmol_c$ dm^{-3})	47,7	111,7
V (%)	28	12
B (mg dm^{-3})	0,3	0,4
Cu (mg dm^{-3})	1,1	1,7
Fe (mg dm^{-3})	26	29
Mn (mg dm^{-3})	6,3	17,5
Zn (mg dm^{-3})	0,5	0,7
Cd (mg dm^{-3})	<0,01	<0,01
Cr (mg dm^{-3})	<0,01	<0,01
Ni (mg dm^{-3})	0,01	0,04
Pb (mg dm^{-3})	3,33	4,96
Argila (g kg^{-1})	358	707
Silte (g kg^{-1})	47	106
Areia (g kg^{-1})	595	187

[1] Extratores: B = água quente; P, K, Ca e Mg = resina; Al = KCl; Micronutrientes e metais pesados tóxicos = DTPA; Acidez potencial (H+Al) = tampão SMP; Granulometria = método da pipeta.

3.1.3.3 Tratamentos e delineamento experimental

Foram desenvolvidos dois cultivos simultâneos, um avaliando três fontes de P e outro três fontes de Zn. Em cada caso, foram usadas amostras de dois solos (Tabela 6), três fontes, quatro doses de cada fonte e dois tratamentos adicionais sem adição de P ou Zn. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial, 2 X 3 X 4 + (2), com três repetições. Cada cultivo foi composto por 78 parcelas, perfazendo 156 parcelas no total.

As fontes de P usadas foram: rocha fosfática de Togo, superfosfato simples obtido pela acidulação da rocha de Togo (Tabela 2) e uma mistura de reagentes pró-análise com composição química idêntica a rocha fosfática. As doses foram fornecidas baseando-se no teor total de P_2O_5, definidas segundo a recomendação oficial (RAIJ et al., 1997) do Estado de São Paulo para culturas anuais (arroz, feijão, milho e soja) com P no solo de muito baixo a baixo. Deste modo, aplicaram-se taxas de 0; 2,5; 5; 10 e 20 vezes a dose recomendada (em média 90 kg de P_2O_5 por ha). A mistura pró-análise tinha a mesma composição da rocha fosfática, preparada usando hidroxiapatita pró-análise: $Ca_{10}(OH)_2(PO_4)_6$. Os metais pesados Cd, Cr, Ni e Pb foram adicionados como nitrato, a exceção do Cr, fornecido como cromato de potássio. A massa da mistura foi completada a 100 g com quartzo moído.

As fontes de Zn usadas foram: fertilizante, subproduto (Tabela 2) e uma mistura reagentes pró-análise com composição química idêntica ao subproduto. As doses foram fornecidas baseando-se no teor total de Zn, definidas em função do primeiro experimento e da recomendação oficial (RAIJ et al., 1997) do Estado de São Paulo, para culturas anuais (arroz, feijão, milho e soja) com teor de Zn no solo considerado baixo. Deste modo, aplicaram-se taxas de 0; 2,5; 5; 10 e 20 vezes a dose recomendada (em média 4 kg de Zn por ha). A mistura pró-análise foi formulada para ter a composição do subproduto, preparada a partir de óxido de Zn. Os metais pesados Cd, Cr, Ni e Pb foram adicionados como nitrato, a exceção do Cr, fornecido como cromato de potássio. A massa da mistura foi completada a 100 g com sulfato de cálcio pró-análise.

São apresentadas na Tabela 7, as doses de P e Zn e as adições de metais pesados estimadas conforme caracterização química das fontes (Tabela 2).

Tabela 7 - Esquema de aplicação das doses de P e Zn e adições calculadas de Ni e metais pesados tóxicos pelas fontes de fertilizantes utilizadas no segundo experimento.

Tratamentos	P	Zn	Cd[1]	Cr	Ni	Pb
	mg dm^{-3}		µg dm^{-3}			
Testemunha	-[2]	-	-	-	-	-
Rocha fosfática Togo	50	-	13,6	30,4	6,6	1,4
	100	-	27,3	60,8	13,3	2,8
	200	-	54,5	121,7	26,6	5,6
	400	-	109,1	243,3	53,1	11,2
SFS Togo	50	-	7,3	22,0	5,3	14,7
	100	-	14,7	44,0	10,7	29,3
	200	-	29,3	88,0	21,3	58,7
	400	-	58,7	176,0	42,7	117,3
Mistura pró-análise P[3]	50	-	13,6	30,4	6,6	1,4
	100	-	27,3	60,8	13,3	2,8
	200	-	54,5	121,7	26,6	5,6
	400	-	109,1	243,3	53,1	11,2
Subproduto Zn	-	5	1,8	0,1	1,7	158,3
	-	10	3,6	0,3	3,5	316,6
	-	20	7,2	0,6	6,9	633,2
	-	40	14,5	1,1	13,8	1266,4
Fertilizante Zn	-	5	0,6	0,1	0,1	43,1
	-	10	1,1	0,2	0,2	86,2
	-	20	2,3	0,3	0,3	172,4
	-	40	4,5	0,7	0,7	344,9
Mistura pró-análise Zn[3]	-	5	1,8	0,1	1,7	158,3
	-	10	3,6	0,3	3,5	316,6
	-	20	7,2	0,6	6,9	633,2
	-	40	14,5	1,1	13,8	1266,4

[1]As taxas de adições foram calculadas multiplicando-se os teores de metais pesados nas fontes (Tabela 2) pela massa de cada produto necessária para fornecimento das doses de P e Zn; [2]Não calculada ou com dose/adição não significativa; [3]As misturas pró-análise tinham composição química idêntica a rocha fosfática e ao subproduto fontes de Zn, respectivamente, e foram preparadas a partir de reagentes pró-análise.

3.1.3.4 Desenvolvimento experimental

Usou-se como planta teste o cultivar de arroz de terras altas BRSMG Conai, recentemente lançada no mercado. Esse cultivar apresenta como características a superprecocidade e o alto potencial de produtividade de grãos (SOARES et al., 2005). Para correção de acidez foi empregada uma mistura de $CaCO_3$ + $MgCO_3$ na proporção de 3:1, visando elevar a saturação por bases a 50% (CANTARELLA; FURLANI, 1997).

As amostras de solo foram passadas em peneira de 2 mm e secas ao ar em casa de vegetação, sendo em seguida, adicionados 3 dm^3 de solo por vaso plástico. Os calcários e os fertilizantes, para básica e os tratamentos (fontes de P e Zn), foram misturados ao solo e, após cada operação, incubados por 30 dias com umidade mantida em 60% da capacidade de retenção de água. Os nutrientes da adubação básica foram fornecidos nas seguintes doses (mg dm^{-3}): N - 50; P - 200 (nas parcelas com Zn); K - 50; S - 50; Si - 50; B - 1; Co - 0,1; Cu - 1; Cl - 5; Mn - 5; Mo - 0,15; Ni - 0,1; Zn - 3 (nas parcelas com P) e Se - 0,1. Após aplicação dos tratamentos e antes da semeadura do arroz, foram coletadas amostras de solo para análise química. O fornecimento do N e K, feito em cobertura (perfilhamento pleno e início do florescimento) foi parcelado em duas aplicações, sendo adicionados na forma de solução (mg dm^{-3}): N - 100, K - 100 e S - 25 (aplicado somente na primeira cobertura). Foram colocadas 10 sementes por vaso e procederam-se desbastes periódicos até restarem três plantas por vaso. No período anterior a floração, foram coletadas, em cada vaso, cinco folhas superiores bem desenvolvidas para diagnóstico do estado nutricional do arroz, conforme Fageria (1998). Ao final do ciclo do arroz, na ocasião da colheita, foram separados os grãos com casca.

As folhas da diagnose foliar e os grãos foram secos em estufa a 65.ºC, mensurada a massa seca e armazenados para análise química.

3.1.3.5 Análises químicas de planta e solo

As amostras de folhas, para diagnóstico do estado nutricional, do arroz foram moídas e digeridas por solução nítrico-perclórica, conforme Malavolta, Vitti e Oliveira (1997). O P foi quantificado em espectrofotômetro usando o método da colorimetria do metavanadato e o Zn determinado por leitura direta em espectrofotômetro de absorção atômica.

Visando avaliar a possibilidade do uso da digestão nítrico-perclórica para análise dos grãos, realizou-se um ensaio prévio comparando-se a digestão nítrico-perclórica com o método do micro-ondas. Para ambos os métodos, foram usados reagentes purificados, água

ultrapura, amostras certificadas (NIST SRM 1515 “apple leaves” e NIES Nº 10-b “rice flour”) e duas amostras de grãos provenientes dos tratamentos com menor e maior dose de rocha fosfática de Togo, provenientes do cultivo no Latossolo Vermelho-Amarelo.

a) Nítrico-perclórica em bloco digestor: 0,50 g de massa seca, 4 mL HNO_3 concentrado + 1 mL de $HClO_4$ concentrado, completando o volume para 50 mL de água ultrapura (modificado de MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997).
b) Micro-ondas: 0,25 g massa seca, 2 mL de HNO_3 concentrado, 2 mL de H_2O_2 e 6 mL de água ultrapura, completando o volume para 30 mL água ultrapura (modificado de ARAÚJO et al., 2002).

Os níveis de contaminação na análise nítrico-perclórica foram baixos e os teores dos elementos de interesse, na maior parte dos casos, estavam próximos dos valores certificados (Tabelas 24 e 25). Sendo assim, todas as amostras de grãos descascados manualmente foram digeridas por solução nítrico-perclórica (Tabelas 18, 19, 26-33). Os teores de P, micronutrientes (Cu, Fe, Mn, Ni e Zn) e de metais pesados tóxicos (Cd, Cr e Pb) foram determinados por ICP-MS.

Nas amostras de solo, coletadas antes do início do experimento, foram determinados os teores disponíveis de micronutrientes e metais pesados tóxicos, extraídos com DTPA e com solução de ácidos orgânicos (ABREU; ABREU; ANDRADE, 2001; PIRES; MATTIAZZO; BERTON, 2004). Os elementos foram quantificados por ICP-MS.

3.1.3.6 Análise estatística

Foram realizadas análises de variância (teste F), teste de Tukey para comparação de médias, correlações e regressões entre taxas de adição de Cd, teores de Cd disponível no solo extraído por DTPA e teor de Cd nos grãos. Utilizou-se o procedimento GLM do software Statistical Analysis System - SAS (PIMENTEL-GOMES; GARCIA, 2002).

3.2 ESTUDO 2: Variação genotípica quanto ao teor de micronutrientes e de cádmio em cultivares de arroz de terras altas

No Brasil, são escassos os trabalhos sobre variação genotípica quanto ao teor de micronutrientes e metais pesados tóxicos na parte comestível das plantas. Neste estudo objetivou-se avaliar as diferenças genotípicas quanto ao teor de micronutrientes, especialmente Fe, Se e Zn, e de cádmio em 35 cultivares de arroz de terras altas do Brasil. Os objetivos específicos foram: 1) identificar cultivares com alto e baixo teor de cádmio; 2) avaliar a relação entre teor de Cd e de micronutrientes na parte aérea de plantas jovens e nos grãos, naquelas plantas mantidas até o final do ciclo.

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA/USP), Piracicaba, Brasil. Foram usados vasos com 3 dm^3 de amostra de um Latossolo Vermelho-Amarelo (itens 3.1.2.1 e 3.1.2.2). O delineamento experimental adotado foi o inteiramente ao acaso, com três repetições.

A instalação do experimento e manejo das plantas foi realizada conforme descrito no item 3.1.3.4. Antes do plantio foi feita a aplicação de calcário e fertilizantes conforme recomendado para cultura do arroz de terras altas. O Cd foi fornecido na dose de 1,0 mg dm^{-3}, misturado ao solo, no momento da aplicação dos fertilizantes. A dose adicionada visou à obtenção de um solo com baixa contaminação de Cd, sem causar estresse ao desenvolvimento das plantas, conforme observado em estudo de Arao e Ae (2003).

Foram usados 35 cultivares de arroz de terras altas (Tabela 8), selecionados de acordo com as seguintes características: cultivares velhos e novos, duração do ciclo, alto e baixo conteúdo de minerais (Fe e Zn) nos grãos, produção e tipo de coloração dos grãos (vermelho, preto ou branco).

Inicialmente foram cultivadas três plantas por vaso e aos 45 dias após a emergência (perfilhamento), colheu-se uma planta de cada vaso (planta jovem), cortando-a rente à superfície do solo. Ao final do ciclo, as plantas mantidas foram colhidas e os grãos com casca foram separados. As amostras da parte aérea de plantas jovens e os grãos com casca foram secos em estufa a 65.ºC, mensurada a massa seca e armazenados para análise química.

Tabela 8 - Principais características dos cultivares de arroz de terras altas avaliados no estudo sobre variação genotípica quanto ao teor de micronutrientes e de cádmio em grãos.

Identificação	**Características**
PB 01	Arroz vermelho tradicional
Relâmpago	Super precoce (Originado do cruzamento Carajás e Primavera)
PB 05	Arroz vermelho tradicional
PB 11	Arroz vermelho tradicional
Primavera	Alto teor de Zn*, precoce (colheita - 115 dias)
Pérola	Cultivado antes de 1950
Canastra	Baixo teor de Fe e de Zn*
Caravera	Originado do cruzamento Carajás e Primavera
Bonança	Alto teor de Fe e baixo de Zn*, precoce (colheita - 118 dias)
Cateto seda	Alto teor de Zn*
Dourado precoce	
IAC 435	Baixo teor de Fe e de Zn*
Pratão	Cultivado antes de 1950
Cateto	Cultivado antes de 1950
Carajás	Precoce
Arroz preto	Arroz preto (introduzido da China) - alto teor de compostos fenólicos
Jaguari	Cultivado antes de 1950
IAC 4440 (irrigado)	
Maravilha	Alto teor de Fe e baixo de Zn*
Conai	Super precoce (colheita - 108 dias)
IAC 4	Cultivado antes de 1960
Bico ganga	
IAC 1246	Cultivado antes de 1960
Beira campo	
IAC 201	Cultivar recente
Gurani	Precoce
IAC 165	
Curinga	Baixo teor de Fe*
IAC 202	Cultivar recente
IAC 47	
Batatais	
IAC 25	
IAC 600 (Preto)	Arroz preto (introduzido da China) - alto teor de compostos fenólicos
Talento	Alto teor de Fe e de Zn*, precoce (colheita - 110 dias)
Caiapó	

*Baseado em Bassinelo et al. (2006) - 1ª Reunião annual do programa HarvestPlus Brasil, análises de grãos de 231 cultivares de arroz de terras altas.

As amostras de planta jovem foram digeridas em micro-ondas com procedimento adaptado do método 3051A (USEPA, 2007a): 0,5 g de massa seca, 3 mL de ácido nítrico concentrado e 2 mL de água oxigenada, seguida por determinação de Cd, Fe e Zn por ICP-AES. Para a análise do Se, adotou-se a digestão aberta pelo método 3050B (USEPA, 1996a), usando 10 mL de HNO_3 conc. e 10 mL de HCl conc., seguida por determinação por ICP-AES com geração de hidretos.

Os grãos sem casca foram digeridos usando-se o método 3050B, citado anteriormente, sendo os teores de Cd, Fe, Se e Zn quantificados por ICP-MS.

Para análise estatística, foi empregado o software Statistical Analysis System (SAS), conforme Pimentel-Gomes e Garcia (2002). Procedeu-se à análise de variância (teste F), teste de comparação de médias (Tukey 5%) para a produção, o teor e o acúmulo dos elementos entres os cultivares, correlações entres os elementos considerando todas os cultivares e correlações entre teores dos elementos em plantas jovens e grãos.

3.3 ESTUDO 3: Influência genotípica e do estado nutricional na absorção e no teor de Cd e ^{70}Zn em grãos de dois cultivares de arroz de terras altas

Diversos fatores afetam a absorção, transporte e redistribuição de metais pesados pelas plantas. Muitos desses fatores são conhecidos, entretanto, devido à complexidade e as diversas interações com o meio, muitos mecanismos ainda não foram elucidados. A variação genotípica quanto ao teor de micronutrientes e metais pesados tóxicos pode estar relacionada ao estado nutricional das plantas nos diversos estádios de crescimento.

Neste estudo, procurou-se avaliar a influência do estado nutricional, quanto à deficiência de P ou Zn, no teor de Cd e ^{70}Zn nos grãos de dois cultivares de arroz de terras altas. As deficiências de P e Zn foram estudadas por serem as que mais frequentemente ocorrem no Brasil e em várias partes do mundo. Os cultivares de arroz de terras altas BRS Talento e BRSMG Relâmpago foram escolhidos com base nos resultados do experimento anterior (item 3.2), por serem contrastantes quanto ao teor de Cd e de micronutrientes, especialmente Fe e Se (Tabelas 39 e 41) nos grãos, bem como apresentarem diferenças quanto à precocidade. O cultivar BRSMG Relâmpago é de ciclo superprecoce (SOARES et al., 2009) e apresentou, de forma geral, maior teor de Cd e de nutrientes nos grãos (Tabela 38 e Figura 6). Em condições de campo, Bassinelo et al. (2006) observaram que o cultivar BRS Talento apresentou alto teor de Fe e de Zn nos grãos, tendo potencial para utilização em programa de melhoramento para biofortificação.

O experimento foi realizado no período de março a novembro de 2008, em condições de câmera de crescimento do Robert W. Holley Center for Agriculture and Health – USDA / Cornell University, Ithaca, NY, EUA. O delineamento experimental adotado foi de blocos ao acaso dispostos em esquema fatorial. Os tratamentos constituíram-se de dois cultivares de arroz de terras altas, três soluções nutritivas (completa, deficiente em P e deficiente em Zn) e três épocas de aplicação de Cd e ^{70}Zn (início, final da fase vegetativa e final da fase reprodutiva). Cada tratamento foi composto por quatro plantas, sendo dois vasos contendo duas plantas, totalizando 36 vasos.

As sementes de arroz foram previamente desinfectadas com solução de hipoclorito de sódio 10%, durante 20 minutos, e deixadas "overnight" imersas em água ultrapura sob aeração constante. Em seguida, as sementes foram colocadas para germinar na ausência de luz em placas de petri contendo filtro umedecido. Quando as plântulas atingiram aproximadamente 3 cm de altura, foram transferidas para copos de polietileno tipo "filme" de superfície inferior telada para permitir a passagem das raízes. Pequenas bolinhas de plástico de 3 mm foram usadas para fixar a plântula dentro de cada copo que, também, serviu para evitar a incidência de luz sobre a solução nutritiva. Os copos com as plantas, dois por vaso, e aerador foram fixados sobre a tampa de cada vaso. As plantas foram mantidas em solução nutritiva com aeração constante até o final do ciclo, nos primeiros 30 dias em vasos de 1 L, sendo posteriormente, transferidas para vasos de 5 L.

As composições das soluções nutritivas (Tabela 9) foram definidas por meio de ensaios teste com plantas de arroz e, também, baseadas nas soluções de Johnson et al. (1957) e Hart et al. (2005). O software GEOCHEM-PC (PARKER; NORVELL; CHANEY, 1995) foi usando para calcular as atividades de Cd e Zn nas soluções (Tabela 10), que continham o quelante HEDTA adicionado em excesso ao micronutrientes em aproximadamente 30 µmol (solução completa). O tampão MÊS, pH 6, foi usado para controlar o pH das soluções nutritivas.

Tabela 9 - Composições das soluções nutritivas usadas para cultivo do arroz de terras altas.

Elemento	Concentração (mg L^{-1})	Concentração (µmol L^{-1})	Fonte
N	210	15000	NH_4NO_3
Ca	160	4000	$Ca(NO_3)_2$ $4H_2O$
K	235	6000	KNO_3
P*	31 (0,16)	1000 (5)	KH_2PO_4
Mg	48	2000	$MgSO_4$ $7H_2O$
S	64	2000	$MgSO_4$ $7H_2O$
MES	390	2000	$C_6H_{13}NO_4S$ H_2O
Si	2,81	100	K_2SiO_3
Cl	1,77	50	KCl
B	0,14	12,5	H_3BO_3
Mn	0,11	2,0	$MnSO_4$ H_2O
Cu	0,06	1,0	$CuSO_4$ $5H_2O$
Mo	0,014	0,15	H_2MoO_4
Ni	0,006	0,10	$NiSO_4$ $6H_2O$
Co	0,006	0,10	$CoSO_4$ $7H_2O$
Se	0,008	0,10	Na_2SeO_3 $5H_2O$
Cd	0,056	0,50	$3CdSO_4$ $8H_2O$
Zn-HEDTA*	0,65 (0,10)	10 (1,6)	$ZnSO_4$ $7H_2O$
Fe-HEDTA	8,38	150	H_3HEDTA
HEDTA	53,4	194	H_3HEDTA

*Valores entre parênteses referem-se às concentrações de P e Zn nas soluções com deficiência dos mesmos.

Tabela 10 - Atividade dos íons Zn^{2+} e Cd^{2+} nas soluções nutritivas usadas para cultivo do arroz de terras altas.

Solução nutritiva	Concentração Zn (µmol L^{-1})	Concentração Cd (µmol L^{-1})	Atividade Zn (pmol L^{-1})*	Atividade Cd (pmol L^{-1})
Completa	10	0,5	258,8	32,5
Deficiente em Zn	1,6	0,5	46,6	32,5
Deficiente em P	10	0,5	266,5	33,5

*pmol = picomol.

A solução nutritiva deficiente em P foi estabelecida visando induzir deficiência severa do elemento às plantas de arroz, enquanto que a solução deficiente em Zn visou apenas provocar deficiência moderada do mesmo. Para não comprometer o crescimento inicial das plantas devido ao efeito da carência de Zn no sistema enzimático e de estruturação de membranas, os tratamentos submetidos à deficiência de Zn foram iniciados após 30 dias de cultivo usando solução completa. Todas as soluções nutritivas foram preparadas usando água ultrapura.

Visando quantificar o acúmulo total de Cd e Zn nos grãos em função de cada fase de desenvolvimento, os tratamentos receberam Cd e ^{70}Zn em diferentes estádios (Figura 1). O isótopo ^{70}Zn (0,62 % de abundância natural), foi fornecido na proporção de 11% em relação ao Zn total, por meio de uma solução estoque preparada a partir de um sal enriquecido a 99,533% de átomos de ^{70}Zn.

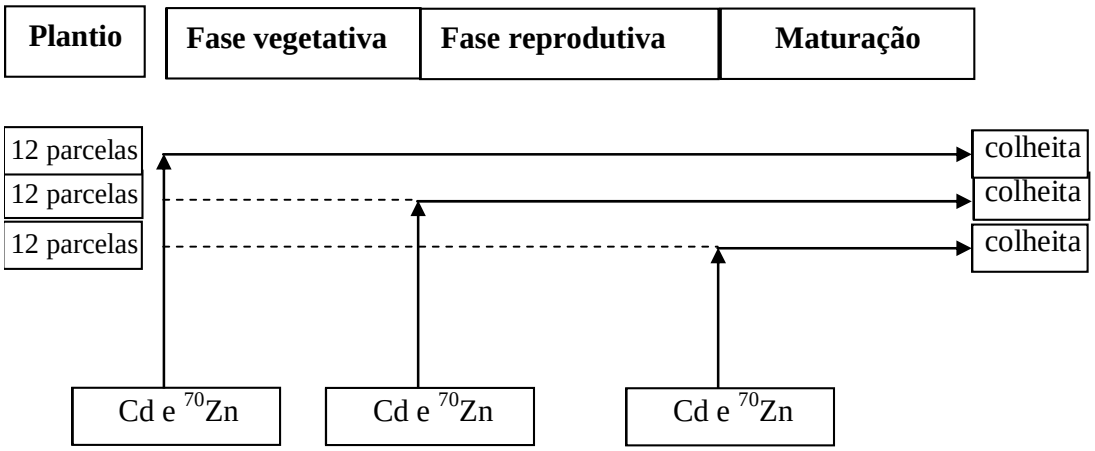

Figura 1. Esquema das épocas de aplicação de Cd e ^{70}Zn aos tratamentos para estudo do acúmulo total de Cd e Zn nos grãos de arroz, em função de cada fase de desenvolvimento.

As trocas de solução nutritiva foram realizadas por meio de monitoramento do pH e da redução da concentração dos nutrientes em amostras coletadas e analisadas semanalmente em ICP-MS. A água evapotranspirada foi reposta diariamente. Devido à baixa concentração de P nos tratamentos de deficiência deste nutriente, o P foi reposto frequentemente.

As plantas foram mantidas em câmara de crescimento sob condições controladas. O fotoperíodo foi regulado para 12 horas de luz, a 28ºC, e 12 horas noite, a 23ºC, sendo a intensidade luminosa de 500 mmol m^{-2} s^{-1}. A umidade interna foi de 50-60%.

O cultivar BRSMG Relâmpago se desenvolveu normalmente conforme cultivado em campo, iniciou o florescimento aos 55 dias e a colheita dos grãos aconteceu aos 105 dias, com pequeno aumento do ciclo nos tratamentos com deficiência de P. O comportamento do cultivar BRS Talento foi diferente do que ocorre em campo, a fase vegetativa foi prolongada, com o início do florescimento ocorrendo aos 95 dias após o transplante e a colheita aos 150 - 175 dias. Da mesma forma que o cultivar Relâmpago, as plantas deficientes em P tiveram ciclo maior.

Ao final do ciclo, as plantas foram colhidas e separadas em raiz, parte aérea e grãos com casca. As amostras foram secas em estufa a 65.ºC, mensurada a massa seca de cada parte e os grãos armazenados para análise química.

Depois de descascados, os grãos foram digeridos por solução nítrico-perclórica (0,5 g massa seca, 3 mL de HNO_3 concentrado/purificado e 1 mL de $HClO_4$ concentrado), sendo os teores totais de Cd, P e Zn quantificados ICP-AES e o ^{70}Zn foi determinado em ICP-MS.

O conteúdo de ^{70}Zn dos grãos provenientes de cada fase de desenvolvimento foi calculado pela equação abaixo e pela subtração das quantias acumuladas na fase reprodutiva e de maturação pelo total acumulado no ciclo todo:

$$^{70}ZnPPS = \frac{a-c}{b-c} \cdot Zn_{total}$$

Em que:

$^{70}ZnPPS$ = Zn na planta proveniente da fonte marcada, (µg por planta);

a = Abundância de ^{70}Zn (% em átomos) na planta;

b = Abundância de ^{70}Zn-solução nutritiva (11% em átomos de ^{70}Zn);

c = Abundância natural de ^{70}Zn (0,62% em átomos de ^{70}Zn);

Zn_{total} = Conteúdo de Zn total na planta (µg por planta).

A quantidade de Cd acumulada em cada fase de desenvolvimento foi calculada diretamente pela subtração das quantidades acumuladas na fase reprodutiva e de maturação pelo total acumulado no ciclo todo.

Procedeu-se à análise de variância (teste F) e teste de comparação de médias (Tukey 5%) para produção, teores e acúmulo de Cd e ^{70}Zn entres os cultivares e entre os tratamentos nas diferentes épocas. Para análise estatística usou-se o software Statistical Analysis System (SAS), conforme Pimentel-Gomes e Garcia (2002).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ESTUDO 1: Análises químicas e avaliação agronômica de fontes de fósforo e de micronutrientes obtidas de subprodutos industriais

4.1.1 Avaliação de métodos de digestão e de quantificação de micronutrientes e metais pesados tóxicos em fertilizantes

Os resultados da avaliação dos métodos de extração usando a amostra certificada NIST encontram-se na Tabela 11. Observou-se que as digestões pelo método 1 (HNO_3 + HCl) e pelo método 2 (HNO_3 + HF), em sistema micro-ondas, produziram resultados semelhantes, à exceção para Al, Cr, Co e Hg, cujos resultados dos três primeiros elementos foram ligeiramente maiores aos do Método 2. O resultado de Hg apresentou comportamento contrário, o teor foi maior no Método 1.

As extrações pelo método 3 (HNO_3 + HCl) e pelo Método 4 (água régia + água), em sistema aberto (bloco digestor), resultaram em valores ligeiramente inferiores daqueles da extração em sistema micro-ondas. Os menores valores foram observados na extração pelo método 4. Por outro lado, o método 4, desenvolvido para análise de mercúrio foi o que produziu razoáveis valores de Hg, teores 20% maiores que o certificado para este elemento.

Vale destacar, que no presente trabalho, as quantificações de todos os elementos foram realizadas de modo quase simutâneo (por ICP-MS) nos mesmos extratos, referentes à cada método. Já os valores certificados e de referência da amostra NIST foram estabelecidos individualmente para cada elemento, quanto à extração e à quantificação que melhor se adequou a cada caso (MACKEY et al., 2007).

De maneira geral, os métodos de extração utilizando sistema micro-ondas foram mais eficientes para análise dos metais pesados em fertilizantes. Desta forma, tem-se uma maior segurança da real quantidade de metais pesados adicionada ao solo via fertilizantes. Entretanto, devido à concentração de metais pesados nos fertilizantes serem geralmente acima de 1 mg kg^{-1} para maioria dos contaminantes, se adotado o uso de reagentes e água de alta pureza, pode-se usar também métodos de extração em sistema aberto.

Tabela 11 - Teores de nutrientes e contaminantes certificados e obtidos por quatro métodos de abertura utilizando-se a amostra de fertilizante certificada NIST SRM 695, com quantificação em ICP-MS[(1)].

Elemento	Certificado	Método 1	Método 2	Método 3	Método 4	DMS
Na (g kg^{-1})	4,05±0,07	3,13±0,08	3,26±0,09	3,11±0,14	2,90±0,04	0,24
K (g kg^{-1})	116,5±1,3	116,5±1,2	115,7±2,0	107,3±5,5	102,6±1,9	8,14
Fe (g kg^{-1})	39,9±0,8	40,3±1,3	39,4±0,7	36,6±2,0	30,0±0,5	3,35
Mn (g kg^{-1})	3,05±0,05	2,96±0,01	2,92±0,01	2,75±0,12	2,46±0,04	0,17
Zn (g kg^{-1})	3,25±0,05	2,94±0,04	3,01±0,02	2,77±0,09	2,54±0,04	0,14
Al (g kg^{-1})[(2)]	6,1±0,3	4,7±0,0	5,2±0,00	3,8±0,2	3,4±0,0	0,27
V (mg kg^{-1})	122±3	125±3	126±2	117±5	111±2	8,7
Cr (mg kg^{-1})	244±6	218±7	230±5	205±9	172±2	15,9
Co (mg kg^{-1})	65,3±2,4	53,5±2,0	62,9±0,2	58,1±3,2	27,3±0,2	5,0
Ni (mg kg^{-1})	135±2	128±4	131±3	121±5	107±1	8,7
Cu (mg kg^{-1})	1225±9	998±24	1016±17	971±35	912±16	63,7
Hg (mg kg^{-1})	1,96±0,04	4,14±0,49	2,79±0,16	4,19±0,56	2,46±0,18	1,0
As (mg kg^{-1})	200±5	220±3	221±3	206±10	171±5	15,7
Mo (mg kg^{-1})	20±0,3	15,9±0,3	16,2±0,1	14,8±0,6	13,0±0,1	0,9
Cd (mg kg^{-1})	16,9±0,2	16,7±0,3	16,8±0,2	16,0±0,7	14,3±0,5	1,2
Pb (mg kg^{-1})	273±17	274±4	276±2	259±9	241±5	15,0
Se (mg kg^{-1})[(2)]	2,10±0,1	2,1±0,1	2,1±0,0	2,1±0,1	1,6±0,0	0,15

[(1)]NIST: National Institute of Standards and Technology, amostra de referência SRM 695 - Trace Elements in Multi-Nutrient Fertilizer; Método 1 - Extração em sistema micro-ondas usando HNO_3 + HCl concentrados; Método 2 - Extração em sistema micro-ondas usando HNO_3 + HF concentrados; Método 3 - Extração em bloco digestor usando HNO_3 + HCl concentrados; Método 4 - Extração em bloco digestor usando água régia diluída; Valores médios de três repetições; DMS (diferença mínima significativa) para Tukey ao nível de 5%; [(2)]valor de referência.

Há poucos trabalhos comparando-se métodos de extração de metais pesados em fertilizantes. No Brasil, Campos et al. (2005) determinaram os teores totais de metais pesados em fosfatos naturais, termofosfato e superfosfato triplo. Usaram os métodos de extração: EMBRAPA, HCl 2 mol L^{-1}, sistema aberto com fervura, e USEPA 3050B e 3051A. Foram encontradas diferenças significativas nos teores de Cd, Cr e Pb devido aos métodos de extração.

Em estudo semelhante, Bizarro, Meurer e Tatsch (2008), comparando dois métodos de extração: nítrico-perclórico e USEPA 3050B, para adubos fosfatados, verificaram que o método de extração nítrico-perclórico teve os resultados em até 18% superiores aos do método USEPA 3050B. Nenhum dos dois trabalhos citados anteriormente apresentou resultados de comparação com amostra certificada, não sendo possível, saber qual método é mais adequado.

A definição de metodologias confiáveis de extração e a quantificação metais pesados em fertilizantes é imprescindível para os estudos de transferência desses elementos no sistema solo-planta-produto agrícola, uma vez que o estabelecimento de limites máximos de contaminantes nos fertilizantes deve levar em consideração quanto o fertilizante tem destes elementos, quanto será disponibilizado para a planta e quanto será acumulado na parte comestível da planta.

São raros os trabalhos comparando-se métodos de quantificação de metais pesados tóxicos em fertilizantes (NETO et al., 1995; KANE; HALL JUNIOR, 2006). Em função da grande variação nos teores reportados na literatura nacional e em teores permissíveis nas legislações sobre contaminantes de vários países (MALAVOLTA; MORAES, 2006), e ainda considerando as discussões para o estabelecimento de métodos oficiais de análise de contaminantes em fertilizantes no Brasil, foram comparados a determinação de metais pesados por ICP-AES e por ICP-MS (Tabelas 2 e 3, item 3.1.1.2).

Nas fontes fosfatadas, os teores dos metais quantificados por ICP-AES foram ligeiramente inferiores aos determinados por ICP-MS (Tabelas 2 e 3). Nas amostras de micronutrientes, os teores dos metais quantificados por ICP-AES também foram ligeiramente inferiores aos determinados por ICP-MS. Todavia, para o Pb, os teores foram muito variáveis entre os métodos, sendo os maiores valores (>2000 mg kg^{-1}) obtidos por ICP-AES. Os valores determinados por ICP-MS apresentaram desvios padrão e coeficientes de variação menores entre subamostras de fertilizantes (dados não apresentados).

Os resultados obtidos no presente trabalho concordam com os apresentados por Kane e Hall Junior (2006), que também observaram pequenas diferenças entre os teores de metais pesados tóxicos determinados por ICP-AES e ICP-MS. Ambos os métodos podem ser usados com razoável confiabilidade na determinação de contaminantes em fertilizantes, todavia, para valores de contaminantes >2000 mg kg^{-1} podem ocorrer grandes variações nas determinações.

Os teores de metais pesados nos fertilizantes são bastante variáveis, sendo em geral, maiores nas fontes de micronutrientes (Tabelas 1, 2 e 3). Considerando os valores fixados pela legislação brasileira que limita as concentrações máximas de metais pesados tóxicos em

fertilizantes minerais, observa-se que o subproduto fonte de Zn utilizado neste estudo não poderia ser comercializado como fertilizante (BRASIL, 2006), pois contem mais de 10.000 mg kg^{-1} de Pb na massa total.

Conforme levantamento feito por Malavolta e Moraes (2006), os teores máximos permissíveis de contaminantes apresentados pelas legislações de vários países são muito amplos (Tabela 12). Para o cádmio, em fontes fosfatadas, os valores variam desde 8 mg kg^{-1} a até 300 mg kg^{-1} na massa total do fertilizante. O chumbo, em fontes de micronutrientes, pode variar desde 2.000 mg kg^{-1} na massa total a até 750 mg kg^{-1} por ponto percentual de micronutriente contido no fertilizante. De acordo com tais legislações, algumas das fontes usadas neste estudo não poderiam ser comercializadas em alguns países (Tabela 12) e poderiam em outros, o que poderá gerar controversas delicadas (barreiras comerciais) no comércio agrícola internacional.

Tabela 12 - Panorama geral dos teores máximos de metais pesados tóxicos permitidos em fertilizantes de diversos países[1].

País ou região	As	Cd	Pb	Hg
	mg kg^{-1}			
OECD – Fosfatados				
Suíça, Finlândia	-	50	-	-
Suécia, Noruega	-	100	-	-
Dinamarca	-	110	-	-
Bélgica, Alemanha	-	210	-	-
Áustria	-	275	-	-
Estados Unidos – Sugestão AAPFCO				
Fosfatados[2]	13	10	61	1
Com micronutrientes[3]	112	83	463	6
Environmental Protection Agency – USA				
Estado do Texas – Diversos	41	39	300	17
Vários				
91% da rocha fosfática[4]	71	165	66	0,29
Canadá – Diversos	75	20	500	-
Califórnia				
Fosfatados[2]	2	4	20	-
Com micronutrientes[3]	13	12	140	-
Washington				
Fosfatados[2]	13	10	61	1
Com micronutrientes[3]	112	83	463	6
Brasil - Proposto				
Fosfatados[2]		0,75	37,5	-
Exclusivos de micronutrientes[3]		15; 150[5]	750; 7500[5]	-
Demais fertilizantes minerais		20	100	-
Brasil - Publicado				
Fosfatados[2]	2	4	20	0,05
Exclusivos de micronutrientes[3]	500/4000[5]	15; 450[5]	750; 10000[5]	10
Demais fertilizantes minerais	250	57	1000	-
Austrália				
Fosfatados	-	300	-	5
Não fosfatado	-	10	-	5
Macronutrientes ou condicionador de solo	-	-	100	5
Macronutrientes + micros	-	-	500	5
Micronutrientes	-	50	2000	5
China – Diversos	50	8	100	5
Japão – Fosfatados	50	8	100	5

[1] Copilado por Malavolta e Moraes (2006); [2] mg por 1% de P_2O_5; [3] mg por 1% de micronutriente; [4] mg/kg de P; [5] Valor máximo na massa total; OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development; AAPFCO: American Association of Plant Food Control Officials; –, valor não estabelecido.

4.1.2 Respostas das culturas do arroz de terras altas e de alface a fontes de fósforo e de micronutrientes obtidas de subprodutos industriais

Os valores estimados de taxas de adição de metais pesados tóxicos e de resposta das culturas do arroz de terras altas e de alface as fontes de fertilizantes serão apresentados e discutidos considerando os resultados dos dois experimentos.

4.1.2.1 Taxas de adições máximas de micronutrientes e metais pesados tóxicos

As maiores doses aplicadas de fertilizantes forneceram o equivalente a 800 kg ha^{-1} de P, 80 kg ha^{-1} de Zn, 8 kg ha^{-1} de Cu e 106 g ha^{-1} de Ni. Para os metais pesados tóxicos, as quantidades máximas adicionadas foram equivalentes a 2,5 kg ha^{-1} de Pb, 487 g ha^{-1} de Cr e 218 g ha^{-1} de Cd (Tabela 13).

Tabela 13 - Estimativa das taxas de adições máximas, por hectare, de micronutrientes e metais pesados tóxicos pelos fertilizantes avaliados no primeiro e segundo experimento[(1)].

Fontes	P	Cu	Zn	Cd	Cr	Ni	Pb
	kg ha^{-1}			g ha^{-1}			
			Primeiro experimento[(2)]				
Cobre	-	8	-	0,5	5,9	5,7	36,8
Zinco	-	-	16	12,5	0,2	5,9	355,2
			Segundo experimento[(3)]				
Fósforo	800	-	-	218,2	486,6	106,2	234,6
Zinco	-	-	80	29,0	2,2	27,6	2532,8

[(1)]As taxas de adições foram calculadas considerando-se os maiores valores de doses dos fertilizantes aplicados (Tabelas 4 e 7), e um volume de solo de 2000 m^3 por hectare; [(2)]Item 3.1.2 - resposta das culturas de arroz de terras e de alface a fontes de micronutrientes obtidas de subprodutos industriais; [(3)]Item 3.1.3 - resposta do arroz de terras altas a fontes de fósforo e de zinco com teores variáveis de metais pesados tóxicos; –, valor não estabelecido.

É importante destacar que as adições máximas de Cd, pelas fontes fosfatadas e de Pb, pelas fontes de zinco, no segundo experimento do presente trabalho, ultrapassam os valores máximos permissíveis de adição de metais pesados tóxicos aos solos em vários países, a exceção do Estado do Texas - EUA (Tabela 14).

Tabela 14 - Valores máximos permissíveis de adição de metais pesados tóxicos no solo pela aplicação de fertilizantes, adimitidos pelas legislações de alguns países[(1)].

País ou região	As	Ba	Cd	Cr	Pb	Hg
	g ha^{-1} ano^{-1}					
Canadá	333	-	89	-	2222	22
Áustria	-	-	5,0	-	-	-
Finlândia	-	-	3,0	-	-	-
Alemanha [(2)]	-	-	16,7	-	-	-
Suíça	-	-	0,75	-	-	-
Bélgica	-	-	150	-	-	-
EUA – Estado do Texas	415	-	392	-	3004	168
EUA – Washington	333	-	89	-	2222	22

[(1)] Copilado por Malavolta e Moraes (2006); [(2)] Período de três anos; EUA: Estados Unidos da América; –, valor não estabelecido.

4.1.2.2 Avaliação agronômica de fontes de nutrientes do primeiro e segundo experimento

São apresentados e discutidos neste item os resultados mais importantes relacionados na seguinte ordem: produção de massa seca de alface e de grãos de arroz, teores de fósforo e de micronutrientes no solo, estado nutricional das plantas e qualidade do produto agrícola em termos de aumento de micronutrientes.

Os resultados da análise de variância da produção de grãos e massa seca do primeiro experimento mostraram que não houve resposta das culturas de arroz de terras altas e de alface à fertilização com fontes de Cu e Zn (Tabelas 15 e 16), embora os teores desses elementos no solo tenham aumentado (Tabela 17). Os resultados são coerentes, uma vez que os teores de Cu - 0,6 mg dm^{-3} e de Zn - 1,9 mg dm^{-3} no solo original situavam-se na faixa considerada média e alta, respectivamente, pelos órgãos oficiais de recomendação de adubação (RAIJ et al., 1997; RIBEIRO; GUIMARÃES; ALVAREZ V., 1999; SOUSA; LOBATO, 2002). Portanto, com pouca probabilidade de obtenção de aumento de produção pela prática da adubação.

Tabela 15 - Produção de massa seca e grãos por plantas de arroz de terras altas, cultivar IAC 165, fertilizadas com fontes de micronutrientes. Primeiro experimento.

Tratamentos[1]	Raiz	Parte aérea	Raquis	Casca	Grãos	Total
	g/vaso					
Testemunha	5,4	14,2	0,38	1,9	4,8	26,6
Subprod. Cu 2	5,7	17,4	0,45	1,7	3,1	28,4
Subprod. Cu 4	3,4	13,6	0,32	1,4	3,0	21,8
Fertilizante Cu 3	3,0	11,7	0,33	1,4	2,8	19,3
Mistura p.a. Cu 3	3,1	15,2	0,37	1,7	2,4	22,8
Subprod. Zn 4	4,1	15,6	0,35	1,8	2,4	24,2
Subprod. Zn 8	3,8	13,7	0,38	1,4	2,8	22,0
Fertilizante Zn 6	7,1	14,3	0,39	1,6	3,9	27,2
Mistura p.a. Zn 6	5,4	14,2	0,38	1,9	4,8	26,6

[1] A ausência de letras indica que não houve diferença pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade; Os números à frente de cada fonte referem-se às doses de Cu e Zn adicionadas.

Tabela 16 - Produção de massa seca por plantas de alface, cultivar Elisa, fertilizadas com fontes de micronutrientes (efeito residual). Primeiro experimento.

Tratamentos[1]	Raiz	Caule	Folha	Parte aérea	Total
	g/vaso				
Testemunha	0,21	1,4	4,9	6,3	6,5
Subprod. Cu 2	0,23	1,6	5,0	6,6	6,8
Subprod. Cu 4	0,19	1,1	4,6	5,7	5,9
Fertilizante Cu 3	0,27	1,5	5,1	6,6	6,8
Mistura p.a. Cu 3	0,28	1,6	5,1	6,8	7,0
Subprod. Zn 4	0,16	1,1	4,3	5,4	5,5
Subprod. Zn 8	0,20	1,2	4,5	5,8	6,0
Fertilizante Zn 6	0,13	1,1	4,3	5,5	5,6
Mistura p.a. Zn 6	0,19	1,1	4,3	5,5	5,7

[1] A ausência de letras indica que não houve diferença pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade; Os números à frente de cada fonte referem-se às doses de Cu e Zn adicionadas.

Tabela 17 - Teores de micronutrientes e metais pesados tóxicos nos solos após cultivo do arroz fertilizado com fontes de micronutrientes, extraídos por Mehlich 1 e quantificados em ICP-AES. Primeiro experimento.

Tratamentos[(1)]	Cd	Cr	Pb	Ni	Cu	Zn
	mg dm^{-3}					
Testemunha	0,2	0,2	2,4	0,1	2,2ab	1,8b
Subprod. Cu 2	0,2	0,1	2,0	0,1	2,6ab	1,7b
Subprod. Cu 4	0,2	0,2	2,4	0,1	3,5a	1,3b
Fertilizante Cu 3	0,2	0,2	2,3	0,2	3,2a	1,4b
Mistura p.a. Cu 3	0,1	0,2	1,8	0,1	3,7a	1,2b
Subprod. Zn 4	0,1	0,2	2,1	0,1	1,2b	4,2a
Subprod. Zn 8	0,1	0,1	2,2	0,2	1,1b	6,0a
Fertilizante Zn 6	0,1	0,2	2,0	0,1	1,1b	4,2a
Mistura p.a. Zn 6	0,2	0,2	2,4	0,1	2,1ab	5,3a

[(1)] Médias com letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade; Os números à frente de cada fonte referem-se às doses de Cu e Zn adicionadas.

Para o segundo experimento, houve aumento da produção de grãos de arroz devido às doses e as fontes de fósforo nos dois solos estudados (Tabela 18). Por outro lado, quanto às fontes de zinco, apenas no solo Latossolo Vermelho (LV) ocorreu incrementos na produção de grãos devido a fertilização (Tabela 19). Os teores de P nos dois solos originais situavam-se na faixa considerada muito baixa e no caso do Zn, somente o Latossolo Vermelho-Amarelo era considerado deficiente em Zn (Tabela 6). Todavia, foi no LV que o arroz respondeu a aplicação de Zn com aumento no rendimento de grãos.

De modo geral, tanto o superfosfato simples quanto a hidroxiapatita, na dose de 50 mg de P dm^{-3}, foram capazes de incrementar os rendimentos de grãos e os teores de P nos solos para faixa de 16-40 mg dm^{-3}, considerada média (RAIJ et al., 1997). Quanto às fontes de P, independentemente da fonte de zinco, a menor dose, de 5 mg dm^{-3}, foi suficiente para se obter o mais alto rendimento de grãos e aumentar o teor no solo para valores considerados altos (RAIJ et al., 1997). Os teores de Zn no solo, nas doses máximas adicionadas, não alcançaram nível crítico tóxico para arroz de 35 mg kg^{-1} (FAGERIA, 2000).

Tabela 18 - Produção de grãos, estado nutricional em relação a fósforo e teores de P, Zn e Fe em grãos de arroz de terras altas cultivados em dois Latossolos fertilizados com fontes de fósforo. Segundo experimento.

Tratamentos	Fósforo			Produção de grãos	Teores nos grãos		
	Dose	Solo[(1)]	Foliar[(2)]		P	Zn	Fe
	— mg dm^{-3} —		g kg^{-1}	g/vaso	g kg^{-1}	— mg kg^{-1} —	
			Latossolo Vermelho-Amarelo				
Testemunha	0	2	-	0,5	1,9	35	12
Rocha fosfática Togo	50	16	0,6	14,0	1,4	22	10
	100	32	1,0	17,3	1,6	22	12
	200	57	1,5	20,0	1,7	25	14
	400	93	2,1	20,1	2,1	27	13
SFS Togo	50	21	0,8	21,2	1,9	30	13
	100	39	1,2	24,0	2,9	31	12
	200	74	1,8	25,7	3,5	29	11
	400	195	3,7	22,9	4,0	30	12
Mistura pró-análise P	50	26	0,9	21,4	1,8	25	10
	100	77	1,1	24,0	2,2	26	11
	200	124	1,2	24,4	2,9	27	12
	400	281	2,7	23,8	3,4	27	12
DMS (Tukey 5%)	-	*7*	*0,5*	*5,2*	*0,5*	*5*	*3*
			Latossolo Vermelho				
Testemunha	0	6	0,5	7,6	1,2	20	7
Rocha fosfática Togo	50	11	0,8	18,5	1,4	21	7
	100	16	1,0	21,7	1,4	22	8
	200	26	1,7	23,9	1,7	23	11
	400	43	2,2	24,4	1,9	25	11
SFS Togo	50	16	0,9	26,1	1,8	26	11
	100	26	1,0	23,2	2,3	27	13
	200	71	1,9	24,5	3,4	30	12
	400	159	3,2	25,2	3,7	26	10
Mistura pró-análise P	50	22	0,7	23,7	1,6	23	9
	100	72	0,8	25,2	1,8	22	9
	200	99	1,0	25,5	2,5	26	11
	400	249	2,1	27,4	3,1	25	11
DMS (Tukey 5%)	-	*6*	*0,6*	*4,2*	*0,4*	*4*	*3*
			Correlações				
P Solo disponível	0,80***	-	0,72***	0,41***	0,75***	0,18^{NS}	0,24**
P Foliar	0,88***	-	-	0,33***	0,74***	0,39***	0,30**
Produção de grãos	0,46***	-	-	-	0,44***	-0,09^{NS}	0,11^{NS}
Teor de P nos grãos	0,66***	-	-	-	-	0 ,56***	0,38***

[(1)]Fósforo no solo disponível, extraído com resina de troca iônica; [(2)]Teor de fósforo nas folhas diagnóstico; DMS: diferença mínima significativa; ***; **; * e ns: significativo a 1%, 5%, 10% e não significativo, respectivamente; Médias de três repetições.

Tabela 19 - Produção de grãos, estado nutricional em relação a zinco e teores de P, Zn e Fe em grãos de arroz de terras altas cultivados em dois Latossolos fertilizados com fontes de zinco. Segundo experimento.

Tratamentos	Zinco			Produção	Teores nos grãos		
	Dose	Solo[(1)]	Foliar[(2)]	de grãos	P	Zn	Fe
	— mg dm^{-3} —		mg kg^{-1}	g/vaso	g kg^{-1}	— mg kg^{-1} —	
			Latossolo Vermelho-Amarelo				
Testemunha	0	0,5	22	22,0	3,5	23	11
Subproduto Zn	5	1,9	37	23,7	3,5	33	13
	10	3,8	55	24,1	3,6	34	11
	20	6,8	120	24,7	3,6	40	12
	40	15,0	168	25,2	3,4	42	12
Fertilizante Zn	5	1,6	47	23,6	3,4	31	11
	10	3,9	69	24,5	3,4	35	12
	20	6,3	145	25,8	3,3	36	12
	40	15,2	164	25,3	3,4	39	12
Mistura pró-análise Zn	5	2,6	33	24,8	3,4	31	11
	10	3,8	54	24,8	3,7	37	11
	20	9,5	128	25,9	3,5	37	12
	40	22,2	174	26,0	3,3	40	11
DMS (Tukey 5%)	-	*1,8*	*8*	*5,9*	*0,7*	*7*	*2*
			Latossolo Vermelho				
Testemunha	0	0,6	23	23,4	3,1	20	10
Subproduto Zn	5	2,2	38	29,2	2,9	27	11
	10	3,7	55	27,0	3,2	29	10
	20	7,5	111	26,2	3,0	30	11
	40	16,7	154	26,0	3,1	35	10
Fertilizante Zn	5	2,5	37	28,1	3,3	29	11
	10	4,1	65	26,3	3,2	31	11
	20	8,4	124	27,4	3,2	34	12
	40	15,9	162	26,3	3,2	36	10
Mistura pró-análise Zn	5	2,6	38	28,7	3,1	27	10
	10	4,6	53	25,5	2,7	29	9
	20	9,4	113	25,4	2,9	31	10
	40	20,7	161	25,0	3,3	36	11
DMS (Tukey 5%)	-	*3,8*	*9*	*3,9*	*0,8*	*7*	*2*
			Correlações				
Zn Solo disponível	0,96***	-	0,91***	0,11^{NS}	-0,01^{NS}	0,61***	-0,01^{NS}
Zn Foliar	0,96***	-	-	0,10^{NS}	0,05^{NS}	0,71***	0,14^{NS}
Produção de grãos	0,04^{NS}	-	-	-	-0,25**	0,01^{NS}	-0,12^{NS}
Teor de Zn nos grãos	0,68***	-	-	-	0,53**	-	0,52***

[(1)]Zinco no solo disponível, extraído com DTPA; [(2)]Teor de zinco nas folhas diagnóstico; DMS: diferença mínima significativa; ***; **; * e ns: significativo a 1%, 5%, 10% e não significativo, respectivamente; Médias de três repetições.

No primeiro experimento, teve-se como objetivo, obter informações sobre a adição de metais pesados tóxicos via fertilizantes quando a adubação com micronutrientes eram próximas as recomendadas para campo. Desta forma, o objetivo principal foi a avaliação dos teores de micronutrientes e metais pesados tóxicos no solo e na parte comestível das plantas, neste caso, os grãos do arroz e as folhas da alface, em resposta as fontes de Cu e Zn. Portanto, não foi realizado o diagnóstico do estado nutricional do arroz, todavia, para a cultura da alface isso foi possível, devido à parte comestível ser as folhas.

Para alface (Tabela 20), houve resposta à aplicação das fontes de Zn quanto aos teores foliares. Segundo Trani e Raij (1996), os teores foliares adequados de zinco para alface, situam-se entre 30 e 100 mg kg^{-1}. Apenas os tratamentos com fontes de Zn tiveram teores adequados de zinco na folha da alface. Os teores de cobre em todos os tratamentos estavam ligeiramente abaixo do nível crítico (7-20 mg kg^{-1}).

Tabela 20 - Teores de micronutrientes e metais pesados tóxicos na folha da alface cultivada em solo fertilizado com fontes de micronutrientes, digeridos em micro-ondas e quantificação em ICP-MS. Primeiro experimento.

Tratamentos[(1)]	Cd	Cr	Pb	Ni	Cu	Zn
	mg kg^{-1}					
Testemunha	2,9	0,7	0,7	0,7ab	6b	17b
Subprod. Cu 2	1,3	0,4	0,7	0,7ab	7ab	18b
Subprod. Cu 4	2,2	0,6	0,6	0,8ab	8a	17b
Fertilizante Cu 3	1,9	0,7	0,8	1,0a	7ab	18b
Mistura p.a. Cu 3	1,8	0,3	0,6	0,6b	7ab	16b
Subprod. Zn 4	2,0	0,5	0,7	0,7ab	6b	32a
Subprod. Zn 8	2,2	0,5	0,7	0,6b	7ab	32a
Fertilizante Zn 6	2,2	0,4	0,6	0,8ab	7ab	32a
Mistura p.a. Zn 6	2,0	0,4	0,6	0,6b	7ab	34a

[(1)]Médias com letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade; Os números a frente de cada fonte referem-se as doses de Cu e Zn adicionadas.

Quanto ao estado nutricional das plantas de arroz do segundo experimento, em relação ao P, em ambos os solos, teores adequados foram obtidos nas doses de 200 mg kg^{-1} de P para o superfosfato simples e de 400 mg kg^{-1} para a Rocha fosfática e Hidroxiapatita. Nesses tratamentos, os teores foliares situaram-se entre 1,8 e 3,7 g kg^{-1}, concordando com a faixa adequada e/ou crítica de 1,8-3,0 g kg^{-1} e 1,5-4,8 g kg^{-1}, estabelecidas por Cantarella, Raij e Camargo (1997) e Fageria (1999), para teores foliares e na parte aérea, respectivamente.

Embora os teores de Zn nos solos originais fossem relativamente baixos, houve pequenos aumentos de produção de grãos devido à fertilização com esse elemento. Os resultados de resposta ao Zn são condizentes com os teores foliares encontrados nos tratamentos testemunha, de 22 e 23 mg kg^{-1} de Zn no Latosso Vermelho-Amarelo e Latossolo Vermelho, respectivamente (Tabela 19). Segundo Cantarella, Raij e Camargo (1997), a faixa de teores foliares de Zn adequados é de 10-50 mg kg^{-1}. Fageria (1999, 2009) sugere que podem ser considerados adequados e tóxicos, os teores na parte aérea do arroz de 20-150 mg kg^{-1} e de > 500 mg kg^{-1}. Observou-se que não houve toxidez de Zn para as plantas de arroz, embora tenha sido aplicadas altas doses de Zn, em alguns casos o equivalente a 20 vezes a quantidade normalmente recomendada para culturas anuais (4 kg ha^{-1}).

Com relação à qualidade do produto agrícola, em termos de aumento dos teores de micronutrientes, observou-se que no primeiro experimento, o teor de Zn foi duas vezes maior nas folhas da alface fertilizadas com fontes de Zn (Tabela 20). Para os grãos de arroz, houve aumentos de 20-30% do Zn nos grãos. Entretanto, comparativo ao Zn, não houve aumento expressivo do Cu nas folhas de alface e grãos de arroz (Tabela 21).

No segundo experimento, a aplicação de P e Zn aumentou significativamente os teores dos respectivos nutrientes nos grãos de arroz (Tabela 18 e 19). Os teores de P nos grãos dos tratamentos que receberam fontes fosfatadas, nas maiores doses, foram incrementados em 2 ou 3 vezes em relação à testemunha. Quanto às fontes de Zn, os aumentos máximos nos teores de Zn nos grãos variaram de 1,5 a 2 vezes. Em ambos os casos, tanto as doses de P quanto às de Zn pouco alteraram os teores de Fe nos grãos, a exceção dos tratamentos de P com a rocha fosfática, em LV, nos quais os teores de Fe foram reduzidos (Tabela 18).

Ao analisar amostras de arroz integral comercializadas em diversas regiões do Brasil, Heinemann et al. (2005) relatam valores médios de 6 mg kg^{-1} de ferro, 20 mg kg^{-1} de zinco e 0,6 g kg^{-1} de fósforo. Os teores de Fe e Zn encontrados nos grãos do presente estudo (Tabelas 18 e 19), são maiores que os relatados anteriormente por Heinemann et al. (2005).

Os resultados de análise de Zn nos grãos de arroz (Tabela 19), em respostas às fontes de Zn, mostram a importância da fertilização com zinco para aumentar a qualidade do produto agrícola e, consequentemente, beneficiar a saúde humana reduzindo a carência de Zn que aflige 20% da população mundial (HOTZ; BROWN, 2004). Resultados semelhantes foram obtidos por Cakmak (2008), na Turquia, com a aplicação de Zn em trigo cultivado em solos deficientes em Zn, havendo aumentos de rendimento e teor de Zn em grãos. Vale destacar, que no Brasil e em várias partes do mundo, o Zn é um dos fatores que mais limita a produção agrícola, sendo que cerca de 50% dos solos cultivados com cereais tem pouco zinco

disponível, o que reduz a produção e qualidade nutricional dos grãos (GRAHAM; WELCH, 1996; MALAVOLTA, 2006). São incipientes ainda no Brasil, pesquisas avaliando efeito da fertilização na melhoria da qualidade dos produtos agrícolas.

O aumento dos teores de micronutrientes em produtos agrícolas pela fertilização, foi denominado de "biofortificação agronômica". Essa prática tem sido incentivada no mundo por ser econômica e beneficiar uma parcela maior da população, em relação à fortificação convencional no produto final (BOUIS, 1999).

Por outro lado, o aumento do teor de P em grãos não é desejável, mesmo não alterando o teor total de Fe. Sabe-se que a biodisponibilidade do Fe pode ser reduzida com o incremento do P nos grãos, devido a maior parte do P das sementes ser armazenado na forma de fitato, que no organismo humano age como "quelante" dos íons Ca, Fe, Zn, etc., impedindo a absorção desses elementos (HOTZ; McCLAFFERTY, 2007).

4.1.2.3 Teores de metais pesados tóxicos nos solos e nos produtos agrícolas em função da fertilização com fontes de fósforo e micronutrientes

Os resultados das análises de solo após o cultivo de arroz, cultivar IAC 165 (Tabela 17), mostraram que a aplicação das fontes de Cu e Zn, aparentemente não causaram aumentos significativos dos metais pesados tóxicos no solo. O Cd que é o elemento tóxico potencialmente mais perigoso, pouco aumentou no solo, apresentando o teor máximo de 0,2 mg dm^{-3} quando extraído com Mehlich 1. Segundo Kabata-Pendias e Mukherjee (2007), o teor "total" natural de Cd para maioria dos solos pode variar entre 0,06 e 1,1 mg kg^{-1}. Análises de 8.702 amostras de solos do Estado de São Paulo utilizando extrator DTPA, apresentaram os seguintes teores (mg dm^{-3}): Cd de 0,0 - 3,4, com valor médio de 0,02; Pb de 0,0 - 63,9, com valor médio de 0,85; Ni de 0,0 – 65,1, com valor médio de 0,18 e Cr de 0,0 - 42,9, com valor médio de 0,03 (ABREU et al., 2005). Dynia et al. (2000) encontraram teores de Cd extraído por DTPA variando entre 0,00 e 0,23 mg dm^{-3}, ao analisarem 384 amostras de solos fertilizados com altas doses de fósforo e cultivados com frutíferas irrigadas na região do vale do Rio São Francisco.

Os valores de metais pesados tóxicos no solo do primeiro experimento podem ter sido superestimados, uma vez que, a água e reagentes utilizados não eram ultrapuros.

No segundo experimento, as doses de fertilizantes aplicadas foram muito superiores as do primeiro experimento e, consequentemente, as adições de metais pesados tóxicos também foram maiores. Devido ao uso de reagentes e água de alta pureza nas análises, assim como

também, da quantificação dos elementos em ICP-MS, foi possível determinar com confiabilidade, teores de metais pesados tóxicos no solo em valores muito baixos, da ordem de micrograma por dm^3 ou kg de massa seca vegetal (Tabelas 26 a 33).

Os teores de metais pesados tóxicos nos solos estudados no segundo experimentos foram aumentados com as doses das fontes de P e Zn (Tabelas 26 a 33). Embora os valores tenham sido aumentados, os teores nos solos dos tratamentos com a máxima adição de contaminantes não ultrapassaram os limites para solos agrícolas brasileiros, conforme relatado anteriormente em estudos realizados por Dynia et al. (2000) e Abreu et al. (2005), e também, são inferiores aos teores máximos permitidos por legislações de diversos países sobre teores de contaminantes em solos (Tabela 34) . No presente estudo, os teores de metais pesados extraídos por DTPA, nos tratamentos que receberam fertilizantes variaram de: Cd, 0,004 – 0,075 mg dm^{-3}; Cr, 0,19 – 1,58 mg dm^{-3}; Ni, 0,024 – 0,054 mg dm^{-3} e Pb, 1,1 – 2,8 mg dm^{-3}.

Houve influência do tipo de fonte, em geral, tanto para o superfosfato simples quanto para fertilizante Zn, devido à acidulação no processo de fabricação para tornar o P e o Zn mais disponíveis, também tornam os contaminantes mais disponíveis. Pode-se observar na Tabela 26, que o superfosfato simples, apesar de adicionar menos Cd em relação aos tratamentos com rocha fosfática e mistura pró-análise de P, aumentou consideravelmente os teores nos solos de Cd extraídos com o extrator DTPA. Neste caso, foi observado que os aumentos foram iguais ou até ligeiramente maiores que as taxas de Cd adicionadas ao solo, podendo-se aventar que o teor de Cd no fertilizante, extraído por digestão aberta e quantificado em ICP-AES possa ter sido um pouco inferior ao real valor (Tabelas 2 e 3).

A influência da acidulação da rocha fosfática na disponibilização do Cd foi estudada por Iretskaya, Chien e Menon (1998). Os autores observaram que com a acidulação, o Cd do fertilizante disponível em DTPA, que antes era de menos de 5%, aumentou para valores acima de 50% no fertilizante totalmente acidulado. Esses autores verificaram que o arroz absorveu maiores quantidades de Cd no tratamento com fosfato totalmente acidulado. A diferença de solubilidade do Cd contido em fosfatos de rocha e em fertilizantes tem sido relatadas em experimentos realizados no Brasil (PROCHNOW; PLESE; ABREU, 2001; MENDES et al., 2006; GONÇALVES et al., 2008).

Os extratores solução de ácidos orgânicos e DTPA foram eficientes para avaliar a disponibilidade do Cd no solo (Tabelas 26 e 30). Pois para ambos os extratores observaram-se boas correlações entre teor no solo e teor nos grãos de arroz. Para os outros elementos, houve diferenças entre os extratores. O DTPA não foi eficiente para extrair Cr, que em todos os casos apresentaram valores abaixo do limite de detecção do método (Tabelas 27 e 31). O

extrator solução de ácidos orgânicos apresentou boa capacidade para determinar a disponibilidade do Cr no solo (Tabelas 27 e 31). Para os elementos Ni e Pb, os extratores não foram eficientes na avaliação da disponibilidade desses metais em relação as suas concentrações nos grãos, embora houvesse concordância entre as taxas adicionadas e os valores encontrados nos solos (Tabelas 28, 29, 32 e 33).

O extrator DTPA tem apresentado bons resultados na avaliação da disponibilidade de Pb e Cd adicionado via fertilizantes e cultivados com hortaliças nos EUA (HUANG; KUO; BEMBENEK, 2003, 2004, 2005), o que corrobora os resultados do presente estudo.

O uso de solução contendo ácidos orgânicos como extrator de metais do solo foi proposto por Pires, Mattiazzo e Berton (2004), tentando simular as reações que acontecem na rizosfera das raízes das plantas, crítica feita aos extratores químicos que não são capazes de simular as reações que ocorrem nessa região. Entretanto, em todos os casos, a exceção para extração de Pb, os valores obtidos de Cd e Ni foram consideravelmente maiores que o extraídos pelo DTPA, possivelmente devido ao seu baixo pH (1,1).

É importante destacar que os métodos de análise, tanto para fertilizantes quanto para solos, são ferramentas chaves no estudo da transferência de metais pesados tóxicos no sistema fertilizante-solo-planta e a utilização de amostras certificadas permite estabelecer a confiabilidade dos resultados. Nas Tabelas 21 e 22, são apresentados os resultados de teores de metais pesados tóxicos e micronutrientes nos grãos de arroz do primeiro experimento. Pôde-se observar quer os teores de Cd, Cr e Pb são totalmente diferentes entre as condições de abertura de amostra realizada em sistema aberto e quantificação com ICP-AES com as de abertura em sistema fechado e quantificação com ICP-MS. Já os teores de Ni, Cu e Zn foram semelhantes. Os resultados utilizando o primeiro procedimento poderia levar a conclusões não verdadeiras, pois os valores com maior controle de qualidade são os da Tabela 22, no qual a confiabilidade dos resultados foi verificada por meio da análise de amostras de referência certificadas para teores baixos e médios de Cd em farelo de arroz (Tabela 23). Os resultados de análise de Cr foram inconsistentes ou razoáveis (Tabelas 23 a 25).

A digestão por micro-ondas usando HNO_3 purificado e diluído, mais água oxigenada foi capaz de evitar contaminações devidas aos utensílios, manuseio durante a análise e metais pesados presentes nos reagentes analíticos (KRUG; SANTOS JUNIOR, 2006).

No Brasil, a digestão nítrico-perclórica é o método mais difundido na análise de nutrientes em plantas, por ser prático, rápido e de baixo custo. Para avaliar a influência do método de digestão nos resultados de metais pesados tóxicos nos grãos de arroz, foi realizada uma comparação entre a digestão fechada em sistema micro-ondas com a digestão aberta

nítrico-perclórica. Vale destacar que nos dois casos foram utilizados reagentes e água de alta pureza e a quantificação em ICP-MS. Para confirmação da confiabilidade dos resultados, duas amostras certificadas foram incluídas juntamente com as amostras de grãos de arroz.

Os resultados das Tabelas 24 e 25 demonstram que ambos os métodos foram robustos para análise de metais pesados tóxicos em amostras de grãos, os valores foram similares para maioria dos elementos. Fica claro que, além do método instrumental de quantificação, também é necessário trabalhar sempre com reagentes e água de alta pureza para análise de contaminantes, podendo-se assim, utilizar com boa confiabilidade um método de digestão aberto como o nítrico-perclórico.

Tabela 21 - Teores de micronutrientes e metais pesados tóxicos nos grãos do arroz cultivado em solo fertilizado com fontes de micronutrientes, digeridos por solução nítrico-perclórica e quantificação em ICP-AES. Primeiro experimento.

Tratamentos[(1)]	Cd	Cr	Pb	Ni	Cu	Zn
	mg kg^{-1}					
Testemunha	1,5	1,7	6,7	2,0	7	43b
Subprod. Cu 2	1,5	2,2	5,6	2,0	7	44b
Subprod. Cu 4	1,5	2,6	4,7	2,1	9	49ab
Fertilizante Cu 3	1,5	1,9	7,0	2,1	8	44b
Mistura p.a. Cu 3	1,6	3,0	5,8	2,1	8	45ab
Subprod. Zn 4	1,4	2,5	8,2	2,1	6	47ab
Subprod. Zn 8	1,7	2,6	4,6	1,7	7	53ab
Fertilizante Zn 6	1,6	2,3	8,7	1,9	6	49ab
Mistura p.a. Zn 6	1,5	2,5	8,4	1,8	8	57a

[(1)]Médias com letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade; Os números à frente de cada fonte referem-se às doses de Cu e Zn adicionadas.

Tabela 22 - Teores de micronutrientes e metais pesados tóxicos nos grãos do arroz cultivado em solo fertilizado com fontes de micronutrientes, digeridos em micro-ondas e quantificação em ICP-MS. Primeiro experimento.

Tratamentos[1]	Cd	Cr	Pb	Ni	Cu	Zn
	μg kg^{-1}			mg kg^{-1}		
Testemunha	114	83a	116ab	2,2a	7	42abc
Subprod. Cu 2	52	21b	134a	2,4a	7	39bc
Subprod. Cu 4	52	15b	80ab	2,2a	6	39bc
Fertilizante Cu 3	69	16b	93ab	2,2a	8	40bc
Mistura p.a. Cu 3	109	30b	67ab	2,1a	8	37c
Subprod. Zn 4	66	30b	55b	1,2b	6	44abc
Subprod. Zn 8	45	14b	44b	1,2b	6	46ab
Fertilizante Zn 6	49	16b	55b	1,3b	6	45abc
Mistura p.a. Zn 6	67	8b	47b	1,4b	7	50a

[1]Médias com letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade; Os números à frente de cada fonte referem-se às doses de Cu e Zn adicionadas.

Tabela 23 - Teores de metais pesados certificados e determinados em duas amostras certificadas de farelo de arroz, avaliados por digestão em micro-ondas e com quantificação em ICP-MS. Primeiro experimento.

Amostras[1]	Cd	Cr[2]	Pb[3]	Ni	Cu	Zn
	μg kg^{-1}				mg kg^{-1}	
NIES 10b						
Certificado	320±20	220	-	390±40	3,3±0,2	22,3±0,9
Determinado	245±16	79±6	971±76	325±25	3,0±0,3	18,1±0,9
% recuperação	77	36	-	83	91	81
NIES 10c						
Certificado	1820±60	80	-	300±30	4,1±0,3	23,1±0,8
Determinado	1460±72	8±0,7	505±59	228±18	3,6±0,3	19,4±0,4
% recuperação	80	10	-	76	88	84

[1]NIES 10b e 10c rice flour: National Institute for Environmental Studies (OKAMOTO, 1991) – amostras de farelo de arroz certificadas para valor médio e alto de cádmio, respectivamente; [2]Valores de referência; [3]Sem valor certificado ou de referência; Médias de três repetições.

Tabela 24 - Teores de metais pesados em amostras certificadas de farelo de arroz e de folhas de maçã avaliadas por digestão nítrico-perclórica e quantificação em ICP-MS. Segundo experimento.

Amostras	Cd	Cr	Pb	Ni	Zn
	μg kg^{-1}				mg kg^{-1}
NIES 10b[1]					
Certificado	320±20	220[3]	971±76[4]	390±40	22,3±0,9
Determinado[4]	273±4	159±22	1044±13	319±5	20,1±0,2
% recuperação	85	72	108	82	90
NIST 1515[2]					
Certificado[1]	14[3]	300[3]	470±24	910±120	12,5±0,3
Determinado[4]	11±1	204±4	413±9	729±20	9,8±0,0
% recuperação	80	68	88	80	78

[1]NIES 10b rice flou: National Institute for Environmental Studies (OKAMOTO, 1991) - amostra de farelo de arroz certificada para valor médio de Cd; [2]NIST 1515 "apple leaves": National Institute of Standards and Technology, amostra de folha de maça certificada; [3]Valores de referência; [4]Sem valor certificado ou de referência – para fins de comparação foram utilizados os valores encontrados nas análises do primeiro experimento (Tabela 22); Médias de duas repetições.

Tabela 25 - Comparação entre digestão de amostras de grãos de arroz de terras altas pelo método aberto com solução nítrico-perclórica e por micro-ondas, com quantificação em ICP-MS. Segundo experimento.

Amostra / método de digestão	Cd	Cr	Pb	Ni	Zn
	μg kg^{-1}				mg kg^{-1}
Amostra de grãos de arroz com baixo teor de Cd[1]					
Nítrico-perclórica	7±1	< 37[2]	36±7	932±53	20,5±1,0
Micro-ondas	11±1	< 37	< 28	1006±74	20,3±1,8
DMS (Tukey 5%)	1,86	-	-	NS	NS
Amostra de grãos de arroz com médio teor de Cd[3]					
Nítrico-perclórica	116±20	< 37	< 28	1788±146	29,3±1,8
Micro-ondas	113±14	< 37	< 28	1721±153	25,6±0,4
DMS (Tukey 5%)	NS	-	-	NS	2,96

[1] Grãos de arroz do tratamento Rocha fosfática Togo, LVA, dose = 50 mg P dm^{-3} (Tabela 26); [2]Teores abaixo do limite de detecção do método; [3]Grãos de arroz do tratamento SFS Togo, LVA, dose = 400 mg P dm^{-3} (Tabela 26); Médias de três repetições; DMS: diferença mínima significativa para Tukey 5%; NS: não significativo.

Os teores de metais pesados tóxicos encontrados tanto nos grãos de arroz quanto nas folhas de alface foram baixos (Tabelas 20, 22 e 26 a 33), semelhantes aos valores comumente encontrados nestes produtos agrícolas. No segundo experimento, ainda que as taxas de metais pesados tóxicos adicionadas tenham sido altas, os teores de metais nos grãos não ultrapassaram os valores preconizados pelas legislações de alimentos. Os teores nos grãos do segundo experimento variaram, em mg kg^{-1}: Cd, 0,004 a 0,148; Cr, < 0,006 a 0,062; Ni, 0,3 a 2,0 e Pb, < 0,002 a 0,039.

Segundo Kabata-Pendias e Pendias (2000), os valores naturais para os metais pesados tóxicos estudados em folhas de alface são: Cd, 0,66 - 3,0 mg kg^{-1}; Cr, < 1,5 mg kg^{-1} e Pb, 0,7 - 3,6 mg kg^{-1}. A alface é considerada uma planta acumuladora de metais pesados, principalmente Cd, cujo nível tóxico nas folhas é de 10 - 95 mg kg^{-1} (MALAVOLTA, 2006).

No Brasil, segundo a ANVISA (1965), a concentração máxima de Cd em alimentos consumidos in natura é de 1 mg kg^{-1}. Se consumido na forma crua, como vegetais e hortaliças o resultado deve ser expresso na massa fresca e no caso do arroz, consumido após cozimento, o resultado é expresso na massa seca. Para vegetais consumidos como folha, a Australian and New Zealand Food Authority (FSANZ, 2009) adotou como limite máximo de Cd, 0,1 mg kg^{-1} na massa fresca. (aproximadamente 3,3 mg kg^{-1} na massa seca, considerando que 97% da massa fresca da alface é água). A Commission of the European Communities (CEC, 2001) e a Codex Alimentarius Commission (CODEX, 2004) permitem até 0,2 mg de Cd por kg de massa fresca.

Para grãos de arroz, os valores limites ou de ocorrência natural são: Cd, 0,2 - 0,4 mg kg^{-1} (CODEX, 2004) e Pb, 0,19 mg kg^{-1} (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2000). O teor máximo de Cr deve ser similar ao fixado para grãos de trigo (0,01 - 0,2 mg kg^{-1}) (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2000).

Resultados de análise de arroz e alface produzidos no Brasil, apresentam valores de Cd na massa seca variando de 0,002 - 0,55 mg kg^{-1} para alface e de 0,001 – 0,060 mg kg^{-1} para arroz (MASIRONI; KOIRTYOHANN; PIERCE, 1977; LENZI et al., 1990; SANTOS; LAURIA; SILVEIRA, 2004).

No segundo experimento, os teores de Cd nos grãos de arroz apresentaram relação com o teor de Cd disponível no solo e, também, com as taxas adicionadas (Figuras 2, 3 e 4). Por outro lado, nota-se nas Tabelas 29, 32 e 33 que, os teores de Ni e Pb nos grãos apresentaram relações inversas com as doses adicionadas e teores disponíveis no solo.

A avaliação dos teores de Cd, Ni e Pb, apenas na parte aérea poderia apresentar correlações positivas, conforme comumente tem sido reportado em trabalhos realizados no

Brasil (GONCALVES JUNIOR; PESSOA, 2002; ARMELIN et al., 2008). Entretanto, avaliando-se a parte comestível, neste caso grãos, e comparando com as legislações sobre teores máximos permissíveis de contaminantes em alimentos é que se pode diagnosticar o potencial da entrada de metais tóxicos na cadeia alimentar. Rodella (2005), relata que nos EUA a avaliação de risco tem sido utilizada como ferramenta para quantificação do potencial de impacto da adição de contaminantes via fertilizantes.

Há que se considerar também, que as plantas tem mecanismos para evitar a translocação de metais pesados tóxicos para os grãos (KUBOTA; WELCH; CAMPEN, 1992). Variações genotípicas quanto ao teor de metais pesados tóxicos nos grãos têm sido observadas em vários tipos de culturas, inclusive arroz (ARAO; AE, 2003), podendo-se, no processo de melhoramento vegetal, selecionar também plantas que apresentem menores teores de metais pesados tóxicos na parte comestível (GRANT et al., 2008). A influência de fatores como a variação genotípica no teor de metais pesados tóxicos em grãos de arroz, serão tratados nos itens 4.2 e 4.3 deste trabalho.

No presente estudo, o fato de o teor de Pb nos grãos reduzir mesmo com a adição de altas doses do metal (Tabelas 29 e 33), pode ser devido à competição por sítios de absorção com o Zn, devido à imobilização pelos íons fosfato ou devido a outro fator ainda não elucidado (GRANT et al., 1999). Para o melhor entendimento da problemática dos metais pesados adicionados aos solos via fertilizantes, é de fundamental importância o esforço para a instalação de experimentos de longa duração no Brasil.

Tabela 26 – Fósforo disponível, cádmio adicionado, cádmio disponível e teores de cádmio em grãos de arroz de terras altas cultivado em dois Latossolos fertilizados com fontes de fósforo. Segundo experimento.

Tratamentos	Fósforo		Adic.[1]	Teores de cádmio		
	Dose	Solo		AO	DTPA	Grãos
	mg dm^{-3}		μg dm^{-3}			μg kg^{-1}
			Latossolo Vermelho-Amarelo			
Testemunha	0	2	0	34	4	4
Rocha fosfática Togo	50	16	14	32	6	9
	100	32	27	37	6	13
	200	57	55	44	8	24
	400	93	109	52	12	40
SFS Togo	50	21	7	41	18	40
	100	39	15	46	29	64
	200	74	29	55	36	74
	400	195	59	67	73	128
Mistura pró-análise P	50	26	14	34	13	27
	100	77	27	41	23	46
	200	124	55	47	33	81
	400	281	109	55	60	139
DMS (Tukey 5%)	-	*7*	-	*12*	*8*	*35*
			Latossolo Vermelho			
Testemunha	0	6	0	27	4	6
Rocha fosfática Togo	50	11	14	23	5	6
	100	16	27	26	6	7
	200	26	55	25	8	16
	400	43	109	22	13	22
SFS Togo	50	16	7	23	14	22
	100	26	15	32	21	36
	200	71	29	40	49	78
	400	159	59	55	66	146
Mistura pró-análise P	50	22	14	22	17	20
	100	72	27	21	21	28
	200	99	55	50	46	58
	400	249	109	70	75	148
DMS (Tukey 5%)	-	*6*	-	*27*	*35*	*48*
			Correlações			
Cd adicionado	0,92***	0,73***	-	0,47***	0,45***	0,54***
Cd ácidos orgânicos	0,59***	0,72***	-	-	0,67***	0,75***
Cd DTPA	0,62***	0,80***	-	-	-	0,87***
Teor de Cd nos grãos	0,72***	0,89***	-	-	-	-

[1]As adições de Cd foram calculadas multiplicando-se os teores de Cd nas fontes (Tabela 2) pela massa de cada produto necessária para fornecimento das doses de P; AO: Cd extraído por solução de ácidos orgânicos; DTPA: Cd extraído por solução quelante com o ácido dietilenotriaminopentacético – DTPA; DMS: diferença mínima significativa; ***; **; * e ns: significativo a 1%, 5%, 10% e não significativo, respectivamente; Médias de três repetições.

Tabela 27 - Fósforo disponível, crômio adicionado, crômio disponível e teores de crômio em grãos de arroz de terras altas cultivado em dois Latossolos fertilizados com fontes de fósforo. Segundo experimento.

Tratamentos	Fósforo		Adic.[(1)]	Teores de crômio		
	Dose	Solo		AO	DTPA	Grãos
	mg dm^{-3}		µg dm^{-3}			µg kg^{-1}
			Latossolo Vermelho-Amarelo			
Testemunha	0	2	0	191	< 1,3	9
Rocha fosfática Togo	50	16	30	191	< 1,3	13
	100	32	61	190	< 1,3	15
	200	57	122	198	< 1,3	< 6
	400	93	243	202	< 1,3	8
SFS Togo	50	21	22	196	< 1,3	8
	100	39	44	250	< 1,3	13
	200	74	88	265	< 1,3	23
	400	195	176	306	< 1,3	27
Mistura pró-análise P	50	26	30	279	< 1,3	20
	100	77	61	317	< 1,3	22
	200	124	122	314	< 1,3	31
	400	281	243	394	< 1,3	23
DMS (Tukey 5%)	-	*7*	-	*86*	-	*12*
			Latossolo Vermelho			
Testemunha	0	6	0	988	< 1,3	27
Rocha fosfática Togo	50	11	30	1030	< 1,3	27
	100	16	61	1137	< 1,3	23
	200	26	122	1255	< 1,3	39
	400	43	243	1132	< 1,3	31
SFS Togo	50	16	22	1116	< 1,3	34
	100	26	44	1323	< 1,3	53
	200	71	88	1391	< 1,3	41
	400	159	176	1580	< 1,3	44
Mistura pró-análise P	50	22	30	1267	< 1,3	35
	100	72	61	1257	< 1,3	30
	200	99	122	1329	< 1,3	42
	400	249	243	1530	< 1,3	46
DMS (Tukey 5%)	-	*6*	-	*168*	-	*28*
			Correlações			
Cr adicionado	0,97***	0,77***	-	0,12^{NS}	-	0,18***
Cr ácidos orgânicos	0,14^{NS}	0,07^{NS}	-	-	-	0,76***
Cr DTPA	-	-	-	-	-	-
Teor de Cr nos grãos	0,22*	0,24**	-	-	-	-

[(1)]As adições de Cr foram calculadas multiplicando-se os teores de Cr nas fontes (Tabela 2) pela massa de cada produto necessária para fornecimento das doses de P; AO: Cr extraído por solução de ácidos orgânicos; DTPA: Cr extraído por solução quelante com o ácido dietilenotriaminopentacético – DTPA; DMS: diferença mínima significativa; ***; **; * e NS: significativo a 1%, 5%, 10% e não significativo, respectivamente; Médias de três repetições.

Tabela 28 - Fósforo disponível, níquel adicionado, níquel disponível e teores de níquel em grãos de arroz de terras altas cultivado em dois Latossolos fertilizados com fontes de fósforo. Segundo experimento.

Tratamentos	Fósforo		Adic.[(1)]	Teores de níquel		
	Dose	Solo		AO	DTPA	Grãos
	mg dm^{-3}		μg dm^{-3}			mg kg^{-1}
			Latossolo Vermelho-Amarelo			
Testemunha	0	2	0	165	23	1,8
Rocha fosfática Togo	50	16	7	161	25	1,8
	100	32	13	158	24	1,8
	200	57	27	165	24	2,0
	400	93	53	178	24	1,7
SFS Togo	50	21	5	185	28	1,9
	100	39	11	221	31	2,0
	200	74	21	368	35	1,8
	400	195	43	386	53	1,9
Mistura pró-análise P	50	26	7	354	26	1,6
	100	77	13	368	25	1,7
	200	124	27	339	27	1,6
	400	281	53	403	28	1,6
DMS (Tukey 5%)	-	*7*	-	*60*	*3*	*0,7*
			Latossolo Vermelho			
Testemunha	0	6	0	321	26	0,9
Rocha fosfática Togo	50	11	7	372	27	1,0
	100	16	13	676	26	0,8
	200	26	27	433	26	0,9
	400	43	53	328	28	1,1
SFS Togo	50	16	5	315	30	1,2
	100	26	11	395	31	1,5
	200	71	21	507	43	1,5
	400	159	43	659	38	1,3
Mistura pró-análise P	50	22	7	614	27	1,2
	100	72	13	548	54	0,9
	200	99	27	602	30	1,1
	400	249	53	737	33	1,2
DMS (Tukey 5%)	-	*6*	-	*177*	*38*	*0,5*
			Correlações			
Ni adicionado	0,98***	0,78***	-	0,26**	0,18^{NS}	0,02^{NS}
Ni ácidos orgânicos	0,28**	0,38***	-	-	0,29**	-0,59***
Ni DTPA	0,23**	0,28**	-	-	-	-0,09^{NS}
Teor de Ni nos grãos	0,05^{NS}	0,10^{NS}	-	-	-	-

[(1)]As adições de Ni foram calculadas multiplicando-se os teores de Ni nas fontes (Tabela 2) pela massa de cada produto necessária para fornecimento das doses de P; AO: Ni extraído por solução de ácidos orgânicos; DTPA: Ni extraído por solução quelante com o ácido dietilenotriaminopentacético – DTPA; DMS: diferença mínima significativa; ***; **; * e ns: significativo a 1%, 5%, 10% e não significativo, respectivamente; Médias de três repetições.

Tabela 29 - Fósforo disponível, chumbo adicionado, chumbo disponível e teores de chumbo em grãos de arroz de terras altas cultivado em dois Latossolos fertilizados com fontes de fósforo. Segundo experimento.

Tratamentos	Fósforo		Adic.[(1)]	Teores de chumbo		
	Dose	Solo		AO	DTPA	Grãos
	—— mg dm^{-3} ——		µg dm^{-3}	— mg dm^{-3} —		µg kg^{-1}
			Latossolo Vermelho-Amarelo			
Testemunha	0	2	0	1,2	1,1	16
Rocha fosfática Togo	50	16	1	1,2	1,2	18
	100	32	3	1,2	1,1	14
	200	57	6	1,2	1,1	11
	400	93	11	1,3	1,2	11
SFS Togo	50	21	15	1,2	1,1	19
	100	39	29	1,1	1,2	28
	200	74	59	1,0	1,1	19
	400	195	117	0,7	1,1	7
Mistura pró-análise P	50	26	1	1,2	1,1	22
	100	77	3	1,0	1,1	21
	200	124	6	1,0	1,1	13
	400	281	11	0,8	1,1	8
DMS (Tukey 5%)	-	*7*	-	*0,2*	*0,2*	*15*
			Latossolo Vermelho			
Testemunha	0	6	0	1,8	1,6	11
Rocha fosfática Togo	50	11	1	1,9	1,7	5
	100	16	3	2,0	1,7	9
	200	26	6	2,0	1,6	9
	400	43	11	1,8	1,7	5
SFS Togo	50	16	15	1,9	1,7	4
	100	26	29	2,0	1,6	8
	200	71	59	1,9	1,8	6
	400	159	117	1,6	1,7	< 2
Mistura pró-análise P	50	22	1	2,0	1,6	< 2
	100	72	3	2,0	1,7	< 2
	200	99	6	1,8	1,7	< 2
	400	249	11	1,7	1,6	< 2
DMS (Tukey 5%)	-	*6*	-	*0,2*	*0,2*	*12*
			Correlações			
Pb adicionado	0,50***	0,41***	-	-0,21*	0,09^{NS}	-0,13^{NS}
Pb ácidos orgânicos	-0,22*	-0,39***	-	-	0,90***	-0,53***
Pb DTPA	0,06^{NS}	-0,09^{NS}	-	-	-	-0,66***
Teor de Pb nos grãos	-0,40***	-0,31***	-	-	-	-

[(1)]As adições de Pb foram calculadas multiplicando-se os teores de Pb nas fontes (Tabela 2) pela massa de cada produto necessária para fornecimento das doses de P; AO: Pb extraído por solução de ácidos orgânicos; DTPA: Pb extraído por solução quelante com o ácido dietilenotriaminopentacético – DTPA; DMS: diferença mínima significativa; ***; **; * e ns: significativo a 1%, 5%, 10% e não significativo, respectivamente; Médias de três repetições.

Tabela 30 - Zinco disponível, cádmio adicionado, cádmio disponível e teores de cádmio em grãos de arroz de terras altas cultivado em dois Latossolos fertilizados com fontes de zinco. Segundo experimento.

Tratamentos	Zinco		Adic.[1]	Teores de cádmio		
	Dose	Solo		AO	DTPA	Grãos
	mg dm^{-3}		µg dm^{-3}			µg kg^{-1}
			Latossolo Vermelho-Amarelo			
Testemunha	0	0,5	0,0	5,0	4,3	14
Subproduto Zn	5	1,9	1,8	5,0	5,0	8
	10	3,8	3,6	6,7	4,7	12
	20	6,8	7,2	8,3	6,3	12
	40	15,0	14,5	13,0	8,7	11
Fertilizante Zn	5	1,6	0,6	4,3	4,3	10
	10	3,9	1,1	5,3	4,3	6
	20	6,3	2,3	5,3	4,7	9
	40	15,2	4,5	5,0	6,0	9
Mistura pró-análise Zn	5	2,6	1,8	4,7	4,3	11
	10	3,8	3,6	6,0	7,0	14
	20	9,5	7,2	8,7	7,7	14
	40	22,2	14,5	20,0	19,3	31
DMS (Tukey 5%)	-	*1,8*	-	*5,8*	*3,1*	*12*
			Latossolo Vermelho			
Testemunha	0	0,6	0,0	5,6	4,0	9
Subproduto Zn	5	2,2	1,8	6,3	5,0	7
	10	3,7	3,6	9,3	6,0	9
	20	7,5	7,2	8,0	7,0	8
	40	16,7	14,5	11,3	9,6	6
Fertilizante Zn	5	2,5	0,6	5,3	4,7	7
	10	4,1	1,1	5,7	5,0	8
	20	8,4	2,3	7,0	5,0	5
	40	15,9	4,5	7,6	5,7	7
Mistura pró-análise Zn	5	2,6	1,8	7,0	4,7	10
	10	4,6	3,6	11,7	5,7	10
	20	9,4	7,2	11,0	6,3	5
	40	20,7	14,5	16,0	12,0	13
DMS (Tukey 5%)	-	*3,8*	-	*8,7*	*3,4*	*9*
			Correlações			
Cd adicionado	0,83***	0,86***	-	0,76***	0,80***	0,35***
Cd ácidos orgânicos	0,57***	0,66***	-	-	0,84***	0,52***
Cd DTPA	0,65***	0,77***	-	-	-	0,66***
Teor de Cd nos grãos	0,19*	0,94***	-	-	-	-

[1]As adições de Cd foram calculadas multiplicando-se os teores de Cd nas fontes (Tabela 2) pela massa de cada produto necessária para fornecimento das doses de Zn; AO: Cd extraído por solução de ácidos orgânicos; DTPA: Cd extraído por solução quelante com o ácido dietilenotriaminopentacético – DTPA; DMS: diferença mínima significativa; ***; **; * e ns: significativo a 1%, 5%, 10% e não significativo, respectivamente; Médias de três repetições.

Tabela 31 - Zinco disponível, crômio adicionado, crômio disponível e teores de crômio em grãos de arroz de terras altas cultivado em dois Latossolos fertilizados com fontes de zinco. Segundo experimento.

Tratamentos	Zinco		Adic.[(1)]	Teores de crômio		
	Dose	Solo		AO	DTPA	Grãos
	mg dm^{-3}		μg dm^{-3}			μg kg^{-1}
			Latossolo Vermelho-Amarelo			
Testemunha	0	0,5	0,0	329	< 1,3	50
Subproduto Zn	5	1,9	0,1	328	< 1,3	49
	10	3,8	0,3	338	< 1,3	41
	20	6,8	0,6	344	< 1,3	38
	40	15,0	1,1	363	< 1,3	24
Fertilizante Zn	5	1,6	0,1	343	< 1,3	24
	10	3,9	0,2	338	< 1,3	22
	20	6,3	0,3	332	< 1,3	37
	40	15,2	0,7	337	< 1,3	37
Mistura pró-análise Zn	5	2,6	0,1	340	< 1,3	37
	10	3,8	0,3	336	< 1,3	42
	20	9,5	0,6	345	< 1,3	48
	40	22,2	1,1	361	< 1,3	29
DMS (Tukey 5%)	-	*1,8*	-	*58*	-	*22*
			Latossolo Vermelho			
Testemunha	0	0,6	0,0	1188	< 1,3	37
Subproduto Zn	5	2,2	0,1	1151	< 1,3	47
	10	3,7	0,3	1207	< 1,3	50
	20	7,5	0,6	1189	< 1,3	38
	40	16,7	1,1	1204	< 1,3	47
Fertilizante Zn	5	2,5	0,1	1174	< 1,3	60
	10	4,1	0,2	1245	< 1,3	56
	20	8,4	0,3	1195	< 1,3	62
	40	15,9	0,7	1170	< 1,3	54
Mistura pró-análise Zn	5	2,6	0,1	1168	< 1,3	43
	10	4,6	0,3	1203	< 1,3	43
	20	9,4	0,6	1214	< 1,3	34
	40	20,7	1,1	1211	< 1,3	41
DMS (Tukey 5%)	-	*3,8*	-	*174*	-	*31*
			Correlações			
Cr adicionado	0,94***	0,94***	-	0,02^{NS}	-	-0,20*
Cr ácidos orgânicos	0,01^{NS}	0,04^{NS}	-	-	-	0,41***
Cr DTPA	-	-	-	-	-	-
Teor de Cr nos grãos	-0,14^{NS}	-0,14^{NS}	-	-	-	-

[(1)]As adições de Cr foram calculadas multiplicando-se os teores de Cr nas fontes (Tabela 2) pela massa de cada produto necessária para fornecimento das doses de Zn; AO: Cr extraído por solução de ácidos orgânicos; DTPA: Cr extraído por solução quelante com o ácido dietilenotriaminopentacético – DTPA; DMS: diferença mínima significativa; ***; **; * e ns: significativo a 1%, 5%, 10% e não significativo, respectivamente; Médias de três repetições.

Tabela 32 - Zinco disponível, níquel adicionado, níquel disponível e teores de níquel em grãos de arroz de terras altas cultivado em dois Latossolos fertilizados com fontes de zinco. Segundo experimento.

Tratamentos	Zinco		Adic.[(1)]	Teores de níquel		
	Dose	Solo		AO	DTPA	Grãos
	mg dm^{-3}		μg dm^{-3}			mg kg^{-1}
			Latossolo Vermelho-Amarelo			
Testemunha	0	0,5	0,0	723	40	2,4
Subproduto Zn	5	1,9	1,7	1006	40	1,7
	10	3,8	3,5	721	42	1,4
	20	6,8	6,9	637	42	1,1
	40	15,0	13,8	604	44	0,7
Fertilizante Zn	5	1,6	0,1	568	41	1,7
	10	3,9	0,2	447	40	1,3
	20	6,3	0,3	328	42	0,8
	40	15,2	0,7	287	47	0,6
Mistura pró-análise Zn	5	2,6	1,7	276	43	2,0
	10	3,8	3,5	263	43	1,5
	20	9,5	6,9	247	44	0,8
	40	22,2	13,8	353	52	0,4
DMS (Tukey 5%)	-	*1,8*	-	*167*	*5*	*1,1*
			Latossolo Vermelho			
Testemunha	0	0,6	0,0	225	36	1,6
Subproduto Zn	5	2,2	1,7	207	34	1,1
	10	3,7	3,5	221	36	0,8
	20	7,5	6,9	189	39	0,6
	40	16,7	13,8	182	40	0,4
Fertilizante Zn	5	2,5	0,1	171	36	1,2
	10	4,1	0,2	170	35	0,9
	20	8,4	0,3	173	36	0,5
	40	15,9	0,7	200	38	0,3
Mistura pró-análise Zn	5	2,6	1,7	166	35	1,1
	10	4,6	3,5	164	34	0,6
	20	9,4	6,9	168	37	0,4
	40	20,7	13,8	177	40	0,3
DMS (Tukey 5%)	-	*3,8*	-	*50*	*3*	*0,3*
			Correlações			
Ni adicionado	0,69***	0,74***	-	-0,04^{NS}	0,41***	-0,48***
Ni ácidos orgânicos	-0,18^{NS}	-0,22**	-	-	0,32***	0,49***
Ni DTPA	0,48***	0,51***	-	-	-	-0,01^{NS}
Teor de Ni nos grãos	-0,70***	-0,68***	-	-	-	-

[(1)]As adições de Ni foram calculadas multiplicando-se os teores de Ni nas fontes (Tabela 2) pela massa de cada produto necessária para fornecimento das doses de Zn; AO: Ni extraído por solução de ácidos orgânicos; DTPA: Ni extraído por solução quelante com o ácido dietilenotriaminopentacético – DTPA; DMS: diferença mínima significativa; ***; **; * e ns: significativo a 1%, 5%, 10% e não significativo, respectivamente; Médias de três repetições.

Tabela 33 - Zinco disponível, chumbo adicionado, chumbo disponível e teores de chumbo em grãos de arroz de terras altas cultivado em dois Latossolos fertilizados com fontes de zinco. Segundo experimento.

Tratamentos	Zinco		Adic.[1]	Teores de chumbo		
	Dose	Solo		AO	DTPA	Grãos
	mg dm^{-3}		µg kg^{-1}	mg dm^{-3}		µg kg^{-1}
			Latossolo Vermelho-Amarelo			
Testemunha	0	0,5	0	1,3	1,3	28
Subproduto Zn	5	1,9	158	1,4	1,3	25
	10	3,8	317	1,4	1,3	21
	20	6,8	633	1,5	1,4	15
	40	15,0	1266	1,7	1,6	2
Fertilizante Zn	5	1,6	43	1,3	1,3	16
	10	3,9	86	1,4	1,2	39
	20	6,3	172	1,4	1,3	13
	40	15,2	345	1,4	1,4	3
Mistura pró-análise Zn	5	2,6	158	1,4	1,3	24
	10	3,8	317	1,4	1,5	28
	20	9,5	633	1,5	1,9	17
	40	22,2	1266	1,7	2,2	7
DMS (Tukey 5%)	-	*1,8*	-	*0,3*	*0,3*	*23*
			Latossolo Vermelho			
Testemunha	0	0,6	0	2,0	2,0	6
Subproduto Zn	5	2,2	158	2,0	2,0	7
	10	3,7	317	2,0	2,1	6
	20	7,5	633	2,1	2,1	< 2
	40	16,7	1266	2,2	2,3	< 2
Fertilizante Zn	5	2,5	43	2,0	2,0	6
	10	4,1	86	2,1	2,0	3
	20	8,4	172	2,1	2,0	< 2
	40	15,9	345	2,0	2,0	< 2
Mistura pró-análise Zn	5	2,6	158	2,0	2,0	6
	10	4,6	317	2,1	2,1	3
	20	9,4	633	2,1	2,8	< 2
	40	20,7	1266	2,4	2,8	< 2
DMS (Tukey 5%)	-	*3,8*	-	*0,4*	*0,6*	*5*
			Correlações			
Pb adicionado	0,81***	0,84***	-	0,30***	0,46***	-0,35***
Pb ácidos orgânicos	0,24**	0,29**	-	-	0,85***	-0,68***
Pb DTPA	0,34***	0,44***	-	-	-	-0,65***
Teor de Pb nos grãos	-0,46***	-0,45***	-	-	-	-

[1]As adições de Pb foram calculadas multiplicando-se os teores de Pb nas fontes (Tabela 2) pela massa de cada produto necessária para fornecimento das doses de Zn; AO: Pb extraído por solução de ácidos orgânicos; DTPA: Pb extraído por solução quelante com o ácido dietilenotriaminopentacético – DTPA; DMS: diferença mínima significativa; ***; **; * e ns: significativo a 1%, 5%, 10% e não significativo, respectivamente; Médias de três repetições.

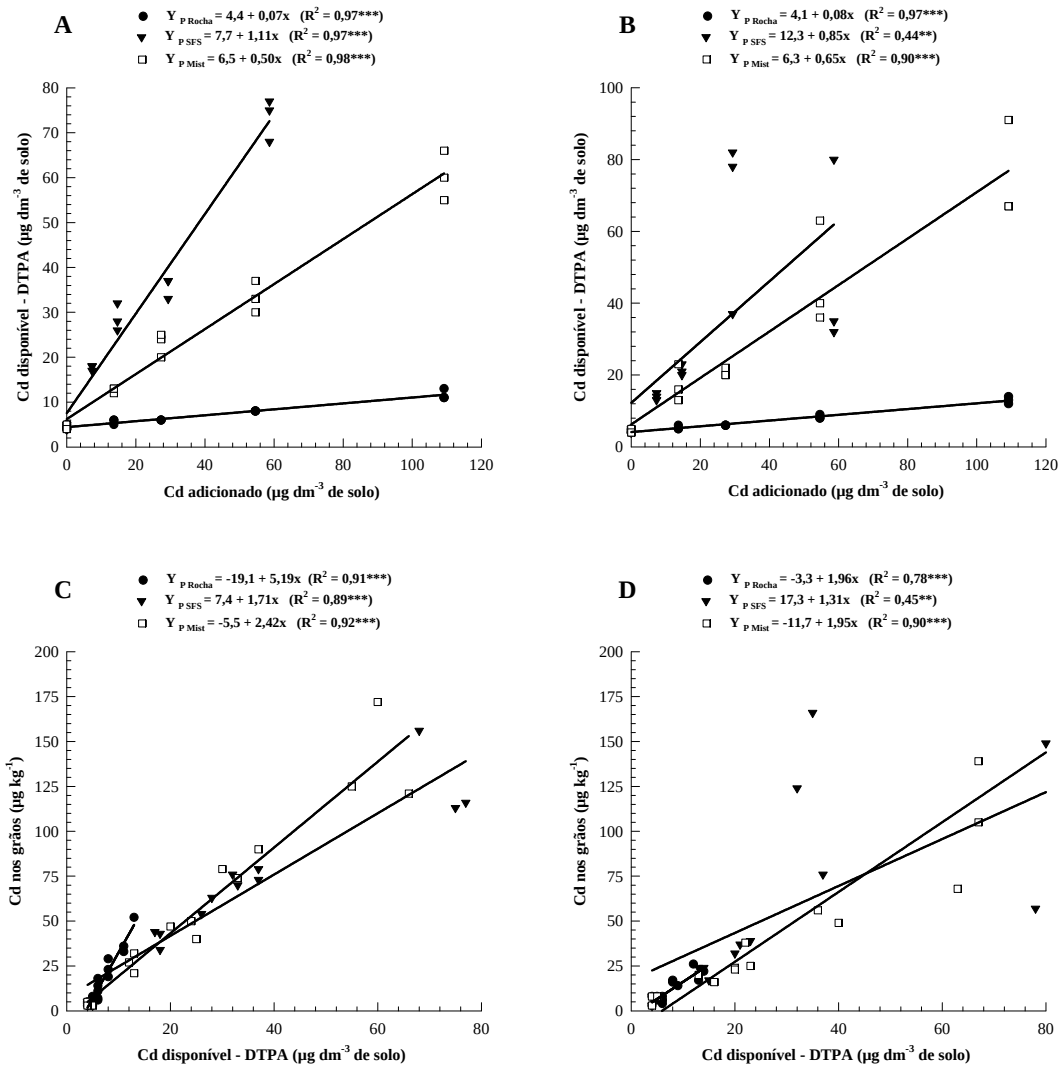

Figura 2. Relações entre Cd o adicionado e o disponível no solo (A e B) e entre Cd disponível e seu teor nos grãos (C e D) de arroz cultivados em LVA e LV, respectivamente, fertilizados com três fontes de fósforo: rocha fosfática de Togo (●),SFS de Togo (▼) e mistura pró-análise de igual composição a rocha fosfática de Togo (□). Segundo experimento.

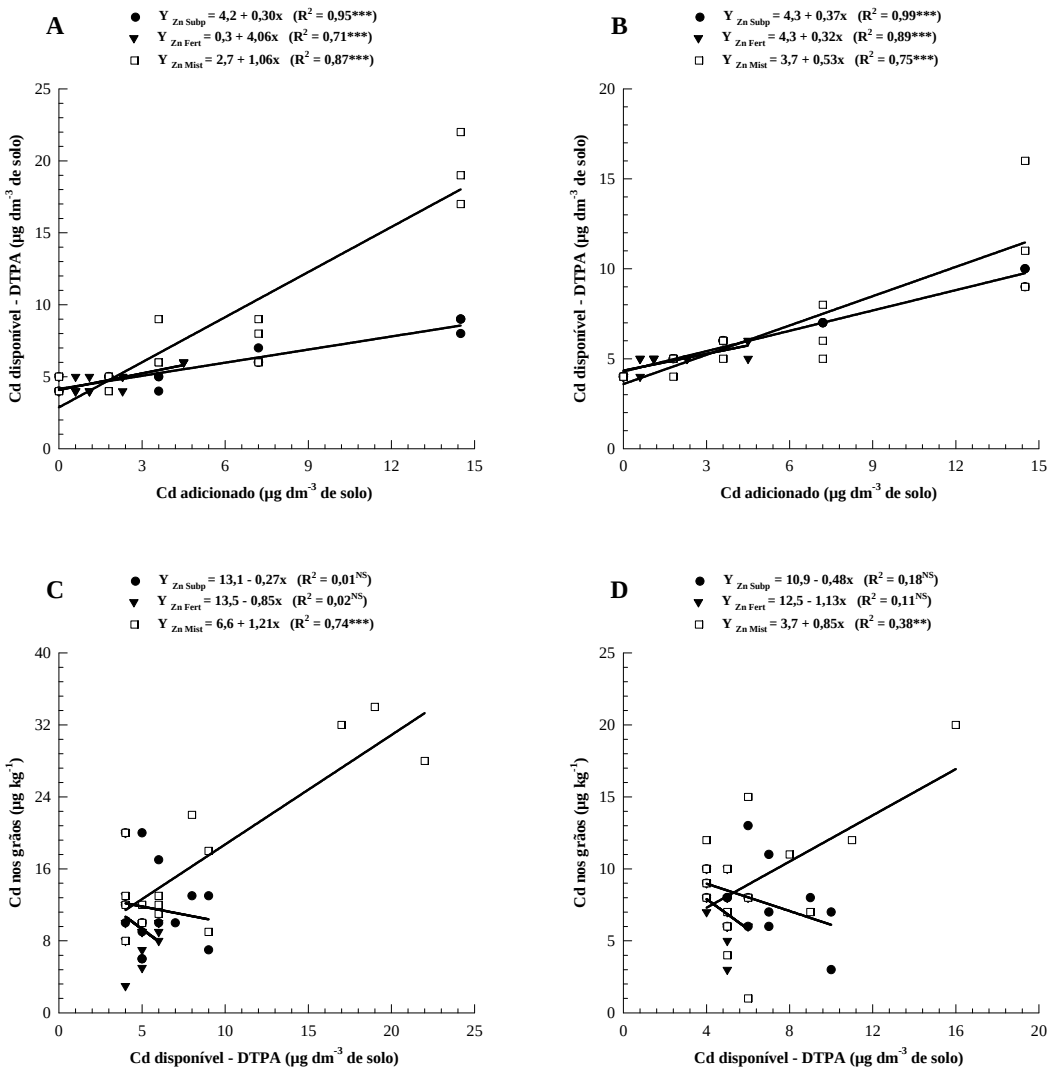

Figura 3. Relações entre o Cd adicionado e o disponível no solo (A e B) e entre Cd disponível e seu teor nos grãos (C e D) de arroz cultivados em LVA e LV, respectivamente, fertilizados com três fontes de zinco: subproduto (●), fertilizante (▼) e mistura pró-análise de igual composição ao subproduto (□). Segundo experimento.

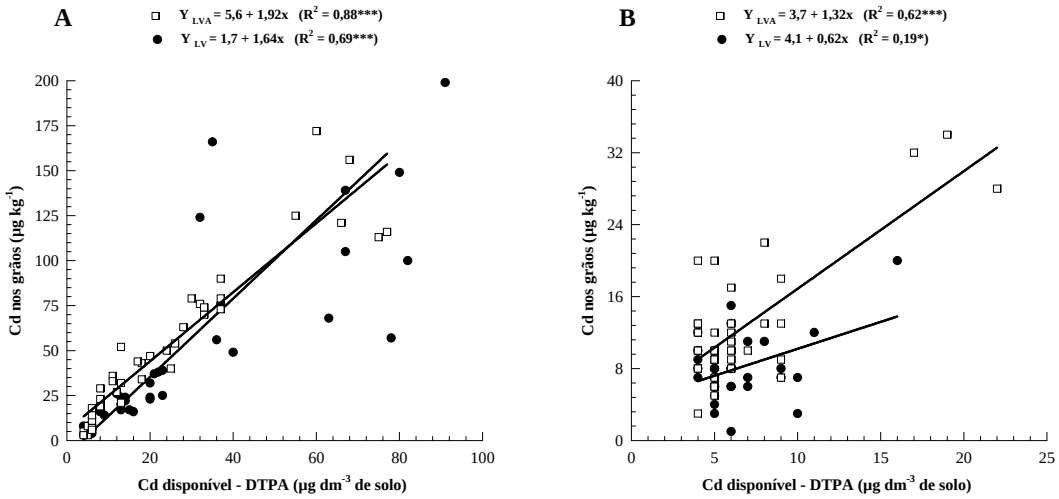

Figura 4. Relação entre o Cd disponível no solo e teor de Cd nos grãos de arroz cultivados em LVA (□) e LV (●), respectivamente, fertilizados com fontes de fósforo (A) e de zinco (B). Segundo experimento.

Tabela 34 - Valores máximos permissíveis de metais pesados tóxicos no solo pelas legislações de alguns países[1].

País	As	Ba	Cd	Cr	Pb	Hg
	mg kg^{-1}					
Holanda						
Mat. orgânica e argila 0%	15	39	0,4	50	50	0,2
Mat. org. 10% e argila 25%	29	200	0,8	100	85	0,3
Austrália	-	-	1,0	-	20	0,2
Bélgica/Luxemburgo	-	-	1-3	-	-	-
Japão	-	-	= 1,0	-	-	-
Áustria	-	-	1,0	-	-	-
Dinamarca	-	-	0,5	-	-	-
Finlândia	-	-	0,5	-	-	-
Alemanha	-	-	1,0	-	-	-
CETESB	3,5	-	<0,5	40	17	0,05
SANEPAR						
pH < 7	-	-	1	100	50	1,0
pH > 7	-	-	3	150	300	1,5
Portugal						
pH = 5,5	-	-	1	50	50	1,0
pH >5,5 a = 7,0	-	-	3	200	300	1,5
pH > 7,0	-	-	4	300	450	2,0

[1] Copilado por Malavolta e Moraes (2006); CETESB: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo; SANEPAR: Companhia de Saneamento do Paraná; –, valor não estabelecido.

4.1.3 Atividade de enzimas antioxidativas em plantas de alface e de indicadores microbiológicas do solo para avaliação do potencial de contaminação dos metais pesados tóxicos adicionados via fertilizantes

As enzimas antioxidativas constituem o sistema natural de defesa das plantas para eliminar espécies ativas de oxigênio geradas nas células vegetais devido ao metabolismo vegetal ou, em maior proporção, quando sob estresses bióticos e abióticos. A toxidez por metais pesados nas plantas eleva a produção de espécies ativas de oxigênio, desta forma, as enzimas antioxidativas podem ser usadas como indicador do efeito dos metais pesados adicionados via fertilizantes sobre as plantas.

A catalase (CAT) é uma proteína, do tipo Fe porfirina, que faz a transformação de H_2O_2 a água e O_2 durante a fotorespiração. Esta enzima é abundante nos peroxissomos e mitocôndrias das plantas (IGAMBERDIEV; LEA, 2002). A guaiacol peroxidase (GOPX) está envolvida na rota da biossíntese de lignina e decomposição do ácido indol acético - AIA. (GRATÃO et al., 2005).

No primeiro experimento, a atividade da CAT foi maior tanto em raiz quanto em folha no tratamento Fertilizante Cu 3 (Tabela 35). Este tratamento também apresentou os maiores teores de Ni na folha (1,0 mg kg^{-1}) e na raiz (4,9 mg kg^{-1}, dados não apresentados). Os teores de Ni nas folhas situaram-se entre 0,5 e 1,0 mg kg^{-1} e nas raízes foram de 2,4 a 4,9 mg kg^{-1}. Valores de Ni no tecido vegetal de 0,05 a 5,00 mg kg^{-1} são considerados normais (MALAVOLTA; MORAES, 2007). Houve correlação positiva entre teor de Ni e atividade da CAT tanto para raiz quanto para folha (Tabela 36).

Pouco se conhece sobre o papel do níquel na nutrição de plantas. O Ni é ativador da enzima urease e participa do ciclo da uréia na planta. Nas plantas leguminosas, atua na fixação do N_2, fazendo parte da hidrogenase. Recentemente, Gomes Junior et al. (2006) observaram em cultura de células de café que o Ni em baixa concentração no meio atuava como estimulante para crescimento das células vegetais. Porém, a atividade da CAT era alta tanto nas doses baixas quanto nas doses altas. Witte et al. (2002) sugeriram a inclusão de 100 a 200 nM de Ni no meio de cultura.

O aumento da atividade da CAT pelo Ni pode estar associado ao estimulo do crescimento em decorrência do favorecimento do elemento ao metabolismo de nitrogênio. O aumento do metabolismo da planta devido ao maior crescimento provocar um aumento natural na produção de espécies ativas de oxigênio e, consequentemente, da CAT por atuar na limpeza dessas espécies.

Tabela 35 - Atividades enzimáticas em folhas e raízes de alface em resposta as fontes de micronutrientes adicionadas para o cultivo do arroz IAC 165. Primeiro experimento.

Tratamentos[(1)]	Catalase (CAT)		Guaiacol peroxidase (GPOX)
	Folha	Raiz	Raiz
	µmol min^{-1} mg $prot^{-1}$	µmol min^{-1} mg $prot^{-1}$	ΔA_{470} min^{-1} mg $prot^{-1}$
Testemunha	1,64	0,53b	0,16a
Fertilizante Cu 3	3,65	1,25a	0,15a
Mistura p.a. Cu 3	2,20	0,63b	0,09b
Fertilizante Zn 6	2,68	0,56b	0,14a
Mistura p.a. Zn 6	2,84	0,38b	0,15a

[(1)]Médias com letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade; Os números à frente de cada fonte referem-se às doses de Cu e Zn adicionadas.

Tabela 36 - Coeficientes de correlação linear simples (Pearson) entre teor de micronutrientes e metais pesados tóxicos em folhas e raízes de alface versus atividade enzimática, em resposta às fontes de micronutrientes adicionadas para o cultivo do arroz IAC 165 . Primeiro experimento.

Atividade enzimática	Parte analisada	Cr	Zn	Ni
	Folhas			
Atividade da catalase		NS	NS	0,47*
	Raízes			
Atividade da guaiacol peroxidase		NS	0,58**	NS
Atividade da catalase		0,82***	-0,55**	0,78***

***, **, * e [NS], significativo ao teste F a 1%, 5%, 10% e não significativo, respectivamente.

Outra explicação para o aumento da CAT no tratamento Fertilizante Cu 3 pode ser devido ao Cr. Observa-se na Tabela 36, correlação positiva entre Cr e atividade da CAT para raiz. O maior teor de Cr na raiz (8,2 mg kg^{-1}, dados não apresentados) foi encontrado neste tratamento, entretanto, não aconteceu de Cr nas folhas. Malavolta (2006) relata que o Cr é pouco translocado para parte aérea, podendo as plantas sob toxidez do elemento apresentar teores foliares semelhantes. A CAT contém Fe em sua estrutura, a correlação positiva entre Cr e atividade da CAT pode ser devido ao aumento da disponibilidade do Fe pelo Cr (BONET; POSCHENRIEDER; BARCELO, 1991).

Apesar da atividade da GOPX em raiz ser menor no tratamento Mistura p.a. Cu 3, não foi encontrada correlação negativa entre a atividade da enzima e o teor de micronutrientes ou metais pesados tóxicos na raiz. Por outro lado, o teor de zinco na raiz apresentou correlação positiva com a atividade da GOPX. Provavelmente porque o Zn aumenta a síntese de triptofano, o qual leva a formação do AIA (MALAVOLTA, 2006), que por sua vez pode ser decomposto pela GOPX e assim aumentar sua atividade.

A dismutase de superóxido (SOD) é a primeira enzima a atuar na degradação das espécies ativas de oxigênio. Ela transforma superóxidos ($O_2^{\bullet-}$) em H_2O_2 e O_2. Em seguida a CAT converte a H_2O_2 em água e O_2. O micronutrientes Fe, Cu e Zn são componentes das SODs. Tanto a deficiência de micronutrientes quanto a toxidez por metais pesados afetam a atividade da SOD.

Perfil de isoenzimas SOD (Figura 5) mostra maior atividade da SOD nas amostras de folhas (1F a 5F). O resultado é coerente com a função da SOD na folhas, onde é requerida maior atividade desta enzima para eliminar os radicais superóxidos gerados no ciclo água – água durante a fotossíntese. Portanto, o perfil de isoenzimas demonstra não haver estresses por metais pesados tóxicos nas raízes, uma vez que a atividade apresenta-se maior nas folhas.

Os resultados da atividade de enzimas (CAT e GOPX) concordam com os teores de metais pesados nos fertilizantes. O fertilizante fonte de Cu contém os maiores teores de Cr (400 mg kg^{-1}) e de Ni (350 mg kg^{-1}).

As enzimas antioxidativas parecem ser bastante sensíveis aos metais pesados tóxicos, podendo ser um bom indicador para avaliar a transferência de metais pesados no sistema solo-planta. Silva (1994) avaliando o efeito da calagem e formas de aplicação de fósforo sobre a transferência Cd, Pb e Zn para plantas de milho, relata que a presença dos metais pesados nos fertilizantes contribuiu para a elevação da atividade da enzima peroxidase no tecido foliar.

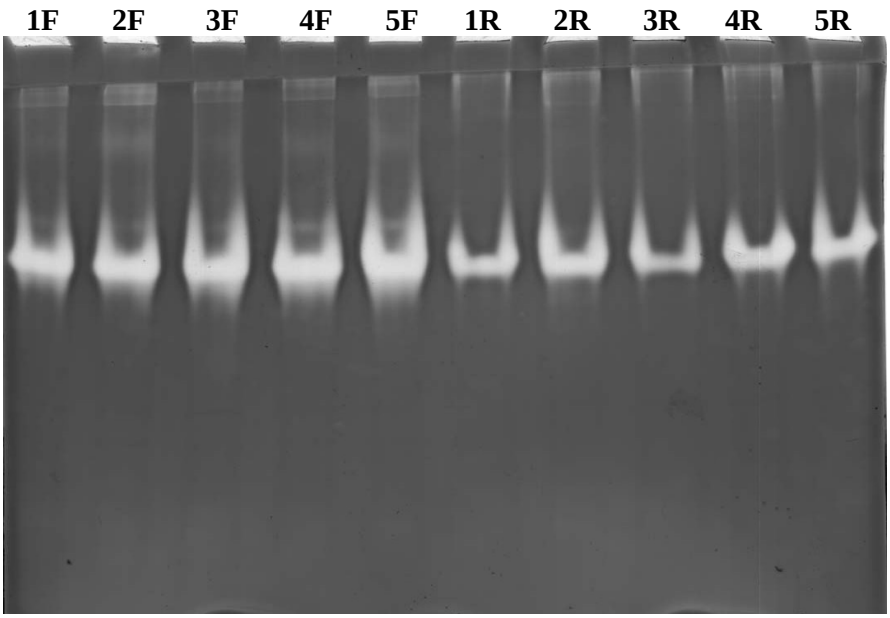

Figura 5. Perfil de isoenzimas SOD de folhas (F) e raízes (R) de alface em resposta as fontes de micronutrientes adicionadas para o cultivo do arroz IAC 165. Primeiro experimento. Os números e letras indicam os tratamentos: 1 = Testemunha, 2 = Fertilizante Cu, 3 = Mistura p.a. Cu, 4 = Fertilizante Zn, Mistura p.a. Zn. Doses: Cu - 3 mg dm^{-3} e Zn - 6 mg dm^{-3}.

Os limites para metais na maioria dos casos são definidos em função do teor total e seu efeito na absorção pelas plantas. Entretanto, a microbiota pode ser mais sensível à toxicidade por metais pesados que as plantas, e, para um controle mais efetivo da poluição do solo, sugere-se também a utilização de indicadores microbiológicos, tais como: respiração, biomassa e atividade de enzimas (MELLONI et al., 2001; NIELSEN; WINDING, 2002).

Quanto aos indicadores microbiológicos de qualidade do solo, as maiores taxas de respiração microbiana ocorreram nos tratamentos com fontes de Zn e também na testemunha. Da mesma forma, os maiores valores de C_{mic} foram obtidos pela aplicação das mais altas doses das fontes de Zn, enquanto a testemunha produziu a menor quantidade de C_{mic} (Tabela 37). Isto sugere uma resposta da aplicação da fonte de Zn sobre a microbiota da rizosfera da alface. O maior valor de qCO_2 do tratamento testemunha pode indicar que houve alguma condição de estresse no solo rizosférico, talvez devido à fisiologia da planta que pode ter respondido diferente à baixa disponibilidade de Zn no solo.

Nas condições estudas parece não ter ocorrido impacto negativo dos metais pesados potencialmente tóxicos na microbiota do solo. Não foi observada nenhuma influência da

adição de metais pesados tóxicos via fertilizantes sobre os indicadores microbiológicos. Entretanto, para uma análise mais segura devem ser considerados os teores de metais na parte comestível da alface e também o efeito a longo-prazo de sucessivas adições.

O Zn é essencial para numerosos processos bioquímicos, tanto para plantas como para microrganismos, participando de várias enzimas e da síntese de nucleotídeos. Os maiores valores de qCO_2 encontrados na testemunha provavelmente foram devido ao baixo teor de Zn, uma vez que o solo foi corrigido visando uma saturação por bases de 80%, o que diminuiu a sua disponibilidade. Esses resultados concordam, em parte, com o estudo de Melloni et al. (2001) que observaram aumento da biomassa microbiana até um máximo de 363 µg g^{-1} de C, devido à adição de pó de forno de aciaria como fonte de Zn para a soja cultivada em um Latossolo Vermelho, com alto teor de argila e médio teor de matéria orgânica.

Tabela 37 - Alterações nos indicadores microbiológicos de qualidade do solo em resposta as fontes de micronutrientes adicionadas para o cultivo do arroz IAC 165. Primeiro experimento.

Tratamentos	Respiração	Biomassa	qCO_2[(1)]	Desidrog.	Protease
	µg CO_2 g^{-1} dia^{-1}	µg C g^{-1}	ng CO_2/µg C_{mic} g^{-1} h^{-1}	mg H g^{-1}	mg tyr g^{-1} h^{-1}
Testemunha	32,8ab	88d	186a	3,04ab	309
Subprod. Cu 2	28,2b	137cd	88bcd	3,07ab	318
Subprod. Cu 4	26,6b	90d	130b	2,73ab	332
Fertilizante Cu 3	31,4ab	119cd	111bc	2,67ab	324
Mistura p.a. Cu 3	29,5ab	146c	86bcd	2,50ab	327
Subprod. Zn 4	31,4ab	117cd	124b	2,27b	346
Subprod. Zn 8	36,0a	297a	51d	2,74ab	283
Fertilizante Zn 6	32,6ab	222b	62cd	2,38ab	292
Mistura p.a. Zn 6	32,0ab	232b	62cd	3,19a	337

[(1)] qCO2: quociente metabólico; Médias com letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade; Os números à frente de cada fonte referem-se às doses de Cu e Zn adicionadas.

4.2 ESTUDO 2: Variação genotípica quanto ao de micronutrientes e de cádmio em cultivares de arroz de terras altas

Foram observadas diferenças marcantes tanto no rendimento de massa seca de plantas jovens e de grãos quanto aos acúmulos e teores de Cd, Fe, Zn e Se nas mesmas (Tabelas 38 a 41). No presente estudo, os teores médios de micronutrientes e de Cd nos grãos variaram de: Cd, 0,17 - 1,76 mg kg^{-1}; Fe, 14,5 - 31,4 mg kg^{-1}; Zn, 24,4 - 45,1 mg kg^{-1} e Se, 15 - 122 µg kg^{-1}. Tais resultados demonstram uma ampla variação genotípica entre os cultivares estudados, sendo os resultados similares aos relatados pela literatura (GREGORIO et al., 2000; ARAO; AE, 2003; BASSINELO et al., 2006; ZHANG et al., 2006).

O aumento da produção de massa seca pode influenciar os teores dos elementos na parte aérea e grãos devido ao chamado "efeito de diluição", bastante conhecido na avaliação do estado nutricional das plantas (JARRELL; BEVERLY, 1981). Desta forma, recentemente tem sido relatado que o melhoramento genético vegetal voltado para ganho em produtividade pode estar ocasionando a redução da concentração de micronutrientes nos grãos de trigo ao longo do tempo (GARVIN; WELCH; FINLEY, 2006; MURPHY; REEVES; JONES, 2008).

Os resultados do presente estudo concordam em parte com a questão levantada por Garvin, Welch e Finley (2006). De fato, os teores dos micronutrientes Fe, Zn e Se apresentaram relação inversa ao rendimento de grãos (Tabelas 38 a 41) que, em geral, foram maiores nos cultivares antigas. Por outro lado, para o Cd, houve comportamento inverso, o rendimento de grãos correlacionou-se positivamente com os teores de Cd nos grãos e os cultivares modernos mostraram os maiores teores. Liu et al. (2005) observaram o mesmo padrão de aumento dos teores de Cd em grãos devido as maiores produções de grãos, embora os resultados encontrados por esses autores devam ser vistos com ressalva, pois as plantas de arroz foram cultivadas em solo contendo alto valor de Cd (100 mg kg^{-1})

Foi notória a relação negativa entre teor de Cd e de teores de Fe, Zn e Se nos grãos de arroz (Tabela 38). Estes resultados corroboram as observações, de campo, de que as plantas apresentariam, mecanismos para evitar a translocação de metais pesados tóxicos para grãos (KUBOTA; WELCH; CAMPEN, 1992). Por outro lado, discordam de Liu et al. (2003), que relatam interações sinérgicas do Cd com Fe, Zn e Cu, na absorção radicular e translocação para a parte aérea de arroz. Todavia, ressalta-se novamente que Liu et al. (2003) aplicaram elevada dose de Cd (100 mg kg^{-1} de solo), condição raramente encontrada em solos agrícolas.

Arao e Ishikawa (2006) observaram que somente quando ocorrem teores moderados de Cd no solo é que foram encontradas correlações positivas entre teor de Cd e de micronutrientes no arroz. Fato que não aconteceu para a soja. Outros estudos parecem não confirmar que há relação entre teor de cádmio e de micronutrientes, uma vez que, o gene alelo que regula o teor de Cd parece ser específico, não alterando os teores de outros elementos ou características econômicas (CLARKE et al., 2002; HART et al., 2006).

A característica de relação inversa entre teores de Cd e de micronutrientes nos grãos do arroz pode ser muito útil em programas de melhoramento vegetal, permitindo-se ao mesmo tempo selecionar plantas que apresentem maiores teores de micronutrientes e menos teores de Cd. Outro aspecto importante, entretanto observado apenas para Cd e Se, foi à correlação entre seus teores ou acúmulos nas plantas jovens e seus teores nos grãos (Tabelas 38 e 41). Desta forma, no caso do arroz de terras altas, pode-se aventar que seria possível fazer a seleção de genótipos objetivando menores teores de Cd e maiores de Se.

Vários fatores podem influenciar os teores de Fe e Zn nos grãos de arroz, entretanto, segundo Gregorio et al. (2000), é possível selecionar cultivares para maiores teores de minerais e também maiores rendimentos.

Tabela 38 - Produção, teor e acúmulo de cádmio em plantas jovens e grãos de arroz de terras altas e suas relações com os teores de ferro, selênio e zinco nos grãos.

Cultivares[(1)]	Massa seca		Cd Planta jovem		Cd Grãos	
	Pl. jovem	Grãos	Teor	Acum.	Teor	Acum.
	g/planta	g/vaso	mg kg^{-1}	µg/planta	mg kg^{-1}	µg/vaso
IAC 4440	2,1	24,0	5,8	12	1,76	42,3
PB 11	2,6	13,7	7,7	20	1,54	21,1
PB 05	2,7	21,8	8,0	21	1,53	33,5
BRSMG Relâmpago	2,5	11,5	9,1	23	1,23	14,1
BRSMG Caravera	2,1	15,9	7,6	16	1,21	19,2
BRSMG Curinga	2,4	17,3	4,0	10	1,04	18,0
Pérola	3,0	1,5	5,8	17	1,03	1,6
Bonança	1,9	13,0	8,7	16	0,95	12,3
Jaguari	3,3	1,7	3,9	12	0,93	1,6
Primavera	2,2	5,5	8,2	18	0,79	4,3
IAC 201	2,8	9,6	3,7	10	0,74	7,0
IAC 600	2,9	1,6	3,1	9	0,67	1,1
Gurani	2,1	11,9	4,7	10	0,65	7,8
Caiapó	2,3	9,3	3,1	7	0,61	5,7
Bico ganga	2,1	8,4	5,1	11	0,59	5,0
IAC 435	3,1	1,8	4,4	14	0,55	0,9
BRS Talento	1,6	12,9	4,6	7	0,53	6,9
Canastra	2,3	7,1	7,5	17	0,53	3,8
PB 01	2,9	16,0	8,4	24	0,53	8,5
Arroz preto	1,7	9,1	7,5	13	0,50	4,6
IAC 165	2,5	7,0	4,0	10	0,49	3,4
BRSMG Conai	2,2	13,2	5,2	11	0,48	6,3
Carajás	2,6	12,3	5,2	13	0,48	5,9
IAC 47	2,7	6,6	3,4	9	0,46	3,0
IAC 202	2,4	11,3	3,9	9	0,42	4,7
Pratão	2,6	1,7	5,2	14	0,38	0,3
Beira campo	1,8	13,4	5,7	10	0,36	4,8
Maravilha	2,2	6,4	5,2	11	0,32	2,1
IAC 25	2,5	9,2	3,5	9	0,32	2,9
Batatais	2,3	1,0	3,9	9	0,31	0,3
Dourado precoce	2,3	2,6	6,1	14	0,30	0,8
IAC 4	2,1	2,4	5,0	11	0,29	0,7
Cateto	2,9	2,4	4,7	13	0,28	0,7
IAC 1246	2,5	8,2	4,3	10	0,19	1,6
Cateto seda	2,3	6,9	6,9	16	0,17	1,2
DMS (Tukey 5%)	*1,2*	*7,9*	*2,6*	*9*	*0,13*	*7,2*
		Correlações				
Teor de Cd nos grãos	0,07^{NS}	0,56***	0,39***	0,41***	-	0,85***
Teor de Fe nos grãos	-0,05^{NS}	-0,34***	-0,28***	-0,32***	-0,28***	-0,30***
Teor de Se nos grãos	-0,05^{NS}	-0,31***	-0,35***	-0,37***	-0,39***	-0,32***
Teor de Zn nos grãos	-0,09^{NS}	-0,40***	-0,14^{NS}	-0,22**	-0,47***	-0,50***

[(1)]Doses fornecidas antes do cultivo: Zn = 3,0 mg dm^{-3}; Cd = 1,0 mg dm^{-3} e Se = 0,1 mg dm^{-3}.

Tabela 39 - Produção, teor e acúmulo de ferro em plantas jovens e grãos de arroz de terras altas e suas relações com os teores de cádmio, selênio e zinco nos grãos.

Cultivares[(1)]	Massa seca		Fe Planta jovem		Fe Grãos	
	Pl. jovem	Grãos	Teor	Acum.	Teor	Acum.
	g/planta	g/vaso	mg kg^{-1}	µg/planta	mg kg^{-1}	µg/vaso
IAC 4440	2,1	24,0	108	223	20,5	494
PB 11	2,6	13,7	151	388	15,8	214
PB 05	2,7	21,8	94	250	15,8	344
BRSMG Relâmpago	2,5	11,5	88	223	19,3	222
BRSMG Caravera	2,1	15,9	108	230	21,3	336
BRSMG Curinga	2,4	17,3	76	183	31,3	539
Pérola	3,0	1,5	75	224	25,0	39
Bonança	1,9	13,0	84	158	15,9	207
Jaguari	3,3	1,7	72	233	25,1	43
Primavera	2,2	5,5	106	232	21,4	116
IAC 201	2,8	9,6	74	210	29,7	282
IAC 600	2,9	1,6	80	230	23,5	39
Gurani	2,1	11,9	94	199	16,9	201
Caiapó	2,3	9,3	49	113	18,3	169
Bico ganga	2,1	8,4	106	217	25,2	213
IAC 435	3,1	1,8	71	220	23,0	39
BRS Talento	1,6	12,9	92	145	31,0	401
Canastra	2,3	7,1	77	176	25,7	187
PB 01	2,9	16,0	95	268	15,2	244
Arroz preto	1,7	9,1	137	235	27,5	251
IAC 165	2,5	7,0	64	157	25,6	179
BRSMG Conai	2,2	13,2	83	178	15,9	211
Carajás	2,6	12,3	80	203	14,5	174
IAC 47	2,7	6,6	62	164	23,3	151
IAC 202	2,4	11,3	69	169	21,1	239
Pratão	2,6	1,7	78	206	22,6	17
Beira campo	1,8	13,4	78	142	19,2	257
Maravilha	2,2	6,4	86	188	17,1	114
IAC 25	2,5	9,2	66	167	21,7	198
Batatais	2,3	1,0	78	180	26,0	25
Dourado precoce	2,3	2,6	95	219	31,3	80
IAC 4	2,1	2,4	79	169	25,1	58
Cateto	2,9	2,4	76	217	20,2	48
IAC 1246	2,5	8,2	73	178	29,1	236
Cateto seda	2,3	6,9	106	244	31,4	221
DMS (Tukey 5%)	*1,2*	*7,9*	*44*	*135*	*5,2*	*181*
		Correlações				
Teor de Cd nos grãos	0,07^{NS}	0,56***	0,35***	0,39***	-0,28***	0,44***
Teor de Fe nos grãos	-0,05^{NS}	-0,34***	-0,05^{NS}	-0,12^{NS}	-	0,08^{NS}
Teor de Se nos grãos	-0,05^{NS}	-0,31***	-0,24**	-0,26***	0,52***	-0,11^{NS}
Teor de Zn nos grãos	-0,09^{NS}	-0,40***	-0,22**	-0,28**	0,31***	-0,28***

[(1)]Doses fornecidas antes do cultivo: Zn = 3,0 mg dm^{-3}; Cd = 1,0 mg dm^{-3} e Se = 0,1 mg dm^{-3}.

Tabela 40 - Produção, teor e acúmulo de zinco em plantas jovens e grãos de arroz de terras altas e suas relações com os teores de cádmio, ferro e selênio nos grãos.

Cultivares[(1)]	Massa seca		Zn Planta jovem		Zn Grãos	
	Pl. jovem	Grãos	Teor	Acum.	Teor	Acum.
	g/planta	g/vaso	mg kg^{-1}	µg/planta	mg kg^{-1}	µg/vaso
IAC 4440	2,1	24,0	69	139	24,4	588
PB 11	2,6	13,7	85	218	25,2	338
PB 05	2,7	21,8	90	243	36,0	790
BRSMG Relâmpago	2,5	11,5	84	211	32,9	377
BRSMG Caravera	2,1	15,9	73	157	25,4	404
BRSMG Curinga	2,4	17,3	75	184	36,6	632
Pérola	3,0	1,5	73	220	34,2	52
Bonança	1,9	13,0	110	207	37,2	483
Jaguari	3,3	1,7	62	201	44,7	72
Primavera	2,2	5,5	100	212	45,1	247
IAC 201	2,8	9,6	70	194	33,5	320
IAC 600	2,9	1,6	70	199	39,0	63
Gurani	2,1	11,9	84	181	37,7	449
Caiapó	2,3	9,3	52	119	43,2	396
Bico ganga	2,1	8,4	84	175	43,8	367
IAC 435	3,1	1,8	72	225	25,7	49
BRS Talento	1,6	12,9	72	113	34,8	449
Canastra	2,3	7,1	78	174	43,3	313
PB 01	2,9	16,0	78	219	30,0	480
Arroz preto	1,7	9,1	107	184	42,3	381
IAC 165	2,5	7,0	71	176	39,5	276
BRSMG Conai	2,2	13,2	59	128	34,1	452
Carajás	2,6	12,3	76	194	32,1	399
IAC 47	2,7	6,6	56	148	41,1	262
IAC 202	2,4	11,3	87	214	34,3	384
Pratão	2,6	1,7	75	198	41,6	31
Beira campo	1,8	13,4	85	155	40,4	541
Maravilha	2,2	6,4	64	142	37,6	246
IAC 25	2,5	9,2	53	134	37,5	343
Batatais	2,3	1,0	57	129	29,6	29
Dourado precoce	2,3	2,6	74	171	44,5	114
IAC 4	2,1	2,4	72	152	39,3	93
Cateto	2,9	2,4	77	222	40,6	97
IAC 1246	2,5	8,2	69	169	42,6	353
Cateto seda	2,3	6,9	95	220	39,5	278
DMS (Tukey 5%)	*1,2*	*7,9*	*35*	*111*	*6,5*	*301*
		Correlações				
Teor de Cd nos grãos	0,07^{NS}	0,56***	0,16*	0,19*	-0,47***	0,41***
Teor de Fe nos grãos	-0,05^{NS}	-0,34***	-0,06^{NS}	-0,11^{NS}	0,31***	-0,27***
Teor de Se nos grãos	-0,05^{NS}	-0,31***	-0,14^{NS}	-0,15^{NS}	0,28***	-0,25**
Teor de Zn nos grãos	-0,09^{NS}	-0,40***	0,09^{NS}	-0,02^{NS}	-	-0,16^{NS}

[(1)]Doses fornecidas antes do cultivo: Zn = 3,0 mg dm^{-3}; Cd = 1,0 mg dm^{-3} e Se = 0,1 mg dm^{-3}.

Tabela 41 - Produção, teor e acúmulo de selênio em plantas jovens e grãos de arroz de terras altas e suas relações com os teores de cádmio, ferro e zinco nos grãos.

Cultivares[(1)]	Massa seca		Se Planta jovem		Se Grãos	
	Pl. jovem	Grãos	Teor	Acum.	Teor	Acum.
	g/planta	g/vaso	µg kg^{-1}	ng/planta	µg kg^{-1}	ng/vaso
IAC 4440	2,1	24,0	44	91	57	1370
PB 11	2,6	13,7	16	40	35	479
PB 05	2,7	21,8	< 5	< 14	17	368
BRSMG Relâmpago	2,5	11,5	< 5	< 11	16	178
BRSMG Caravera	2,1	15,9	20	45	15	236
BRSMG Curinga	2,4	17,3	53	130	74	1274
Pérola	3,0	1,5	56	168	64	100
Bonança	1,9	13,0	< 5	< 10	42	542
Jaguari	3,3	1,7	37	119	48	82
Primavera	2,2	5,5	70	153	53	286
IAC 201	2,8	9,6	31	87	61	592
IAC 600	2,9	1,6	34	96	47	76
Gurani	2,1	11,9	21	45	56	669
Caiapó	2,3	9,3	53	119	63	595
Bico ganga	2,1	8,4	< 5	< 11	27	225
IAC 435	3,1	1,8	65	203	63	116
BRS Talento	1,6	12,9	13	20	55	714
Canastra	2,3	7,1	< 5	< 12	73	526
PB 01	2,9	16,0	< 5	<15	17	264
Arroz preto	1,7	9,1	14	24	47	422
IAC 165	2,5	7,0	45	111	58	409
BRSMG Conai	2,2	13,2	7	16	40	528
Carajás	2,6	12,3	18	45	56	698
IAC 47	2,7	6,6	36	98	44	297
IAC 202	2,4	11,3	76	182	63	707
Pratão	2,6	1,7	53	140	39	29
Beira campo	1,8	13,4	< 5	< 9	36	487
Maravilha	2,2	6,4	30	65	42	270
IAC 25	2,5	9,2	35	89	48	450
Batatais	2,3	1,0	37	86	49	49
Dourado precoce	2,3	2,6	89	205	85	216
IAC 4	2,1	2,4	38	81	122	286
Cateto	2,9	2,4	40	116	40	99
IAC 1246	2,5	8,2	24	59	115	941
Cateto seda	2,3	6,9	< 5	< 12	71	484
DMS (Tukey 5%)	*1,2*	*7,9*	*14*	*57*	*15*	*497*
		Correlações				
Teor de Cd nos grãos	0,07^{NS}	0,56***	-0,11^{NS}	-0,10^{NS}	-0,39***	0,23**
Teor de Fe nos grãos	-0,05^{NS}	-0,34***	0,27***	0,25***	0,52***	0,07^{NS}
Teor de Se nos grãos	-0,05^{NS}	-0,31***	0,40***	0,35***	-	0,32***
Teor de Zn nos grãos	-0,09^{NS}	-0,40***	0,11^{NS}	0,07^{NS}	0,28***	-0,15^{NS}

[(1)]Doses fornecidas antes do cultivo: Zn = 3,0 mg dm^{-3}; Cd = 1,0 mg dm^{-3} e Se = 0,1 mg dm^{-3}.

Na Figura 6, são ilustrados os resultados de variação geotípica quanto ao teor de Cd nos grãos do arroz de terras altas. Vale destacar que os cultivares IAC 165 e BRSMG Conai, utilizados nos experimentos sobre absorção de metais pesados tóxicos adiconados aos solos via fertilizantes (item 3.1.2.4 e 3.1.3.4), podem ser considerados de média capacidade de absorção e translocação de Cd. Esses cultivares, nas condições deste estudo, devido ao teor de Cd nos grãos acima de 0,4 mg kg^{-1} não poderiam ser utilizadas para o consumo humano segundo CODEX (2004). Por outro lado, como o teor de Cd é menor que 1 mg kg^{-1}, ainda estaria permitido o consumo pela legislação brasileira sobre contaminantes em alimentos (ANVISA, 1965). Estes dados demostram que a característica do cultivar em absorver mais ou menos Cd, deve ser considerada em estudos sobre avaliações de rico e potencial de contaminação de produtos agrícolas por metais pesados tóxicos.

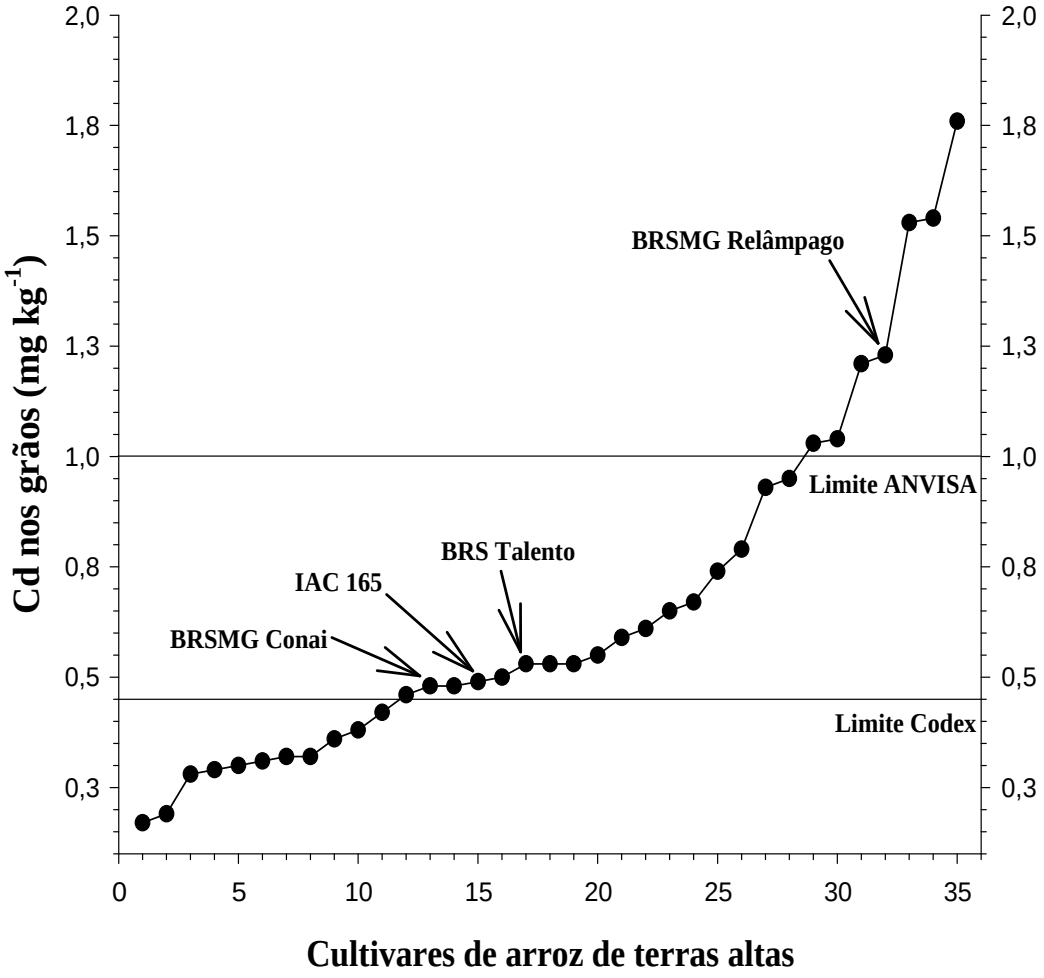

Figura 6. Variação genotípica entre 35 cultivares de arroz de terras altas em relação à concentração de cádmio nos grãos. Dose de Cd adicionada = 1,0 mg dm^{-3}.

4.3 ESTUDO 3: Influência genotípica e do estado nutricional na absorção e no teor de Cd e ^{70}Zn em grãos de dois cultivares de arroz de terras altas

Os resultados da Tabela 42 demonstram que houve alteração significativa da distribuição da matéria seca nos cultivares BRS Talento e BRSMG Relâmpago quando crescidas em condição de deficiêcia de e Zn. A relação raiz:parte aérea:grãos também foi fortemente alterada em função dos tratamentos.

Observou-se que há algum tipo de interação entre estado nutricional e genótipo. Isso pode ser verificado pelas diferenças nas quantidades de Cd e ^{70}Zn acumulados nos grãos em cada fase de cresciomento do arroz (Tabela 43) e, também, por meio das diferenças nos teores de Cd nos grãos do arrroz.

O cultivar BRSMG Relâmpago apresenta as características de superprecocidade e maior teor de Cd nos grãos (Figura 6). Esse cultivar foi muito influenciado pela deficiência de Zn, que promoveu um aumento expressivo no teor de Cd nos grãos. Por outro lado, para o cultivar BRS Talento, a deficiência de P é que resultou em grande aumento no teor de Cd. Nota-se que foi diferente entre os cultivares, a fase de desenvolvimento que mais contribuiu para o acúmulo de Cd nos grãos (Tabela 43). Também parece não haver efeito do tamanho do ciclo da cultura sobre a acumulação de Cd, pois houve condições em que o cultivar BRSMG relâmpago, de ciclo curto, acumulou mais Cd nos grãos.

Tabela 42 - Produção de massa seca e de grãos, teor e acúmulo de cádmio e zinco em grãos de dois cultivares de arroz de terras altas crescidos em três soluções nutritivas.

Tratamentos[1]	Massa seca			Cádmio		Zinco	
	Raiz	Parte aérea	Grãos	Teor	Acum.	Teor	Acum.
	g/planta			µg kg^{-1}	ng/planta	mg kg^{-1}	µg/planta
			BRSMG Relâmpago				
Completa	5,4aB	38,9aB	32,7aA	90bA	2743bA	31aA	1015aA
Deficiente em P	1,9bB	2,7bB	1,1cA	72bB	87cB	28bB	31bB
Deficiente em Zn	5,6aA	33,5aA	22,0bA	304aA	5830aA	17cA	363cA
			BRS Talento				
Completa	6,2aA	68,7aA	22,1aA	51bA	1591aA	27bA	514aB
Deficiente em P	2,8cA	5,2cA	1,6bA	870aA	1244aA	34aA	55bA
Deficiente em Zn	5,3bA	33,2bA	8,9bB	87bB	483bB	10cB	91bB

[1] Os resultados de massa seca e de teores e acúmulo de Zn são provenientes da análise de 12 plantas e os resultados de cádmio, de quatro plantas; Médias nas colunas seguidas de mesma letra, minúsculas dentro de cultivar e maiúsculas entre cultivares, não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Tabela 43 - Valores percentuais de cádmio e zinco acumulados nos grãos em cada fase de desenvolvimento de dois cultivares de arroz de terras altas crescidos em três soluções nutritivas.

Tratamentos	% do Cd acumulado nos grãos			% do Zn acumulado nos grãos[1]		
	Vegetat.	Reprod.	Matur.	Vegetat.	Reprod.	Matur.
			BRSMG Relâmpago			
Completa	32	47	21	25	31	44
Deficiente em P	16	63	21	66	17	17
Deficiente em Zn	44	27	28	29	29	42
			BRS Talento			
Completa	60	19	21	62	7	31
Deficiente em P	44	3	53	25	35	40
Deficiente em Zn	28	43	29	26	18	56

[1] Calculado por meio da quantidade de ^{70}Zn acumulada nos grãos durante o crescimento do arroz.

É importante destacar que o cultivo de plantas em solução nutritiva, devido as mudanças na disponibilidade de nutrientes e das condições de rizosfera, pode não refletir o mesmo que acontece nas condições de solo. Segundo Arao e Ae (2003) e Arao e Ishikawa (2006), o cultivo em solução nutritiva não apresentou correlação com as condições de solo, para o teor de Cd em grãos de arroz de terras altas.

O maior teor de Cd nos grãos do cultivar BRSMG Relâpago quando com deficiência de Zn (Tabela 42), poderia ser explicado pela substituição do Zn pelo Cd. O zinco é quimicamente semelhante ao cádmio e pode substituí-lo em várias reações metabólicas ou competir pelos mesmos sítios de absorção (HONMA; HIRATA, 1978; WELCH; NORVELL, 1999; HART et al., 2002).

Para o cultivar BRS Talento, o aumento do Cd nos grãos ocorreu de forma muito acentuada na deficiência de P, talvez devido à grande quantidade de raízes produzidas ou por meio de algum outro mecanismo ainda desconhecido. As fitoquelatinas são compostos produzidos pelas plantas para “sequestrar” metais pesados e armazená-los nos vacúolos das células, diminuindo a toxidez direta do metal e também a sua translocação nas plantas (MEUWLY et al., 1995; NASCIMENTO; FONTES; CAMBRAIA, 1997). Pode-se aventar que a deficiência de P, por interferir no metabolismo mineral, possa inativar a síntese de compostos relacionados ao transporte de Cd (por exemplo, as fitoquelatinas) e, assim, permitir maior transporte de Cd para os grãos de arroz.

Existem várias barreiras ao acúmulo de micronutrientes e metais pesados tóxicos nas partes cometíveis que precisam ser melhor compreendidas. Estas barreiras são consequências do refinamento dos mecanismos homeostáticos que regulam a absorção, translocação e redistribuição de metais em plantas, permitindo teores em níveis adequados e, ou, não-tóxicos de nutrientes ou de metais pesados tóxicos nos tecidos vegetais. (WELCH, 1995; WELCH; GRAHAM, 2004).

Os fatores que afetam a absorção radicular, transporte para a parte aérea e redistribuição podem estar relacionados à mecanismos de interações entre a planta e o ambiente e à adaptação das espécies vegetais ao meio. Sabe-se que a seleção genética para aumentar ou decrescer a absorção de um íon pode favorecer outros íons, pois, um gene ou grupo de genes controla a absorção de um ou mais íons (McLAUGHLIN; PARKER; CLARKE, 1999).

A exsudação de ácidos orgânicos e, ou, fitometalóforos pode aumentar a disponibilidade de micronutrientes e, também, de metais pesados tóxicos (WELCH, 1995; WELCH; NORVELL, 1999; SHENKER; FAN; CROWLEY, 2001; REICHMAN; PARKER,

2005). Neste sentido, Mench e Fargues (1994) observaram que variedades de aveia eficientes na absorção de Fe também apresentavam maiores teores de Cd, Cu, Pb, Mn, Ni e Zn. Provavelmente, devido à exsudação de fitosideróforos e de ácidos orgânicos. Porém, Oliver et al. (1996) relataram que variedades de trigo eficientes na absorção de Zn apresentaram baixos teores de Cd. Entretanto, a mesma relação não foi observada para cevada.

A variação genotípica na nutrição mineral de plantas não é assunto novo. Desde 1926, Harvey (1939) relata observações da interação genótipo e nível de fertilidade do solo. Esse tipo de estudo somente foi retomado no início dos anos 70, buscando-se genótipos tolerantes ao excesso de Mn em solos ácidos e, também, plantas que absorvessem menos metais pesados tóxicos em áreas tratadas com lodo de esgoto (FOY; FLEMING; ARMIGER, 1969; BINGHAM et al., 1975). Não obstante aos recentes trabalhos na área molecular e de expressão de genes terem elucidado muitos dos fatores que regulam absorção, transportadores de metais pesados (Nramp e ZIP) e suas redistribuições nas plantas (KOCHIAN, 2000; EPSTEIN; BLOOM, 2005), não se sabe ao certo ainda se cultivares eficientes para crescer em solos pobres, podem de fato facilitar a mobilização e absorção de metais pesados tóxicos.

5 CONCLUSÕES

Os métodos de extração usando sistema micro-ondas são mais eficientes para análise de nutrientes e de metais pesados em fertilizantes. Porém, se adotado o uso de reagentes e água de alta pureza, pode-se usar também métodos de extração em sistema aberto com boa confiabilidade.

A quantificação de micronutrientes e metais pesados tóxicos, utilizando ICP-MS e ICP-AES produzem resultados semelhantes quanto a análise de amostras de fertilizantes; porém, para análise de do teor natural de Cd, Cr e Pb em amostras de grãos, apenas a quantificação por ICP-MS foi adequada.

Há pouco ou nenhum incremento na produção devido à fertilização quando os teores de nutrientes nos solos estão na faixa considerada média. Entretanto, o aumento dos teores de nutrientes no solo em função da fertilização, pode melhorar a qualidade dos produtos agrícolas pelo incremento dos teores de nutrientes.

Nas condições deste trabalho, tanto os subprodutos e rocha fosfática quanto os fertilizantes foram capazes de fornecer nutrientes às plantas, sem causar aumento excessivo de metais pesados tóxicos nos solos e nos produtos agrícolas.

Apenas uma parte dos metais pesados tóxicos adicionados aos solos por meio dos fertilizantes fica disponível de imediato para as plantas. A solubilidade dos metais pesados nos fertilizantes depende do grau de acidulação dos mesmos.

Dependendo da fonte de nutriente e dose, mesmo que o teor disponível de um metal pesado tóxico aumente no solo devido à fertilização, o teor no produto agrícola pode não aumentar ou até diminuir devido aos mecanismos de imobilização ou de competição entre nutriente e metal pesado tóxico.

Nas condições deste estudo, os indicadores microbiológicos do solo e as atividades enzimáticas em plantas de alface reagiram positivamente à fertilização e não apresentaram influência dos metais pesados tóxicos contidos nos fertilizantes.

Foram identificadas variedades de arroz de terras altas com baixo e alto teor de Cd nos grãos, sendo que os teores de Fe, Zn e Se apresentaram relação inversa com o teor de Cd. Somente para Cd e Se é que houve relação positiva entre teores na planta jovem e nos grãos de arroz.

Observou-se interação entre estado nutricional da planta e genótipo no teor de Cd em grãos de arroz de terras altas cultivado em solução nutritiva.

REFERÊNCIAS

ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; ANDRADE, J.C. Determinação de cobre, ferro, manganês, zinco, cádmio, cromo, níquel e chumbo em solos usando a solução de DTPA em pH 7,3. In: RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (Ed.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. cap.16, p.240-250.

ABREU, C.A.; RAIJ, B. van.; ABREU, M.F.; GONZÁLEZ, A.P. Routine soil testing monitor heavy metals and boron. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.62, n.6, p.564-571, 2005.

ADRIANO, D.C. **Trace elements in terrestrial environments**: biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals. 2.ed. Springer: New York, 2001. 866p.

ALEF, K.; NANNIPIERI, P. Protease activities. In: _____. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. New York: Academic Press, 1995. cap.7, p.313-315.

ALLEN, L.; BENOIST, B.; DARY, O.; HURRELL, R. **Guidelines on food fortification with micronutrients**. Geneva: WHO/FAO, 2006. 341p.

ALLOWAY, B.J. **Heavy metals in soils**. 2.ed. London: Blackie Academic & Professional, 1995. 368p.

Al-SALEH, I.; SHINWARI, N. Report on the levels of cadmium, lead, and mercury in imported rice grain samples. **Biological Trace Element Research**, Totowa, v.83, n.1, p.91-96, 2001.

ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO_2 (qCO_2) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.25, n.3, p.393-395, 1993.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto Nº 55871, de 26 de março de 1965. Referente a normas reguladoras do emprêgo de aditivos para alimentos e determina limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos que podem ser encontrados nos alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 09 de abril de 1965. Seção 1, p.3612-3222.

ARAO, T.; AE, N. Genotypic variations in cadmium levels of rice grain. **Soil Science and Plant Nutrition,** Tokyo, v.49, n.4, p.473-479, 2003.

ARAO, T.; ISHIKAWA, S. Genotypic differences in cadmium concentration and distribution of soybean and rice. **JARQ-Japan Agricultural Research Quarterly**, Ibaraki, v.40, n.1, p.21-30, 2006.

ARAÚJO, G.C.L.; GONZALEZ, M.H.; FERREIRA, A.G.; NOGUEIRA, A.R.; NÓBREGA, J.A. Effect of acid concentration on closed-vessel microware-assisted digestion of plant materials. **Spectrochimica Acta Part B**, Oxford, v.57, n.12, p.2121-2132, 2002.

ARMELIN, M.J.A.; TREVIZAM, A.R.; ABREU JUNIOR, C.H.; SAIKI, M. Characterization and phytoavailability evaluation of micronutrients and contaminants in some Brazilian phosphate fertilizers. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Dordrecht, v.278, n.2, p.513-516, 2008.

AYOUB, A.T. Fertilizers and the environment. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v.55, n.2, p.117-121, 1999.

BASSINELO, O.Z.; FONSECA, J.R.; PEREIRA, J.A.; CARVALHO, J.L.V.; NUTTI, M.R.; MORAIS, O.P.; NEVES, P.C.F. Identificação de germoplasma e desenvolvimento de arroz de terras altas com altos teores de ferro e zinco no Brasil. In: REUNIÃO ANUAL DOS COMPONENTES DOS PROGRAMAS DE BIOFORTIFICAÇÃO HARVESTPLUS E AGROSALUD NO BRASIL, 1., 2006, Teresópolis. **Palestras...** Rio de Janeiro: Embrapa Agroindustria de Alimentos, 2006. 1 CD-ROM.

BINGHAM, F.T.; PAGE, A.L.; MAHLER, R.J.; GANJE, T.J. Growth and cadmium accumulation of plants grown on a soil treated with a cadmium-enriched sewage sludge. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.4, n.2, p.207-211, 1975.

BIZARRO, V.G.; MEURER, E.J.; TATSCH, F.R.P. Teor de cádmio em fertilizantes fosfatados comercializados no Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.1, p.247-250, 2008.

BOAVENTURA, G.T.; COZZOLINO, S.M.F. Selenium bioavailability in the regional urban diet of Mato Grosso, Brazil. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, Oxon, v.43, n.4, p.223-229, 1993.

BONET, A.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELO, J. Chromium III-iron interaction in Fe-deficient and Fe-sufficient bean plants. I. growth and nutrient content. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v.14, n.4, p.403-414, 1991.

BOUIS, H.E. Economics of enhanced micronutrient density in food staples. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.66, n.1-2, p.165-173, 1999.

BRADFORD, M.M. Rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v.72, n.1-2, p.248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA Nº 24, de 20 de junho de 2007. Dispõe sobre os métodos analíticos reconhecidos para determinação de metais pesados tóxicos em fertilizantes, corretivos agrícolas, condicionadores do solo e substratos para plantas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 21 de junho de 2007. Seção 1, p.23-23.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA Nº 27, de 05 de junho de 2006. Dispõe sobre as concentrações máximas admitidas para agentes fitotóxicos, patogênicos ao homem, animais e plantas, metais pesados tóxicos, pragas e ervas daninhas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 09 de junho de 2006. Seção 1, p.15-16.

BRESSANI, R. Micronutrient policies for agriculture in Latin America. **Food and Nutrition Bulletin**, Boston, v.21, n.4, p.538-541, 2000.

BROWN, P.H.; WELCH, R.M.; CARY, E.E. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 85, n. 3, p. 801-803, 1987.

CAKMAK, I. Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification? **Plant and Soil**, Dordrecht, v.302, n.1-2, p.1-17, 2008.

CAMARGO, M.S.; ANJOS, A.R.M.; ROSSI, C.; MALAVOLTA, E. Adubação fosfatada e metais pesados em latossolo cultivado com arroz. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.3, p.513-518, 2000.

CAMARGO, O.A.; MONIZ, A.C.; JORGE, J.A.; VALADARES, J.M.A.S. **Métodos de análises química, mineralógica e física de solos do Instituto Agronômico de Campinas**. Campinas: Instituto Agronômico, 1986. 94p. (Boletim Técnico, 106).

CAMPOS, M.L.; SILVA, F.N.; FURTINI NETO, A.E.; GUILHERME, L.R.G.; MARQUES, J.J.; ANTUNES, A.S. Determinação de cádmio, cobre, cromo, níquel, chumbo e zinco em fosfatos de rocha. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.4, p.361-367, 2005.

CAMPOS, V. Trace elements in pesticides. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.34, n.9-10, p.1261-1268, 2003.

CANADA. Agriculture and Agri-Food Canada. **Guidelines to the fertilizers act and regulations**. 2.ed. Ottawa: Plant Health and Production Division, 1996. 98p.

CANTARELLA, H.; FURLANI, P.R. Arroz de sequeiro. In: 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. Campinas: Instituto Agronômico/FUNDAG, 1997. cap.13, p.48-49. (Boletim Técnico, 100).

CANTARELLA, H.; RAIJ, B. van.; CAMARGO, C.E.O. Cereais. In: 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. Campinas: Instituto Agronômico/FUNDAG, 1997. cap.13, p.45-47. (Boletim Técnico, 100).

CAPDEVILA, F.; NADAL, M.; SCHUHMACHER, M.; DOMINGO, J.L. Intake of lead and cadmium from edible vegetables cultivated in Tarragona Province, Spain. **Trace Elements and Electrolytes**, Oberhaching, v.20, n.4, p.256-261, 2003.

CASIDA, L.E.; KLEIN, D.A.; SANTORO, T. Soil dehydrogenase activity. **Soil Science**, Philadelphia, v.98, n.6, p.371-376, 1964.

CEC. Commission of the European Communities. Commission Regulation Nº 466/2001: Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. **Official Journal European Communities**, Aberdeen, L77, p.1-13, 2001.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Decisão de Diretoria Nº 195-2005-E, de 23 de novembro de 2005. Dispõe sobre a aprovação dos Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, SP, 01 de dezembro de 2005. Poder Executivo - Seção I, p.48.

CHEN, F.; DONG, J.; WANG, F.; WU, F.B.; ZHANG, G.P.; LI, G.M.; CHEN, Z.F.; CHEN, J.X.; WEI, K. Identification of barley genotypes with low grain Cd accumulation and its interaction with four microelements. **Chemosphere**, Oxford, v.67, n.10, p.2082-2088, 2007.

CLARKE, J.M.; McCAIG, T.N.; DePAUW, R.M.; KNOX, R.E.; CLARKE, F.R.; FERNANDEZ, M.R.; AMES, N.P. Strongfield durum wheat. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v.85, n.3, p.651-654, 2005.

CLARKE, J.M.; NORVELL, W.A.; CLARKE, F.R.; BUCKLEY, W.T. Concentration of cadmium and other elements in the grain of near-isogenic durum lines. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v.82, n.1, p.27-33, 2002.

CODEX. Session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants, 33., 2001, The Hague. **Report...** Rome: Codex Alimentarius Commission/FAO/WHO, 2001. 289p.

CODEX. Session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants, 36., 2004, Rotterdam. **Report...** Rome: Codex Alimentarius Commission/FAO/WHO, 2004. 210p.

COMBS JUNIOR, G.F. Selenium in global food systems. **British Journal of Nutrition**, Oxon, v.85, n.5, p.517-547, 2001.

DAHER, E. Uma crise de demanda. **DBO Agrotecnologia**, São Paulo, v.5, n.5, p.27-27, 2008.

DAILY, G.; DASGUPTA, P.; BOLIN, B.; CROSS, P.; GUERNY, J.; EHRLICH, P.; FOLKE, C.; JANSSON, A.M.; JANSSON, B.; KAUTSKY, N.; KINZING, A.; LEVIN, S.; MALER, K.; PINSTRUP-ANDERSEN, P.; SINISCALCO, D.; WALKER, B. Policy forum: Global food supply - Food production, population growth, and the environment. **Science**, Washington, v.281, n.5381, p.1291-1292, 1998.

DePIERI, L.A.; BUCKLEY, W.T.; KOWALENKO, C.G. Cadmium and lead concentrations of commercially grown vegetables and of soils in the Lower Fraser Valley of British Columbia. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v.77, n.1, p.51-57, 1997.

DIBB, D.W.; ROBERTS, T.L.; WELCH, R.M. Da quantidade para a qualidade - a importância dos fertilizantes na nutrição humana. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n.111, p.1-6, 2005.

DIXON, N.E.; GAZZOLA, C.; BLAKELEY, R.L.; ZERNER, B. Jack bean urease (EC 3.5.1.5). a metalloenzyme. simple biological role for nickel?. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v.97, n.14, p.4131-4133, 1975.

DYNIA, J.F.; BOEIRA, R.C.; SOUZA, M.D.; SILVA, A.S.; RAIJ, B. van. **Relação entre fósforo disponível e cádmio extraível em amostras de solos cultivados com frutíferas no nordeste**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 2p. (Pesquisa em Andamento, 11).

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de analises de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, CNPS, 1997. 212p.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Mineral nutrition of plants**: principles and perspectives. 2ed. Sunderland: Sinauer, 2005. 400p.

FAGERIA, N.K. Avaliação do estado nutricional do arroz. In: BRESEGHELLO, F.; STONE, L.F. (Ed.). **Tecnologia para o arroz de terras altas**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1998. cap.9, p.59-66.

FAGERIA, N.K. Níveis adequados e tóxicos de zinco na produção de arroz, feijão, milho e trigo em solo de cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.4, n.3, p.390-395, 2000.

FAGERIA, N.K. Nutrição Mineral. In: VIEIRA, N.R.A.; SANTOS, A.B.; SANT'ANA, E.P. (Ed.). **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. cap.7, p.172-196.

FAGERIA, N.K. **The use of nutrients in crop plants**. Boca Raton: CRC Press, 2009. 430p.

FAO. Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. **Fertilizer and plant nutrition guide**. Rome, 1984. 176p. (Fertilizer and Plant Nutrition Bulletin, 9).

FAO. Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. **The state of food insecurity in the world 2008**: high food prices and food security - threats and opportunities. Rome, 2008. 56p.

FERREIRA, K.S.; GOMES, J.C.; BELLATO, C.R.; JORDÃO, C.P. Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v.11, n.3, p.172-177, 2002a.

FERREIRA, K.S.; GOMES, J.C.; REIS, C.; BELLATO, C.R. Concentrações de zinco em alimentos consumidos no Brasil. **Revista Ceres**, Viçosa, v.49, n.283, p.309-319, 2002b.

FERREIRA, R.R.; FORNAZIER, R.F.; VITORIA, A.P.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Changes in antioxidant enzyme activities in soybean under cadmium stress. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.25, n.2, p.327-342, 2002c.

FOY, C.D.; FLEMING, A.L.; ARMIGER, W.H. Differential tolerance of cotton varieties to excess manganese. **Agronomy Journal**, Madison, v.61, n.5, p.690-694, 1969.

FSANZ. Food Standards Australia New Zealand. **Australian and New Zealand Food Standards Code**. Part 1.4 Contaminants and Residues, Standard 1.4.1 Contaminants and Natural Toxicants. Canberra: ANSTAT/FSANZ, 2009. 10p.

GARRETT, R.G. The distribution of cadmium in A horizon soils in the prairies of Canada and adjoining United States. In: **Current Research 1994-B**. Ottawa: Geological Survey of Canada, 1994. p.73-82.

GARVIN, D.F.; WELCH, R.M.; FINLEY, J.W. Historical shifts in the seed mineral micronutrient concentrations of US hard red winter wheat germplasm. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v.86, n.13, p.2213-2220, 2006.

GOMES JUNIOR, R.A.; MOLDES, C.A.; DELITE, F.S.; GRATÃO, P.L.; MAZZAFERA, P.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Nickel elicits a fast antioxidant response in *Coffea arabica* cells. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.44, n.5-6, p.420-429, 2006.

GONÇALVES JUNIOR, A.C.; PESSOA, A.C.S. Fitodisponibilidade de cádmio, chumbo e crômio, em soja cultivada em Argissolo Vermelho eutrófico a partir de adubos comerciais. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.3, n.1-2, p.19-23, 2002.

GONÇALVES, V.C.; MEURER, E.J.; TATSCH, F.R.P.; CARVALHO, S.A.; SANTOS NETO, O.A. Biodisponibilidade de cádmio em fertilizantes fosfatados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.32, p.2871-2875, 2008. (Número Especial).

GRAHAM, R.D.; WELCH, R.M. **Breeding for staple food crops with high micronutrient density**. Washington: International Food Policy Research Institute, 1996. 79p. (Working Papers on Agricultural Strategies for Micronutrients, 3).

GRAHAM, R.D.; WELCH, R.M.; SAUNDERS, D.A.; ORTIZ-MONASTERIO, I.; BOUIS, H.E.; BONIERBALE, M.; HAAN, S.; BURGOS, G.; THIELE, G.; LIRIA, R.; MEISNER, C.A.; BEEBE, S.E.; POTTS, M.J.; KADIAN, M.; HOBBS, P.R.; GUPTA, R.K.; TWOMLOW, S. Nutritious subsistence food systems. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.92, p.1-74, 2007.

GRANT, C.A.; BAILEY, L.D.; McLAUGHLIN, M.J.; SINGH, B.R. Management factors which influence cadmium concentration in crops. In: McLAUGHLIN, M.J.; SINGH, B.R. (Ed.). **Cadmium in soils and crops**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999. cap.7, p.151-198.

GRANT, C.A.; CLARKE, J.M.; DUGUID, S.; CHANEY, R.L. Selection and breeding of plant cultivars to minimize cadmium accumulation. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.390, n.2-3, p.301-310, 2008.

GRANT, C.A.; SHEPPARD, S.C. Fertilizer impacts on cadmium availability in agricultural soils and crops. **Human and Ecological Risk Assessment**, Philadelphia, v.14, n.2, p.210-228, 2008.

GRATÃO, P.L.; POLLE, A.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v.32, n.6, p.481-494, 2005.

GREGORIO, G.B.; DHARMAWANSA, S.; HTUT, H.; GRAHAM, R.D. Breeding for trace mineral density in rice. **Food and Nutrition Bulletin**, Boston, v.21, n.4, p.382-386, 2000.

HART, J.J.; WELCH, R.M.; NORVELL, W.A.; CLARKE, J.M.; KOCHIAN, L.V. Zinc effects on cadmium accumulation and partitioning in near-isogenic lines of durum wheat that differ in grain cadmium concentration. **New Phytologist**, Oxford, v.167, n.2, p.391-401, 2005.

HART, J.J.; WELCH, R.M.; NORVELL, W.A.; KOCHIAN, L.V. Characterization of cadmium uptake, translocation and storage in near-isogenic lines of durum wheat that differ in grain cadmium concentration. **New Phytologist**, Oxford, v.172, n.2, p.261-271, 2006.

HART, J.J.; WELCH, R.M.; NORVELL, W.A.; KOCHIAN, L.V. Transport interactions between cadmium and zinc in roots of bread and durum wheat seedlings. **Physiologia Plantarum**, Oxford, v.116, n.1, p.73–78, 2002.

HARVEY, P.H. Hereditary variation in plant nutrition. **Genetics**, Bethesda, v.24, n.4, p.437-461, 1939.

HEINEMANN, R.J.B.; FAGUNDES, P.L.; PINTO, E.A.; PENTEADO, M.V.C.; LANFER-MARQUEZ, U.M. Comparative study of nutrient composition of commercial brown, parboiled and milled rice from Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, New York, v.18, n.4, p.287-296, 2005.

HONMA, Y.; HIRATA, H. Noticeable increase in cadmium absorption by zinc-deficient rice plants. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v.24, n.2, p.295-297, 1978.

HOTZ, C.; BROWN, K.H. (Ed.). Assessment of the risk of zinc deficiency in populations. **Food and Nutrition Bulletin**, Boston, v.25, n.1, p.S130-S162, 2004. (Supplement, 2).

HOTZ, C.; McCLAFFERTY, B. From harvest to health: challenges for developing biofortified staple foods and determining their impact on micronutrient status. **Food and Nutrition Bulletin**, Boston, v.28, n.2, p.S271-S279, 2007. (Supplement, 1).

HUANG, B.; KUO, S; BEMBENEK, R. Availability of cadmium in some phosphorus fertilizers to field-grown lettuce. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v.158, n.1-4, p.37-51, 2004.

HUANG, B.; KUO, S; BEMBENEK, R. Availability to lettuce of arsenic and lead from trace element fertilizers in soil. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v.164, n.1-4, p.223-239, 2005.

HUANG, B.; KUO, S; BEMBENEK, R. Cadmium uptake by cucumber from soil amended with phosphorus fertilizers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.128, n.4, p.615-620, 2003.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estimativas da população brasileira**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/> Acesso em: 01 jun. 2008.

IGAMBERDIEV, A.U.; LEA, P.J. The role of peroxisomes in the integration of metabolism and evolutionary diversity of photosynthetic organisms. **Phytochemistry**, Amsterdam, v.60, n.7, p.651-674, 2002.

IRETSKAYA, S.N.; CHIEN, S.H.; MENON, R.G. Effect of acidulation of high cadmium containing phosphate rocks on cadmium uptake by upland rice. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.201, n.2, p.183-188, 1998.

JARRELL, W.M.; BEVERLY, R.B. The dilution effect in plant nutrition studies. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.34, p.197-224, 1981.

JOHNSON, C.M.; STOUT, P.R.; BROYER, T.C.; CARLTON, A.B. Comparative chlorine requirements of different plant species. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.8, n.4, p.337-353, 1957.

KABATA-PENDIAS, A.; MUKHERJEE, A.B. **Trace elements from soil to human**. Berlin: Springer, 2007. 576p.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3.ed. Boca Raton: CRC Press, 2000. 413p.

KANE, P.F.; HALL JUNIOR, W.L. Determination of arsenic, cadmium, cobalt, chromium, lead, molybdenum, nickel, and selenium in fertilizers by microwave digestion and inductively coupled plasma-optical emission spectrometry detection: collaborative study. **Journal of AOAC International**, Gaithersburg, v.89, n.6, p.1447-1466, 2006.

KOCHIAN, L.V. Molecular physiology of mineral nutrient acquisition, transport, and utilization. In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Ed.). **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. cap.23, p.1204-1249.

KRUG, F.J.; SANTOS JUNIOR, D. Erros sistemáticos no preparo de amostras. In: KRUG, F.J. (Ed.). **Métodos de preparo de amostras**: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. Piracicaba: CENA, 2006. cap.2, p.5-49.

KUBOTA, J.; WELCH, R.M.; CAMPEN, D.R. Partitioning of cadmium, copper, lead and zinc amongst above-ground parts of seed and grain crops grown in selected locations in the USA. **Environmental Geochemistry and Health**, Dordrecht, v.14, n.3, p.91-100, 1992.

KURZ, H.; SCHULZ, R.; ROMHELD, V. Selection of cultivars to reduce the concentration of cadmium and thallium in food and fodder plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Berlin, v.162, n.3, p.323-328, 1999.

LAL, R. Soil management in the developing countries. **Soil Science**, Philadelphia, v.165, n.1, p.57–72, 2000.

LANARV. Laboratório Nacional de Referência Vegetal. **Análise de corretivos, fertilizantes e inoculantes**: métodos oficiais. Brasília: Ministério da Agricultura/Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, 1988. 104p.

LENZI, E.; RAUBER, T.; LUCHESE, E.B.; GALLI, D.; TOLEDO, E.A. Determinação de cádmio em materiais consumidos pelo ser humano. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.33, n.1, 179-194, 1990.

LI, Y.M.; CHANEY, R.L.; SCHNEITER, A.A.; MILLER, J.F.; ELIAS, E.M.; HAMMOND, J.J. Screening for low grain cadmium phenotypes in sunflower, durum wheat and flax. **Euphytica**, Dordrecht, v.94, n.1, p.23-30, 1997.

LIU, J.; LI, K.Q.; XU, J.K.; LIANG, J.S.; LU, X.L.; YANG, J.C.; ZHU, Q.S. Interaction of Cd and five mineral nutrients for uptake and accumulation in different rice cultivars and genotypes. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.83, n.3, p.271-281, 2003.

LIU, J.; ZHU, Q.; ZHANG, Z.; XU, J.; YANG. J.; WONG, M.H. Variations in cadmium accumulation among rice cultivars and types and the selection of cultivars for reducing cadmium in the diet. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v.85, n.1, p.147-153, 2005.

LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G. Fertilidade do solo e produtividade agrícola. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa: SBCS, 2007. cap.1, p.1-64.

LOPES, C.M. **Adsorção individual e competitiva de Cd, Cu, Ni e Zn em solos em função da variação de pH**. 2009. 100 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

LUND, L.J.; BETTY, E.E.; PAGE, A.L.; ELLIOTT, R.A. Occurrence of naturally high cadmium levels in soils and its accumulation by vegetation. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.10, n.4, p.551-556, 1981.

MACKEY, E.A.; CRONISE, M.P.; FALES, C.N.; GREENBERG, R.R.; LEIGH, S.D.; LONG, S.E.; MARLOW, A.F.; MURPHY, K.E.; OFLAZ, R.; SIEBER, J.R.; REARICK, M.S.; WOOD, L.J.; YU, L.L.; WILSON, S.A.; BRIGGS, P.H.; BROWN, Z.A.; BUDAHN, J.; KANE, P.F.; HALL JR., W.L. Development and certification of the new SRM 695 trace elements in multi-nutrient fertilizer. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v.387, n.7, p.2401-2409, 2007.

MAIHARA, V.A.; GONZAGA, I.B.; SILVA, V.L.; FAVARO, D.I.T.; VASCONCELLOS, M.B.A.; COZZOLINO, S.M.F. Dairy dietary selenium intake of selected Brazilian population

groups. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Dordrecht, v.259, n.3, p.465-468, 2004.

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental**: metais pesados, mitos, mistificação e fatos. São Paulo: ProduQuímica, 1994. 153p.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2006. 631p.

MALAVOLTA, E.; MORAES, M.F. Nickel - from toxic to essential nutrient. **Better Crops**, Norcross, v.91, n.3, p.26-27, 2007.

MALAVOLTA, E.; MORAES, M.F. Nutrição de plantas, fertilidade do solo, adubação e a economia brasileira. In: LAPIDO, F.; MELAMED, R.; FIGUEIREDO NETO, J. (Ed.). **Fertilizantes e sustentabilidade na agricultura**. Rio de Janeiro: CETEM, 2009. p.1-26. No prelo.

MALAVOLTA, E.; MORAES, M.F. Sobre a sugestão dos metais pesados tóxicos em fertilizantes e sobre a Portaria 49 de 25/04/2005 da Secretaria do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n.114, p.10-14, 2006.

MALAVOLTA, E.; MORAES, M.F.; LAVRES JÚNIOR, J.; MALAVOLTA, M. Micronutrientes e metais pesados - essencialidade e toxidez. In: PATERNIANI, E. (Ed.). **Ciência, agricultura e sociedade**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. cap.4, p.117-154.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**: princípios e perspectivas. 2.ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

MASIRONI, R.; KOIRTYOHANN, S.R.; PIERCE, J.O. Zinc, copper, cadmium and chromium in polished and unpolished rice. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.7, n.1, p.27-43, 1977.

McLAUGHLIN, M.J.; PARKER, D.R.; CLARKE, J.M. Metals and micronutrients - food safety issues. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.60, n.1-2, p.143-163, 1999.

MELLONI, R.; SILVA, F.A.M.; MOREIRA, F.M.S.; FURTINI NETO, A.E. Pó de forno de aciaria elétrica na microbiota do solo e no crescimento de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.12, p.1547-1554, 2001.

MENCH, M.J.; FARGUES, S. Metal uptake by iron-efficient and inefficient oats. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.165, n.2, p.227-233, 1994.

MENDES, A.M.S.; DUDA, G.P.; NASCIMENTO, C.W.A.; SILVA, M.O. Bioavailability of cadmium and lead in a soil amended with phosphorus fertilizers. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.63, n.4, p.328-332, 2006.

MEUWLY, P.; THIBAULT, P.; SCHWAN, A.L.; RAUSER, W.E. Three families of thiol peptides are induced by cadmium in maize. **Plant Journal**, Oxford, v.7, n.3, p.391-400, 1995.

MONTAGNON, F.; BECQUER, T.; MARTINS, E.S.; REATTO, A.; FUKS, S.D. Distribuição dos teores de metais pesados em solos da região de Paracatu-Vazante, MG. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 29., 2003, Ribeirão Preto. **Anais...** Viçosa: SBCS, 2003. 4p. 1 CD-ROM.

MORAES, M.F. Relação entre nutrição de plantas, qualidade de produtos agrícolas e saúde humana. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n.123, p.21-23, 2008.

MORTVEDT, J.J. Cadmium levels in soils and plants from some long-term soil fertility experiments in the United States of America. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.16, n.2, p.137-142, 1987.

MORTVEDT, J.J. Plant uptake of heavy metals in zinc fertilizers made from industrial by-products. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.14, n.3. p.424-427, 1985.

MORTVEDT, J.J. Tecnologia e produção de fertilizantes com micronutrientes: presença de elementos tóxicos. In: FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.; RAIJ, B. van; ABREU, C.A. (Ed.). **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: CNPq/FAPESP/ POTAFOS, 2001. cap.10, p.237-254.

MULLA, D.J.; PAGE, A.L.; GANJE, T.J. Cadmium accumulations and biovarlability in soils from long-term phosphorus fertilization. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.9, n.3, p.408-412, 1980.

MURPHY, K.M.; REEVES, P.G.; JONES, S.S. Relationship between yield and mineral nutrient concentrations in historical and modern spring wheat cultivars. **Euphytica**, Dordrecht, v.163, n.3, p.381-390, 2008.

NASCIMENTO, C.W.A.; FONTES, R.L.F.; CAMBRAIA, J. Sulphydryl groups in two Brazilian corn cultivars as a function of cadmium in the nutrient solution. In: ANDO, T.; FUJITA, K.; MAE, T.; MATSUMOTO, H.; MORI, S.; SEKIYA, J. (Ed.). **Plant nutrition** - for sustainable food production and environment. Dordrecht: Kluwer academic Publishers, 1997. v.1, p.401-402. (Developments in Plant and Soil Sciences, 78).

NETO, J.A.G.; BERGAMIN, H.; ZAGATTO, E.A.G.; KRUG, F.J. Determination of cadmium in fertilizers by flow-injection spectrophotometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.308, n.1-3, p.439-445, 1995.

NIELSEN, M.N.; WINDING, A. **Microorganisms as indicators of soil health**. Roskilde: National Environmental Research Institute, 2002. 84p. (Technical Report, 388).

NUTTI, M.; CARVALHO, J.L.V.; WATANABE, E. A biofortificação como ferramenta para combate a deficiências em micronutrientes. In: SILVA, C.R.; FIGUEIREDO, B.R.; CAPITANI, E.M.; CUNHA, F.G. (Ed.). **Geologia médica no Brasil**: efeitos dos materiais e fatores geológicos na saúde humana e meio ambiente. Rio de Janeiro: CPRM - Serviço Geológico do Brasil, 2006. cap.7, p.43-47.

OKAMOTO, K. Preparation and certification of rice flour-unpolished reference material. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.107, p.29-44, 1991.

OLIVER, D.P.; GREWAL, H.S.; TILLER, K.G.; COZENS, G.D. Variation in grain Cd concentration in Zn-efficient and Zn-inefficient cereal genotypes. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON CONTAMINANTS & THE SOIL ENVIRONMENT IN THE AUSTRALASIA-PACIFIC REGION, 1., 1996, Adelaide. **Extended abstracts…** Glen Ormond: CSIRO, 1996. p.55-56.

OMS. Organização Mundial de Saúde. **Elementos traço na nutrição e saúde humanas**. São Paulo: Roca, 1998. 297p.

ONU. Organização das Nações Unidas. **World population prospects**: the 2006 revision. New York: United Nations, 2007. 96p.

PAN, W.L.; STEVENS, R.G.; LABNO, K.A. Cadmium accumulation in wheat and potato from phosphate and waste-derived zinc fertilizers. In: HALL JÚNIOR, W.L.; ROBARGE, W.P. (Ed.). **Environmental impact of fertilizers on soil and water**. Washington: ACS, 2004. cap.9, p.112-123.

PARKER, D.R.; NORVELL, W.A.; CHANEY, R.L. GEOCHEM-PC – a chemical speciation program for IBM and compatible personal computers. In: LOEPPERT, R.H.; SCHWAB, A.P.; GOLDBERG, S. (Eds.) **Chemical equilibrium and reaction models**. Madison: SSSA, 1995. cap.13, p.253-269. (SSSA Special Publication, 42).

PIMENTEL-GOMES, F.; GARCIA, C.H. **Estatística aplicada a experimentos agronômicos e florestais**: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos. Piracicaba: FEALQ, 2002. 309p.

PIRES, A.M.M.; MATTIAZZO, M.E.; BERTON, R.S. Ácidos orgânicos como extratores de metais pesados fitodisponíveis em solos tratados com lodo de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.7, p.671-676, 2004.

PROCHNOW, L.I.; PLESE, L.P.M.; ABREU, M.F. Bioavailability of cadmium contained in single superphosphates produced from different Brasilian raw materials. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v.32, n.1-2, p.283-294, 2001.

RAGHUNATH, R.; TRIPATHI, R.M.; SUSEELA, B.; BHALKE, S.; SHUKLA, V.K.; PURANIK, V.D. Dietary intake of metals by Mumbai adult population. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.356, n.1-3, p.62-68, 2006.

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. Campinas: Instituto Agronômico/FUNDAG, 1997. 285p. (Boletim Técnico, 100).

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (Ed.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. 284p.

RAMALHO, J.F.G.P.; AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; VELLOSO, A.C.X. Acúmulo de metais pesados em solos cultivados com cana-de-açúcar pelo uso contínuo de adubação fosfatada e água de irrigação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.23, n.4, p.971-979, 1999.

REICHMAN, S.M.; PARKER, D.R. Metal complexation by phytosiderophores in the rhizosphere. In: HUANG, P.M.; GOBRAN, G.R. (Ed.). **Biogeochemistry of trace elements in the rhizosphere**. Amsterdam: Elsevier, 2005. cap.4, p.129-156.

RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ V., V.H. (Ed.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**: 5ª aproximação. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais - CFSEMG, 1999. 359p.

RODELLA, A.A. Legislação sobre teores de contaminantes em fertilizantes - estudo de um caso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, n.5, p.797-801, 2005.

RUTER, J.M. Effect of nickel applications for the control of mouse ear disorder on River Birch. **Journal of Environmental Horticulture**, Washington, v.23, n.1, p.17-20, 2005.

SANTOS, E.E.; LAURIA, D.C.; SILVEIRA, C.L.P. Assessment of daily of trace elements due to consumption of foodstuffs by adult Inhabitants of Rio de Janeiro city. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.327, n.1-3, p.69-79, 2004.

SANTOS, F.S.; AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; MAZUR, N. Conseqüências do manejo do solo na distribuição de metais pesados em um agrossistema com feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, n.1, p.191-198, 2003.

SANTOS, G.C.G.; ABREU, C.A.; CAMARGO, O.A.; ABREU, M.F. Pó-de-aciaria como fonte de zinco para o milho e seu efeito na disponibilidade de metais pesados. **Bragantia**, Campinas, v.61, n.3, p.257-266, 2002.

SHENKER, M.; FAN, T.W.M.; CROWLEY, D.E. Phytosiderophores influence on cadmium mobilization and uptake by wheat and barley plants. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.30, n.6, p.2091-2098, 2001.

SHI, J.; LI, L.Q.; PAN, G.X. Variation of grain Cd and Zn concentrations of 110 hybrid rice cultivars grown in a low-Cd paddy soil. **Journal of Environmental Sciences-China**, Nanjing, v.21, n.2, p.168-172, 2009.

SILVA, A.J. **Metais pesados em plantas de milho (*Zea mays* L.) cultivadas com diferentes fontes e doses de fósforo, formas de localização de fertilizantes e níveis de calagem**. 1994. 135 f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1994.

SILVA, D.G.; FRANCESCHINI, S.C.C.; PRIORE, S.E.; RIBEIRO, S.M.R.; SZARFARC, S.C.; SOUZA, S.B.; ALMEIDA, L.P.; LIMA, N.M.M.; MAFFIA, U.C.C. Anemia ferropriva em crianças de 6 a 12 meses atendidas na rede pública de saúde do município de Viçosa, Minas Gerais. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.15, n.3, p.301-308, 2002.

SILVA, F.N.; FURTINI NETO, A.E.; CHANG, A.C. Uptake of trace elements by soybean in Typic Quartzipsamment soil treated with different phosphorus fertilizers in Brazil. In: BAÑUELOS, G.S.; LIN, Z.Q. (Eds.) **Development and uses of biofortified agricultural products**. Boca Raton: CRC Press, 2009. cap.15, p.253-277.

SOARES, A.A.; REIS, M.S.; CORNÉLIO, V.M.O.; COSTA JÚNIOR, G.T.; GUEDES, J.M.; LEITE, N.A. BRSMG Relâmpago: cultivar de arroz de terras altas, precoce e de alta qualidade de grãos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, 2009. (Protocolo Nº 4790/08). No prelo.

SOARES, A.A.; REIS, M.S.; CORNÉLIO, V.M.O.; SOARES, P.C.; SANTOS, P.G.; SOUSA, M.A. BRSMG Conai: cultivar de arroz superprecoce para terras altas. **Revista Ceres**, Viçosa, v.52, n.303, p.721-727, 2005.

SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E. (Ed.). **Cerrado**: correção do solo e adubação. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2002. 416p.

STEWART, W.M.; DIBB, D.W.; JOHNSTON, A.E.; SMYTH, T.J. The contribution of commercial fertilizer nutrients to food production. **Agronomy Journal**, Madison, v.97, n.1, p.1-6, 2005.

TRANI, P.E.; PASSOS, F.A.; AZEVEDO FILHO, J.A. Alface, almeirão, chicória, escarola, rúcula, e agrião d'água. In: 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. Campinas: Instituto Agronômico/FUNDAG, 1997. cap.18, p.168-169. (Boletim Técnico, 100).

TRANI, P.E.; RAIJ, B. van. Hortaliças. In: 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. Campinas: Instituto Agronômico/FUNDAG, 1997. cap.18, p.157-164. (Boletim Técnico, 100).

USEPA. United States Environmental Protection Agency. **Method 3050B**. Acid digestion of sediments, sludges, and soils. Revision 2. 1996a. 12p. Disponível em: <http://www.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/online/index.htm> Acesso em: 10 mar. 2009.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. **Method 3051A**. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. Revision 1. 2007a. 30p. Disponível em: <http://www.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/online/index.htm> Acesso em: 10 mar. 2009.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. **Method 3052**. Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. Revision 0. 1996b. 20p. Disponível em: <http://www.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/online/index.htm> Acesso em: 10 mar. 2009.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. **Method 7471B**. Mercury in solid or semisolid waste (Manual cold-vapor technique). Revision 2. 2007b. 11p. Disponível em: <http://www.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/online/index.htm> Acesso em: 10 mar. 2009.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass carbon. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.19, n.6, p.703-707, 1987.

WELCH, R.M. Linkages between trace elements in food crops and human health. In: ALLOWAY, B.J. (Ed.). **Micronutrient deficiencies in global crop production**. New York: Springer, 2008. cap.12, p.287-309.

WELCH, R.M. Micronutrient nutrition of plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Colchester, v.14, n.1, p.49-82, 1995.

WELCH, R.M. Micronutrients, agriculture and nutrition: linkages for improved health and well being. In: SINGH, K.; MORI, S.; WELCH, R.M. (Ed.). **Perspectives on the micronutrient nutrition of crops**. Jodhpur: Scientific Publishers, 2001. cap.11, p.247-289.

WELCH, R.M.; COMBS, G.F.; DUXBURY, J.M. Toward a "greener" revolution. **Issues in Science and Technology**, Washington, v.14, n.1, p.50-58, 1997.

WELCH, R.M.; GRAHAM, R.D. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.55, n.396, p.353-364, 2004.

WELCH, R.M.; HOUSE, W.A.; ORTIZ-MONASTERIO, I.; CHENG, Z. Potential for improving bioavailable Zinc in wheat grain (*Triticum Species*) through plant breeding. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.53, n.6, p.2176-2180, 2005.

WELCH, R.M.; NORVELL, W.A. Mechanisms of cadmium uptake, translocation and deposition in plants. In: McLAUGHLIN, M.J.; SINGH, B.R. (Ed.). **Cadmium in soils and plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999. cap.6, p.125-150.

WEN, T.N.; LI, C.; CHEN, C.S. Ubiquity of selenium-containing tRNA in plants. **Plant Science**, Clare, v.57, n.3, p.185-193, 1988.

WITTE, C.P.; TILLER, S.A.; TAYLOR, M.A.; DAVIES, H.V. Addition of nickel to Murashige and Skoog medium in plant tissue culture activates urease and may reduce metabolic stress. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.68, n.1, p.103–104, 2002.

WOOD, B.W.; REILLY, C.C.; NYCZEPIR, A.P. Mouse-ear of pecan: a nickel deficiency. **HortScience**, Alexandria, v.39, n.6, p.1238-1242, 2004.

WSDA. Washington State Department of Agriculture. **Rules relating to fertilizer, minerals and limes effective**. Olympia: WSDA/Pesticide Management Division, 1999. 10p.

YAMADA, T. Deficiências de micronutrientes, ocorrência, detecção e correção: o sucesso da experiência brasileira. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n.105, p.1-12, 2004. (Encarte Técnico).

ZHANG, L.; SHI, W.; WANG, X.; ZHOU, X. Genotypic differences in selenium accumulation in rice seedlings at early growth stage and analysis of dominant factors influencing selenium content in rice seeds. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v.29, n.9, p.1601-1618, 2006.

ZHANG, W. A forecast analysis on world population and urbanization process. **Environment, Development and Sustainability**. Dordrecht, v.10, n.6, p.717–730, 2008.

ZHANG, W.J.; ZHANG, X.Y. A forecast analysis on fertilizers consumption worldwide. **Environmental Monitoring and Assessment**, Dordrecht, v.133, n.1-3, p.427-434, 2007.