

ACÚMULO DE CROMO E SEUS EFEITOS NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO E ABSORÇÃO DE NUTRIENTES EM SOJA

CASTILHOS, Danilo D.; GUADAGNIN, Clístenes A.; SILVA, Marcelo D. da; LEITZKE; Volnei W.; FERREIRA, Luis H.; NUNES, Maria C.

UFPEL/FAEM/Depto. de Solos- Campus Universitário –CP. 354, CEP 96010-900, Pelotas/RS. E-mail: danilodc@ufpel.tche.br

(Recebido para publicação em 19/04/2001)

RESUMO

O cromo não possui essencialidade comprovada na nutrição das plantas, porém é requerido pelos microrganismos em alguns processos metabólicos específicos. Nesse sentido, elaborou-se o presente trabalho com o objetivo de avaliar os efeitos de doses crescentes de Cr^{3+} sobre a produção de matéria seca, absorção de nutrientes e fixação biológica de nitrogênio em plantas de soja. Antes da semeadura as sementes foram tratadas com inóculo turfoso contendo *Bradyrhizobium japonicum*. As plantas foram cultivadas durante 42 dias em vasos "Leonard" contendo areia lavada na parte superior e solução nutritiva sem nitrogênio na parte inferior. Os tratamentos constaram das seguintes doses de Cr^{3+} ($CrCl_3$) aplicadas na solução nutritiva: 0, 20, 40, 80 e 160 $mg L^{-1}$. Foi constatado que concentrações de Cr^{3+} superiores à 20 $mg L^{-1}$ diminuíram a produção de matéria seca da parte aérea e radicular da soja, o número e peso de nódulos secos de *Bradyrhizobium*, como também a fixação biológica de nitrogênio e a absorção de P, K, Ca e Mg. Teores de Cr na parte aérea de plantas de soja superiores à 5,8 $mg Kg^{-1}$ podem ser considerados fitotóxicos.

Palavras-Chave: Cromo trivalente, soja, *Bradyrhizobium japonicum*, fixação simbiótica- N^2 .

ABSTRACT

CHROMIUM ACCUMULATION AND ITS EFFECTS ON NITROGEN BIOLOGICAL FIXATION AND SOYBEANS NUTRIENTS UPTAKE. Chromium is not an essential component of plant nutrition, however, it is required by microorganisms for specific metabolic processes. This study was carried out to evaluate the effects of trivalent chromium (Cr^{3+}) on dry matter production, nutrient uptake and nitrogen fixation in soybeans (*Glycine max*). The seeds were inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* and the plants were grown in "Leonard Jars" with washed sand in the upper portion and nutrient solution (without N) in the lower. Five Cr^{3+} concentrations were used: 0, 20, 40, 80 e 120 $mg L^{-1}$ in the nutrient solution. Concentrations of Cr^{3+} above 20 $mg L^{-1}$ decreased plants and nodule dry matter production, number of nodules, nitrogen fixation and P, K, Ca e Mg uptake. Chromium concentrations in soybean plants above 5.8 $mg kg^{-1}$ may be considered phytotoxic.

Key words: Cr^{3+} , soybean, *Bradyrhizobium japonicum*, N^2 -fixation

INTRODUÇÃO

O cromo é um metal que ocorre no ecossistema como resultado da intemperização do material de origem dos solos bem como pode ser introduzido através de deposições de resíduos de origem industrial como curtumes e siderurgia. A disposição desses materiais no solo pode causar poluição de aquíferos e do próprio solo quando os efluentes dessas indústrias são depositados ou utilizados na irrigação e/ou como insumo agrícola.

O cromo na sua forma trivalente (Cr^{3+}) é um nutriente essencial para a nutrição humana (MERTZ, 1969) e é considerado um elemento estável no solo. A ocorrência de toxicidade nas plantas é rara, provavelmente devido ao Cr^{3+} apresentar baixa mobilidade e restrito movimento através da membrana celular. Níveis elevados no tecido foliar tem sido constatados em cultivos efetuados em solos contaminados com cromo (GAUGLHOFER, 1985). A presença de quantidades prejudiciais para as plantas podem resultar em danos como clorose, redução de crescimento foliar e radicular e morte (MERTZ, 1969). FIGLIOLIA et al. (1992) verificaram que plantas de alfaca cultivadas em solo suprido com 200 $mg Kg^{-1} Cr^{3+}$ apresentaram, aos 60 dias, teor de 11,1 $mg kg^{-1}$ no tecido e redução de 60% no peso de matéria seca em relação à testemunha. MORAL et al. De um modo geral, o cromo absorvido pelas plantas é acumulado nas raízes, formando barreiras que diminuem a sua translocação para a parte aérea das plantas (LOSI et al., 1994). (1995) verificaram acúmulo do cromo nas raízes e baixa translocação para os ramos e frutos de tomate cultivado em solução contendo 100 $mg L^{-1} Cr^{3+}$. A fixação biológica de nitrogênio, por ser um processo realizado a nível radicular pode ser influenciada pela presença excessiva do cromo em função da alteração dos processos bioquímicos dos microrganismos e toxicidade direta sobre o *Bradyrhizobium* (HUNGRIA et al., 1994)

Baseado no exposto, o presente trabalho teve por objetivos avaliar os efeitos de doses crescentes de Cr^{3+} sobre a produção de matéria seca, absorção de nutrientes e fixação biológica de nitrogênio em plantas de soja.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Solos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da UFPEL. Para o cultivo da soja foi utilizado areia pura, peneirada (<2,0 mm) e lavada com HCl 0,25 M e água destilada, acondicionada em vasos "Leonard" previamente esterilizados em autoclave por 30 minutos. A parte inferior do vaso recebeu 400 ml de solução nutritiva, com concentração dos nutrientes ajustados às necessidades da cultura da soja, cuja composição é apresentada na Tabela 1.

O nitrogênio não foi acrescentado na solução nutritiva para não causar interferência no processo de fixação biológica deste elemento. Momentos antes das semeadura da soja as sementes foram peletizadas utilizando-se inóculo turfoso específico, açúcar como adesivo e calcário. O inóculo continha um mínimo de 10^8 cél. g^{-1} de *Bradyrhizobium japonicum* composto de um consórcio das estirpes "SEMIA" 587 e "SEMIA" 5019, desenvolvidas pelo Serviço de Microbiologia do FEPAGRO /RS. Em cada vaso foram semeadas 6 sementes de soja da variedade "Embrapa 48".

Após 7 dias da emergência realizou-se o desbaste para 3 plantas por vaso.

Foram utilizadas 5 doses de Cr^{3+} acrescentados à solução nutritiva na forma de CrCl_3 . As doses foram de 0, 20, 40, 80 e 160 mg L^{-1} de Cr^{3+} em 3 repetições perfazendo um total de 15 vasos dispostos em um delineamento completamente casualizado. A solução nutritiva bem como os tratamentos de Cr^{3+} foram repostos a cada 4 dias de cultivo para que fossem mantidas as concentrações de nutrientes da tabela 1 e do Cr^{3+} . Após 42 dias da emergência, as plantas foram colhidas separando-se parte aérea do sistema radicular. Após a lavagem das raízes os nódulos de *Bradyrhizobium* foram destacados, coletados e secos em estufa (65°C) durante 72 h, juntamente com a parte aérea das plantas.

TABELA 1 - Composição da solução nutritiva para o cultivo da soja em areia.

| Elemento | Forma de suprimento | Concentração (mg L^{-1}) |
|----------|---|-------------------------------------|
| P | KH_2PO_4 | 36 |
| K | KH_2PO_4 | 45 |
| Ca | $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 60 |
| Mg | $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 30 |
| S | $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ e $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 45 |
| Mn | $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0,5 |
| Mo | $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 0,001 |
| Cl | $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 120 |
| B | H_3BO_3 | 0,25 |
| Cu | $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 0,5 |
| Zn | $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,1 |
| Fe | Fe-EDTA | 5,0 |

O número de nódulos foi determinado logo após a coleta. Após a secagem foi determinado o peso seco da parte aérea, do sistema radicular e dos nódulos das plantas. Na parte aérea das plantas determinaram-se os teores de N, P, K, Ca e Mg, conforme metodologia descrita em TEDESCO et al. (1995). Os teores de Cr foram determinados em espectrofotômetro de absorção atômica equipado com forno de grafite. Com base no peso das plantas e na concentração de nutrientes, calculou-se a quantidade de cada elemento absorvida por planta. Os dados foram submetidos à análise da variância, comparação de médias pelo teste Tukey (5%) e regressão polinomial com utilização do programa "Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas" (SAEG 6.0), da Universidade Federal de Viçosa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos 16 dias após a emergência das plantas foram observados sintomas de clorose e podridão apical nas plantas cultivadas no tratamentos contendo 80 e 160 mg L^{-1} de Cr^{3+} . Nas doses de 20 e 40 mg L^{-1} nenhum sintoma visual foi observado.

A produção de matéria seca da parte aérea e das raízes de soja bem como o número e o peso seco dos nódulos não foi afetada pela presença de 20 $\text{mg Cr}^{3+} \text{L}^{-1}$ na solução nutritiva, cujos valores foram semelhantes estatisticamente aos obtidos com a ausência de Cr^{3+} (Tabela 2).

Tolerância de plantas à pequenas concentrações de Cr^{3+} também foi observada em cultivos hidropônicos com tomate (MORAL et al., 1995) e alface (FIGLIOLIA et al., 1992), em

que a redução no crescimento foliar, pela presença de cromo, somente passou a ocorrer em concentrações superiores a 100 $\text{mg Cr}^{3+} \text{L}^{-1}$.

A análise de regressão quadrática entre as concentrações de Cr^{3+} na solução nutritiva e a matéria seca da parte aérea das plantas ($y=1,88 - 0,014x + 0,0003x^2$) indicou um coeficiente $r^2 = -0,94$ significativo ao nível de 1%, demonstrando que a acumulação de matéria seca pelas plantas foi negativamente afetada pelo aumento da concentração de cromo. Embora alguns estudos mostrem que o Cr produza alguns efeitos estimulantes sobre crescimento das plantas (GRUBINGER et al., 1993 ; MARCHIORI JR. et al., 1999) a sua essencialidade não foi comprovada. Tem sido proposto, que um dos prováveis benefícios deste elemento resulte da sua atuação em substituição ao molibdênio (WARINGTON, 1946), o que seria interessante, nesse estudo, tendo em vista a importância do Mo na fixação biológica de N. Entretanto, esses efeitos são considerados mínimos e difíceis de serem explicados (HUFFMAN & ALLAWAY, 1973).

TABELA 2 - Matéria seca produzida e número de nódulos de *Bradyrhizobium japonicum* de 3 plantas de soja cultivadas na presença de Cr^{3+} .

| Dose de Cr^{3+} Mg L^{-1} | Matéria seca | | Nódulos | |
|--|---------------|---------|---------|-------------|
| | Parte aérea | Raízes | Número | Peso seco |
| | ----- g ----- | | | ---- g ---- |
| 0 | 1,77 a | 0,38 a | 20 a | 0,106 a |
| 20 | 1,89 a | 0,28 ab | 17 ab | 0,111 a |
| 40 | 1,19 b | 0,19 bc | 10 b | 0,040 b |
| 80 | 1,01 b | 0,14 c | 7 bc | 0,029 b |
| 160 | 0,48 c | 0,08 c | 2 c | 0,002 c |

Médias seguidas de letras distintas entre si na coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%.

A exemplo dos efeitos observados sobre a parte aérea as doses de Cr^{3+} superiores a 20 mg L^{-1} diminuíram significativamente o número e o peso seco dos nódulos do *Bradyrhizobium*. Alguns mecanismos microbianos de tolerância ao Cr^{3+} tem sido estudados entre eles, a bioacumulação de metais na forma catiônica em quantidades de até 2% do peso celular (ROSSI, 1990). A diminuição verificada no número de nódulos com as doses superiores a 20 mg L^{-1} de Cr^{3+} indica o efeito tóxico de deste metal sobre os microrganismos, principalmente as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* responsáveis pela fixação do N_2 . Nesse sentido tem sido observado que quantidades excessivas de Cr^{3+} provocam uma menor divisão celular, um aumento do tempo de geração e uma inibição da síntese de DNA, devido à inativação da enzima DNA polimerase (OGAWA, 1989). AQUINO NETO & CAMARGO (2000) também observaram diminuição da produção de matéria seca de plantas de alface sujeitas às doses crescentes de Cr^{3+} .

O aumento da concentração de Cr^{3+} na solução nutritiva provocou um aumento nos teores desse metal no tecido da soja (Tabela 3) explicada por uma regressão quadrática ($y=2,36 + 0,22x + 0,00028x^2$) com coeficiente $r^2=0,95$, significativo ao nível de 1%, o que demonstra a alta relação entre a absorção deste metal e a sua disponibilidade.

O aumento nos teores dos macronutrientes N, P, K e Mg no tecido, devido ao aumento das doses de Cr^{3+} , podem ser explicados pelo efeito de concentração desses elementos, a medida que a produção de matéria seca foi diminuída pela presença do cromo.

A toxicidade do cromo nas plantas varia conforme o seu estado de oxidação (Cr^{3+} ou Cr^{6+}) e a capacidade de

tolerância das diversas espécies. CASTILHOS et al. (2001), cultivando soja em solução nutritiva contendo Cr^{6+} , constataram efeitos tóxicos quando as doses de Cr^{6+} foram superiores a 5 mg L^{-1} e/ou quando os teores de Cr na parte aérea foram superiores a $3,4 \text{ mg L}^{-1}$. CHANG et al. (1992) verificaram que teores no tecido acima de $5,9 \text{ mg kg}^{-1}$ causaram 50% de redução no crescimento de plantas de milho. LOSI et al. (1994) afirmam que efeitos tóxicos do cromo na maioria das plantas são comuns quando as concentrações do elemento nas folhas é superior a 18 mg kg^{-1} . No presente

trabalho foi observado uma redução de 36% na produção de matéria seca total das plantas de soja no tratamento com adição de 40 mg L^{-1} de Cr^{3+} na solução, sendo a concentração no tecido das plantas, nesse tratamento, igual a $19,8 \text{ mg kg}^{-1}$.

A menor fixação biológica de nitrogênio e absorção dos macronutrientes pela presença do Cr^{3+} é constatada pela diminuição significativa dos teores N, P, K, Ca e Mg e aumento dos teores de cromo, absorvidos por planta de soja, até a dose de 80 mg L^{-1} de Cr^{3+} (Tabela 4).

TABELA 3 - Teores de macronutrientes e de cromo no tecido foliar de soja cultivada na presença de Cr^{3+} .

| Dose de Cr^{3+} mg L^{-1} | N | P | K | Ca | Mg | Cr |
|---|-------------------------------|-------|---------|--------|--------|---------------------|
| | -----g kg^{-1} ----- | | | | | mg kg^{-1} |
| 0 | 23,5 b | 1,6 b | 20,4 c | 21,3 a | 8,6 b | 0,0 d |
| 20 | 22,1b | 2,7 a | 22,1 bc | 20,7a | 10,4 b | 5,8 c |
| 40 | 28,1b | 1,6 b | 23,8 b | 20,9 a | 9,2 b | 19,8 b |
| 80 | 25,9 b | 3,1 a | 23,1b | 21,5 a | 11,5 a | 36,1a |
| 160 | 52,5 a | 3,0 a | 28,3 a | 21,0 a | 12,3 a | 45,7 a |

Médias seguidas de letras distintas entre si na coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%.

TABELA 4 - Quantidades de macronutrientes e de cromo absorvidos por planta de soja cultivada na presença de Cr^{3+} .

| Dose de Cr^{3+} mg L^{-1} | N | P | K | Ca | Mg | Cr |
|---|--------------|--------|--------|--------|--------|---------------|
| | -----mg----- | | | | | μg |
| 0 | 13,8 a | 0,94 b | 12,0 a | 12,6 a | 5,1 b | 0,0 |
| 20 | 13,9 a | 1,70 a | 13,9 a | 13,0 a | 6,6 a | 3,4 c |
| 40 | 11,1 b | 0,63 b | 9,4 b | 8,3 b | 3,6 c | 12,5 a |
| 80 | 8,72 c | 1,04 b | 7,8 b | 7,2 b | 3,9 bc | 14,3 a |
| 160 | 8,40 c | 0,48 c | 4,53 c | 3,4 c | 2,0 d | 7,3 b |

Médias seguidas de letras distintas entre si na coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%.

CONCLUSÕES

1. A produção de matéria seca da parte aérea e radicular da soja, o número e peso de nódulos *Bradyrhizobium*, como também a fixação biológica de nitrogênio e absorção de P, K, Ca e Mg decresceram em cultivos com concentrações de Cr^{3+} superiores à 20 mg L^{-1} .

2. Teores de Cr na parte aérea de plantas de soja superiores à $5,8 \text{ mg Kg}^{-1}$ podem ser considerados fitotóxicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AQUINO NETO, V. & CAMARGO, O.A. Crescimento e acúmulo de cromo em alface cultivada em dois latossolos tratados com $CrCl_3$ e resíduos de curtume. **Revista Brasileira da Ciência do Solo**, Campinas, v.21, n.1, p.225-235, 2000
- CASTILHOS, D.D.; COSTA, C.N.; PASSIANOTO, C.C.; LIMA, A.C.R.; LIMA.C.L.R.; MULLER, V. Efeitos da adição de cromo hexavalente no crescimento, nodulação e absorção de nutrientes em soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.6, p. 2001
- CHANG, A.C.; GRANATO, T.C.; PAGE, A.L. A methodology for establishing phytotoxicity criteria for chromium, copper, nickel and zinc in agricultural land application of municipal sewage sludge. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.21, n.4, p.521-536, 1992.
- FIGLIOLIA, A.; BENEDETTI, A.; DELLÁBATE, M.T. et al. Potential chromium bio-availability by lactuca sativa grow on two soils amended with tannery leather residues. **Frenesius Environmental Bulletin**, Basel, v.1, p.406-410, 1992
- GAUGLHOFER, J. Environmental aspects of tanning with chromium. **Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists**, Cincinnati, v.70, p.11, 1985.
- GRUBINGER, V.P.; GUTENMANN, H.W.; DOSS, G.J. ET AL. Chromium in swiss chard grown on soil amended with tannery meal fertilizer. **Chemosfere**, London, v.28, n.4, p.717-720, 1983
- HUFFMAN, E.W.D. & ALLAWAY, W.H. Growth of plants in solution culture containing low levels of chromium. **Plant Physiology**, v.52, p.72-75.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. PERES, J.R.R. Fixação biológica do nitrogênio em soja. In: ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M.(Ed.) **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994.cap.2, p.9-89.
- LOSI, M.E.; AMRHEIN, C.; FRANKENBERGER, W.T. Environmental biochemistry of chromium. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v.135, p.91-121, 1994.
- MARCHIORI JÚNIOR, M.; MELO,W.J.; BERTIPAGLIA, L.M.A.; MELO G.M.P. Plantas de sorgo cultivadas sob aplicação de biossólido contaminado com doses crescentes de cromo. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE LA CIENCIA DEL SUELO, 14, 1999. Temuco. **Resumo Expandido...** Temuco: Universidade de la Frontera, 1999. CD ROM
- MERTZ, W.E. Chromium occurrence and function in biological systems. **Physiology Reviews**, Baltimore, v.49, p.163-239, 1969.

- MORAL, R.; PEDRENO, N.; GOMEZ, I. et al. Effects of chromium on the nutrient element content and morphology of tomato. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.18, n.4, p. 815-822, 1995.
- OGAWA, T.; USUI, M.; YATOME, C. et al. Influence of chromium compounds on microbial growth and nucleic acid synthesis. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.43, p.254-260, 1989.
- ROSSI, G. **Biohydrometallurgy**. Hamburg: Mc Graw Hill, 1990. 609p.
- TEDESCO M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A. et al. **Análises de solos, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre: Departamento de Solos da UFRGS, 1995. 174p. (Boletim Técnico 5).
- WARINGTON, K. Molybdenum as a factor in the nutrition of lettuce. **Annual Applied Biology**, v.33, p.249-254, 1946.