SP 3371
P. 120

ACÚMULO DE BIOMASSA EM *BRACHIARIA RUZIZIENSIS* SOB ESTRESSE POR CR(III)

Rafael Marques[1], Cássia Rossany Gomes dos Reis[2], Raquel Bezerra Chiavegatto[2], Cintia Oliveira Silva[2], Fernanda Vidal de Campos[2], Audrey Moraes da Costa[1], Leônidas Paixão Passos[3], Mauricio Marini Köpp[3]

1- Graduando em Química, estagiário da Embrapa Gado de Leite, rafamrqs@gmail.com; 2- Graduando em Ciências Biológicas, estagiário da Embrapa Gado de Leite; 3- Pesquisador da Área de Forragicultura, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, CEP 36025-350.

Palavras-chave: Forrageiras, *Brachiaria*, Cromo tóxico, Estresse abiótico.

INTRODUÇÃO

Entre as forrageiras tropicais, o gênero *Brachiaria* se destaca, ocupando cerca de 80% de toda a área de pastagens cultivadas no Brasil. Embora a *B. ruziziensis* não seja a mais cultivada, é a única espécie dentre as cultivadas no Brasil, diplóide e totalmente sexual, permitindo a geração de variabilidade para posterior atuação da seleção. É importante mencionar que esta espécie também é utilizada nos programas de melhoramento de *B. brizantha* e *B. decumbens*, que são apomíticas e necessitam de uma ponte para a geração de variabilidade. Além disso, apresenta boa qualidade da forragem e palatabilidade (SOUZA SOBRINHO *et al.*, 2009). A pastagem representa uma forma de alimentação de menor custo do que as forragens processadas e/ou conservadas, além de contribuir significativamente na cobertura do solo, mantendo-o protegido (BERTONI, 2008). A produção de matéria verde é um fator importante na contribuição desta cobertura.

O cromo (Cr) tem se tornado um importante poluente ambiental devido ao seu grande uso industrial (curtumes, inibição de corrosão, reagentes analíticos, pigmentação e etc.) e o descarte inapropriado de resíduos gera contaminação de solos e águas. Grande parte dos solos brasileiros, incluindo os utilizados em pastagens, são ácidos (pH < 5,0), o que facilita a absorção de cromo pela planta. O estado de oxidação do metal determina sua absorção, translocação e acumulação. Para o cromo trivalente (Cr(III)) não é evidenciado qualquer papel biológico potencial nas plantas e sua absorção não depende de energia metabólica (CERVANTES *et al.*, 2001). O cromo participa de uma série de reações de oxi-redução conhecidas como reações de Fenton que geram espécies reativas de oxigênio levando a planta a desenvolver estresse oxidativo (VERNAY *et al.*, 2008). Este elemento também ocasiona inibição na germinação das sementes, no crescimento das plantas e raízes, na produção de pigmentos foliares, carboidratos e proteínas. Consequentemente, a produção das culturas expostas ao metal será reduzida (KÖPP *et al.*, 2009).

Além do cromo, outros metais podem se tornar tóxicos para as plantas em determinadas condições e concentrações. Entretanto, como defesa à toxicidade do metal, as plantas possuem mecanismos os quais são mais ou menos eficientes dependendo da espécie e genótipo (SHANKER *et al.*, 2005). Neste sentido, a estratégia do melhoramento de plantas em desenvolver genótipos que tolerem a presença do cromo no solo se torna importante. Para isso, é necessário o estudo sobre o comportamento de plantas expostas a este metal.

A absorção de ferro pela planta só ocorre quando este elemento está complexado com o EDTA. O cromo, comparado com o ferro, forma um complexo mais estável com o EDTA. Assim, a presença de Fe-EDTA na solução nutritiva pode interferir no efeito tóxico do cromo (WAISEL *et al.*, 2002). Desta forma, o estudo de toxidez por Cr em solução nutritiva apresenta algumas particularidades que o tornam extremamente complexo. Por estas razões, ainda existem poucas referências sobre este estresse em plantas e uma grande polêmica sobre o isolamento dos efeitos relativos à acidez, déficit nutricional e efeito de Cr(III) nos estudos realizados.

SP 3371
P. 120

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do Cr(III) sobre a produção de massa fresca de plantas de *B. ruziziensis*, com o intuito de estabelecer critérios na elaboração de experimentos, determinar a região da planta mais afetada e obter informações sobre uma possível resistência e/ou tolerância ao cromo.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de *B. ruziziensis* foram obtidas a partir de explantes cultivados incialmente *in vitro* em meios de cultura MS (MORASHIG & SKOOG, 1962). Retiradas desse sistema, as plantas selecionadas pelo vigor e tamanho de raiz e parte aérea uniformes passaram por um processo de aclimatação em que permaneceram por sete dias em solução nutritiva de Clark (CLARK, 1975) com metade da concentração normal. Uma suplementação de Fe-EDTA (concentração quatro vezes maior) foi realizada por mais sete dias. Após este período, mediu-se a massa fresca total inicial.

As plantas então foram divididas em três tratamentos distintos, todos em solução de Clark: T1) pH entre 5,5 e 6,5; T2) ausência de Fe-EDTA e pH 4,0; T3) ausência de Fe-EDTA, pH 4,0 e 5 ppm de Cr(III) ($CrCl_3$), segundo preconizado por Passos (1996). O experimento se desenvolveu em câmara de crescimento *Biotronette* (25 ± 4°C, 200 $\mu mol.s^{-1}.m^{-2}$ de irradiância, 14 horas de fotoperíodo e aeração da solução nutritiva). O pH das soluções foi monitorado diariamente e corrigido com HCl ou NaOH caso necessário.

Após 30 dias de tratamento, a massa fresca total final foi medida e as plantas foram divididas em raiz, caule e folhas para se medir a massa fresca final das partes. Após pesagem, o material foi estocado a -80°C para posteriores análises moleculares, o que impediu e justificou a obtenção dos dados relativos ao acúmulo de massa seca.

Os dados foram submetidos a análise da variância, teste de comparação de médias (Scott Knott, $p \leq 5\%$) considerando o efeito do fator de tratamento fixo. As análises foram realizadas com auxilio do software estatístico SAS (SAS, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância revelaram haver efeito dos tratamentos para todas as variáveis analisadas exceto para a medição da massa total inicial (MTI) (Tabela 1). Este resultado permite concluir que as alterações dos nutrientes na solução nutritiva interferem no acúmulo de biomassa de *Brachiaria ruziziensis*. O fato de não ter havido efeito significativo dos tratamentos para a variável MTI já era esperado, uma vez que as avaliações foram realizadas antes das plantas serem submetidas às soluções de tratamento além de terem sido realizadas em plantas selecionadas quanto à uniformidade de caracteres.

Tabela 1. Resumo da análise de variância para os caracteres massa de parte aérea (MPA), massa de raiz (MR), massa de caule (MC), massa total final (MTF), massa total inicial (MTI) e acúmulo relativo de massa (ARM).

Fonte de Variação	G.L.	Quadrado Médio					
		MPA	MR	MC	MTF	MTI	ARM
Tratamento	2	2,07*	0,21*	0,32*	5,67*	$0,21^{ns}$	4029,46*
Resíduo	8	0,24	0,026	0,072	0,78	0,057	19,71
Média		1,25	0,35	0,76	2,36	0,76	59,93
C.V.		28,98	35,45	25,15	27,45	21,61	7,40

G.L. = Graus de liberdade; C.V. = Coeficiente de variação; * = significativo pelo teste F ($p \leq 5\%$); ^{ns} = Não significativo.

A exposição de plantas de *Brachiaria ruziziensis* às doses semanais de 5 ppm de Cr(III) provocou um prejuízo significativo no acúmulo de massa fresca total (Figura 1B). Em contrapartida, não houve diferença significativa do acúmulo de massa fresca total entre as plantas submetidas ao T1 (controle) e as submetidas ao T2 (mesmas condições das plantas expostas ao cromo, mas sem a presença deste elemento). Isto sugere que a ausência de Fe-EDTA na solução nutritiva bem como o valor baixo de pH desta solução não foram fatores determinantes no baixo rendimento das plantas expostas ao cromo. O suplemento prévio de ferro pode justificar a não interferência da ausência deste no tratamento. Parece haver uma tendência da planta em produzir mais massa fresca em pH 4,0 (Figura 1A). Podemos dizer que o Cr(III) nas condições de cultivo utilizadas neste experimento possui potencial tóxico e as condições experimentais são adequadas para a obtenção de amostras de *B. ruziziensis* sob estresse por Cr(III).

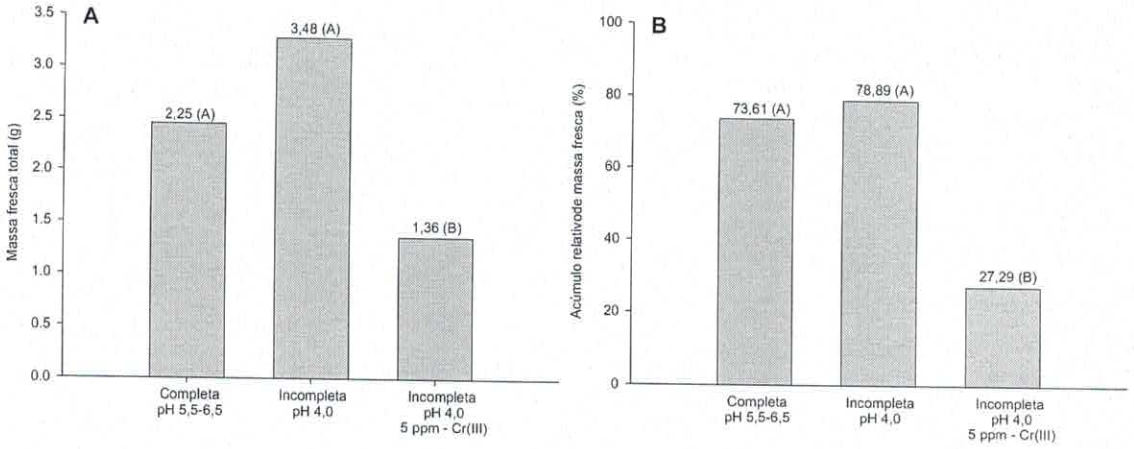

Figura 1. Médias das variáveis: A) conteúdo de massa fresca após 30 dias de tratamento; B) variação percentual da massa fresca após 30 dias de tratamento; valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Skott Knott ($p \leq 5\%$).

Ao ser realizada uma análise comparativa da Figura 1A e B pode ser constatado que um maior acúmulo de massa fresca total no tratamento T2 não necessariamente implicou em mais ganho relativo de massa durante a condução do experimento. Ao se avaliar o ganho relativo de massa, que desconsidera a condição inicial da planta (antes de submetida aos tratamentos) pode ser constatado que apenas as plantas submetidas ao efeito tóxico do cromo tiveram menor incorporação de massa com apenas 27,29% de ganho em relação ao peso inicial, enquanto nos tratamentos T1 e T2 o ganho foi de 73,61 e 78,89% respectivamente.

Na Figura 2 está apresentada a decomposição dos ganhos de massa obtidos nos sub-componentes da planta: folhas, raízes e caule. Pode ser verificado que, na ausência de cromo (T1 e T2), as folhas são responsáveis pela maior parte da massa fresca enquanto que a menor parte se deve à raiz. Quando o cromo está presente na solução nutritiva, a massa fresca das folhas equipara-se à do caule, ou seja, há uma perda significativa no acúmulo de massa fresca nas folhas. Nestas condições, a cobertura dos solos seria altamente prejudicada em pastagens cultivadas em solos contaminados por cromo.

Pode ser observado claramente na Figura 2, que as variáveis relativas à parte aérea (folhas e caule) apresentam significativo aumento na média quando cultivadas sob as condições do tratamento T2 (pH 4,0 e ausência de Fe-EDTA). No entanto, quando analisado o acúmulo de massa nas raízes, estas não apresentam diferenças significativas quando comparadas as das plantas cultivadas sob as condições do tratamento T1. Segundo Waisel *et al.* (2002) a redução do pH da

solução nutritiva de cultivo de vegetais ocasiona em uma menor disponibilidade de nutrientes no meio, que associado à ausência do Fe-EDTA acarreta em disfunções no metabolismo vegetal. Como as raízes estão em contato direto com a solução nutritiva, os efeitos deveriam ser mais marcantes, no entanto verificou-se que apenas a adição de Cr ocasionou diferenças no acúmulo de massa das raízes, implicando no isolamento direto do efeito deste metal.

Outra constatação de substancial relevância está associada à intensidade do efeito do Cr nas raízes em relação às folhas da *Brachiaria ruziziensis*. Pode ser constatado que as raízes são afetadas de maneira bem mais acentuada que as folhas da planta, pois o acúmulo de biomassa nas raízes reduziu 67,5% quando as plantas foram cultivadas na solução referente ao tratamento T3 em relação ás cultivadas no tratamento T1. Já para o acúmulo de biomassa nas folhas reduziu 50,4%. Mais uma vez ressalta-se a importância de considerar os órgãos/tecidos vegetais que estão em contato direto com o elemento tóxico (TAIZ & ZEIGER, 2004).

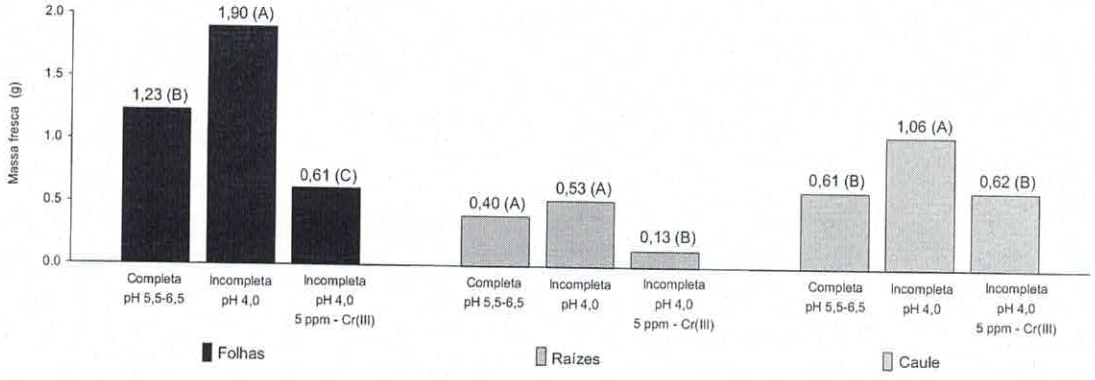

Figura 2. Médias das variáveis: massa fresca das folhas, raiz e caule após 30 dias de tratamento; valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Skott Knott ($p \leq 5\%$).

Cabe ainda salientar que o efeito tóxico do cromo sobre as raízes das plantas está em primeira instância relacionado à inibição da divisão celular no meristema radicular, implicando em menor crescimento das raízes que estão em contato direto com o elemento tóxico (TAIZ & ZEIGER, 2004; SHANKER *et al.*, 2005). As demais variáveis analisadas podem ter seu efeito relacionado ao efeito principal da redução de crescimento, pois, quando o crescimento é reduzido, conseqüentemente ocorre redução no acúmulo de massa e no volume das raízes. No entanto, esta interdependência entre as variáveis analisadas ainda necessita ser melhor estudada. Outro fato importante se deve ao conteúdo de água acumulado onde a variação da massa fresca pode estar relacionada às alterações dos níveis de água na planta e o estresse pode ser responsável por induzir desbalanços hídricos passíveis de investigação.

Visto que o estresse por cromo afeta a produção de biomassa em plantas de *Brachiaria ruziziensis*, a mesma pode ser utilizada como um indicativo de baixa produtividade das pastagens em solos contaminados com o metal. O estudo dos efeitos tóxicos deste elemento nas plantas bem como as respostas e mecanismos de defesas destas ao estresse são de importância para a agropecuária nacional. Demais estudos serão realizados para compreender melhor estes processos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Sebastião de Castro Evaristo pelo suporte técnico, a FAPEMIG pelo apoio financeiro e a Embrapa Gado de Leite pela infra-estrutura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERTONI, J.; LOMBARDI NETO, F. **Conservação do solo**. 6ª ed. São Paulo, Ícone. 2008. 355p.

CERVANTES, C.; CAMPOS-GARCÍA, J.C.; DEVARS, S.; GUTIÉRREZ-CORONA, F.; LOZA-TAVERA, H.; TORRES-GUZMÁN, JC.; MORENO-SÁNCHEZ, R. Interactions of chromium with micro-organisms and plants. FEMS. **Microbiology Review**, v.25, p.335-347, 2001.

CLARK, J. Characterization of phosphatase of intact maize roots. **Journal of Agricultural and Food Chemical**, v.23, p.458-460, 1975.

KÖPP, M.M.; PASSOS, L.P.; LÉDO, F.J.S.; FILGUEIRAS, A.L.; KELMER, G.A.R.; MARQUES, R. Efeito do cromo (III) no desenvolvimento de plântulas de *Pennisetum purpureum*. In: II Simpósio Internacional sobre Melhoramento de Forrageiras, 2009, Campo Grande - MS. **Anais....** Campo Grande - MS : Embrapa Gado de Corte, 2009.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarum,** v.15, n.3, p.473-497, 1962.

SHANKER, A.K.; CERVANTES, C.; LOZA-TAVERA, H.; AVUDAIBAYAGAM, S. Chromium toxicity in plants. **Environment International**, v.31, p.739-753, 2005.

SOUZA-SOBRINHO, F.; LÉDO, F.J.S.; KOPP, M.M. Melhoramento de gramíneas forrageiras na Embrapa Gado de Leite. In: VII Simpósio de Forragicultura e Pastagem, 2009, Lavras - MG. **Anais...** Lavras: UFLA, 2009.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS: Statistical Analysis System - Getting Started with the SAS® Learning Edition**. Cary, NC: SAS Institute. 2002. 86p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3a edição, Porto Alegre: Artmed Editora, 2004. 719p.

VERNAY, P.; JEAN, L.; GAUTHIER-MOUSSAROL, C. Effect of chromium species on phytochemical and physiological parameters in Datura innoxia **Chemosphere**, v.72, p.763-771, 2008.

WAISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. **Plant roots: the hidden half**. New York: M. Dekker. 2002. 1136p.

Realização: D.A.C. Bio
Diretório Acadêmico de
Ciências Biológicas
25 a 29 de
Outubro
de 2010
XXXIII Semana de Biologia
Anais da XVI Mostra de
Produção Científica
ufjf