

O USO DOS FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES PARA A BIORREMEDIAÇÃO DO CRÔMIO NO FEIJÃO COMUM

Hélida Regina Sala¹, Bruna Oliveira Reinheimer Spolaor¹, Daniele Silva Sukert¹, Elisa Patrícia Ramos de Melo¹, Adriana Lima Moro², Ana Cláudia Pacheco², Sérgio Marques Costa³ e Maíra Rodrigues Uliana³

¹*Pós-graduanda (a), Unoeste - helidasala@gmail.com, brunaspolaor@hotmail.com, danielesukert@hotmail.com, lisaramosmelo@hotmail.com*

²*Professor (a) do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Unoeste - adrianamoro@unoeste.br, anaclau@unoeste.br*

³*Professor (a) do Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional da Unoeste - sergiocosta@unoeste.br, maira@unoeste.br*

PROBLEMÁTICA

Uma vez que o tratamento de couro é intensificado na região do Oeste Paulista, torna-se preocupante a contaminação do solo pelo crômio (Cr) residual obtido no processo de clareamento do couro. Culturas alimentícias de importância nacional como o feijão podem apresentar sensibilidade ao Cr, pois ocorre absorção, translocação e acúmulo deste metal pesado no interior da planta. A remediação através do uso de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) tem potencial para ser uma tecnologia sustentável e de baixo custo para remover metais do solo e manter a qualidade do feijão.

CONHECIMENTO PRÉVIO

Os metais pesados são encontrados em efluentes industriais e apresentam riscos significativos à saúde animal devido à sua alta toxicidade (Leandro-Silva et al., 2020). Os solos apresentam elevada capacidade de retenção de metais pesados; contudo, quando esta capacidade é excedida e os metais ficam disponíveis no ambiente, podem entrar na cadeia alimentar através da bioacumulação.

Entre os microrganismos do solo, existem os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) que fazem associações simbióticas e mutualísticas com as raízes das plantas. A biorremediação é uma biotecnologia que utiliza desses microrganismos para desintoxicar poluentes no solo e outros ambientes. *Rizophagus clarus* e *Claroideoglossum etunicatum* são espécies de FMAs caracterizadas pela alta capacidade de se adaptar ao ambiente e de sobreviver e se reproduzir em ecossistemas semiáridos (Tomazelli et al., 2022; Oliveira et al., 2022). Estes microrganismos são capazes de fornecer proteção às plantas contra danos oxidativos causados pela absorção dos metais pesados do solo (Nacoon et al., 2021).

A região de Presidente Prudente, no estado de São Paulo, Brasil, é reconhecida como o quinto maior produtor de couro do estado (SEADE, 2019). O crômio (Cr) é um metal pesado que pode existir em vários estados de oxidação, com valências variando de 2⁻ a 6⁺. Entre estes, os estados de valência 3⁺ e 6⁺ são utilizados como sais no processo de

curtimento do couro (Nascimento, 1983). O cromo 6^+ é conhecido por ser cancerígeno e um potente agente oxidante, apresentando riscos à saúde humana e ao meio ambiente.

Sabe-se que plantas de interesse agrícola, como o feijão, são mais sensíveis às alterações fisiológicas negativas provocadas pela absorção de Cr, principalmente nos estágios iniciais da cultura (fase vegetativa). O feijão comum (*Phaseolus vulgaris L.*) é uma planta herbácea dicotiledônea pertencente à Família Fabaceae, (Silva; Duarte, 2020) que possui alta demanda nutricional e ciclo curto (Almeida et al., 2022). A cultivar IAC Imperador é uma variedade de feijão de alto rendimento na agricultura orgânica. Esta cultura desempenha um papel crucial na segurança alimentar e na subsistência em todo o mundo devido ao seu alto teor de proteínas e adaptabilidade a diversas condições agroecológicas (Silva; Ferreira; Nascente, 2021).

DESCRIÇÃO DA PESQUISA

O experimento foi realizado no Centro de Estudos em Ecofisiologia Vegetal do Oeste Paulista – CEVOP (Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE). Foram utilizadas 30 plantas envasadas no total. Antes do plantio, metade dos vasos receberam 10 mg/kg^{-1} de Cr^{6+} a partir da solução preparada com sal de Cr ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) e água deionizada.

Os vasos preenchidos com 3kg de terra vegetal comercial esterilizado por alta temperatura., a qual apresenta as seguintes características químicas: matéria orgânica, $68,5 \text{ g dm}^{-3}$; pH (1:2,5 solos/suspensões de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$), 6,2; P (resina), 305 mg dm^{-3} ; K, Ca e Mg trocáveis de 10,6, 193 e $45,8 \text{ mmolc dm}^{-3}$, respectivamente, acidez total em pH 7,0 (H+Al) de $17,2 \text{ mmolc dm}^{-3}$, capacidade de troca de cátions total (CTC) de $267,5 \text{ mmolc dm}^{-3}$ e saturação por bases de 93%. Este solo passou por um período de estabilização que durou aproximadamente 15 dias. A concentração de Cr^{6+} foi escolhida de acordo com os limites determinados em cenário industrial pela CETESB (CETESB, 2017).

Sementes de feijão, cultivar IAC Imperador, foram previamente tratadas com solução de peróxido de hidrogênio à 10% e então lavadas com água deionizada. Na semeadura foram utilizadas 6 sementes em cada vaso. As plantas foram mantidas em câmara climatizada tipo Fitotron com temperatura e fotoperíodo controlados. Após 20 dias da emergência das plantas foi realizado o desbaste, deixando-se 2 plantas por vaso. Quando as plantas apresentavam o quarto trifólio expandido, uma planta de cada vaso foi utilizada para avaliação dos parâmetros fotossintéticos e bioquímicos. A outra planta permaneceu no vaso até completar o ciclo, quando foi realizada a colheita das vagens.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado composto por esquema fatorial 3×2 . A inoculação das micorrizas ocorreu na semeadura, adicionando-se 200 g de inoculante (contendo aproximadamente 400 esporos) para cada 3 kg de solo. Os inoculantes foram provenientes do banco de Glomales da UNIPAR, constando de duas espécies de FMAs [*Rhizophagus clarus* (= *Glomus clarus*) (FMA 1)] e [*Claroideoglossum etunicatum* (= *Glomus etunicatum*) (FMA 2)] e controle (sem inóculo), combinado com dois tratamentos de Cr (0 e 10 mg kg^{-1} de Cr^{6+}). Foram utilizadas 5 repetições para cada tratamento.

Foram analisadas a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD). As análises não enzimáticas foram a

determinação da peroxidação de lipídeos por concentração de malondialdeído (MDA) e as concentrações foliares de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e prolina.

O teor de Cr foi avaliado seguindo a metodologia de Davies *et al.* (2001), no solo dos vasos e também nas raízes, caules, folhas e vagens da planta.

Raízes frescas foram lavadas em água corrente e cortadas em segmentos para determinar a porcentagem de colonização das micorrizas por meio do método de observação de segmentos de raízes de Phillips e Hayman (1970). Os segmentos colonizados foram avaliados por um microscópio estereoscópico (40–100 ×) (Giovanetti; Mosse 1980).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação às enzimas antioxidantes, verifica-se que na ausência de Cr no solo não houve variação na atividade das enzimas SOD, POD e CAT. Porém, na presença de Cr, verifica-se que nas plantas inoculadas com ambos os FMAs houve menor atividade da SOD (Tabela 1).

O MDA é um subproduto da peroxidação de lipídeos que ocorre em membranas celulares pela presença de radicais livres produzidos na planta sob estresse. Entre estes radicais livres está o H_2O_2 (Rizwan *et al.*, 2018). Neste trabalho, verifica-se que na ausência de Cr no solo não ocorreu variação na concentração de H_2O_2 e houve maior conteúdo de MDA nas plantas inoculadas com o FMA1. Já na presença de Cr, não houve variação de MDA entre os tratamentos e foi encontrada maior concentração de H_2O_2 nas plantas inoculadas com ambos os FMAs (Tabela 1).

A prolina é um aminoácido que possui ação antioxidante, protegendo as células vegetais dos efeitos deletérios do estresse (Bhagyawant *et al.*, 2019). Na ausência de Cr no solo, verificou-se maior conteúdo de prolina nas plantas inoculadas com FMA2. Já na presença de Cr, verificou-se menor produção de prolina nas plantas inoculadas com o FMA2, evidenciando o efeito de atenuação do estresse causado pelo metal pesado.

A determinação da concentração de cromo no solo revelou que dentre os tratamentos contendo Cr, o inoculado com FMA2 apresentou a maior concentração deste metal no solo, em relação ao tratamento não inoculado (Tabela 2). Já em relação às plantas, para aquelas cultivadas na presença de Cr e inoculadas com ambos os FMAs não houve diferença de concentração de Cr nas raízes e na parte aérea. Porém, é interessante ressaltar que nas plantas cultivadas na presença de Cr e FMA2 houve menor concentração deste metal nas vagens (Tabela 2), destacando-se o efeito de bioremediação do fungo micorrízico arbuscular.

De maneira geral, a taxa de colonização micorrízica foi baixa entre os tratamentos, embora tenham sido seguidas as recomendações da quantidade de inóculo por kg de solo. Nas plantas inoculadas com o FMA1 e expostas ao cromo, houve uma diminuição significativa na colonização micorrízica de 53,3%, evidenciando o efeito negativo do metal pesado sobre a colonização fúngica (Tabela 2).

APLICAÇÃO PRÁTICA

Os resultados obtidos neste estudo destacam a capacidade dos fungos micorrízicos arbusculares, *R. clarus* e *C. etunicatum*, em mitigar os efeitos tóxicos do crômio (Cr) nas plantas de feijoeiro comum. Este estudo fornece evidências de que a inoculação de FMAs pode ser uma estratégia benéfica para melhorar a tolerância dos feijoeiros à contaminação por Cr, reduzindo os efeitos negativos deste metal pesado na fotossíntese da planta e facilitando a remediação de solos. Este estudo abre a possibilidade de novos estudos com outras culturas de importância agrícola.

LITERATURA CITADA

ALMEIDA, Q. R. DE. *et al.* Reinoculation of topdressing *Rhizobium tropici* combined or not with *Azospirillum brasilense* in common bean. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 52, p. e73419, 2022.

BHAGYAWANT, S.S., *et al.* Variations in the antioxidant and free radical scavenging under induced heavy metal stress expressed as proline content in chickpea. **Physiol. Mol. Biol. Plants** 2019, 25, 683–696

CETESB. Crômio e seus compostos: Ficha de informação toxicológica. [S. l.], 2017. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/laboratorios/wp-content/uploads/sites/24/2013/11/Cromio.pdf>. Acesso em: 26 nov. 2019.

DAVIES, F. T. *et al.* Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annuus*). **Journal of Plant Physiology**, v. 158, n. 6, p. 777–786, 2001.

GIOVANNETTI, M., MOSSE, B.A., Evaluation of techniques for measuring VA mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, V.84, p. 489–500. 1980.

LEANDRO-SILVA, E. *et al.* Aplicação dos modelos de Langmuir e Freundlich no estudo da casca de banana como bioadsorvente de cobre (II) em meio aquoso. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 25, n.2, 2020.

NACCOON, S., *et al.* Growth enhancement of sunchoke by arbuscular mycorrhizal fungi under drought condition. **Rhizosphere**, v. 17, p.100308, 2021.

NASCIMENTO, R. L. G. do. Comportamento de Cr (III) na precipitação de PbCrO₄. Dissertação de Mestrado da Universidade Estadual de Campinas - Instituto de Química, 1983.

OLIVEIRA, T.C., *et al.* O fungo micorrízico arbuscular *Rhizophagus clarus* melhora a tolerância fisiológica ao estresse hídrico em plantas de soja. **Scientific Reports**, v.12, n.9044, 2022.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infections. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 55, n. 1, p. 158-161, 1970.

RIZWAN, M.; *et al.*, Cadmium phytoremediation potential of Brassica crop species: A review. **Sci. Total Environ.** p. 631–632, n. 1175–1191, 2018.

SEADE. Mapa da Indústria Paulista 2003-2016. [S. l.], 2019. Disponível em: http://www.seade.gov.br/wp-content/uploads/2019/04/MapaIndustria_abril2019.pdf. Acesso em: 26 nov. 2019.

SILVA, J. G. da; FERREIRA, E. P.de B.; NASCENTE, A. S. Rendimento do feijão afetado pela calagem de enchimento em sulco e aplicação de nitrogênio. **Revista Caatinga**, v. 34, n. 4, p. 857-866, 2021.

TOMAZELLI, D., *et al.* A inoculação de fungos micorrízicos arbusculares melhora o crescimento e a fotossíntese de mudas de *Ilex paraguariensis* (St. Hil). **Arquivos Brasileiros de Biologia e Tecnologia**, v. 65, e22210333, 2022.

Tabela 1. Parâmetros bioquímicos em plantas de feijão inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares (FMA1 e FMA2) e submetidas a doses de Crômio (mg L^{-1}).

	Cr	SOD (U $\mu\text{g/proteína}$)	POD (U $\mu\text{g/proteína}$)	CAT (U $\mu\text{g/proteína}$)	MDA (nmol/g MS)	H ₂ O ₂ ($\mu\text{mol/g}$)	Prolina ($\mu\text{mol/gMS}$)
Controle	0	53,29Aa	0,653Aa	20,66Aa	0,072Aa	0,711Aa	11,44Bb
	10	44,36Aa	0,496ABa	18,47ABa	0,069Aa	0,550Ab	22,87Aa
FMA1	0	32,78Ba	0,549Ba	21,71Aa	0,048Bb	0,461Ba	6,34Bb
	10	35,05Bb	0,519Aa	20,43Aa	0,078Aa	0,683Aa	16,40Aa
FMA2	0	29,24Ba	0,422Ca	15,02Ba	0,054ABa	0,601Ba	29,03Aa
	10	24,44Cc	0,386Ba	16,22Ba	0,042Ba	0,646Aa	21,22Ab

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ($P < 0,05$) entre as doses de crômio dentro de cada tratamento; Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística ($P < 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 2. Concentrações de Crômio (Cr) no solo (CrSolo), raiz (CrRaiz) e parte aérea (CrPA) de plantas de feijão cultivadas na ausência (0 mg mL^{-1}) ou presença deste metal (10 mg mL^{-1}) e inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares (FMA1 e FMA2) e percentual de colonização radicular.

	Cr	CrSolo (mg dm^{-3})	CrRaiz (mg^{-1}Kg)	CrP.A. (mg^{-1}Kg)	CrVagens (mg^{-1}Kg)	% Colonização
Controle	0	0,5092Ba	40,41Bb	11,08Bb	33,16Aa	1,5Ba
	10	0,536Ca	52,02Aa	8,02Bb	36,24Aa	0Bb
FMA1	0	0,9Aa	48,34Aa	30,98Aa	31,06Aa	3,8Aa
	10	1,26Ba	49,09Aa	31,50Aa	31,802Aa	1,7ABb
FMA2	0	1,28Ab	47,08ABa	32,68Aa	8,34Ba	3,7ABa
	10	1,46Aa	46,30Aa	31,55 Aa	1,05Bb	3,0Aa

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ($P < 0,05$) entre as doses de crômio dentro de cada tratamento; Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística ($P < 0,05$) entre os tratamentos.