

# INFLUÊNCIA DO ACÚMULO DE CROMO NOS ÍNDICES DE COMPOSTOS SECUNDÁRIOS EM MUDAS DE CAFÉ CONILON

Sávio da Silva Berilli<sup>1</sup>, Alan Alvino Falcão Zooca<sup>2</sup>, Jessica Rembinski<sup>3</sup>, Paulo Henrique Honorato Salla<sup>4</sup>, Jonas Dias de Almeida<sup>5</sup>, Leonardo Martineli<sup>6</sup>

(Recebido: 18 de fevereiro de 2016; aceito: 09 de maio de 2016)

**RESUMO:** Todas as plantas possuem algum tipo de metabolismo secundário, sendo estes, muitas vezes mecanismos de defesa ou alternativas de sobrevivência em ambientes estressantes. O lodo de curtume possui potencial de uso como componente de substratos de plantas, no entanto, a elevada quantidade de cromo presente nesse resíduo pode proporcionar distúrbios fisiológicos causando o estresse em plantas. O objetivo nesse experimento foi identificar e correlacionar a presença de estresse em plantas, devido o aumento sucessivo de doses do lodo de curtume em substrato de mudas de café conilon. O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados com quatro tratamentos (10, 20 e 40% de lodo) e doze repetições e um substrato convencional de produção de mudas de café conilon. Foram avaliados os níveis de cromo nas diferentes partes das mudas, índice de flavonoides e de coloração das folhas. Com o incremento de doses de lodo no substrato, houve maior acúmulo de cromo pelas mudas, tanto na parte aérea quanto nas raízes. O índice de flavonoides foi afetado positivamente pela adição de lodo no substrato. Os parâmetros de coloração das folhas não foram afetados pela adição de lodo no substrato.

**Termos para indexação:** Sustentabilidade, nutrição, metabólitos secundários, metal pesado.

## INFLUENCE OF CHROMIUM ACCUMULATION IN INDEX OF SECONDARY COMPOUNDS IN SEEDLINGS OF CONILON COFFEE

**ABSTRACT:** All plants have some kind of secondary metabolism that is, for many times, defensive mechanism or alternatives for survival in stressful environments. Tannery sludge can be potentially used as a component of substrate for plants, however, high amounts of chromium present in this residue may cause physiological disturbance as well as the stress in plants. The aim of this experiment was to identify and correlate the presence of stress in plants caused by the successive increase of tannery sludge doses in substrate for Conilon coffee seedlings. The experimental design was randomized blocks with four treatments (10, 20 and 40% clay) and twelve replicates, and a conventional substrate of Conilon coffee seedlings production. We evaluated the chromium levels in different parts of seedlings, flavonoid content and the coloration of the leaves. With the increasing of the doses on substrate, there was a higher accumulation of chromium by the plants, both on the top and in the roots. The flavonoid content was positively affected by sludge application on the substrate. The leaf color parameters were not affected by sludge application on the substrate.

**Index terms:** Sustainability, nutrition, secondary metabolites, heavy metal.

### 1 INTRODUÇÃO

O cromo é um elemento encontrado naturalmente na superfície terrestre, notadamente nas formas trivalente e hexavalente, e torna-se disponível na solução do solo pela intemperização do material de origem, ou seja, a rocha. No entanto, além de formas naturais de adição de cromo ao solo, outros processos antropogênicos podem adicionar tal elemento, como por exemplo, a utilização de lodo de curtume na agricultura e deposições das indústrias siderúrgicas, decorrentes de galvanoplastia, sendo este metal o segundo maior contaminante em água e solos decorrentes da atividade industrial (SINGH et al., 2013).

Seja naturalmente ou pela ação do homem, quando o elemento cromo é encontrado em elevadas concentrações no solo, várias pesquisas

demonstram que as plantas tendem a acumular maiores quantidades nos tecidos vegetais, sendo que na maioria dos casos estudados, este acúmulo ocorre em maiores concentrações nos tecidos das raízes, como nas culturas de milho (ARAÚJO et al., 2008), cana-de-açúcar (CAMIOTTI et al., 2007), capim elefante (OLIVEIRA et al., 2008) e em mudas de café conilon (BERILLI et al., 2015). Apesar disso, algumas espécies cultivadas como a *Raphanus sativus* L., tende a alocar maiores quantidades de cromo na parte aérea, quando comparados a tecidos das raízes (CASTILHOS; TEDESCO; VIDOR, 2002).

O cromo não é um elemento essencial para as plantas, mas, sua presença nos tecidos vegetais, em pequenas quantidades, pode promover o crescimento em várias espécies já estudadas. Entretanto, quando em elevadas concentrações,

<sup>1,2,3,4,5,6</sup>Instituto Federal do Espírito Santo - Campus de Itapina/ Rod. BR 259, km 70, Cx. P. 256- 29.709-910 - Colatina - ES savio.berilli@ifes.edu.br, alan\_afz@hotmail.com, jessykabb18@gmail.com, phs.salla@gmail.com, jonas.d.a@hotmail.com, leonardo.martineli@ifes.edu.br

o cromo pode provocar várias desordens morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, interferindo em diversos processos metabólicos que são vitais aos vegetais (SINGH et al., 2013).

Uma resposta esperada para plantas cultivadas em presença de metais pesados em níveis problemáticos é a produção de metabólitos secundários, como por exemplo, flavonoides e antocianina, tendo esses a finalidade de eliminar compostos reativos de oxigênio formados pela presença desses metais como é o caso do cromo (KEILIG; LUDWIG-MÜLLER, 2009; MICHALAK, 2006; SINGH et al., 2013).

Equipamentos específicos para se determinar de forma não destrutiva a variação dos índices de clorofila, compostos fenólicos e secundários, como flavonoides e antocianinas, têm sido utilizados de maneira crescente com intuito de monitorar ou correlacioná-los aos efeitos diversos de adubações ou variações de estresse expressadas pelos vegetais (AMARANTE et al., 2008; ROSSATO et al., 2012; TORRES; GOICOECHEA; ANTOLÍN, 2015). Com isso, o objetivo neste trabalho foi quantificar e correlacionar a presença do cromo nos tecidos de mudas de café conilon com índices de estresse em plantas, medidos através de equipamentos de fluorometria e colorimetria, induzidos pelo aumento sucessivo de doses do lodo de curtume em substrato de mudas de café conilon, como fonte de matéria orgânica alternativa.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo - Campus Itapina (IFES-Campus Itapina), localizado no município de Colatina, região noroeste capixaba, com coordenadas geográficas de 19° 32' 22" de latitude sul; 40° 37' 50" de longitude oeste e altitude de 71 metros. O experimento foi conduzido em viveiro de propagação de mudas de café, em um delineamento experimental em blocos casualizados, com quatro tratamentos e doze repetições.

Os tratamentos constaram de quatro concentrações diferentes da mistura com lodo de curtume desidratado no substrato das mudas de café conilon, sendo estes: T10; T20; T40 e TC (tratamento convencional) o que correspondem às proporções de 10%, 20% e 40% do volume total do substrato misturado com solo e húmus, e o TC (terra de barranco – húmus – adubos químicos), que é uma mistura considerada tradicional pelos produtores de mudas de café conilon na região

norte do estado do Espírito Santo. O genótipo utilizado para esse trabalho foi a variedade do café conilon clonal Vitória Incaper 8142 (FERRÃO et al., 2007). Esta variedade possui 13 clones, porém, para fins de experimentação, somente o clone V8 foi testado. A composição dos tratamentos T-C; T10; T20; T40 estão detalhados na tabela 1 a seguir:

O solo utilizado para as misturas dos substratos com os tratamentos com lodo e tratamento convencional é classificado como um latossolo vermelho distrófico com as características descritas na Tabela 2:

O lodo de curtume foi cedido pela empresa Capixaba Couros LTDA ME. Após o processamento do couro bovino cru, o lodo é liberado na forma líquido-concentrada, com 97% de umidade (base seca). Em seguida o lodo é colocado em tanques de evaporação até atingir umidade de aproximadamente 13,8% (base seca). As características do lodo desidratado utilizado nesse experimento podem ser observadas na Tabela 3.

As mudas foram produzidas a partir de estacas obtidas do tecido adulto de ramos ortotrópicos, retiradas de lavouras com bom aspecto fitossanitário e nutricional. Após a retirada dos ramos das plantas mãe, estes foram encaminhados para a casa de vegetação, local onde foram eliminados 30 cm das extremidades dos ramos ortotrópicos (ramos contendo várias estacas). Em seguida foi realizada a padronização das estacas com 6 a 8 cm de altura e folhas com 1/3 do limbo foliar. As estacas foram plantadas em sacolas de polietileno com dimensões de 11x20 cm previamente encheidas com os substratos com 30 dias de antecedência da implantação do experimento. As irrigações foram feitas diariamente durante todo o experimento por microaspersor, mantendo sempre a capacidade de campo dos substratos do experimento.

O experimento teve duração de 210 dias, contados desde o plantio das estacas até sua finalização, momento ao qual foram avaliadas as características estudadas. Para a quantificação de cromo nos diferentes tecidos (raízes, caule e folhas), as mudas, após a lavagem das raízes, foram segmentadas e levadas à estufa de circulação forçada a 70 °C até atingir peso constante para as massas secas. Após a secagem em estufa, as amostras de tecidos foram trituradas em moinho de facas tipo Willey equipado com peneira de 2 mm de diâmetro de abertura de malha.

**TABELA 1** - Descrição dos tratamentos contendo o tratamento convencional e as diferentes proporções de lodo de curtume (10, 20 e 40% de lodo).

Tratamento	Componente do substrato
TC	136L de solo, 625g de superfosfato simples, 200g de calcário, 200g de KCl e 36L de húmus.
T-10%	10% de Lodo de curtume + 60 % de solo + 30% de húmus
T-20%	20% de Lodo de curtume + 50 % de solo + 30% de húmus
T-40%	40% de Lodo de curtume + 30 % de solo + 30% de húmus

**TABELA 2** - Características químicas do solo usado como componente do substrato das mudas.

pH	P	K	Ca	Mg	Al	Na	C	M.O.	SB	T	t	m	V	Fe	Cu	Zn	Mn	S	B
	-mg/dm <sup>3</sup> -			-----cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> -----		%	%	g/dm <sup>3</sup>	--cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> --	%	%	%	%	%		-----mg/dm <sup>3</sup> -----			
5	5	48	0,8	1,3	0	0,03	0,47	8,1	2,3	3,1	2,3	0	74	7	0,6	0,8	7,9	112	0,4

Obs: SB: soma de bases; m: saturação de alumínio; V: saturação de base; T: CTC a pH 7; t: CTC efetiva.

**TABELA 3** - Características físicas e químicas do lodo de curtume bovino desidratado usado no substrato das mudas.

pH	N	P	K	Ca	Mg	C	C.E.	Cr	Na	Fe	Cu	Zn	Mn
			-----mg/dm <sup>3</sup> -----				dS/m		-----mg/dm <sup>3</sup> -----				
12,30	37	0,09	0,8	27	1	9,3	17,30	9952	550	57	1	1	1

A análise de cromo foi realizada através de digestão úmida com  $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ , e determinado pelo método proposto por Silva (1999). O nível de cromo na parte aérea das mudas foi determinado pela somatória dos níveis de cromo nas folhas e caules. Os níveis de cromo na planta foram determinados pelo somatório dos níveis da parte aérea e de raízes.

Para as análises de cor foram utilizadas um colorímetro modelo CR-400 (Konica Minolta), no qual as características de luminosidade (L) e cromaticidade (a, b e  $h^\theta$  em configuração DL/65) foram medidas em folhas de mudas de café (segundo ou terceiro par de folhas do ápice para a base), aos 210 dias após o plantio. Nesse mesmo período, na parte aérea das mudas foram feitas as análises com um fluorômetro modelo Multiplex (Force-A), com fontes múltiplas de excitação de luz (ultravioleta, azul, verde e vermelho), estimando índices de vários compostos, como balanço de nitrogênio (NBI-G e NBI-R), de clorofila total (SFR-G e SFR-R), antocianina (ANT-RG e ANT-RB) e flavonoides (FLAV). Os índices obtidos pelo multiplex por vezes, possuem mais de um por característica, derivados das diferentes combinações de comprimentos de ondas emitidos pelo equipamento. Todas as avaliações foram realizadas no período da manhã, entre as 8:00 e 11:00 horas e em apenas um lado das mudas, apontando o equipamento para a copa de cima para baixo em um ângulo aproximadamente de 45 graus. Os índices do multiplex não foram estandarizados, sendo portanto, passíveis de comparação somente para esses tratamentos.

Os níveis de cromo nos tecidos, assim como os índices derivados do fluorômetro e do colorímetro foram submetidos a análises de variância pelo teste F e aplicados ao teste de médias de Scott-Knott ( $p < 0,01$ ). Para o nível de cromo nos tecidos, os graus de liberdade para tratamentos foram desdobrados via análise de regressão. As regressões foram selecionadas de acordo com o nível de significância ( $R^2$ ). Foi realizada uma análise de correlação simples (teste t aos níveis de 5 e 1%) entre as características de cromo nas folhas e os índices de flavonoides e antocianina gerados pelo fluorômetro (correlações lineares). As análises estatísticas foram realizadas pelo Programa Assisat (versão 7.7) e os gráficos foram gerados pelo programa Origin (versão 9.0 Professional – Academic).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os padrões de resposta das mudas quanto aos níveis de cromo nos tecidos foram diferentes estatisticamente entre os tratamentos, ou seja, houve diferença estatística na quantidade de cromo nos diferentes tecidos analisados nas plantas quando submetidas a doses crescentes de lodo de curtume no substrato (Tabela 4). Mesmo as plantas submetidas a substratos convencionais, sem a presença do lodo de curtume no substrato, apresentaram valores consideráveis de cromo nos tecidos, o que indica uma presença natural deste elemento no solo, húmus ou adubos químicos.

Os níveis mais elevados de cromo nos tecidos das mudas de café foram detectados nas raízes, seguidos do caule e depois em folhas. Para esse experimento, em média, os níveis de cromo encontrados nas raízes, foram superiores a 400% dos níveis encontrados no caule e 1600% dos níveis encontrados nas folhas. Essa discrepância demonstra o quanto as mudas de café conilon podem ser eficientes em reter elementos indesejados nas raízes, indicando uma elevada capacidade seletiva das membranas celulares radiculares e/ou na estria de Caspary em reter íons de elementos que não são essenciais ao seu desenvolvimento, como mecanismo de tolerância a estresse por metais pesados (SOUZA; SILVA; FERREIRA, 2011).

Existem vários mecanismos de proteção para que uma planta sobreviva em ambientes com estresse pela presença de elementos como o cromo, cádmio, níquel ou alumínio, sendo os principais mecanismos para isso, a compartimentalização, o controle de pH da rizosfera, a exsudação de ácidos orgânicos e a quelatação intracelular desses elementos (MANARA, 2012; SOUZA; SILVA; FERREIRA, 2011). Ao que parece, quanto ao cromo, o principal mecanismo de defesa da planta é a compartimentalização nos tecidos das raízes, de modo que esse fato pode ser observado em algumas espécies, como é o caso do *Coffea canephora* Pierre ex A.Froehner, *Vigna radiata* (L.) R.Wilczek e *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (BERILLI et al., 2015; RATHEESH et al., 2010).

Segundo Ratheesh et al. (2010), o acúmulo de cromo nas raízes pode estar relacionado à liberação de ácidos orgânicos nos exsudados das raízes, ligando o metal a tais ácidos e limitando sua alocação para a parte aérea das plantas, apesar de uma discussão proposta por Panda e Choudhury (2005), mencionar que a presença de alguns ácidos orgânicos em contato com o cromo pode favorecer a entrada desse elemento na planta. A efetividade na alocação e complexação de cromo por ácidos orgânicos exsudados pelas raízes, ainda não foram completamente esclarecidos, ficando apenas evidenciado que a maior concentração de cromo na planta fica retida nos tecidos das raízes.

**TABELA 4** - Médias do nível de cromo total nas raízes (CR-R), no caule (CR-C), na folha (CR-F), na parte aérea (CR-PA) e na planta inteira (CR-PL) de mudas de café conilon cultivadas em substrato convencional e com diferentes concentrações de lodo de curtume desidratado (10, 20 e 40% de lodo) aos 210 dias de idade.

Tratamento	CR-R (mg/kg)	CR-C (mg/kg)	CR-F (mg/kg)	CR-PA (mg/kg)	CR-PL (mg/kg)
C	17,3 d	3,1 d	1,20 c	4,7 c	22,0 c
T-10	33,2 c	5,3 c	1,65 c	6,5 c	39,7 c
T-20	45,2 b	9,3 b	3,75 b	11,7 b	56,9 b
T-40	98,7 a	23,9 a	5,21 a	29,1 a	127,8 a
Média Geral	48,6	10,4	2,9	13,0	61,6
CV (%)*	38,99	47,57	43,65	48,78	37,19

Médias seguidas de letras distintas entre si na coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste Duncan ao nível de 5%. \*Coeficiente de Variação.

O aumento das doses de lodo de curtume no substrato também proporcionou maior absorção pelas plantas, seguindo padrões crescentes e diferenciados de assimilação do elemento nos diferentes tecidos das mudas (raiz, caule e folha). Como pode ser observado no Gráfico 1, as curvas de crescimento para o acúmulo de cromo na raiz e no caule apresentaram padrão de crescimento diferenciado do acúmulo de cromo pelas folhas, onde para raiz e caule, foram identificadas regressões quadráticas e para acúmulo nas folhas regressão linear. Com isso é possível observar que o incremento de cromo com o aumento da dose de lodo no substrato é mais intenso em tecidos do caule e raiz do que em folhas.

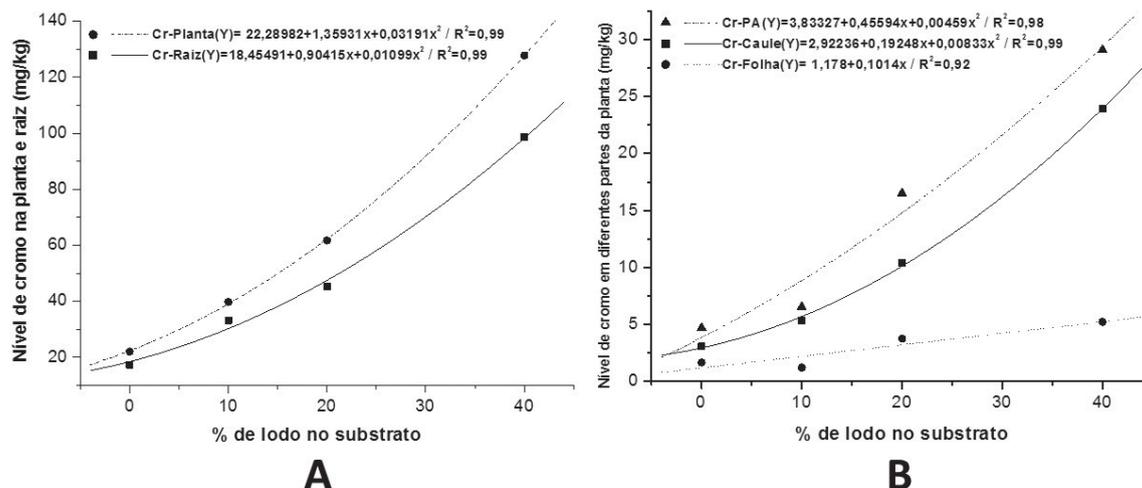
O aumento dos níveis de cromo nos tecidos em função do aumento da disponibilidade desse elemento no meio de cultivo em diferentes espécies já vem sendo relatado pela literatura. Estudos realizados por Zeng et al. (2010), em dois genótipos de arroz, observaram padrão de acumulação de cromo nos tecidos da raiz, caule e folha muito parecidos com os encontrados nesse trabalho, com teores maiores nas raízes, seguidos do caule e depois em folhas, de modo que em todos os tecidos, houve maior acúmulo quanto mais disponível esse elemento estava na solução de cultivo.

Trabalho realizado por Berilli et al. (2015), com mudas de café conilon e tratamentos parecidos aos apresentados nesse trabalho, onde a única diferença foi a ausência do húmus no substrato, apresentou níveis menores de cromo nos tecidos de raízes e folhas. Com isso, correlacionando os dois experimentos, foi possível observar que ao adicionar o húmus associado ao lodo de curtume

e terra, em média, houve maior acúmulo de cromo pela planta, da ordem de 58; 70 e 84% a mais de cromo nas raízes, folhas e na planta inteira respectivamente, revelando que a adição dessa fonte de matéria orgânica, promove o aumento de absorção de cromo pelas raízes e maior alocação desse elemento nos tecidos das mudas de café conilon.

Discussões feitas por Shanker et al. (2005), relatam que a presença de ácidos orgânicos facilitam a entrada de cromo na planta e conseqüentemente proporcionam uma maior acumulação desse elemento nos tecidos. Com base nisso, é possível associar a presença do húmus no substrato com uma maior assimilação de cromo em mudas propagadas com lodo de curtume, como o observado nesse experimento, quando comparado aos níveis de cromo em tecidos de mudas de café conilon propagadas com solo e lodo de curtume e na ausência do húmus, como no experimento realizado por Berilli et al. (2015).

A intensidade da coloração verde está diretamente relacionada com o teor de clorofila nas folhas, de modo que quanto maior a intensidade de verde em folhas, medido por colorímetros, maior é a concentração de clorofila (AMARANTE et al., 2008; SILVA et al., 2014). No entanto, nenhuma das características de coloração avaliada apresentou diferenças significativas, revelando que o equipamento utilizado não detectou variações nas intensidades de verde, vermelho ou amarelo das folhas de mudas de café conilon cultivadas em diferentes níveis de substrato com lodo de curtume associado ao húmus e terra ou tratamento convencional (Tabela 5), mesmo apresentando coeficientes de variação relativamente baixos.



**GRÁFICO 1** - Curvas de incremento de cromo na raiz, na planta inteira (A), no caule, na folha e na parte aérea (B) de acordo com doses crescentes de lodo de curtume no substrato.

**TABELA 5** - Médias de parâmetros de coloração L, a, b e h<sup>0</sup> de folhas de mudas de café conilon cultivadas em substrato convencional e com diferentes concentrações de lodo de curtume desidratado (10, 20 e 40% de lodo) aos 120 dias de idade.

Tratamento	L	A	b	h <sup>0</sup>
C	35,17	-9,90	13,69	119,16
T-10	35,25	-9,64	13,79	119,48
T-20	35,29	-9,71	13,60	119,38
T-40	35,30	-9,37	13,54	120,74
Média	35,15	-9,65	13,65	119,69
CV (%)*	8,49	11,95	14,49	1,97

Não houve diferença entre os tratamentos para qualquer característica avaliada pelo teste F.\*Coeficiente de Variação.

Quanto às características avaliadas pelo fluorômetro foi observada variação entre os tratamentos, apenas para o índice de flavonoides, mostrando diferença entre o índice de flavonoides entre as mudas cultivadas em substratos convencionais e as mudas cultivadas com adição de lodo de curtume no substrato (Tabela 6). Os índices de flavonoides das folhas de mudas com lodo no substrato foram significativamente maiores do que em folhas de plantas com substrato convencional, revelando que a presença do lodo promoveu a produção de compostos secundários como os flavonoides.

Muitos relatos existentes na literatura acerca da influência do cromo nos tecidos mencionam a ação negativa desse elemento nas estruturas celulares, como alterações na ultraestrutura dos cloroplastos e principalmente na formação de espécies reativas de oxigênio em células

(ROS), os quais exigem das plantas a formação de compostos secundários antioxidantes, como é o caso dos flavonoides (KEILIG; LUDWIG-MÜLLER, 2009; MICHALAK, 2006; SHANKER et al., 2005; SINGH et al., 2013; ZENG et al., 2010). Apesar das mudas desenvolvidas em substrato contendo lodo de curtume terem apresentado maiores índices de flavonoides, essas mudas não apresentaram outras modificações como alterações de cor ou mesmo nos índices de clorofila total (SFR-G e SFR-R), revelando uma possível adaptação das plantas à adição do lodo de curtume no substrato. Outro índice interessante a ser observado é o balanço de nitrogênio (NBI-G e NBI-R) que não apresentou diferenças entre as folhas de mudas produzidas em substratos com lodo ou com adubos convencionais, revelando uma equivalência no uso do nitrogênio nas duas situações de cultivo (Tabelas 5 e 6).

Além do fato da adição de lodo de curtume no substrato de mudas de café conilon interferir nos índices de flavonoides, revelando a influência desse componente na produção de compostos secundários, foi possível observar (Tabela 7), que índices de flavonoides (FLAV) e de antocianina (ANT-RB) correlacionam-se de forma significativa e positivamente com os níveis de cromo nas folhas (CR-F), ou seja, quanto maior o teor de cromo nas folhas maiores são os índices de flavonoides e antocianina, mesmo não sendo detectadas diferenças significativas entre os tratamentos quanto aos índices de antocianina.

De uma maneira geral, com base nos resultados deste experimento pode-se observar que mudas de café conilon são sensíveis a adição de cromo, pela adição de lodo de curtume no meio de cultivo e que a adição de húmus ao substrato, pode elevar os níveis de absorção e alocação nos tecidos, incrementando significativamente a concentração desse elemento nos diferentes tecidos das mudas, notadamente nas raízes. Além disso, foi possível observar que os níveis de cromo são diretamente proporcionais aos aumentos de índices de antioxidantes, como os flavonoides e antocianinas, mesmo não alterando as características de coloração das folhas.

#### 4 CONCLUSÃO

A elevação das doses de lodo de curtume no substrato das mudas de café conilon fez elevar os níveis de cromo nos tecidos das mudas, em diferentes concentrações, sendo com maiores intensidades em tecidos da raiz e caule e menor intensidade em folhas;

Os diferentes níveis de cromo nos tecidos das mudas sob variadas proporções de lodo no substrato e substrato convencional, não interferiram nos parâmetros de coloração das folhas, entretanto, o índice de flavonoides nas folhas dessas mudas foram maiores nos tratamentos com uso do lodo de curtume no substrato;

A correlação entre concentração de cromo nos tecidos foliares e os índices de flavonoides e antocianinas foram significativas e positivas.

#### 5 AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES), a Empresa Capixaba Couros LTDA-ME e ao Instituto Federal do Espírito Santo (IFES-Itapina) pelo apoio financeiro e parceria.

**TABELA 6** - Médias de índices de flavonoides (FLAV), antocianina (ANT-RG e ANT-RB), teor de clorofila (SFR-G e SFR -R) e balanço de nitrogênio (NBI-G e NBI-R), obtidas utilizando o equipamento multiplex em folhas de mudas de café conilon cultivadas em substrato convencional e com diferentes concentrações de lodo de curtume desidratado (10, 20, 40% de lodo) aos 210 dias de idade.

Tratamento	FLAV	SFR-G	SFR-R	ANT-RG	ANT-RB	NBI-G	NBI-R
C	0,37 b	4255 a	4048 a	0,3103 a	-0,1324 a	3378 a	1753 a
T-10	0,52 a	4412 a	4182 a	0,3134 a	-0,1147 a	2901 a	1521 a
T-20	0,49 a	4664 a	4344 a	0,3029 a	-0,1163 a	2994 a	1443 a
T-40	0,53 a	4781 a	4404 a	0,3014 a	-0,1179 a	2848 a	1374 a
Média	0,48	4528	4244	0,307	0,1203	3030	1522
CV (%)*	30,03	15,59	13,42	5,86	19,91	36,54	30,48

Médias seguidas de letras distintas entre si na coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste Duncan ao nível de 5%. \*Coeficiente de Variação.

**TABELA 7** - Valores de coeficientes de correlação simples para as características de conteúdo de cromo na folha (CR-F) e índices gerados pelo fluorômetro, quais são flavonoides (FLAV) e antocianina (ANT-RG e ANT-RB).

Tratamento	Coefficiente de correlação (r)	Significância
CR-F x FLAV	0,4514	**
CR-F x ANT-RB	0,4708	**
CR-F x ANT-RG	-0,1515	ns

\*\*significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ); \*ns não significativo ( $p \geq 0,05$ ).

## 6 REFERÊNCIAS

- AMARANTE, C. V. T. et al. Quantificação não destrutiva de clorofilas em folhas através de método colorimétrico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 4, p. 471-475, 2008.
- ARAÚJO, F. F. et al. Desenvolvimento do milho e fertilidade do solo após aplicação de lodo de curtume e fosforita. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 12, n. 5, p. 507-511, 2008.
- BERILLI, S. S. et al. Níveis de cromo em mudas de café conilon desenvolvimento substrato com lodo de curtume como adubação alternativa. **Coffee Science**, Lavras, v. 10, n. 3, p. 320-328, 2015.
- CAMILOTTI, F. et al. Acúmulo de metais pesados em cana-de-açúcar mediante a aplicação de lodo de esgoto e vinhaça. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 284-293, 2007.
- CASTILHOS, D. D.; TEDESCO, M. J.; VIDOR, C. Rendimentos de culturas e alterações químicas do solo tratados com resíduos de curtume e cromo hexavalente. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, n. 5, p. 1083-1092, 2002.
- FERRÃO, R. G. et al. Cultivares de café conilon. **Café conilon**. Vitória: Incaper, 2007. 221 p.
- KEILIG, K.; LUDWIG-MÜLL, J. Effect of flavonoids on heavy metal tolerance in Arabidopsis thaliana seedlings. **Botanical Studies**, Dresden, v. 50, n. 3, p. 311-318, 2009.
- MANARA, A. Plant responses to heavy metal toxicity. In: \_\_\_\_\_. **Plants and heavy metals**. Wageningen: Springer Netherlands, 2012. p. 27-53.
- MICHALAK, A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. **Polish Journal of Environmental Studies**, Olsztyn, v. 15, n. 4, 523-530, 2006.
- OLIVEIRA, D. Q. L. et al. Utilização de resíduos da indústria de couro como fonte nitrogenada para o capim-elefante. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 417-424, 2008.
- PANDA, S. K.; CHOUDHURY, S. Changes in nitrate reductase activity and oxidative stress response in the moss polytrichum commune subjected to chromium, copper and zinc phytotoxicity. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campos dos Goytacazes, v. 17, n. 2, p. 191-197, 2005.
- RATHEESH, C. P. et al. Distribution of Bioaccumulated Cd and Cr in two Vigna species and the Associated Histological Variations. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, Irkutsk, v. 6, n. 1, p. 4-12, 2010.
- ROSSATO, O. B. et al. Sensores de reflectância e fluorescência na avaliação de teores de nitrogênio, produção de biomassa e produtividade do algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 8, p. 1133-1141, ago. 2012.
- SHANKER, A. K. et al. Chromium toxicity in plants. **Environment International**, Amsterdam, v. 31, n. 5, p. 739-753, 2005.
- SILVA, A. M. et al. Pigmentos fotossintéticos e índice spad como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 173-181, 2014.
- SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: EMBRAPA, 1999. 370 p.
- SINGH, H. P. et al. Chromium toxicity and tolerance in plants. **Environmental Chemistry Letters**, Heidelberg, v. 11, p. 229-254, 2013.
- SOUZA, E. P.; SILVA, I. F.; FERREIRA, L. E. Mecanismos de tolerância a estresses por metais pesados em plantas. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 17, n. 2/4, p. 167-173, 2011.

TORRES, N.; GOICOECHEA, N. M.; ANTOLÍN, C. Antioxidant properties of leaves from different accessions of grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. Tempranillo after applying biotic and/or environmental modulator factors. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 76, p. 77-85, 2015.

ZENG, F. et al. Effects of chromium stress on the subcellular distribution and chemical form of Ca, Mg, Fe, and Zn in two rice genotypes. **Journal Plant Nutrition Soil Science**, San Francisco, v. 173, n. 1, p. 135-148, 2010.