

## MICORRIZAS ARBUSCULARES CONTRIBUEM PARA FITOESTABILIZAÇÃO DE MANGANÊS EM SOLO DEGRADADO PELA MINERAÇÃO DE MANGANÊS

Kaio Gráculó Vieira Garcia<sup>1</sup>; Claudia Miranda Martins<sup>2</sup>; Vânia Felipe Freire Gomes<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará, kaiovieira88@hotmail.com; <sup>2</sup>Universidade Federal do Ceará, claudia.miranda.martins@gmail.com; <sup>3</sup>Universidade Federal do Ceará, vaniafreire@ufc.br)

### INTRODUÇÃO

A mineração e beneficiamento de minerais de manganês (Mn) são atividades que podem resultar na geração de grandes quantidades de rejeitos e sérios impactos ambientais. Uma gestão inadequada deste material pode resultar em sua dispersão na superfície do solo por escoamento e ou até mesmo chegar a atingir as águas subterrâneas através da lixiviação.

O Mn é considerado um micronutriente metálico essencial, entretanto, quando em excesso pode ser considerado altamente tóxico para a maioria dos organismos vivos (CHEN *et al.*, 2016; MATTISON *et al.*, 2016). No caso das plantas, concentrações elevadas de Mn podem retardar o crescimento e provocar sintomas de clorose e necrose, além de interromper processos metabólicos essenciais, como a absorção, translocação e utilização de elementos essenciais (YANG *et al.*, 2015).

Diversas estratégias têm sido empregadas para remediação de áreas com concentrações elevadas de Mn, como por exemplo, a utilização de métodos físicos e químicos. Ainda assim, tais estratégias implicam em altos investimentos, deterioração da qualidade do solo e elevado risco de poluição secundária (YANG *et al.*, 2013). A fitoestabilização é uma técnica de fitorremediação ao que se baseia na imobilização do metal contaminante do solo através da sua absorção e acumulação no interior ou exterior da raiz (BRANCHER; ROGRIGUES, 2010), reduzindo assim a sua mobilidade e a entrada na cadeia alimentar.

Nesse contexto, a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) é considerada uma importante estratégia no restabelecimento de plantas com essa finalidade, tendo em vista sua capacidade em aumentar a absorção de água e nutrientes, bem como a de atuar na redução da disponibilidade de metais para planta hospedeira por diferentes mecanismos (GONZALEZ-CHAVEZ *et al.*, 2002; CHRISTIE *et al.*, 2004; VODNIK *et al.*, 2008).

Diante disso, o objetivo desse estudo foi avaliar o potencial fitoestabilizador da espécie *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. em solo proveniente da mineração de Mn sob influência da inoculação com FMA.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, do Departamento de Ciência do Solo (DCS), pertencente à Universidade Federal do Ceará (UFC), localizada no Campus do Pici, Fortaleza, Ceará.

O solo utilizado no experimento foi coletado a uma profundidade de 0-20 cm, em uma área de exploração mineral de manganês (Mn), localizada no município de Ocara, Semiárido, Ceará. Após a coleta foi realizado um peneiramento em malha de 4 mm, e posteriormente uma esterilização em autoclave a 121 °C a 1 atm de pressão por duas horas. As características químicas e físicas (Tabela 1) do solo foram determinadas pelo Laboratório de Rotina de Solo e Água da UFC, seguindo os referenciais metodológicos da Embrapa (1997).

**Tabela 1** - Características químicas e físicas do solo da área de exploração mineral de Mn localizada em Ocara-CE utilizado para o cultivo de *M. caesalpiniaefolia* Benth.

pH	Al	Ca	Mg	Na	K	S	H+Al	P	N	M.O.	Mn	Fe	Cu	Zn
(H <sub>2</sub> O)		----- (cmolc/kg) -----						(mg/kg)	(g/kg)		----- (mg/kg) -----			
4,95	0,2	1,4	1,2	0,12	0,15	2,87	4	2,9	0,28	3,93	425,8	82,81	2,39	2,91

O solo utilizado foi distribuído em vasos com capacidade para 5 kg, sendo utilizado 4 kg de solo por vaso, os quais receberam uma adubação básica com 6,75 mg de N, 25 mg de K, 10 mg de P e 7,5 mg de Ca por kg<sup>-1</sup> de substrato. As fontes dos nutrientes utilizados foram: NH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>, KCl, Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O e CaSO<sub>4</sub> respectivamente.

As mudas de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. (Sabiá) foram produzidas em bandejas de isopor, colocando-se duas sementes por célula, na profundidade de 2 cm. Para isso, o substrato utilizado foi areia autclavada. Com 11 dias após a sementeira, realizou-se o desbaste em cada célula, selecionando-se a planta mais vigorosa. Por ocasião do transplante das mudas para os vasos plásticos, estas foram inoculadas com 40 g de solo-inoculo contendo esporos e fragmentos de raízes de milho (*Zea mays* L.) colonizadas pelas espécies *Rhizophagus clarus* e *Claroideoglossum etunicatum* isoladamente e em mistura (Mix).

Os isolados de FMA utilizados neste experimento foram provenientes do Banco de Inoculo do Setor de Microbiologia do Solo da UFC. O inoculo foi colocado aproximadamente a 4 cm, abaixo da superfície do substrato. Com o objetivo de restabelecer a comunidade microbiana no substrato foi adicionado 8 mL de um “filtrado” proveniente do mesmo solo utilizado no experimento (não autoclavado), sem a presença de propágulos de FMA.

As plantas foram mantidas em casa de vegetação e irrigadas diariamente durante todo o período de condução do experimento, que foi de 60 dias.

Aos 60 dias após o transplântio (DAT) foi determinado à massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) e raiz (MMSR); densidade de esporos de FMA (DESP); colonização micorrízica (CM) e os teores de fósforo (P), ferro (Fe), cobre (Cu) e zinco (Zn) na parte aérea e manganês (Mn) na parte aérea e raiz.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos de inoculação (controle – não inoculado, *Rhizophagus clarus*; *Claroideoglossum etunicatum* e *R. clarus* + *C. etunicatum* (Mix)), com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico ASSISTAT versão 7.7 Beta (Silva 2013).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inoculação com os FMA Mix e *C. etunicatum* promoveram incrementos significativos sobre a massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) e raiz (MMSR), comparado as plantas inoculadas com *R. clarus* e as do tratamento controle (Tabela 2).

**Tabela 2** – Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) e raiz (MMSR), densidade de esporos de FMA (DESP) e colonização micorrízica (CM) em plantas de sabiá sob diferentes tratamentos de inoculação com FMA.

Tratamentos (FMA)	MMSPA	MMSR	DESP	CM
	(g planta <sup>-1</sup> )		(esporos 100g <sup>-1</sup> )	(%)
Controle	0,24 b	0,14 c	0,00 d	0,00 b
<i>Rhizophagus clarus</i>	0,64 b	0,18 c	312,50 c	5,75 b
<i>Claroideoglossum etunicatum</i>	6,29 a	2,46 b	751,25 a	37,50 a
Mix	7,24 a	3,78 a	533,75 b	43,12 a
C.V. (%)	17,43	15,67	22,63	22,03

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Resultados semelhantes foram observados por Cardoso *et al.* (2003), ao trabalharem com plantas de soja micorrizadas sob doses crescentes de manganês no solo. Esses autores observaram maior incremento na MMSPA e MMSR, em plantas inoculadas com FMA *Glomus macrocarpum*, comparado às não inoculadas.

A densidade de esporos foi significativamente superior na rizosfera de plantas inoculadas com o FMA *C. etunicatum* seguido do tratamento Mix, comparado a rizosfera das plantas inoculadas com *R. clarus* (Tabela 2). De acordo com Stürmer e Bellei (1994), possivelmente este fato possa estar relacionado com o melhor crescimento vegetativo do hospedeiro e o maior nível de colonização micorrízica. Os resultados observados do presente estudo sugerem que os tratamentos *C. etunicatum* e Mix mostraram-se mais adaptados as condições de elevada concentração de Mn.

Em relação à colonização micorrizica (CM) (Tabela 2), observa-se que plantas inoculadas com os FMA *C. etunicatum* e Mix, apresentaram os maiores percentuais de raízes colonizadas, 37,5% e 43,12%, respectivamente. Em geral, os níveis de colonização radicular observados no presente estudo são considerados altos, comparado a outros resultados na literatura (CARDOSO *et al.*, 2003; NOGUEIRA *et al.*, 2007; BECERRIL *et al.*, 2013).

Com relação aos teores de P na parte aérea (Tabela 3), observa-se que a inoculação com *C. etunicatum* seguido do tratamento Mix promoveu incremento significativo de 47,3% e 17,5%, respectivamente, para esta variável, em comparação às plantas não inoculadas. Geralmente, esse benefício pode ser atribuído ao aumento no volume de solo explorado pelas hifas extra-radulares dos FMA, incrementando dessa forma a absorção dos nutrientes, principalmente o P, e conseqüentemente o crescimento das plantas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os teores de Cu não sofreram influência significativa da inoculação com os FMA (Tabela 3). De forma geral, os teores de Mn, Fe e Zn, diminuíram significativamente em plantas inoculadas com FMA, comparado às plantas não inoculadas, com exceção do tratamento com *R. clarus* para o Mn (Tabela 4). Em contrapartida, os teores de Mn nas raízes foram significativamente maiores em plantas inoculadas com FMA, com exceção do *R. clarus* (Tabela 3).

**Tabela 3** – Teores de fósforo na parte aérea, manganês na parte aérea e raiz e ferro, cobre e zinco na parte aérea em plantas de sabiá sob diferentes tratamentos de inoculação com FMA.

Tratamentos (FMA)	P	Mn P.A.	Mn R.	Fe	Cu	Zn
	g kg <sup>-1</sup>	-----mg kg <sup>-1</sup> -----				
Controle	0,57 c	1074,86 a	4609,60 c	434,45 a	7,67 a	147,21 a
<i>Rhizophagus clarus</i>	0,54 c	1053,00 a	4660,91 c	243,44 b	6,71 a	72,78 b
<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	0,84 a	980,29 b	9743,13 b	53,05 d	6,34 a	63,44 b
Mix	0,67 b	1002,21 b	14036,97 a	85,77 c	6,92 a	65,14 b
C.V. (%)	10,45	4,53	7,53	8,99	19,49	11,21

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

<sup>2</sup>Mn PA = manganês na parte aérea; Mn R = manganês na raiz.

Plantas de sabiá não inoculadas com FMA apresentaram teores médios de 1074,86, 434,45 e 147,21 mg kg<sup>-1</sup> de Mn, Fe e Zn, respectivamente, que se encontram acima dos níveis considerados tóxicos para esses metais (Mn = 400 mg kg<sup>-1</sup>; Fe = 300 a 500 mg kg<sup>-1</sup>; Zn = 100 a 400 mg kg<sup>-1</sup> na matéria seca da parte aérea) (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001). No entanto, apesar da inoculação com FMA *C. etunicatum* e Mix terem reduzidos os teores de Mn na parte aérea

comparado às plantas não inoculadas, estes ainda se encontravam em níveis muito elevados (980,29 a 1002,21 mg kg<sup>-1</sup>) e acima da faixa considerada tóxica para espécies vegetais em geral (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001). Todavia, as plantas colonizadas por FMA não apresentaram sintomas de toxidez.

Recentemente tem sido relatado na literatura que os FMA atuam na atenuação de estresses bióticos e abióticos nas plantas hospedeiras, como os causados pelo excesso de metais no solo (HRISTOZKOVA *et al.*, 2016). Os resultados do presente estudo sugerem que a redução dos micronutrientes metálicos (Mn, Fe e Zn) na parte aérea de plantas colonizadas por FMA, estejam possivelmente relacionados a um maior acúmulo destes nas raízes e, conseqüentemente, diminuição na parte aérea. Fato que pode ter ocorrido devido a capacidade das micorrizas arbusculares reter e imobilizar metais em certas estruturas fúngicas e raízes colonizadas (GONZALEZ-CHAVEZ *et al.*, 2002). Contudo, seria necessária uma investigação mais detalhada utilizando-se análises mais específicas como a microscopia eletrônica de varredura associado à microanálise de raios-X para tentar esclarecer tal hipótese.

## CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que a associação dos FMA Mix e *C. etunicatum* com a espécie *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. podem potencializar a fitoestabilização de Mn em solos de mineração com elevada concentração desse elemento.

## REFERÊNCIAS

- BECERRIL, F. R. et al. Impacts of manganese mining activity on the environment: interactions among soil, plants, and arbuscular mycorrhiza. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.64, p.219-227, 2013.
- BRANCHES, A. M. B.; RODRIGUES, V. M. Análise da fitorremediação como método de recuperação de áreas degradadas pela mineração. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MINA A CÉU ABERTO, 6., 2010, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: VI Congresso Brasileiro de Mina a Céu Aberto, 2010.
- CARDOSO, E. J. B. N.; NAVARRO, R. B.; NOGUEIRA, M. A. Absorção e translocação de manganês por plantas de soja micorrizadas, sob doses crescentes deste nutriente. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n. 3, p.415-423, 2003.

CHEN, Z. et al. Proteomic analysis reveals growth inhibition of soybean roots by manganese toxicity is associated with alteration of cell wall structure and lignification. **Journal of Proteomics**, v. 143, p.151-160, 2016.

CHRISTIE, P.; LI, X.; CHEN, B. Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. **Plant and Soil**, v.261, p.209-217, 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. *Manual de métodos de análise de solo*. Rio de Janeiro. 2. ed. rev. Atual. EMBRAPA, 1997. 212p.

FOLLI-PEREIRA, M. da S. et al. Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.36, n.6, p.1663-1679, 2012.

GONZALEZ-CHAVEZ, C. et al. Copper sorption and accumulation by the extraradical mycelium of different *Glomus* spp. (arbuscular mycorrhizal fungi) isolated from the same polluted soil. **Plant and Soil**, v. 240, n. 2, p. 287–297, 2002.

HRISTOZKOVA, M. et al. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in attenuation of heavy metal impact on *Calendula officinalis* development. **Applied Soil Ecology**, v. 101, p.57-63, 2016.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. Boca Raton: CRC Press, 2001. 413p.

MATTISON, D. R. et al. Severity scoring of manganese health effects for categorical regression. **Neurotoxicology**, p.1-41, 2016.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFV, 2006. 729 p.

NOGUEIRA, M. A. et al. Mycorrhiza and soil bacteria influence extractable iron and manganese in soil and uptake by soybean. **Plant and Soil**, v. 298, n. 1-2, p. 273-284, 2007.

SILVA, F. A. S. **Assistat versão 7.7 beta**, distribuição gratuita. 2013.

STÜRMER, S. L.; BELLEI, M. M. Composition and seasonal variation of spore populations of arbuscular mycorrhizal fungi in dune soils on the island of Santa Catarina, Brazil. **Canadian Journal of Botany**, v. 72, n. 3, p. 359-363, 1994.

VODNIK, D. et al. The contribution of glomalin-related soil protein to Pb and Zn sequestration in polluted soil. **Science Of The Total Environment**, v. 392, n. 1, p.130-136, 2008.

YANG, QING-WEI et al. Investigation of manganese tolerance and accumulation of two Mn hyperaccumulators *Phytolacca americana* L. and *Polygonum hydropiper* L. in the real Mn contaminated soils near a manganese mine. **Environmental Earth Sciences**, New York, v. 68, n. 4, p.1127-1134, 2013.

YANG, W. et al. Comparison of manganese tolerance and accumulation among 24 Salix clones in a hydroponic experiment: Application for phytoremediation. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 149, p.1-7, 2015.