



## Fungos micorrízicos arbusculares e estimulante micorrízico em braquiária cultivada em solo contaminado com arsênio<sup>(1)</sup>.

**Mateus Henrique Barbosa<sup>(2)</sup>; Laíze Aparecida Ferreira Vilela<sup>(3)</sup>; Maraisa de Paula Souza<sup>(4)</sup>; Marco Aurélio Carbone Carneiro<sup>(5)</sup>.**

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos do Programa de Iniciação Científica do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e das agências de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- CAPES, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais - FAPEMIG.

<sup>(2)</sup> Bolsista CNPq; graduando em Engenharia Ambiental; Universidade Federal de Lavras; Lavras, Minas Gerais; [mateushenriquebarbosa@yahoo.com](mailto:mateushenriquebarbosa@yahoo.com); <sup>(3)</sup> Professora Adjunta; Universidade Federal de São Carlos – Campus Lagoa do Sino; Buri, São Paulo; [laizevilela@gmail.com](mailto:laizevilela@gmail.com) <sup>(4)</sup> Graduanda em Engenharia Florestal; Universidade Federal de Lavras; Lavras, Minas Gerais, [maraisa\\_tp@yahoo.com.br](mailto:maraisa_tp@yahoo.com.br) <sup>(5)</sup> Professor Associado; Universidade Federal de Lavras; Lavras, Minas Gerais; [marcocarbone@dcs.ufla.br](mailto:marcocarbone@dcs.ufla.br)

**RESUMO:** A inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em plantas cultivadas em solos contaminados por metais pesados tem constituído importante ferramenta na revegetação de áreas contaminadas. Assim, a utilização de substâncias capazes de estimular e acelerar a micorrização dessas plantas também pode ser uma excelente alternativa. Nesse contexto, a formononetina se destaca por ser a mais ativa sobre os FMAs. Nesse sentido, o presente estudo avaliou a aplicação de formononetina e a inoculação com *Rhizophagus clarus* no teor de As na parte aérea e raízes de *Brachiaria decumbens* cultivada em solo contaminado por As. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em esquema fatorial 2 x 2, com ausência (-Mic) e presença de inoculação com FMA (+Mic) e ausência (-Form) e presença de formononetina (+Form). Os resultados mostraram que a inoculação com *Rhizophagus clarus* reduziu o teor de As nas raízes e na parte aérea de braquiária. Os FMAs indígenas aumentaram a absorção de As na planta, especialmente na presença de formononetina. A aplicação de formononetina, com inoculação de *R. clarus*, diminuiu o teor de As na parte aérea. Nas raízes, houve aumento no teor de As com sua aplicação.

Termos de indexação: *Rhizophagus clarus*, formononetina, metal pesado.

### INTRODUÇÃO

A contaminação do solo por metais pesados, como arsênio (As), tem sido o foco de inúmeras pesquisas que visam reduzir o efeito tóxico aos seres vivos, principalmente aos humanos (Campos et al., 2013). Assim, a aplicação de técnicas como fitorremediação e biorremediação para a recuperação das áreas impactadas ganham destaque. A fitorremediação, com uso de plantas hiperacumuladoras ou tolerantes, por exemplo,

constitui uma das técnicas mais utilizadas para remoção e estabilização de metais pesados no solo. Aliada a esta, a biorremediação também tem promovido bons resultados na recuperação de solos contaminados por As (Leung et al., 2013). Nesse contexto, a inoculação de plantas com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) potencializa o processo de remediação dessas áreas, visto que esses fungos amenizam o estresse causado por metais pesados além de melhorar a nutrição mineral das plantas. Os FMAs possuem alguns mecanismos (biossorção, acúmulo na glomalina, quelação, etc) que influenciam a disponibilidade desses metais às plantas (Klauber Filho et al., 2005; Moreira et al., 2015), favorecendo o crescimento vegetal em tais condições.

Por outro lado, a aceleração e obtenção de maior micorrização dessas plantas em condições de solo contaminado resultam em maior eficiência na revegetação dessas áreas. Assim, a utilização de substâncias capazes de estimular a colonização e maximizar os benefícios trazidos pelos FMAs indígenas constitui-se numa excelente alternativa. Diversos compostos fenólicos, produzidos pelo metabolismo secundário das plantas, são exsudados pelas raízes em altas concentrações e exercem grande influência sobre a micorrização. Dentre esses compostos, o isoflavonóide formononetina (7-hidroxi,4'-metoxi-isoflavona) destaca-se dentre todos por ser o mais ativo sobre os FMAs (Siqueira et al., 1991b).

Diante dos benefícios dos FMAs às plantas frente ao estresse pela contaminação por metais pesados, o estudo de substâncias que estimulem a micorrização torna-se de extrema importância para a reabilitação de áreas contaminadas. Portanto, o presente estudo avaliou a aplicação de formononetina e a inoculação com *Rhizophagus clarus* no teor de As na parte aérea e nas raízes de *Brachiaria decumbens* cultivada em solo contaminado por As.



## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal de Lavras durante 5 meses. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com arranjo fatorial 2 x 2 com 6 repetições. Os tratamentos constituíram da combinação entre ausência (-Form) e presença (+Form) de formononetina e ausência (-Mic) e presença (+Mic) de inoculação com *Rhizophagus clarus*. O solo utilizado no estudo foi coletado em área de mineração de ouro em Paracatu-MG, o qual não foi autoclavado, afim de manter as características naturais do solo. As características químicas do solo utilizado são apresentadas na tabela 1.

**Tabela 1.** Caracterização do solo utilizado no estudo, proveniente da área de mineração de ouro em Paracatu – MG.

Atributos químicos do solo	
pH (água)	5,0
P (mg dm <sup>-3</sup> )	12,3
K (mg dm <sup>-3</sup> )	12,0
Ca <sup>2+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0,1
S (mg dm <sup>-3</sup> )	23,9
Mg <sup>2+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0,1
Al <sup>3+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0,5
MOS (g dm <sup>-3</sup> )	4
Zn (mg dm <sup>-3</sup> )	0,2
Fe (mg dm <sup>-3</sup> )	20
Mn (mg dm <sup>-3</sup> )	0,7
Cu (mg dm <sup>-3</sup> )	0,4
As (Melich) <sup>1</sup> (mg dm <sup>-3</sup> )	13,2
As (USEPA) <sup>2</sup> (mg dm <sup>-3</sup> )	396,0

<sup>1</sup> Teor de As biodisponível no solo; <sup>2</sup> Teor total de As no solo.

A formononetina foi aplicada no tratamento de sementes na concentração de 1,5 g kg<sup>-1</sup> de semente. A inoculação com *R. clarus* foi realizada no momento do plantio, logo abaixo das sementes de braquiária (*Brachiaria decumbens*). Em tubetes de 250 cm<sup>3</sup> foram semeadas 10 sementes de braquiária. Durante a condução do estudo, o solo foi irrigado diariamente, mantendo-se a umidade a 60% da capacidade de campo. A adubação da cultura foi realizada conforme preconizado por Ribeiro et al. (1999).

Ao final do estudo, a braquiária foi cortada e separada em parte aérea e raízes, secada em estufa com circulação forçada de ar por 72 h para a obtenção da produção de matéria seca de parte aérea (MSPA) e de raízes (MSR). Posteriormente, moída em moinho tipo Wiley. Do material obtido realizou-se a análise química para determinação do teor de As, pelo método USEPA 3051A (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION

AGENCY, 1998). Para o controle analítico de qualidade, as análises foram certificadas utilizando padrão BCR 402 (Lichen) tomate (SRM 1573) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, USA) e brancos em cada bateria de amostras. A leitura dos extratos foi realizada em espectroscopia de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a (5%) pelo programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 2 apresenta o resumo da análise de variância dos fatores avaliados (Mic x Form) para os teores de As na parte aérea e nas raízes. O teor de As na PA apresentou interação significativa entre os fatores avaliados (Mic x Form). Entretanto, o mesmo não ocorreu no teor de As das raízes, havendo apenas efeitos isolados destes.

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância (significância do teste F) para os teores de arsênio (As) na parte aérea (PA) e nas raízes (R) de *Brachiaria decumbens* submetida à aplicação de formononetina e inoculação com *Rhizophagus clarus* em solo contaminado com As.

Fatores de variação	GL	PA	R
Micorriza	1	0,00**	0,00**
Formononetina	1	0,21 <sup>ns</sup>	0,01*
Mic x Form	1	0,00**	0,93 <sup>ns</sup>
Erro	8	0,00**	0,00**
CV (%)	-	7,24	10,11

\* Significativo a 5%; \*\* Significativo a 1%; <sup>ns</sup> não significativo; CV: coeficiente de variação.

A tabela 3 apresenta o teor de As na parte aérea de braquiária. A inoculação das plantas com *R. clarus* promoveu aumento expressivo no teor de As da parte aérea, uma vez que as plantas +Mic apresentaram teor de As 100 a 214% superior que as plantas -Mic. Quanto à aplicação de formononetina, na ausência de inoculação (-Mic), ou seja, apenas com FMAs indígenas, não houve influência no teor As na parte aérea. Já no tratamento +Mic, a aplicação desse isoflavonóide reduziu o teor na parte aérea da braquiária.

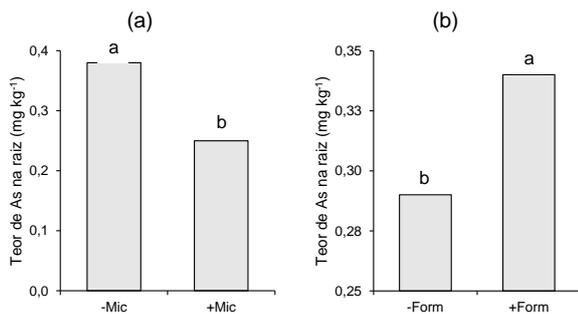


**Tabela 3.** Teor de arsênio (As) na parte aérea de *Brachiaria decumbens* submetida à aplicação de formononetina e inoculação com *Rhizophagus clarus* em solo contaminado com As.

Tratamentos	-Form	+Form
	----- mg kg <sup>-1</sup> -----	
-Mic	0,20 aA	0,22 aA
+Mic	0,10 bA	0,07 bB

Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

O teor de As nas raízes de braquiária submetida à inoculação com *R. clarus* e à aplicação de formononetina é mostrada na Figura 1. A inoculação da braquiária com *R. clarus* reduziu 34% o teor de As nas raízes (Figura 1a). Já a aplicação da formononetina contribuiu para o aumento no teor de As nas raízes (Figura 1b).



**Figura 1.** Teor de arsênio (As) nas raízes de *Brachiaria decumbens* submetida à inoculação com *Rhizophagus clarus* (a) e à aplicação de formononetina (b) em solo contaminado com As. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Em geral, o teor de As foi maior nas raízes que na parte aérea. Além disso, os resultados do presente estudo demonstram que a inoculação com *R. clarus* exerceu ação fitoprotetora à braquiária, pois reduziu os teores de As em toda a planta. Resultados semelhantes foram encontrados por Rangel et al. (2014) em espécies arbóreas cultivadas no mesmo solo do presente estudo. A redução da absorção em plantas inoculadas com FMAs tem sido descrita também para outros metais pesados, tais como Cd, Pb e Zn em milho e trigo (Liang et al., 2009; Shahabivand et al., 2012). Os FMAs contribuem para a redução do teor de As através de diferentes mecanismos. Indiretamente, a micorrização aumenta a absorção de P e o crescimento da planta, exercendo efeito de diluição na concentração de As na planta. Por outro lado, os FMAs podem reter o As no micélio fúngico ou na

glomalina, resultando em maior teor na rizosfera, em detrimento da planta (Rangel et al., 2014).

A aplicação de formononetina nas sementes de braquiária não aumentou o teor de As na parte aérea pelos FMAs indígenas. Contudo, nas raízes, efeito inverso foi observado. Já para o FMA introduzido, *R. clarus*, a aplicação de formononetina reduziu o teor de As na parte aérea e não influenciou o seu teor nas raízes. Contudo, somente a aplicação de formononetina foi capaz de incrementar o teor do As nas raízes, assim como observado por Siqueira et al. (1999) nos teores de Fe em milho. Os resultados indicam que a aplicação de formononetina aliada a população indígena de FMAs apresentou menor efeito fitoprotetor quando comparada à espécie *R. clarus*.

## CONCLUSÕES

A inoculação com *Rhizophagus clarus* reduziu o teor de As nas raízes e na parte aérea de braquiária. Os FMAs indígenas aumentaram a absorção de As na planta, especialmente na presença de formononetina.

A aplicação de formononetina, com inoculação de *R. clarus*, diminuiu o teor de As na parte aérea. Nas raízes, houve aumento no teor de As com sua aplicação.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem às agências de fomento CAPES, CNPq e FAPEMIG pela concessão de bolsas e apoio financeiro ao desenvolvimento do projeto de pesquisa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABICHEQUER, A.D.; BOHNEN, H. Eficiência de absorção, translocação e utilização de fósforo por variedade de trigo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 22:21-26, 1998.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov. 2011.
- CAMPOS, M.L.; GUILHERME, L.R.G.; MARQUES, J.J.G.S.M.; CURI, N.; ARAÚJO, A.S.A.; MIQUELLUTI, D.J.; LOPES, C. SPIAZZI, F.R. Teores de arsênio e cádmio em solos do bioma Cerrado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 37:281-286, 2013
- JANKONG, P.; VISOOTIVISETH, P.; KHOKIATTIWONG, S. Enhanced phytoremediation of arsenic contaminated land. *Chemosphere*, 68: 1906-1912, 2007.



KLAUBERG-FILHO, O.; SIQUEIRA, J.; MOREIRA, F.; SOARES, C. Ecologia, função e potencial de aplicação de fungos micorrízicos arbusculares em condições de excesso de metais pesados. In: VIDAL-TORRADO, P. et al. (Ed.). Tópicos em Ciência do Solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 4, 2005. p. 85-144.

LEUNG, H.M.; LEUNG, A.O.W.; YE, Z.H.; CHEUNG, K.C.; YUNG, K.K.L. Mixed arbuscular mycorrhizal (AM) fungal application to improve growth and arsenic accumulation of *Pteris vittata* (As-hyperaccumulator) grown in As-contaminated soil. *Chemosphere*, 92: 1367-1374, 2013.

LIANG, C.-C.; LI, T.; XIAO, Y.-P.; LIU, M.-J.; ZHANG, H.-B.; ZHAO, Z.-W. Effects of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi on maize grown in multi-metal contaminated soils. *International journal of Phytoremediation*, 11(8): 692-703, 2009.

MOREIRA, F. M. D. S.; FERREIRA, P. A. A.; VILELA, L. A. F.; CARNEIRO, M. A. C. Symbioses of plants with rhizobia and mycorrhizal fungi in heavy metal-contaminated tropical soils. In: SHERAMETI, I.; VARMA, A. (Ed.). *Heavy Metal Contamination of Soils: Soil Biology*. Springer International Publishing, v. 44, 2015. p. 215-243.

RANGEL, W. D. M.; SCHNEIDER, J.; COSTA, E. T. D. S.; SOARES, C. R. F. S.; GUILHERME, L. R. G.; MOREIRA, F. M. D. S. Phytoprotective effect of arbuscular mycorrhizal fungi species against arsenic toxicity in tropical leguminous species. *International Journal of Phytoremediation*, 16: 840-858, 2014.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V., V. H. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais. 5ª Aproximação ed. Viçosa: Comissão de fertilidade do solo do estado de Minas Gerais, 1999, 359 p.

SHAHABIVAND, S.; MAIVAN, H. Z.; GOLTAPPEH, E. M.; SHARIFI, M.; ALILOO, A. A. The effects of root endophyte and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and cadmium accumulation in wheat under cadmium toxicity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 60: 53-58, 2012.

SIQUEIRA, J.; SAFIR, G.; NAIR, M. Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation and growth of white clover by flavonoid compounds. *New Phytologist*, v. 118, n. 1, p. 87-93, 1991.

SIQUEIRA, J.O.; PEREIRA, M.A.M.; SIMÃO, J.B.P.; MOREIRA, F.M.S. Efeito da formononetina (7 hidróxi, 4'metoxi-isoflavona) na colonização micorrízica e crescimento do milho em solo contendo excesso de metais pesados. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 23: 561-567, 1999.