



# FERTBIO 2012

A responsabilidade socioambiental da pesquisa agrícola  
17 a 21 de Setembro - Centro de Convenções - Maceió/Alagoas

## Avaliação da Fitotoxicidade de Arsênio em Variáveis Fisiológicas de *Acacia mangium* Willd., Inoculadas com Fungos Micorrízicos Arbusculares.

**Roberto Junio Gomes<sup>(1)</sup>; Henrique Nery Cipriani<sup>(2)</sup>; Luis Eduardo Dias<sup>(3)</sup>; Maurício Dutra Costa<sup>(4)</sup>; Leandro Elias Moraes<sup>(5)</sup>; Samuel Cordeiro Vitor Martins<sup>(5)</sup>; Sandra Patrícia Montealegre Amezquita<sup>(6)</sup>**

<sup>(1)</sup> Graduando em Agronomia; Bolsista CNPq do Departamento de Solos; Universidade Federal de Viçosa, Rua: Olivia de Castro Almeida nº235, Bairro: Clelia Bernardes, Viçosa-MG, 36570-000, robertojgomes@yahoo.com.br <sup>(2)</sup> Pesquisador; Embrapa Rondônia; BR 364 km 5,5; Bairro Cidade Jardim; Porto Velho – RO, 76815-800; hncipriani@cpafro.embrapa.br <sup>(3)</sup> Professor orientador, Departamento de Solos; Universidade Federal de Viçosa, ledias@ufv.br <sup>(4)</sup> Professor; Departamento de Microbiologia/UFV; mdcosta@ufv.br <sup>(5)</sup> Doutorandos; Departamento de Biologia Vegetal/ UFV, leandroufj@yahoo.com.br, samuelmartins25@yahoo.com.br <sup>(6)</sup> Eng. Florestal, Inverbosques, Cr 43 A # 16 a sur 38, Edificio DHL, of 1002, Medellín, Colômbia, sandramont2@hotmail.com.

**RESUMO** – A fitorremediação pode ser uma alternativa para descontaminar solos com elevadas concentrações de As, contudo, sua eficácia depende do estabelecimento, sobre o substrato, de plantas tolerantes e com alta capacidade de absorção do elemento. A leguminosa *Acacia mangium* Willd., por sua rusticidade e rápido crescimento, possui grande potencial para fitorremediação. Além do crescimento, respostas fisiológicas à toxidez de As podem auxiliar na identificação de espécies tolerantes. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito fisiológico do arsênio em mudas de *Acacia mangium* Willd. cultivadas em solo com diferentes concentrações de arsênio quando estas estão inoculadas com fungos micorrízicos. O ensaio foi conduzido em casa de vegetação. Amostras de uma mistura 3/1 (v/v) de um Latossolo Vermelho distrófico com areia, foi incubada com diferentes doses de As (0; 50; 100 mg kg<sup>-1</sup> de As). Após a incubação procedeu-se o plantio das sementes e a inoculação dos fungos micorrízicos. O experimento foi montado em blocos casualizados, com quatro repetições. Aos 115 dias de cultivo avaliaram-se as trocas gasosas das plantas para registro da taxa fotossintética líquida, da taxa transpiratória, da condutância estomática, da relação entre a concentração interna e a concentração externa de CO<sub>2</sub> e da eficiência instantânea do uso da água. Os resultados demonstraram que a exposição das mudas de *A. mangium* ao arsênio aumentou a relação CO<sub>2</sub> interno/externo, diminuiu a eficiência instantânea do uso da água e da taxa fotossintética e não alterou a condutância estomática e a taxa transpiratória, independentemente da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares.

**Palavras-chave:** Fitorremediação, micorriza, taxa fotossintética, trocas gasosas

**INTRODUÇÃO** - Substratos degradados contendo elevadas concentrações de metais pesados e metaloides são grandes fontes de contaminação ambiental (Mello et

al., 2003). Dentre diferentes processos de mitigação deste tipo de impacto, a fitorremediação mostra-se como uma alternativa viável (Pulford e Dickinson, 2005).

A fitorremediação é definida como o uso de plantas para remover contaminantes do ambiente ou torná-los inofensivos (Salt et al., 1998).

No entanto, em se tratando de substratos contaminados por arsênio, a literatura apresenta um grupo muito reduzido de espécies com potencial fitorremediador devido à toxicidade deste elemento às plantas (Litter et al., 2011).

As plantas exibem várias respostas bioquímicas para a proteção contra agentes fitotoxicos, que podem alterar significativamente o balanço nutricional das plantas, aumentando ou reduzindo a absorção de um determinado elemento de acordo com o mecanismo de defesa adotado. (sequestro em vacúolos das células radiculares ou eliminação pelo acúmulo do elemento na parte aérea e queda prematura de folhas, por exemplo) (Santos et al., 2006).

A leguminosa *Acacia mangium* Willd., por sua rusticidade e rápido crescimento, possui grande potencial para fitorremediação, porém, devem ser buscadas formas de promover seu estabelecimento sobre o substrato contaminado (Dias et al., 2007; Gomes et al., 2011).

As associações micorrízicas são caracterizadas pelo movimento bidirecional de nutrientes, no qual fluem compostos orgânicos (carboidratos) para o fungo e nutrientes minerais para a planta. Em solos pouco férteis, os nutrientes absorvidos pelos fungos micorrízicos podem promover o crescimento e a produtividade dos vegetais. Como resultado, plantas que se associam a esses fungos normalmente são mais competitivas e mais aptas a tolerar estresses ambientais do que plantas não micorrízicas (Sylvia, 2005; Rajikumar et al., 2012).

Variáveis fisiológicas, como as trocas gasosas, são importantes para a identificação de fitotoxicidade e do potencial de crescimento das plantas sob condições de estresse. Assim o presente trabalho teve como objetivo

avaliar o efeito fisiológico do arsênio em mudas de *Acacia mangium* Willd. cultivadas em substrato com diferentes concentrações de arsênio e inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares.

**MATERIAL E MÉTODOS** - O experimento foi conduzido em casa de vegetação em vasos contendo 2,5 kg de substrato. O substrato consistiu de amostras destorreadas e peneiradas (2 mm) da camada superficial de um LV distrófico, misturadas com areia, na proporção de 3/1(v/v), respectivamente. A mistura foi submetida a análises físicas e químicas seguindo-se a metodologia descrita em Embrapa (1997) e à esterilização por duas autoclavagens a 121 °C e 101,32 kPa (1,0 atm) por 90 minutos, com intervalo de 48 h entre elas.

O substrato foi contaminado com três doses de arsênio (0, 50, 100, mg dm<sup>-3</sup>), fornecidas na forma de trióxido de arsênio ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ), oxidado de modo a garantir que todo o arsênio estivesse na forma de As(V). Após a correção de acides e aplicação de fosfato, o substrato foi submetido a análise química para a caracterização final do substrato (Tabela 1). Os teores de As disponível, avaliados pelo extrator Mehlich-3, foram de 0,00; 0,76 e 3,63 mg dm<sup>-3</sup> nas amostras que receberam 0, 50, e 100 mg kg<sup>-1</sup> As, respectivamente.

As sementes de *Acacia mangium* Willd. passaram por um tratamento de quebra de dormência através de imersão em água fervente.

Os esporos de fungos micorrízicos foram isolados de amostras de solo coletadas de um fragmento de Mata Atlântica. Amostras desses esporos foram enviadas à Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB), Santa Catarina, para identificação, sendo encontradas as seguintes espécies: *Glomus diaphanum*, *Acaulospora mellea*, *Acaulospora scrobiculata* e outras quatro espécies de *Glomus* e uma de *Acaulospora* indefinidas. A inoculação nos vasos foi feita minutos antes do plantio por meio da aplicação de 2 mL de uma solução de esporos e água destilada contendo, aproximadamente, 200 esporos por mL, sobre faixas de 1 cm de profundidade abertas no substrato.

Dez sementes foram distribuídas em cada vaso, sendo mantidas duas plantas por vaso trinta dias após a emergência das plântulas, procurando-se escolher as que apresentaram melhor crescimento.

Dos 30 aos 60 dias de cultivo foram feitas adubações de cobertura com aplicação de 3 mL de solução de Hoagland quinzenalmente em cada vaso, excluindo-se o P e o K de todos os tratamentos. Ao longo do terceiro mês de plantio, foram feitas três aplicações de 3 mL de solução 1 mol L<sup>-1</sup> de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , para complementar a adubação fosfatada.

Aos 115 dias de cultivo as trocas gasosas das plantas foram avaliadas para registro da taxa fotossintética líquida (A), da taxa transpiratória (E), da condutância estomática (gs), da relação entre a concentração interna e a concentração externa de  $\text{CO}_2$  ( $\text{Ci/Ca}$ ) e a eficiência instantânea do uso da água (WUE; A/E), utilizando-se um medidor portátil de fotossíntese LCpro+ (ADC BioScientific Ltda.). As medições foram feitas na folha mais jovem completamente expandida de cada planta (segundo nó), entre 8:20 e 10:30 h.

O experimento foi montado, em esquema fatorial completo 2 x 2 x 3, sendo duas espécies vegetais, dois tratamentos microbiológicos (sem e com inoculação com FMAs) e três doses de As, utilizando-se um delineamento em blocos casualizados com quatro repetições, sendo os dados obtidos submetidos à análise de variância e de regressão.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO** - Os efeitos toxicos do As puderam ser verificados nas variáveis fisiológicas das plantas.

Três das cinco variáveis associadas às trocas gasosas de *Acacia mangium* foram significativamente afetadas pelo As ( $p<0,01$ , Tabela 2). A relação  $\text{CO}_2$  interno/externo ( $\text{Ci/Ca}$ ) aumentou com as doses de As, com variação de mais de 70 %, comparando-se a dose 0 com a dose de 100 mg kg<sup>-1</sup> (Figura 1). Já a eficiência instantânea do uso da água (WUE) e a taxa fotossintética (A) caíram mais de 30 % nas plantas submetidas à dose de 100 mg kg<sup>-1</sup> de As. O efeito do As, contudo, não se manifestou na condutância estomática (gs) e na taxa transpiratória (E), cujas médias foram de 0,26 mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e 4,24 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, respectivamente.

Os resultados mostram que um dos principais processos metabólicos, a fotossíntese foi negativamente influenciado pelo As, em *A. mangium* (Figura 1). Nesse sentido, é de se esperar que o crescimento da planta seja severamente prejudicado (Gomes et al., 2011). Os efeitos do As na taxa fotossintética (A) podem ser diretos, como o desaparelhamento do aparato fotossintetizante e da cadeia transportadora de elétrons (Costa, 2007), ou indiretos, como a redução da síntese de ATP e da absorção de fósforo, entre outros. Em situações de estresse por metais, é possível ocorrer queda da taxa fotossintética por imparidade bioquímica, o que se refletiu no aumento da relação  $\text{Ci/Ca}$ , pois houve menor consumo de  $\text{CO}_2$ , e na queda da eficiência instantânea do uso da água (WUE).

Do ponto de vista produtivo, para compensar a queda na WUE, a planta deveria ser capaz de aumentar sua taxa transpiratória, o que demandaria mais água no solo ou maior condutância estomática. Caso a planta não seja capaz de contornar esse efeito, como foi o caso da *A. mangium*, invariavelmente haverá queda de produtividade, da capacidade de fixação de carbono e sua aptidão para revegetação de áreas contaminadas por As será restrita.

A diminuição da taxa fotossintética também pode estar relacionada com a queda no teor de clorofila das folhas, haja visto que o As pode limitar a disponibilidade de ácido δ-aminolevulínico, um precursor do pigmento, dentre outros efeitos (Jain e Gadre, 1997).

No período analisado, não houve efeito significativo da associação micorrízica (Tabela 2), isso pode ser explicado pelo curto período de tempo em análise, não sendo este suficiente para uma colonização efetiva da raiz.

**CONCLUSÕES** - O As reduz a taxa fotossintética e a eficiência instantânea do uso da água em plantas de *A. mangium*, e consequentemente reduz a capacidade de fixação de carbono dessas plantas.

Para a avaliação do efeito da associação micorrízica é necessário que as plantas sejam cultivadas por um maior espaço de tempo.

**AGRADECIMENTOS** – Ao CNPq, pela bolsa de Iniciação Científica do primeiro autor. À FAPEMIG, pela bolsa de Mestrado do segundo autor. Ao Prof. Fábio Murilo. DaMatta do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da UFV, pela disponibilização do medidor portátil de fotossíntese.

## REFERÊNCIAS

COSTA, A. C. **Bases fisiológicas da ação do arsênio em algumas espécies de cerrado**. 2007. 78 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

DIAS, L.E.; FRANCO, A.A.; CAMPELLO, E.F.C. Fertilidade do solo e seu manejo em áreas degradadas. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (Eds). **Fertilidade do solo**. Viçosa: SBCS. p. 955-990, 2007.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-EMBRAPA. **Manual de métodos de análises de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1997. 212 p.

GOMES, R.J.; CIPRIANI, H.N.; DIAS, L.E.; COSTA, M.D.; AMEZQUITA, S.P.M. Avaliação da fitotoxicidade por arsênio em *Acacia mangium* Willd. e *Mimosa caesalpiniaeefolia* Benth. inoculadas com micorrizas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 33, Uberlândia, 2011. **Anais...** Viçosa: SBCS, 2011.

JAIN, M.; GADRE, M. (P.). Effect of As on chlorophyll and protein contents and enzymic activities in greening maize tissues. **Water Air Soil Pollut.**, v. 93, p. 109-115, 1997.

SALT, D. E.; SMITH, R. D.; RASKIN, I. Phytoremediation. Annual Review of Plant Physiology. **Plant Molecular Biology**, v. 49, p. 643-668, 1998.

LITTER, M.I.; ALARCÓN-HERRERA, M.T.; ARENAS, M.J.; ARMIENTA, M.A.; AVILÉS, M.; CÁCERES, R.E.; CIPRIANI, H.N. et al. Small-scale and household methods to remove arsenic from water for drinking purposes in Latin America. **Sci. Total Environ.**, 2011. No prelo.

MELLO, J. W. V. de; DIAS, L. E.; CORREA, M. L. T. Drenagem ácida: avaliação do potencial de ocorrência, mitigação e revegetação de substratos sulfetados. **Tópicos Ci. Solo**, 3:401-430, 2003.

PULFORD, I. D.; DICKINSON, N. M. Phytoremediation technologies using trees. In: PRASAD, M. N. V.; SAJWAN, K. S.; NAIDU, R. (Eds.). **Trace Elements in the Environment: Biogeochemistry, Biotechnology, and Bioremediation**. CRC, 2005. p. 375-395.

SANTOS, F.S.; AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; MAZUR, N. Mecanismos de tolerância de plantas a metais pesados. In: FERNANDES, M.S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa:SBCS, 2006. p. 419-432.

RAJKUMAR, M.; SANDHYA, S.; PRASAD, M.N.V.; FREITAS, H. Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. **Biotechnol. Adv.**, 2012. No prelo.

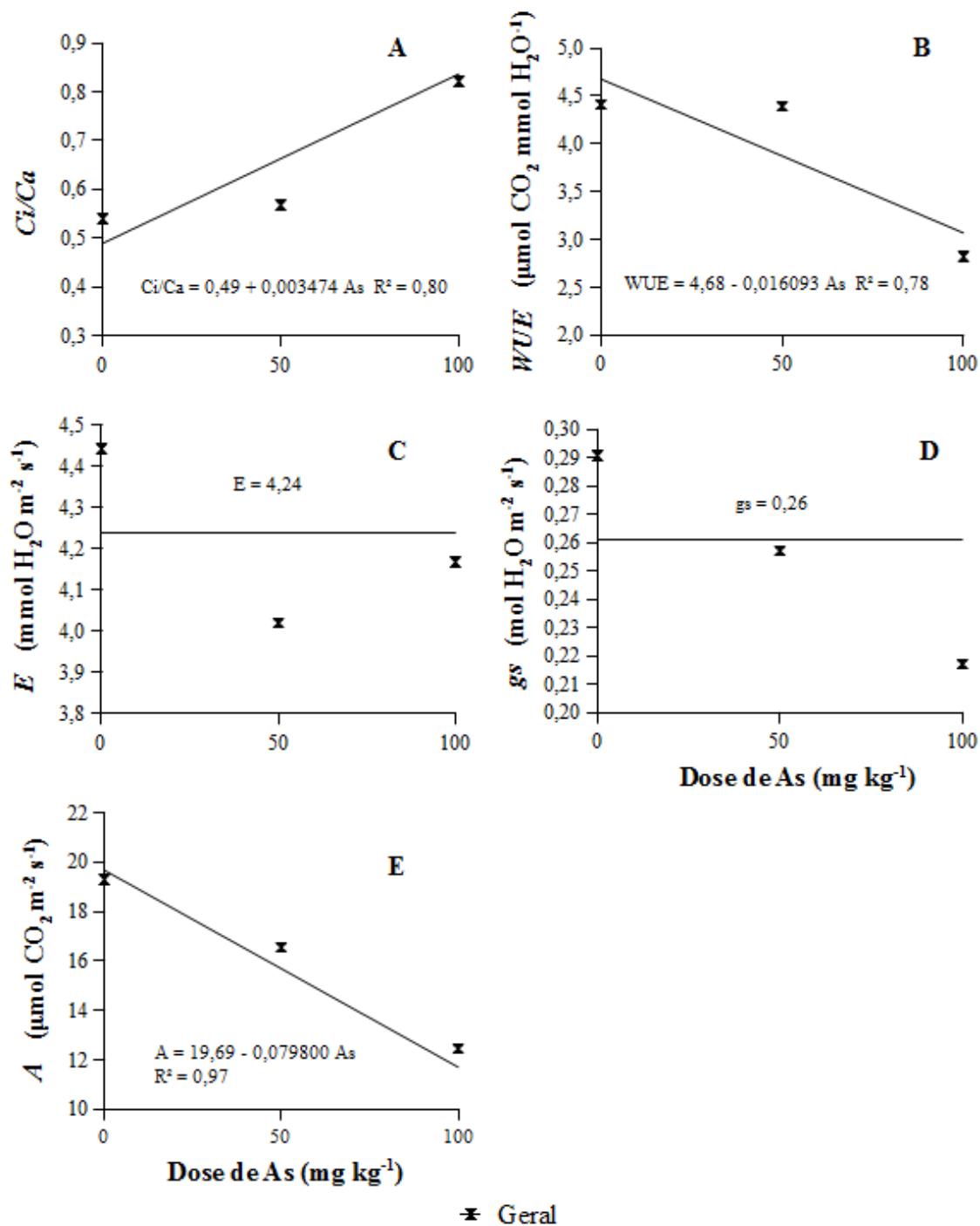
SYLVIA, D. M. Mycorrhizal symbioses. In: SYLVIA, D. M. et al. (Ed.). **Principles and applications of soil microbiology**. 2nd ed. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 2005. p. 263-282.

**Tabela 1** - Propriedades químicas do substrato após a aplicação de calcário, fosfato e incubação com As

pH- $H_2O$	P	$K^+$	$Ca^{2+}$	$Mg^{2+}$	$Al^{3+}$	$H+Al$	SB	t	T	V	m	MO	P-rem
	mg dm <sup>-3</sup>		-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----							---%---	dag kg <sup>-1</sup>	mg L <sup>-1</sup>	
6,2	12,2	207	2,80	0,65	0,00	4,0	3,98	3,98	7,98	49,9	0,0	4,27	33,2

**Tabela 2** - Significância dos tratamentos para as variáveis de trocas gasosas. Ci/Ca: relação gás carbônico interno/externo. E: taxa transpiratória. gs: condutância estomática. A: taxa fotossintética. WUE: eficiência instantânea do uso da água (A/E). \* e \*\*: significativo a 5 e a 1 % pelo teste F, respectivamente.

FV	Ci/Ca	E	gs	A	WUE
-----Pr>Fc-----					
Bloco	0,238	0,012*	0,002**	0,867	0,009**
Mic	0,704	0,558	0,870	0,954	0,962
As	0,001**	0,116	0,171	0,000**	0,001**
Mic x As	0,790	0,381	0,973	0,995	0,953
CV (%)	24,99	13,22	19,12	13,84	13,01



**Figura 1** - Relação carbono interno/externo ( $Ci/Ca$ ), eficiência instantânea do uso da água (WUE), taxa transpiratória ( $E$ ), condutância estomática ( $gs$ ) e taxa fotossintética ( $A$ ) de *Acacia mangium* em função da dose de As.