

DIVISÃO 2 - PROCESSOS E PROPRIEDADES DO SOLO

Comissão 2.1 - Biologia do solo

CRESCIMENTO DE MILHOS TRANSGÊNICO (Bt) E NÃO TRANSGÊNICO INOCULADOS COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM SOLO CONTAMINADO POR CÁDMIO

Ana Paula Del Ducca⁽¹⁾, Eliane Guimarães Pereira Melloni⁽¹⁾, Rogério Melloni^{(1)*}
e Fabrina Bolzan Martins⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universidade Federal de Itajubá, Instituto de Recursos Naturais, Itajubá, Minas Gerais, Brasil.

* Autor correspondente.

E-mail: rmelloni@unifei.edu.br

RESUMO

Com o crescimento populacional, aumenta-se a necessidade da produção de alimentos; paralelamente, observa-se o uso indiscriminado de fertilizantes e incorporação de plantas transgênicas no sistema produtivo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do cádmio no crescimento de milho transgênico Bt e não transgênico, inoculados com fungos micorrízicos arbusculares em condições controladas. Para isso, instalou-se um experimento em esquema fatorial $5 \times 4 \times 2$, sendo cinco doses de Cd (0; 28,5; 71,50; 142,50; e 285 mg kg⁻¹ Cd), inoculação individual de espécies de fungos micorrízicos arbusculares - FMAs (*Glomus clarum*, *Acaulospora scrobiculata* e *Scutellospora heterogama*) e um controle não inoculado; duas cultivares de milho Monsanto, DKB-390 (Bt) e DKB-S, e três repetições por tratamento, totalizando 120 unidades experimentais compostas de recipientes plásticos de 500 mL cada. O experimento foi conduzido por 45 dias, avaliando-se, em seguida, atributos relacionados ao crescimento vegetativo e de colonização micorrízica. As doses de Cd não influenciaram o crescimento de milho transgênico Bt e não transgênico, independentemente da inoculação de FMAs. O milho transgênico Bt não respondeu à inoculação, com colonização micorrízica entre 14 e 33 %, quando comparada a do milho não transgênico, entre 32 e 74 %.

Palavras-chave: metais pesados, micorriza arbuscular, planta geneticamente modificada.

ABSTRACT: GROWTH OF BT TRANSGENIC AND NON-TRANSGENIC CORN INOCULATED WITH MYCORRHIZAL FUNGI IN SOIL CONTAMINATED BY CADMIUM

Recebido para publicação em 27 de janeiro de 2015 e aprovado em 9 de junho de 2015.

DOI: 10.1590/0100683rbc20150046

*Population growth increases the need for food production, coupled in many cases with the indiscriminate use of fertilizers and incorporation of transgenic plants in the production system. The objective of this study was to evaluate the effect of cadmium on the growth of Bt transgenic corn and non-transgenic corn, inoculated with mycorrhizal fungi under controlled conditions. For that purpose, an experiment was set up in a 5 × 4 × 2 factorial arrangement with five Cd rates (0, 28.5, 71.50, 142.50, and 285 mg kg⁻¹); individual inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi (AMFs) represented by *Glomus clarum*, *Acaulospora scrobiculata*, and *Scutellospora heterogama*, plus a non-inoculated control; two corn hybrids, Monsanto DKB-390 (Bt) and DKB-S; and three replicates per treatment, for a total of 120 experimental units, each consisting of a 500 mL plastic container. The experiment was conducted for 45 days, and then the properties related to plant growth and mycorrhizal colonization were evaluated. The Cd rates applied did not affect the growth of Bt transgenic corn and non-transgenic, corn, regardless of AMFs inoculation. The Bt transgenic corn did not respond to inoculation, with mycorrhizal colonization from 14 to 33 %, whereas non-transgenic corn had mycorrhizal colonization from 32 to 74 %.*

Keywords: heavy metals, arbuscular mycorrhiza, genetically modified plant.

INTRODUÇÃO

Com o crescimento da população, aumenta-se a necessidade da produção de alimentos; com isso, há possibilidade do uso indiscriminado de fertilizantes e incorporação de plantas transgênicas no sistema produtivo. De acordo com Alves (2004), as alterações genéticas ocorrem, em sua maioria, com o objetivo de tornar as culturas mais resistentes à ação de agrotóxicos, patógenos e pragas.

Além da entrada de cádmio via mineração, fertilização com lodo de esgoto e efluentes industriais, pigmentos, entre outros, no Brasil o uso de fertilizantes fosfatados tem contribuído para a adição direta de Cd nos solos, promovendo a sua absorção por animais e plantas (Alves et al., 2000). Segundo Bizarro (2007), os fertilizantes fosfatados possuem maiores concentrações de metais pesados, incluindo Cd, em sua composição química do que os nitrogenados e potássicos. O Cd pode influenciar negativamente a absorção de nutrientes pelas plantas, especialmente cátions como Zn, Mn, Fe e Cu (Nascimento e Pereira, 1997).

Em uma revisão sobre os mecanismos moleculares da acumulação de metais tóxicos em plantas e algas, com ênfase para o Cd, Clemens (2006) afirmou que esse metal também pode ser absorvido pelas plantas por estar sempre ligado a outro metal, entre os quais Ca²⁺, Fe²⁺ e Zn²⁺. Nesse sentido, Paiva et al. (2001), verificando o efeito da aplicação de Cd sobre o teor de nutrientes em mudas de cedro, sob condições controladas, concluíram que a principal causa da toxidez por Cd parece acontecer em razão da sua combinação com grupos tiólicos (-SH) de enzimas e proteínas, substituindo o Zn em diversas metaloenzimas, o que provoca problemas no metabolismo vegetal.

Alguns trabalhos já foram realizados no Brasil a fim de se determinarem as concentrações de Cd nos fertilizantes comercializados. Campos et al. (2005) verificaram que em fertilizantes fosfatados as concentrações de Cd variam de 0,5 a 170 mg kg⁻¹.

Gonçalves Júnior e Pessoa (2002) estudaram cinco tipos de fertilizantes e registraram concentrações de Cd de 4 a 323 mg kg⁻¹, ao passo que Marçal et al. (2003) encontraram variação de 0,8 a 18,8 mg kg⁻¹ (Bizarro, 2007). Já Malavolta e Morais (2006) publicaram uma revisão bibliográfica que determinaram teores de Cd em fertilizantes comerciais brasileiros, com teores variando de 0 a 77 mg kg⁻¹ Cd.

Os efeitos mais observados de intoxicação de plantas por Cd são redução do crescimento e do alongamento das raízes, inibição da abertura estomática, inibição da síntese de clorofila, inibição da fotossíntese, clorose, diminuição da quantidade de carotenoides, redução da taxa de transpiração, inibição da formação de pólen e do crescimento do tubo polínico, aumento dos níveis de peroxidação lipídica, estresse oxidativo e enzimas antioxidantes, inibição da fosforilação oxidativa mitocondrial, interferência na absorção, no transporte e no uso de vários macro e micronutrientes, especialmente Fe, Mn e Zn, distúrbio do controle redox, entre outros (Guimarães et al., 2008; Baptista, 2009).

No entanto, plantas expostas ao metal desenvolveram adaptações, como a formação de fitoquelatinas, como mecanismo de defesa, de forma a conferir maior tolerância à exposição aos metais pesados (Cardoso et al., 2002). Estudos como esses são cada vez mais necessários, a fim de se evitar que o uso exagerado desse produto possa causar graves consequências no crescimento e desenvolvimento vegetais e, concomitante, ambientais. Segundo os autores, mais de 70 % do Cd absorvido pelo homem tem origem na ingestão de vegetais, que funcionam como principal ponto de ligação entre metais pesados e o homem via cadeia alimentar.

Nesse sentido, desconsiderando a possibilidade de redução de entrada de Cd no solo, a associação entre plantas e microrganismos do solo, como fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), pode contribuir para a proteção dos efeitos negativos do Cd no seu metabolismo (Nogueira e Soares, 2010). Diversos estudos

já foram realizados a fim de se avaliar a influência da contaminação por metais pesados na formação de micorriza e no crescimento de plantas hospedeiras (Siqueira et al., 1999a, b; Nogueira et al., 2004; Silva et al., 2006; Lins et al., 2007; Soares et al., 2007; Soares e Siqueira, 2007; Cabral et al., 2010); entretanto, raramente tem sido pesquisada a sua relação com plantas transgênicas, as quais têm entrado na cadeia agrícola produtiva no Brasil e no mundo.

Nesse sentido, sugere-se que a transgenia possa influenciar a formação da simbiose e o crescimento do hospedeiro em solos contaminados. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do Cd no crescimento de milho transgênico resistente à ação de insetos da ordem lepidóptera (Bt) e não transgênico, inoculados com fungos micorrízicos arbusculares em condições controladas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi instalado um experimento em casa de vegetação no município de Itajubá, MG, situado a 22° 30' 30" de latitude sul, 45° 27' 20" de longitude oeste, a 842 m de altitude média, sob clima tipo Cwa e precipitação pluvial média anual de 1.417 mm (INPE, 2012). O delineamento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial $5 \times 4 \times 2$, sendo cinco doses de Cd (0; 28,5; 71,50; 142,50; e 285 mg kg⁻¹), obtidas por meio de cloreto de cádmio, sabendo-se que o solo é considerado contaminado por Cd quando apresenta teor de até 3 mg kg⁻¹ pela Comunidade Europeia e de até 20 mg kg⁻¹ pelos Estados Unidos (Juliatti et al., 2002). Essas doses foram calculadas com base na quantidade de Cd, considerado tóxico à cultura, presente na composição química do fertilizante superfosfato simples, estabelecida por Freitas et al. (2009), simulando a aplicação de doses de P₂O₅ recomendadas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa, para o cultivo de milho (Coelho, 2006); três espécies de FMAs (*Glomus clarum*, *Acaulospora scrobiculata* e *Scutellospora heterogama*) e um controle não inoculado; duas cultivares de milho Monsanto, DKB-390 (Bt) e DKB-S, e três repetições por tratamento, totalizando 120 unidades experimentais, compostas de recipientes plásticos de 500 mL cada.

O substrato utilizado foi areia, definido em razão de ser um componente inerte e de fácil alteração de sua composição química, principalmente no que diz respeito ao nível de P disponível (Cardoso et al., 1986). A areia de textura média foi lavada e seca em estufa a 200 °C, antes da esterilização em autoclave por 2 h. O substrato esterilizado foi acondicionado nos recipientes plásticos e, posteriormente, recebeu as doses de Cd, conforme os tratamentos.

Na semeadura do milho, foram aplicados os inóculos das três espécies de fungos, compostos por solo e propágulos, provenientes de vasos-armadilha

cultivados com braquiária, de forma a adicionar 200 esporos por recipiente, a 1,5 cm de profundidade, seguindo-se da disposição de quatro sementes e aplicação de 60 mL de solução nutritiva de Hoagland (Hoagland e Arnon, 1950) com 1/3 da dose de P. A umidade dos substratos foi mantida em torno de 60 % da capacidade de campo, sendo a sua correção feita com água deionizada após pesagens diárias.

O crescimento das plantas foi acompanhado durante 45 dias, anotando-se a variação do diâmetro do colo por meio de paquímetro analógico, quando as plantas foram separadas em partes aérea e radicular e encaminhadas para secagem em estufa de circulação de ar forçado a 60 °C até peso constante. Parte do sistema radicular foi conservada em solução álcool-formol-água (AFA) a 60 % de concentração, antes da coloração com azul de tripano a 0,05 %. Em seguida, realizou-se a determinação da porcentagem de colonização micorrízica por meio da adaptação do método descrito por Giovannetti e Mosse (1980), pelo método da placa concêntrica, acrescida de lactoglicerol e levada para observação em lupa, em aumento de 30 vezes, registrando-se o total de segmentos positivos e negativos quanto à colonização.

As variáveis analisadas foram diâmetro do colo, matéria seca da parte aérea (MSPA) e da radicular (MSR), assim como a porcentagem de colonização micorrízica, cujos resultados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($\alpha = 0,05$). Para aquelas cuja distribuição normal não foi verificada, realizou-se a transformação dos dados por Box-Cox (Box e Cox, 1964). Posteriormente, fizeram-se a análise de variância e comparações de médias pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$), como análise complementar, conforme proposto por Gomes (2009) e Storck et al. (2011), mesmo com fator quantitativo como doses. Para as análises, foi utilizado o *software* SISVAR, versão 5.3 (Ferreira, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação foi significativa entre as fontes de variação (doses de Cd, espécies de fungo e cultivares de milho) em todas as variáveis estudadas, demonstrando que há diferença no efeito entre as doses de Cd e espécies de FMAs em milho transgênico Bt e não transgênico. Analisando separadamente cada variável, verificou-se que, para o diâmetro do colo (Quadro 1), os hospedeiros se comportaram diferentemente em razão das espécies de FMAs inoculadas.

Para o milho não transgênico, *Acaulospora scrobiculata* promoveu maiores valores do diâmetro do colo nas maiores doses de Cd (142,50 e 285,00 mg kg⁻¹). Exceto para as doses 28,5 e 71,25 mg kg⁻¹, o diâmetro do colo de milho não inoculado não diferiu entre os demais FMAs nas diferentes doses de Cd. Já para o milho transgênico Bt, a inoculação com FMAs proporcionou,

Quadro 1. Diâmetro médio de colo de plantas de milho não transgênico e transgênico Bt em razão das doses de cádmio e da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs)

FMAs	Dose de Cd (mg kg ⁻¹)				
	0,00	28,50	71,25	142,50	285,00
	mm				
	Milho não transgênico				
<i>Glomus clarum</i>	5,80 bA	6,17 aA	6,33 aA	6,03 abA	5,77 bA
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	6,43 abA	6,03 aA	6,10 aA	6,67 aA	6,17 aA
<i>Scutellospora heterogama</i>	6,73 aA	6,23 aAB	6,37 aAB	5,73 bB	5,93 bAB
Controle não inoculado	5,77 bA	6,50 aA	6,03 aA	5,53 bA	5,70 bA
	Milho transgênico Bt				
<i>Glomus clarum</i>	5,53 bAB	5,83 bAB	6,33aA	6,17 bAB	5,13 bB
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	4,87 bA	5,77 bA	5,27 bA	4,83 bA	5,46 bA
<i>Scutellospora heterogama</i>	5,23 bB	5,00 bB	4,40 bB	4,37 bB	6,53 aA
Controle não inoculado	6,93 aAB	6,80 aAB	6,23 abB	7,10 aA	6,07 abB

Médias seguidas de letras diferentes maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 %.

de forma geral, menores valores de diâmetro de colo em todas as doses de Cd, quando comparado com o controle não inoculado. Com isso, para o milho transgênico Bt, observou-se que não houve aumento do diâmetro de colo com a inoculação de FMAs. Com relação à variável matéria seca radicular (MSR), verificou-se que o comportamento dos FMAs para cada dose de Cd, assim como ocorreu para diâmetro do colo, variou em razão dos hospedeiros (milho transgênico Bt e não transgênico) (Quadro 2). Para milho transgênico Bt, todos os tratamentos com FMAs promoveram redução da MSR em todas as doses de Cd, quando comparados ao controle sem fungo. Para o milho não transgênico, houve diferença na resposta da MSR entre as doses de Cd e FMAs. O FMA que promoveu maior produção de MSR foi *Acaulospora scrobiculata*, principalmente nas maiores doses de Cd (142,50 e 285 mg kg⁻¹). Ainda com relação ao milho não transgênico, observou-se que, nessas doses de Cd, o *Glomus clarum* não promoveu aumento significativo de formação de raízes.

O baixo impacto negativo de Cd na produção de MSR de milho não transgênico, independentemente da inoculação de FMAs, contraria o resultado obtido por Siqueira et al. (1999a), que observaram menor produção de MSR após aplicação das doses de Cd no solo, obtida a partir da mistura de solo contaminado e não contaminado por Cd nas seguintes proporções: 0, 10, 20, 40 e 80 % por volume. Os resultados, ainda, não corroboram aqueles obtidos por Carneiro et al. (2001), em dose de até 54 mg kg⁻¹, os quais avaliaram a absorção de Cd em oito espécies de gramíneas e uma crucífera; por Cunha et al. (2008), até 20 mg kg⁻¹ de Cd em milho; por Soares et al. (2007), e até 15 µmol L⁻¹ em trema; por Silva et al. (2006), em doses até 29,0 mg kg⁻³ de Cd em *Braquiaria decumbens*; e por Garg e Aggarwal (2011), em doses até 50 mg kg⁻¹ pelo feijão-guandu, provavelmente em virtude do tempo de condução do experimento, 45 dias, suficiente para formação da simbiose, apesar da

ausência de sintomas visuais da toxidez de Cd como clorose, encarquilhamento e enrolamento de folhas, como observados por Cunha et al. (2008), em doses entre 8,7 e 13,1 mg kg⁻¹ de Cd testadas em milho sob condições controladas.

Essa divergência de efeito sobre o crescimento vegetal pode estar ligada às diferentes respostas de hospedeiros ao metal, pelo fato de as plantas e, especificamente, o milho não transgênico terem desenvolvido mecanismos para reduzir a concentração de Cd livre no citossol das células, incluindo: compartimentalização desse metal em estruturas subcelulares, exclusão e, ou, diminuição do transporte por meio da membrana e formação de peptídeos ricos em cisteínas, conhecidos como fitoquelatinas, que podem complexar esse metal (Lozano-Rodrigues et al., 1997).

Neste estudo, optou-se por avaliar a MSR aos 45 dias após a semeadura, de forma a registrar o impacto em curto prazo de doses de Cd e efeito de espécies de FMAs nos diferentes hospedeiros. O que também cabe discussão é a diferença observada entre os valores de MSR entre os tratamentos inoculados com FMAs e o controle não inoculado, principalmente nas maiores doses de Cd. O controle sem FMA proporcionou valores maiores, evidenciando que, para milho transgênico Bt, a MSR foi maior quando não houve inoculação de FMAs e aplicação de doses de Cd. Mesmo observando-se tendência de queda na produção de MSR com o aumento das doses de Cd, os valores continuaram maiores do que os demais tratamentos com FMAs (Quadro 2).

Quanto à produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) (Quadro 2), semelhante ao observado para a MSR, verificou-se que para o milho transgênico Bt não houve efeito da inoculação de FMAs em todas as doses de Cd. Além disso, o milho transgênico Bt não sofreu redução da MSPA em razão do aumento

Quadro 2. Matéria seca de raiz (MSR) e de parte aérea (MSPA) de plantas de milho não transgênico e transgênico Bt em razão das doses de cádmio e da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs)

FMAs	Dose de Cd (mg kg ⁻¹)				
	0,00	28,50	71,25	142,50	285,00
MSR (g)					
Milho não transgênico					
<i>Glomus clarum</i>	8,38 bA	8,57 bA	9,61 abA	8,23 abA	8,34 bA
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	10,04 aA	7,70 bA	7,21 bA	12,38 aA	11,92 aA
<i>Scutellospora heterogama</i>	8,40 bAB	10,94 aAB	13,94 aA	6,69 bB	9,01 bAB
Controle não inoculado	6,26 bA	7,87 bA	10,23 abA	7,13 abA	11,01 abA
Milho transgênico Bt					
<i>Glomus clarum</i>	6,93 bAB	3,35 bB	3,51 bAB	9,80 bA	9,05 abAB
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	2,70 bA	5,92 bA	6,62 abA	2,47 bA	2,63 bA
<i>Scutellospora heterogama</i>	1,67 bA	3,10 bA	3,47 bA	4,08 bA	5,48 bA
Controle não inoculado	20,80 aA	20,86 aA	9,46 aB	15,67 aAB	14,20 aAB
MSPA (g)					
Milho não transgênico					
<i>Glomus clarum</i>	2,66 bA	2,64 aA	3,21 aA	2,69 aA	3,42 aA
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	2,57 bA	2,53 aA	2,45 aA	2,62 aA	2,60 bA
<i>Scutellospora heterogama</i>	3,59 aA	2,59 aB	2,98 aAB	2,61 aAB	2,96 abAB
Controle não inoculado	2,53 bA	2,64 aA	2,75 aA	2,59 aA	2,62 bA
Milho transgênico Bt					
<i>Glomus clarum</i>	1,73 bAB	1,74 bAB	2,65 abA	2,25 bAB	1,59 bB
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	1,87 bA	2,11 bA	1,87 bA	1,02 bA	1,72 bA
<i>Scutellospora heterogama</i>	1,00 bB	1,77 bB	1,31 bB	1,10 bB	2,88 abA
Controle não inoculado	3,37 aA	3,49 aA	2,93 aA	3,47 aA	3,26 aA

Médias seguidas de letras diferentes maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 %.

das doses de Cd, demonstrando sua capacidade inicial de crescer em solos contaminados por Cd. Para o milho não transgênico, houve resposta significativa da variável com a inoculação de FMAs, em especial com a inoculação de *Glomus clarum*, em todas as doses de Cd, e de *Scutellospora heterogama*, principalmente na dose intermediária de Cd (142,50 mg kg⁻¹).

O aumento da MSPA de milho não transgênico inoculado com *Glomus clarum* não foi acompanhado pelo diâmetro do colo (Quadro 1) e nem pela produção de MSR (Quadro 2), evidenciando maior eficiência da fotossíntese no processo de crescimento vegetativo da parte aérea desse hospedeiro.

De maneira geral, pode-se afirmar que com o aumento das doses de Cd não houve redução significativa da MSPA em nenhum dos tratamentos estudados, indicando que durante os 45 dias de experimento o impacto em curto prazo da contaminação por Cd foi baixo, tanto em milho transgênico Bt quanto em não transgênico.

Os resultados de comparação de médias para percentual de colonização micorrízica podem ser

observados no quadro 3. A presença de colonização indicou que o tempo de 45 dias foi suficiente para estabelecimento da simbiose, comprovando que o milho é uma cultura bem infectiva em razão da sua estrutura radicular com várias raízes finas (Reis et al., 1991), e também que os FMAs utilizados foram eficientes em colonizar rapidamente o hospedeiro, comportamento observado por outros autores (Lambais e Cardoso, 1988; Siqueira et al., 1999a; Faria et al., 2009) em condições edáficas inadequadas.

A colonização micorrízica foi maior no milho não transgênico, com 60 a 70 % nas menores doses (até 28,5 mg kg⁻¹), reduzindo para todos os fungos inoculados à medida que as doses de Cd aumentaram. Essa redução dos valores de colonização por causa do aumento das doses de Cd demonstra que, com o aumento da disponibilidade de Cd, a colonização de ambos os hospedeiros por FMAs foi prejudicada, principalmente em milho transgênico Bt. Esse resultado corrobora aqueles obtidos por Siqueira et al. (1999a), Carneiro et al. (2001) e Soares et al. (2007), os quais observaram efeito tóxico do Cd na colonização micorrízica.

Quadro 3. Colonização radicular de plantas de milho não transgênico e transgênico Bt em razão das doses de cádmio e da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs)

FMAs	Dose de Cd (mg kg ⁻¹)				
	0,00	28,50	71,25	142,50	285,00
	%				
	Milho não transgênico				
<i>Glomus clarum</i>	65,33 aA	46,86 bAB	60,05 aA	37,61 aB	49,69 abAB
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	66,79 aAB	73,97 aA	66,53 aAB	47,73 aB	52,37 aAB
<i>Scutelospora heterogama</i>	69,77 aA	48,12 bAB	69,18 aA	41,28 aB	31,89 bB
Controle não inoculado	4,67 bA	8,18 bA	10,06 bA	4,17 bA	6,52 bA
	Milho transgênico Bt				
<i>Glomus clarum</i>	29,01 aA	25,37 aA	21,16 abA	26,30 aA	31,94 aA
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	26,78 aA	33,16 aA	31,35 aA	22,41 aA	28,16 aA
<i>Scutelospora heterogama</i>	18,54 aAB	23,69 aAB	14,66 bB	19,19 abAB	28,80 aA
Controle não inoculado	5,80 bAB	12,60 bAB	12,13 bA	10,74 bAB	4,60 bB

Médias seguidas de letras diferentes maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 %.

Especificamente para o milho transgênico Bt, a colonização variou de 14 a 33 %, nas diferentes doses de Cd (Quadro 3). Tal resultado indicou que a transgenia do hospedeiro influencia a sua resposta ao FMA e, conseqüentemente, a formação de micorriza. Nesse sentido, pode-se inferir indiretamente que, diante de situações de estresse edáfico, como baixa umidade do solo, baixa disponibilidade de nutrientes e presença de fitopatógenos, a planta transgênica de milho (Bt) pode apresentar respostas negativas, até mesmo com redução de crescimento.

CONCLUSÕES

As doses de cádmio aplicadas (de 0 a 285 mg kg⁻¹) não influenciaram o crescimento inicial de milho transgênico Bt e não transgênico, aos 45 dias após a semeadura, independentemente da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares.

O milho transgênico Bt, até os 45 dias após a semeadura, promoveu baixa resposta à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares, com colonização micorrízica entre 14 e 33 %, quando comparada à do milho não transgênico, entre 32 e 74 %. No entanto, para o milho não transgênico, as duas maiores doses de Cd (142,50 e 285,00 mg kg⁻¹) promoveram redução da colonização micorrízica, quando inoculado com *Scutellospora heterogama*.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado à primeira autora; e à FAPEMIG, pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Alves GS. A biotecnologia dos transgênicos: precaução é a palavra de ordem. *Holos*. 2004;20:1-10.
- Alves NNA, Albuquerque JH, Oliveira FA, Cavalcante LF, Souza CC. Manejo da água disponível no solo e adubação fosfatada: efeito sobre a cultura do milho. *R Bras Eng Agric Amb*. 2000;6:247-50.
- Baptista SMP. Avaliação da resposta ao stresse oxidativo induzido por cádmio e cobre em plantas de tabaco e transformadas e não transformadas [dissertação]. Lisboa: Universidade Técnica Lisboa; 2009.
- Bizarro VG. Teor e biodisponibilidade de cádmio em fertilizantes fosfatados [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2007.
- Box G, Cox DR. An analysis of transformations. *J Royal Soc* 1964;26:211-52.
- Cabral L, Siqueira JO, Soares CRFS, Pinto JEBP. Retenção de metais pesados em micélios de fungos micorrízicos arbusculares. *Quím Nova*. 2010;33:25-9.
- Campos ML, Silva FN, Furtini Neto AE, Guilherme LRG, Marques JJ, Antunes AS. Determinação de cádmio, cobre, cromo, níquel, chumbo e zinco em fosfato de rocha. *Pesq Agropec Bras*. 2005;40:361-7.
- Cardoso EJB, Antunes V, Silveira APD, Oliveira MMA. Eficiência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em porta-enxertos de citros. *R Bras Ci Solo*. 1986;10:25-30.
- Cardoso PF, Molina SMG, Pereira GJG, Vitória AP, Azevedo RA. Response of rice inbred lines to cadmium exposure. *J Plant Nutr*. 2002;25:927-44.
- Carneiro MAC, Siqueira JO, Moreira FMS. Estabelecimento de plantas herbáceas em solo com contaminação de metais pesados e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. *Pesq Agropec Bras*. 2001;36:1443-52.
- Clemens S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie*. 2006;88:1707-19.

- Coelho AM. Nutrição e adubação do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo; 2006. (Circular técnica, 78).
- Cunha KPV, Nascimento CWA, Magalhães RPM, Accioly AMA, Silva AJ. Disponibilidade, acúmulo e toxidez de cádmio e zinco em milho cultivado em solo contaminado. R Bras Ci Solo. 2008;32:1319-28.
- Faria TM, Gomes Júnior F, Sá ME, Cassiolato AMR. Efeitos alelopáticos de extratos vegetais na germinação, colonização micorrízica e crescimento inicial de milho, soja e feijão. R Bras Ci Solo. 2009;33:1625-33.
- Ferreira DF. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. Symposium. 2008;6:36-41.
- Freitas EVS, Nascimento CWA, Goulart DF, Silva JPS. Disponibilidade de cádmio e chumbo para milho em solo adubado com fertilizantes fosfatados. R Bras Ci Solo. 2009;33:1899-907.
- Garg N, Aggarwal N. Effects of interactions between cadmium and lead on growth, nitrogen fixation, phytochelatin, and glutathione production in mycorrhizal *Cajanus cajan* (L.) Millsp. J Plant Growth Regul. 2011;30:286-300.
- Giovannetti M, Mosse B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol. 1980;84:489-500.
- Gomes FP. Curso de estatística experimental. 15ª.ed. Piracicaba: FEALQ; 2009.
- Gonçalves Júnior ACS, Pessoa AC. Fitodisponibilidade de cádmio, chumbo e crômio, em soja cultivada em Argissolo Vermelho eutrófico a partir de adubos comerciais. Sci Agric. 2002;3:19-23.
- Guimarães MA, Santana TA, Silva EV, Zenzen IL, Loureiro ME. Toxicidade e tolerância ao cádmio em plantas. R Tróp Ci Agron Biol. 2008;1:58-68.
- Hoagland DR, Arnon DI. The water-culture method for growing plants without soil. Berkeley: California Agricultural Experiment Station; 1950.
- Instituto Nacional de Pesquisas Especiais - INPE. Sistema Nacional de Dados Ambientais. [acessado em 01 maio 2012]. Disponível em: <http://sinda.crn2.inpe.br/PCD>.
- Juliatti MA, Prado RM, Barriquelo MF, Lenzi E. Cádmio em Latossolo Vermelho cultivado com milho em colunas: mobilidade e biodisponibilidade. R Bras Ci Solo. 2002;26:1075-81.
- Lambais MR; Cardoso EJBN. Avaliação da germinação de esporos de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares e da colonização micorrízica de *Stylosanthes guianensis* em solo ácido e distrófico. R Bras Ci Solo. 1988;12:249-55.
- Lins CEL, Maia LC, Calvacante UMT, Sampaio EVSB. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares no crescimento de mudas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. em solos de caatinga sob impacto de mineração de cobre. R Árvore. 2007;31:355-63.
- Lozano-Rodriguez E, Hernández LE, Bonay P, Carpena-Ruiz RO. Distribution of cadmium in shoot and root tissues of maize and pea plants: physiological disturbances. J Exp Bot. 1997;48:123-8.
- Malavolta E, Morais MF. Sobre a sugestão dos metais pesados tóxicos em fertilizantes e sobre a Portaria 49 de 25/04/2005 da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Inf Agron. 2006;114:10-4.
- Marçal NS, Gomes GP, Nascimento MRL, Moreno AM. Avaliação de fontes de fósforo para nutrição mineral de bovinos. Arq Inst Biol. 2003;70:255-8.
- Nascimento CNA, Pereira JBM. Absorção e distribuição de cádmio e micronutrientes em cultivares de feijoeiro expostas a doses de cádmio. Pesq Agropec Bras. 1997;32:1303-8.
- Nogueira MA, Magalhães GC, Cardoso EJBN. Manganese toxicity in mycorrhizal and phosphorus-fertilized soybean plants. J Plant Nutr. 2004;27:141-56.
- Nogueira MA, Soares CRFS. Micorrizas arbusculares e elementos-traço. In: Siqueira JO, Souza FA, Cardoso EJBN, Tsai SM, organizadores. Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil. Lavras: Universidade Federal de Lavras; 2010. p.475-501.
- Paiva HN, Carvalho JG, Siqueira JO. Efeito da aplicação de cádmio sobre o teor de nutrientes em mudas de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.). Ci Flor. 2001;11:153-62.
- Reis MA, Zambolim L, Nascimento JR. Potencial de utilização de gramíneas para multiplicação de inóculo de fungos micorrízicos vesículo-arbuscular *Glomus etunicatum*. Fitopatol Bras. 1991;16:164-70.
- Silva S, Siqueira JO, Soares CRFS. Fungos micorrízicos no crescimento e na extração de metais pesados pela braquiária em solo contaminado. Pesq Agropec Bras. 2006;41:1749-57.
- Siqueira JO, Pereira MAM, Simão JBP, Moreira FMS. Efeito da formononetina (7 Hidroxi, 4' metoxi Isoflavona) na colonização micorrízica e crescimento do milho em solo contendo excesso de metais pesados. R Bras Ci Solo. 1999a;23:561-7.
- Siqueira JO, Poyú E, Moreira FMS. Micorrizas arbusculares no crescimento pós-transplante de mudas de árvores em solo com excesso de metais pesados. R Bras Ci Solo. 1999b;23:569-80.
- Soares CRFS, Siqueira JO, Carvalho JG, Guilherme RG. Nutrição fosfática e micorriza arbuscular na redução da toxicidade de cádmio em trema (*Trema micranta* (L.) Blum). R Árvore. 2007;31:783-92.
- Soares CRFS, Siqueira JO. Mycorrhiza and phosphate protection of tropical grass against heavy metal toxicity in multi-contaminated soil. Biol Fertl Soils. 2007;44:833-41.
- Storck L, Estefanel V, Garcia DC, Lopes, SJ. Experimentação vegetal. 3ª.ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria/Departamento de Fitotecnia; 2011.