

SEÇÃO IX - POLUIÇÃO DO SOLO E QUALIDADE AMBIENTAL

INTERAÇÃO DE CHUMBO, DA SATURAÇÃO POR BASES DO SOLO E DE MICORRIZA ARBUSCULAR NO CRESCIMENTO E NUTRIÇÃO MINERAL DA SOJA⁽¹⁾

S. A. L. ANDRADE^(2,4), C. A. ABREU^(3,4),
M. F. ABREU^(3,4) & A. P. D. SILVEIRA⁽³⁾

RESUMO

Existem divergências sobre o efeito do fungo micorrízico arbuscular (FMA) na absorção de metais pesados pelas plantas. Isso pode ser atribuído não só às diferenças na disponibilidade do metal no solo, espécie de FMA e de planta, mas também às possíveis interações que ocorrem entre estes e os demais fatores ambientais. Realizou-se um experimento em casa de vegetação, com a finalidade de avaliar o efeito da inoculação de FMA e da saturação por bases do solo sobre o crescimento, nutrição e absorção de Pb em soja crescida em um Latossolo Vermelho-Amarelo. Os tratamentos consistiram de inoculação, ou não, de *Glomus macrocarpum*, duas doses de calcário, elevando a saturação por bases do solo a 63 e 82 %, e cinco doses de Pb (0; 7,5; 37,5; 150 e 300 mg dm⁻³), utilizando-se como fonte Pb(NO₃)₂. A inoculação do FMA aumentou a produção de matéria seca da parte aérea das plantas, as quais também apresentaram maiores teores de P e maiores quantidades acumuladas de P, Ca, Mg, Mn, Fe e Zn. A produção de matéria seca da soja micorrizada reduziu linearmente com o aumento da dose de Pb adicionada, em ambas as saturações por bases. No solo com menor V %, a colonização radicular pelo FMA diminuiu 40 % na maior dose de Pb adicionada, o teor de Pb na parte aérea da soja foi cinco vezes maior e as plantas micorrizadas apresentaram um teor de Pb 30 % menor do que as não micorrizadas. A adição de Pb afetou tanto o estabelecimento quanto o desempenho da simbiose. O FMA teve papel relevante na diminuição da concentração do Pb na parte aérea da soja, no solo com menor saturação por bases, conferindo tolerância à planta em uma condição de excesso de metal pesado no solo.

Termos de indexação: fungo micorrízico, metal pesado, fatores abióticos, simbiose.

⁽¹⁾ Parte da Tese de Mestrado da primeira autora. Recebido para publicação em julho de 2001 e aprovado em julho de 2003.

⁽²⁾ Pós-Graduanda em Genética e Biologia Molecular - Área: Microbiologia, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Cidade Universitária "Zeferino Vaz", Barão Geraldo, Caixa Postal 6109, CEP 13081-970 Campinas (SP). E-mail: saradrian@iespana.es

⁽³⁾ Pesquisadora do Instituto Agrônomo – IAC. Caixa Postal 28, CEP 13001-970 Campinas (SP). E-mail: apdsil@iac.sp.gov.br

⁽⁴⁾ Bolsista do CNPq.

SUMMARY: *INTERACTION BETWEEN LEAD, SOIL BASE SATURATION RATE, AND MYCORRHIZA ON SOYBEAN DEVELOPMENT AND MINERAL NUTRITION*

*The effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on heavy metal absorption by plants are controversial. This is due to the differences in soil metal availability, AMF and plant species, and also to possible interactions among these and other environmental/abiotic factors. The aim of the experiment was to evaluate the effect of AMF inoculation (*Glomus macrocarpum*), and soil base saturation (SBS) on growth, nutrition and Pb uptake of soybean grown on a Latossolo Vermelho-Amarelo, an Oxisol. Plots were treated with or without AMF inoculation, raising of the soil base saturation to 63 and 82 % by two lime doses, and five Pb doses (0; 7.5; 37.5; 150; 300 mg dm⁻³) with Pb(NO₃)₂ as source. AMF inoculation improved the dry matter yield, P concentration, as well as P, Ca, Mg, Mn, Fe, and Zn shoot contents. Increasing Pb doses in the soil reduced the inoculated soybean plants' growth at both base saturation levels. At 63 % SBS, the application of the maximum Pb dose caused a decrease in the mycorrhizal colonization of 40 %; the Pb concentration of the inoculated was 30 % lower than that of the not inoculated soybean plants, and the plants presented a five times higher Pb uptake than those grown at a SBS of 82 %. Pb addition thus affected both establishment and functionality, of the symbiosis, decreasing plant growth. At the lowest SBS, the AMF played a relevant role in the decrease of shoot Pb concentration and confirmed the plant tolerance at excessive Pb concentrations in soil.*

Index terms: mycorrhizal fungus, heavy metal, abiotic factors, symbiosis.

INTRODUÇÃO

Os fungos micorrízicos são considerados microrganismos que estabelecem uma ligação direta entre o solo e as raízes das plantas e, portanto, estão diretamente relacionados com a absorção de metais pesados pelas plantas (Leyval et al., 1997). Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) podem diminuir os efeitos negativos do estresse induzido por altas concentrações de metais e exercer efeito protetor à planta colonizada (Galli et al., 1994).

Alguns autores têm proposto que FMAs agem como uma barreira para a transferência de metais para as plantas (Schuepp et al., 1987; Galli et al., 1994). Joner & Leyval (1997) observaram que ocorreu uma imobilização do Cd no interior do sistema radicular de trevo colonizado por *Glomus mosseae*. Resultados semelhantes foram observados por Turnau et al. (1993) em raízes de *Pteridium aquilinum* crescidas em solo que recebeu altas doses de Cd.

Esses autores, utilizando a técnica de EELS (electron energy loss spectroscopy), verificaram que a maior parte do Cd estava no citoplasma do FMA e mostraram que o acúmulo de Cd localizava-se, principalmente, em material rico em polifosfato. Já outros autores (Haselwandter et al., 1994; Diaz & Honrubia, 1995) propuseram que a maior tolerância a altas doses de metais pesados deve-se à melhor nutrição de P e maior produção de biomassa em plantas micorrizadas. No entanto, Enkhtuya et al.

(2000) relataram que, apesar do estabelecimento da micorriza em milho, cultivado em solo degradado, com altos teores de metais pesados e alta acidez, o FMA não estimulou o crescimento da planta, sugerindo que houve um desequilíbrio na relação custo-benefício da simbiose.

Diferenças na eficiência de FMAs na absorção de metais pesados por plantas têm sido relatadas por vários autores (Leyval et al., 1997; Weissenhorn et al., 1993; Diaz & Honrubia, 1995; Shetty et al., 1995; Enkhtuya et al., 2000), evidenciando ser a associação entre planta e FMA crucial para haver um efeito benéfico da micorriza em solos contaminados por metais. Diferentes isolados de FMAs mostraram grande variabilidade quanto à tolerância ao estresse por excesso de metais. Assim, Weissenhorn et al. (1994) observaram que isolado de *Glomus mosseae* obtido de local poluído com Cd foi mais tolerante às altas concentrações deste metal do que o isolado obtido de local não poluído. Del Val et al. (1999) constataram que, além da maior tolerância ao excesso de metais pesados, os ecotipos de FMAs isolados de locais contaminados apresentam maior adaptação potencial às altas concentrações de metais no solo.

A disponibilidade de metais no solo e, conseqüentemente, a sua absorção pelas plantas são afetadas pelos atributos do solo, sendo o pH um dos mais importantes. Conforme Pierangeli et al. (2001), pequenas variações de pH podem causar grandes modificações na disponibilidade de metais.

El-Kherbawy et al. (1989), trabalhando com alfafa, observaram que o efeito da inoculação de FMA sobre a absorção de metais depende do pH do solo. Esses autores mostraram que em pH 6,0 e 6,7 a disponibilidade de Cd, Zn e Mn para planta foi alta e que a colonização radicular pelo fungo diminuiu a absorção desses metais, em relação às plantas sem colonização do fungo. Em pH maior (7,2), a disponibilidade de metais foi menor e a colonização aumentou a absorção desses metais.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de Pb ao solo e da saturação por bases do solo no estabelecimento e na eficiência da associação micorrízica entre a soja e o FMA, *Glomus macrocarpum*, pelo crescimento, nutrição mineral e concentração de Pb na planta.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em condições de casa de vegetação, no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), SP, no período de setembro a novembro de 1998.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 2 x 2 x 5, com oito repetições. Os tratamentos consistiram de inoculação ou não, de *Glomus macrocarpum* Tul. & Tul., duas doses de calcário, objetivando elevar a saturação por bases do solo a 55 % (V₁) e 90 % (V₂), e cinco doses de Pb (0; 7,5; 37,5; 150 e 300 mg dm⁻³), utilizando-se como fonte Pb(NO₃)₂. Utilizou-se amostra de solo da camada superficial (0-20 cm) de um Latossolo Vermelho-Amarelo procedente do Centro Experimental de Campinas do IAC (SP). Foi realizada a análise de fertilidade da amostra de solo que apresentou pH (CaCl₂) - 4,0; matéria orgânica - 14 mg dm⁻³; P (resina) - 2 mg dm⁻³; 10, 10 e 30 mmol_c dm⁻³ de K, Mg e Ca, respectivamente.

Para correção da acidez do solo e elevação da saturação por bases, foram utilizados o CaCO₃ e o MgO (PA) na relação 4:1 que, após misturados ao solo e incubados por 15 dias, resultaram em 63 e 82 % de V %. Posteriormente, foi realizada uma adubação básica, aplicando-se os nutrientes K, S, B, Cu, Mn e Zn, respectivamente, nas seguintes quantidades: 100; 41; 0,4; 1; 8 e 3 mg dm⁻³. Após 20 dias de incubação, o solo foi desinfestado com brometo de metila na dose de 100 mL m⁻³. Em seguida, a cada vaso com capacidade para 2 dm³ de solo foram adicionados 25 mg dm⁻³ de P, na forma de superfosfato simples, e uma solução aquosa de nitrato de chumbo, cujas concentrações variaram de acordo com o tratamento. O solo foi incubado por mais 10 dias. Após essa incubação, uma amostra de solo de cada vaso foi retirada para análise de fertilidade do solo, incluindo a análise de Pb (Quadro 1).

Nos tratamentos em que houve inoculação do FMA, foram adicionados 20 mL de inóculo por vaso, o qual constou de substrato (areia:solo, na relação 9:1) com esporos, pedaços de raiz colonizada e micélio de *G. macrocarpum*, fornecendo cerca de 115 esporos por cm³ de solo - inóculo.

Procedeu-se à semeadura da soja, variedade IAC-14, empregando-se cinco sementes por vaso, deixando-se uma planta após o desbaste, realizado 10 dias após a semeadura. Durante a realização do experimento, os vasos foram irrigados com água filtrada, sendo a umidade mantida em torno de 60 % da capacidade de retenção de água do solo. Foram aplicados 125 mg de N por vaso, parcelado em três aplicações de 25, 50 e 50 mg de N por vaso, no desbaste e após 15 e 30 dias, respectivamente, utilizando como fonte Ca(NO₃)₂. Tal procedimento teve por objetivo equiparar a quantidade de N em todos os tratamentos, tomando por base o N já adicionado na forma de Pb(NO₃)₂.

Quadro 1. Características químicas do solo antes do plantio da soja, no qual foram realizadas calagem para elevar a saturação por bases (V) a 63 e 82 % e adição de doses crescentes de Pb

Tratamento Pb	V	pH CaCl ₂	Resina			DTPA				
			Ca	Mg	P	Pb	Cu	Fe	Mn	Zn
mg dm ⁻³	%		— mmol _c dm ⁻³ —			mg dm ⁻³				
0	61	5,4	27,5	6,4	24	1	1,8	22,3	5,2	1,4
7,5	63	5,4	28,9	6,7	24	5	2,2	23,5	5,2	1,5
37,5	63	5,4	28,4	6,7	23	24	2,0	22,1	5,0	1,4
150	63	5,4	28,3	6,8	23	107	1,8	22,0	4,8	1,3
300	62	5,4	28,0	6,5	22	232	2,0	23,2	5,0	1,3
0	82	6,5	48,7	10,5	29	1	1,7	12,4	3,0	1,4
7,5	82	6,6	47,8	10,4	28	5	2,2	12,6	3,1	1,5
37,5	82	6,6	48,4	10,5	27	24	1,8	12,7	3,2	1,3
150	82	6,6	48,4	10,2	28	107	1,9	13,0	3,1	1,6
300	82	6,4	48,0	10,2	25	222	1,7	13,3	3,0	1,4

Decorridos 60 dias da semeadura, a planta foi cortada a 1 cm da superfície do solo e, depois de seca em estufa com circulação forçada de ar a 60 °C até peso constante, a massa da matéria seca da parte aérea foi determinada. Essa parte aérea foi moída e foram determinados os teores de Pb, P, Ca, Mg, Fe, Mn e Zn, nos extratos obtidos por digestão nítrico-perclórica por espectrofotometria de emissão em plasma induzida em argônio (ICP/AES).

A raiz da soja foi separada do solo e amostrada para avaliação da percentagem do comprimento de raiz colonizada pelo FMA (Giovannetti & Mosse, 1980), após clareamento com KOH e coloração com azul de tripiano (Phillips & Hayman, 1970).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, teste de Tukey, para comparação das médias dos fatores FMAs e V %, regressão, para análise das doses de Pb adicionadas, e correlação, utilizando-se o programa estatístico SANEST (Zonta et al., 1984).

RESULTADOS

O efeito da adição de doses de Pb ao solo sobre a massa da matéria seca da parte aérea foi altamente significativo na soja micorrizada (M), ocorrendo uma diminuição linear em ambas as saturações por base do solo (Figura 1a). A produção de matéria seca aumentou significativamente, graças à colonização pelo FMA, *Glomus macrocarpum*, havendo um incremento de 2,3 vezes em relação às plantas não micorrizadas (NM). Considerando o fator V %, as plantas crescidas no solo com menor saturação por bases (V₁) diferiram significativamente das obtidas na maior V % (V₂), independentemente da dose de Pb e da inoculação do FMA (Figura 1a).

A colonização da raiz pelo FMA também foi influenciada pela saturação por bases do solo e quantidade de Pb adicionada (Figura 1b). Diminuiu linearmente com a elevação da quantidade de Pb adicionada ao solo, na menor V %, ocorrendo uma redução de 55 %, entre a dose 0 e a maior dose de Pb aplicada. No solo com maior V %, a colonização radicular não se alterou com a dose de Pb.

Os fatores estudados influenciaram significativamente o teor e o acúmulo de Pb na parte aérea da planta (Figura 2a,b). Considerando o fator FMA, os teores de Pb na parte aérea de plantas M diferiram de plantas NM, sendo, de forma geral, 30 % menores nas plantas M. Somente houve diferença significativa entre os teores de Pb em plantas M e NM na menor V %, na qual o teor médio de Pb na parte aérea da planta foi cinco vezes maior que em V₂. Tanto o teor como o acúmulo de Pb na parte aérea apresentaram ajustes lineares ascendentes em relação à dose de Pb adicionada ao solo (Figura 2a,b),

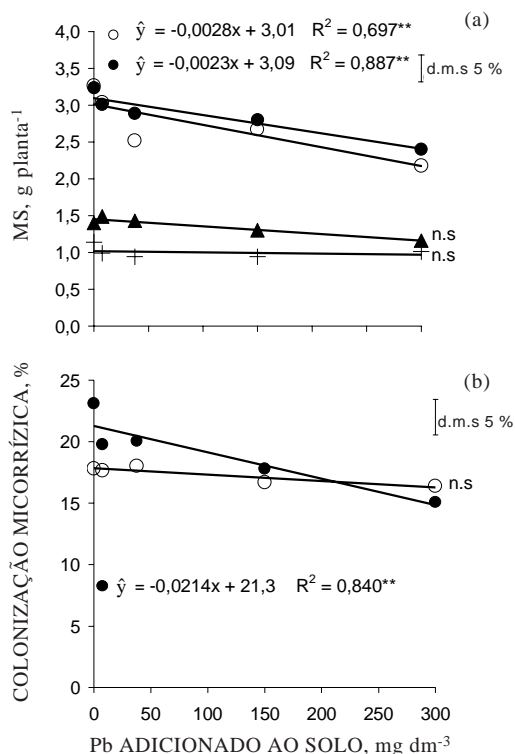


Figura 1. Massa da matéria seca da parte aérea (a) e colonização micorrizica da soja (b), em função da dose de Pb adicionada ao solo (● com FMA e V₁=63%; ▲ sem FMA e V₁=63%; ○ com FMA e V₂=82%; + sem FMA e V₂=82%). Valor do d.m.s a 5 % para comparar entre os FMAs e as V % dentro de cada dose de Pb (n.s.: não-significativo; ** p < 0,01).

em ambas as saturações por bases. Foi observada diferença significativa entre plantas M e NM, nas doses mais elevadas de Pb (150 e 300 mg dm⁻³), sendo o teor de Pb maior nas plantas NM (54 %), enquanto o acúmulo mostrou-se 58 % superior nas plantas M.

As doses de Pb adicionadas ao solo não alteraram o teor de P na parte aérea da planta em nenhum dos tratamentos (Figura 3a). De forma geral, as plantas M mostraram valores 41 % maiores do que aqueles observados em plantas NM, em ambas as saturações por bases. Dentro de cada V %, as plantas M superaram significativamente as NM. Os resultados indicaram que a saturação por bases do solo foi o fator que teve maior influência no teor de P da parte aérea da planta, tendo as plantas cultivadas na menor V % apresentado, no geral, tanto na ausência como na presença do FMA, 2,4 vezes maior teor de P do que aquela observada em plantas cultivadas no solo com maior V %.

Observou-se efeito da adição de doses de Pb sobre o acúmulo de P na parte aérea somente nas plantas M cultivadas no solo com menor V %, cujo ajuste mostrou resposta quadrática (Figura 3b). Observou-se que a quantidade acumulada de P manteve-se

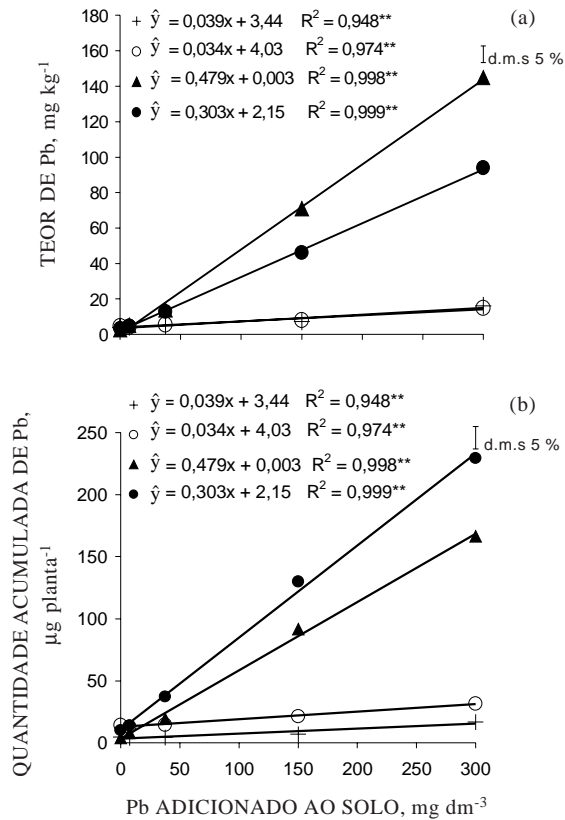


Figura 2. Teor (a) e quantidade acumulada (b) de Pb na parte aérea da soja, considerando a dose de Pb adicionada ao solo (● com FMA e $V_1 = 63\%$; ▲ sem FMA e $V_1 = 63\%$; ○ com FMA e $V_2 = 82\%$; + sem FMA e $V_2 = 82\%$). Valor do d.m.s a 5% para comparar entre os FMAs e as V% dentro de cada dose de Pb (n.s.: não-significativo; ** $p < 0,01$).

constante até à concentração de 150 mg dm^{-3} de Pb no solo, havendo, a partir daí, tendência à diminuição até a dose de 300 mg dm^{-3} de Pb, o que causou uma redução de 22% no conteúdo de P em relação à dose 0. O P acumulado na parte aérea da soja M mostrou-se maior que das plantas NM. Essa diferença entre o acúmulo de P de plantas M e NM foi significativa em todas as doses de Pb e em ambas as saturações por bases (Figura 3b).

Os teores de Ca, Mg, Zn e Fe na parte aérea não variaram com a adição das doses crescentes de Pb ao solo e foram significativamente maiores nas plantas crescidas no solo com menor V% e não micorrizadas (Figuras 3c,e; 4c,e). As quantidades acumuladas de Ca, Mg e Zn também não variaram com a dose de Pb, mas foram superiores nas plantas micorrizadas em todas as doses de Pb adicionadas (Figuras 3d,f; 4f). O teor e o acúmulo de Mn na parte aérea aumentaram significativamente com a adição das doses de Pb nas plantas micorrizadas, ou não, no solo com menor V% (Figuras 4a,b).

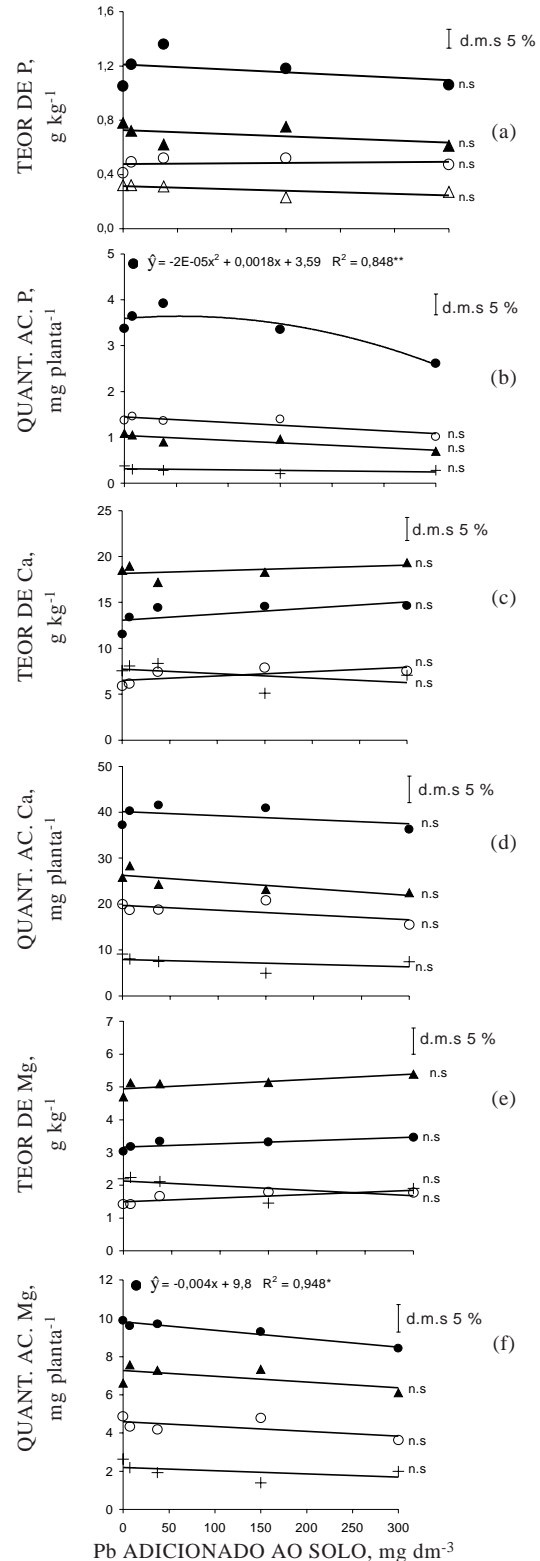


Figura 3. Teores e quantidades acumuladas de P (a,b), Ca (c,d) e Mg (e,f) na parte aérea da soja, considerando a dose de Pb adicionada ao solo (● com FMA e $V_1 = 63\%$; ▲ sem FMA e $V_1 = 63\%$; ○ com FMA e $V_2 = 82\%$; + sem FMA e $V_2 = 82\%$). Valor do d.m.s a 5% para comparar entre os FMAs e as V% dentro de cada dose de Pb (n.s.: não-significativo; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$).

DISCUSSÃO

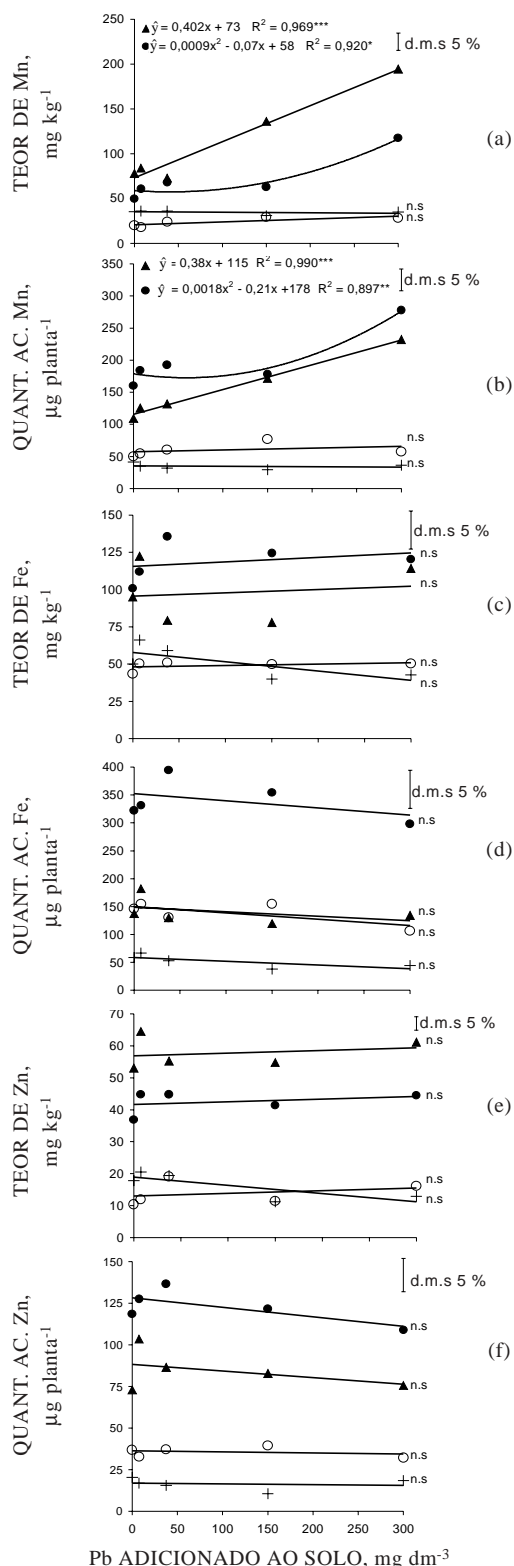


Figura 4. Teores e quantidades acumuladas de Mn (a,b), Fe (c,d) e Zn (e,f) na parte aérea da soja, considerando a dose de Pb adicionada ao solo (● com FMA e V = 63%; ▲ sem FMA e V = 63%; ○ com FMA e V = 82%; + sem FMA e V = 82%). Valor do d.m.s a 5% para comparar entre os FMAs e as V% dentro de cada dose de Pb (n.s: não-significativo; *p < 0,05; ** p < 0,01; *p < 0,001).**

O fato de os FMAs estarem associados à maioria das culturas de importância econômica, beneficiando o crescimento e a produção das plantas, já é bastante conhecido. Os resultados obtidos permitiram, mais uma vez, constatar os efeitos altamente significativos da inoculação de FMA sobre o crescimento da soja (Figura 1a), que é uma planta dependente da associação e micotrófica (Cardoso, 1985). Dessa forma, no geral, a soja M, mesmo na presença de níveis elevados de Pb no solo, apresentou teores e quantidades acumuladas de P, Ca, Mn, Fe e Zn superiores às da soja NM (Figuras 3 e 4). Tal fato pode ser devido à maior exploração do solo pelo sistema radicular colonizado pelo FMA, o que, em consequência da maior absorção de nutrientes (Buwalda et al., 1983), reflete no maior crescimento da planta M. A produção de matéria seca correlacionou-se significativamente ($p < 0,05$) e positivamente com a colonização micorrízica ($r = 0,67$), o que pode ser explicado, pelo menos em parte, pelo aumento na absorção de nutrientes.

A eficiência do FMA em promover aumento na produção de matéria seca da planta depende do nível de metais pesados no solo (Del Val et al., 1999). O efeito da adição de doses de Pb sobre a produção de matéria seca da parte aérea da soja foi significativo somente nos tratamentos que receberam inoculação do FMA, ocorrendo, portanto, interação entre o Pb adicionado ao solo e o fungo micorrízico (Figura 1a). Este mesmo efeito da interação metal – FMA foi constatado por Heggo & Angle (1990), para Zn, Cd e Mn no solo, e por Diaz et al. (1996), para Pb e Zn (até 1.000 mg dm⁻³). Esses autores também constataram que nas plantas NM não foi observado efeito inibitório do metal pesado e que estas apresentaram menor crescimento que as plantas M, da mesma forma que o constatado no presente experimento. Ficou evidente não só o efeito benéfico da micorriza sobre o crescimento da planta, mas também a sensibilidade da simbiose micorrízica ao excesso de Pb no solo.

Apesar de a colonização da raiz pelo FMA não ter sido alta, em torno de 20%, os resultados de nutrição da planta e de produção de matéria seca foram alterados pelo estabelecimento da micorriza, o que confirma o fato, já bem estabelecido, de falta de correlação entre abundância de colonização e efeito da simbiose. Na menor V%, a colonização micorrízica diminuiu com o incremento da dose de Pb adicionada ao solo (Figura 1b), o que pode estar relacionado com a maior disponibilidade do metal no solo com pH mais baixo. Entretanto, não houve diferenças nas concentrações de Pb extraídas pelo DTPA, em ambas as saturações por bases (Quadro 1).

A redução na colonização relacionada com excesso de metais pesados no solo tem sido amplamente

relatada na literatura (Gildon & Tinker, 1983; El-Kherbawy et al. 1989, Siqueira et al., 1999). Não se constatou, entretanto, correlação significativa entre o teor e acúmulo de Pb na parte aérea da soja e a colonização micorrízica. Isso pode significar que houve um efeito direto do Pb no solo sobre os propágulos infectivos do FMA e, ou, que o Pb absorvido e acumulado no sistema radicular interferiu negativamente no estabelecimento da associação. Grande parte do Pb absorvido fica retido no sistema radicular da planta, havendo pequena translocação para a parte aérea (Berton, 1992).

Segundo Nogueira (1996), vários metais mostraram efeito fungitóxico, reduzindo a germinação de esporos, o crescimento micelial, a abundância de arbúsculos e, conseqüentemente, a colonização da raiz de plantas em solos com excesso de metais. Além disso, diferentes ecotipos de FMAs mostraram diferentes graus de tolerância ao excesso de metais no solo (Gildon & Tinker, 1983, Weissenhorn et al., 1993; Shetty et al., 1995; Del Val et al., 1999). Essa diminuição da colonização pode acarretar prejuízos para a simbiose, que tanta relevância tem na nutrição da planta, especialmente em condições de estresse.

Apesar do crescente interesse em determinar o papel de FMAs em ambientes com concentrações potencialmente tóxicas de elementos metálicos, os resultados da literatura mostram grande divergência, evidenciando tanto a diminuição quanto o aumento na absorção de metais, ocorrendo ou não proteção da planta ao efeito prejudicial desses metais.

A saturação por bases alterou significativamente o teor de Pb na parte aérea da soja (Figura 2a), e, na menor V %, os teores foram, em média, 5 vezes maiores que na maior V %, provavelmente, em virtude da variação na disponibilidade de Pb para a planta. A correlação entre a concentração de Pb extraído pelo DTPA e o teor de Pb na planta foi altamente significativa em ambas V %. Entretanto, o Pb disponível não variou com a saturação por bases, ou seja, com o pH do solo (Quadro 1), como já observado por King & Hajjar (1990).

Os teores de Pb na parte aérea da soja estiveram diretamente relacionados com o aumento da disponibilidade de Pb no solo, dentro de cada uma das V % estudadas (Figura 2a). Os teores de Pb da parte aérea da soja, nas doses de 150 e 300 mg dm⁻³ de Pb e no solo com V % mais baixa, excederam substancialmente valores considerados fito (10-20 mg kg⁻¹) e zootóxicos (10-30 mg kg⁻¹) (Sauerbeck, 1982), ultrapassando os limites máximos permitidos em alimentos de origem vegetal (0,5 mg kg⁻¹).

Tais resultados revelam que a colonização micorrízica não protegeu a planta da acumulação do metal, já que a soja M, crescendo no solo com as mais altas concentrações de Pb, também apresentou valores tóxicos de Pb. No entanto, observou-se que o teor de Pb da parte aérea da soja M foi menor do

que na soja NM, na menor V %, não ocorrendo, em nenhum dos casos, efeito visual de toxidez de Pb. Tal diminuição na concentração de metais pesados em plantas M, em condições de alta disponibilidade de metais no solo, também foi constatada por Bradley et al. (1981), Heggo & Angle (1990) e Leyval et al. (1991). O conjunto de hifas do fungo fornece superfícies adsorptivas dentro das células corticais do hospedeiro, evitando, desta forma, a translocação para a parte aérea (Bradley et al., 1981).

O efeito do FMA sobre a absorção de metais pela planta depende do pH do solo e, portanto, da sua disponibilidade (El-Kherbawy et al., 1989), do padrão de translocação de nutrientes e metais pesados pela micorriza, decorrente da retenção de metais nas raízes e hifas (Galli et al., 1994; Shetty et al., 1995), e da origem do FMA, pois fungos nativos de local poluído são menos sensíveis a altas concentrações de metal pesado (Leyval et al., 1991; Diaz & Honrubia, 1995).

A micorrização de plantas em solos contaminados com metais parece atenuar a fitotoxidez na planta, podendo estar relacionada com o melhor estado nutricional da planta micorrizada, o que lhe garante maior crescimento. O subseqüente efeito de diluição do metal pesado, causado pelo maior crescimento, pode ser responsável pela maior tolerância ao excesso do metal em plantas M. Tal efeito de diluição foi observado no presente experimento em virtude do maior crescimento da planta micorrizada (Figuras 1a; 2a,b).

Os resultados obtidos para o P na parte aérea corroboram o importante papel dos fungos micorrízicos na absorção deste elemento pela planta. O P foi o único macronutriente avaliado que não sofreu efeito de diluição causado pelo maior crescimento das plantas M (Figura 3a,b). A redução do conteúdo de P com o incremento do teor de Pb de plantas M na menor das V % poderia sugerir uma perda de eficiência da associação micorrízica nas mais altas doses de Pb adicionadas ao solo, diminuindo a absorção de P e reduzindo a produção de matéria seca da planta (Figura 1a).

Apesar disso, as plantas M mantiveram relações P/Pb maiores (em torno de 30 %) do que as observadas em plantas NM, além de ter sido menor a diminuição da relação com o aumento da concentração de Pb no solo (Quadro 2). Isso pode indicar certa proteção da associação micorrízica sobre a planta em condições de estresse por excesso de metal no solo. A maior relação P/Pb de plantas M deve estar relacionada também com a maior tolerância das plantas ao excesso do metal. O efeito direto do metal no microssimbionte poderia reduzir a eficiência da simbiose, provocando diminuição do crescimento e, ou, sintomas de fitotoxidez. Portanto, o P fornecido pelo fungo provavelmente atenuou a toxidez do Pb e aumentou a tolerância da planta ao metal tóxico, tal como constatado por Shetty et al. (1995), em condições de excesso de Zn.

Van Stevenick et al. (1987) propuseram um envolvimento direto do P na remediação da toxidez do metal, também Zn, formando fitato de Zn, ou indiretamente fornecendo energia metabólica, na forma de ATP, o que favoreceria a compartimentalização do Zn em vacúolos celulares (Davis et al., 1991).

No presente experimento, mecanismo semelhante pode ter sido responsável pela diminuição dos efeitos tóxicos do excesso de Pb nas plantas micorrizadas. Nas doses mais altas de Pb adicionadas ao solo, na maior saturação por bases (V 82 %), observaram-se maiores relações P/Pb (Quadro 2), indicando que apesar de a planta absorver menor quantidade de P, o Pb também foi menos absorvido pela planta. A planta M apresentou maior quantidade de P nos tecidos, além de uma menor concentração de Pb. Assim, a soja M, graças à melhor nutrição fosfatada, cresceu mais do que a soja NM, diluindo a concentração de Pb nos tecidos, o que reduziu os possíveis efeitos tóxicos deste elemento na planta.

Tanto os teores quanto os acúmulos de Ca, Mg, Fe, Zn e Mn na parte aérea da soja foram alterados pela inoculação do FMA e pela V % do solo, mas foram pouco úteis na explicação do efeito da adição de Pb no solo sobre a planta, tendo ocorrido aumentos significativos na menor saturação por bases (Figuras 3 e 4). Houve aumento do teor e acúmulo de Mn na planta com o incremento de Pb no solo, possivelmente em razão da mudança no padrão de translocação do Mn da raiz para a parte aérea. O teor e o acúmulo de Mn na parte aérea da soja correlacionaram-se com o teor e acúmulo de Pb, de forma positiva ($r = 0,79$ e $0,71$, respectivamente; $p < 0,01$), confirmando esse possível efeito do Pb na absorção do Mn.

Quadro 2. Relação P/Pb na parte aérea da soja, considerando a dose de Pb adicionada ao solo, a inoculação, ou não, de fungo micorrízico arbuscular e a V % do solo⁽¹⁾

Pb adicionado	Relação P/Pb na parte aérea			
	V (63 %)		V (82 %)	
	NM	M	NM	M
mg dm ⁻³	g de P mg ⁻¹ de Pb			
0	288,1	340,9	83,4	98,2
7,5	135,0	270,9	74,0	114,5
37,5	47,2	105,5	75,0	92,1
150	10,5	25,6	29,2	68,0
300	4,2	11,3	16,8	32,1

⁽¹⁾ NM- planta não micorrizada; M- planta micorrizada; V % - saturação por bases de 63 e 82 %.

Como o teor de Mn do solo, extraível pelo DTPA, não variou com o aumento do teor de Pb no solo (Quadro 1), acredita-se que o aumento do Mn na parte aérea com a adição de Pb no solo tenha sido uma resposta fisiológica da planta. Entretanto, soja M manteve 40 % menor teor de Mn na parte aérea do que soja NM, no solo com adição de 300 mg dm⁻³ de Pb.

Vários trabalhos têm constatado aumento no teor dos demais nutrientes, além do P, como consequência da colonização micorrizica (Pacovsky, 1986; Thompson, 1990; Kothari et al., 1991), o que não foi constatado no presente experimento. Segundo Plenchette et al. (1983), o aumento do teor de um nutriente pode estar simplesmente relacionado com o requerimento específico dele pela planta. Esses autores também sugeriram que a redução no teor de nutrientes em plantas micorrizadas pode ser devida ao efeito de diluição causado pelo seu maior crescimento, o que pode refletir em quantidades totais do nutriente similares em plantas M e NM.

No presente experimento, entretanto, as plantas M apresentaram maiores acúmulos de nutrientes que as NM, mesmo nas condições de alta concentração de Pb no solo (Figuras 3 e 4).

Os resultados mostraram que os efeitos fitotóxicos causados pelo excesso de Pb no solo podem ser parcialmente amenizados pela associação micorrizica, provavelmente em virtude da imobilização do metal na parede celular das hifas, reduzindo a quantidade translocada para a parte aérea da planta. Além disso, a maior quantidade de P absorvida pela planta M estimulou o crescimento da planta, protegendo-a indiretamente da toxidez do Pb. Mesmo assim, a redução do crescimento de plantas colonizadas por FMA pode estar relacionada com o efeito deletério do Pb diretamente sobre o fungo, afetando o equilíbrio e funcionamento da simbiose.

CONCLUSÃO

O estabelecimento da associação micorrizica na soja conferiu-lhe tolerância ao excesso de Pb no solo com menor saturação por bases.

LITERATURA CITADA

- BERTON, R.S. Fertilizantes e poluição. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 20, Piracicaba, 1992. Anais. Campinas, Fundação Cargill, 1992. 425p.
- BRADLEY, R.; BURT, A.J. & READ, D.I. Mycorrhizal infection and resistance to heavy metal toxicity in *Calluna vulgaris*. Nature, 292:335-337, 1981.

- BUWALDA, J.G.; STRIBLEY, D.P. & TINKER, P.B. Increased uptake of bromide and chloride by plants infected with vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytol.*, 93:217-225, 1983.
- CARDOSO, E.J.B.N. Efeito de micorriza vesículo – arbuscular e fosfato de rocha na simbiose soja- rizóbio. *R. Bras. Ci. Solo*, 9:125-130, 1985.
- DAVIES, K.L.; DAVIES, M.S. & FRANCIS, D. Zinc-induced vacuolation in root meristematic cells of *Festuca rubra*. *Plant Cell Environ.*, 29:399-406, 1991.
- DEL VAL, C.; BAREA, J.M. & AZCÓN-AGUILAR, C. Assessing the tolerance to heavy metals of arbuscular mycorrhizal fungi isolated from sewage sludge-contaminated soils. *Appl. Soil Ecol.*, 11:261-269, 1999.
- DIAZ, G.; AZCÓN-AGUILAR, C. & HONRUBIA, M. Influence of arbuscular mycorrhizae on heavy metal (Zn and Pb) uptake and growth of *Ligneum spartum* and *Anthyllis cystisoides*. *Plant Soil*, 180:241-249, 1996.
- DIAZ, G. & HONRUBIA, M. Effect of native and introduced arbuscular mycorrhizal fungi and nutrient uptake of *Ligneum spartum* and *Anthyllis cystisoides*. *Biol. Plant.*, 37:121-129, 1995.
- EL-KHERBAWY, M.; ANGLE, J.S.; HEGGO, A.E. & CHANEY, R.L. Soil pH, rhizobia, and vesicular-arbuscular mycorrhizae inoculation effects on growth and heavy metal uptake of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Biol. Fert. Soils*, 8:61-65, 1989.
- ENKHTUYA, B.; RYDLOVÁ, J. & VOSATKA, M. Effectiveness of indigenous and non-indigenous isolates of arbuscular mycorrhizal fungi in soils from degraded ecosystem and man-made habitats. *Appl. Soil Ecol.*, 14:201-211, 2000.
- GALLI, U.; SCHUEPP, H. & BRUNOLD, C. Heavy metal binding by mycorrhizal fungi. *Physiol. Plant.*, 92:364-368, 1994.
- GIOVANNETTI, M.E. & MOSSE B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, 84:482-500, 1980.
- GILDON, A. & TINKER, P.B. Interactions of vesicular arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. I. The effect of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *New Phytol.*, 95:247-261, 1983.
- HASELWANDTER, K.; LEYVAL, C. & SANDERS, F.E. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi upon plant uptake of heavy metals and radionuclides from soils. In: GIANINAZZI S. & SCHUEPP H., eds. Impacts of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems. Basel, Birkhäuser, 1994. p.179-190.
- HEGGO, A. & ANGLE, J.S. Effect of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal uptake by soybeans. *Soil Biol. Biochem.*, 22:865-869, 1990.
- JONER, E.J. & LEYVAL, C. Uptake of ¹⁰⁹Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae*/*Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. *New Phytol.*, 135:353-360, 1997.
- KING, L.D. & HAJJAR, L.M. The residual effect of sewage sludge on heavy metal content of tobacco and peanut. *J. Environ. Quality*, 19:738-748, 1990.
- KOTHARI, S.K.; MARSCHNER, H. & ROMHELD, V. Effect of vesicular arbuscular mycorrhizal fungus and rhizosphere microorganisms on manganese reduction in the rhizosphere and manganese concentrations in maize (*Zea mays* L.). *New Phytol.*, 117:649-655, 1991.
- LEYVAL, C.; BERTHELIN, J.; SCHONTZ, D.; WEISSENHORN, I. & MOREL, J.L. Influence of endomycorrhizas on maize uptake of Pb, Cu, Zn and Cd applied as mineral salts or sewage sludges. In: FARMER J.G., ed. Heavy metal in the environment. Edinburgh, CEP Consultants, 1991. p.204-207.
- LEYVAL, C.; TURNAU, K. & HASELWANDTER, K. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza*, 7:139-153, 1997.
- NOGUEIRA, A.V. As micorrizas e o excesso de metais. In: SIQUEIRA, J.O., ed. Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 1996. p.135-174.
- PACOVSKI, R.S. Micronutrient uptake and distribution in mycorrhizal or phosphorus fertilized soybeans. *Plant Soil*, 95:379-388, 1986.
- PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 55:158-161, 1970.
- PIERANGELI, M.A.P.; GUILHERME, L.R.G.; CURI, N.; SILVA, M.L.N.; OLIVEIRA, L.R. & LIMA, J.M. Efeito do pH na adsorção – desorção de chumbo em Latossolos brasileiros. *R. Bras. Ci. Solo*, 25:269-277, 2001.
- PLENCHETTE, C.; FURLAN, V. & FORTIN, J.A. Responses of endomycorrhizal plants grown in a calcined montmorillonite clay to different levels of soluble phosphorus. II. Effect on nutrient uptake. *Can. J. Bot.*, 61:1384-1391, 1983.
- SAUERBECK, D. Welche Schermetallgehalte in Pflanzen dürfen nicht überschritten werden, um Wachstumsbeeinträchtigungen zu vermeiden? *Landwirtschaftl Forsch Sonderheft*, 39:105-129, 1982.
- SCHUEPP H.; DEHN, B. & STICHER, H. Interaktionen zwischen VA-Mykorrhizen und Schwermetallbelastungen. *Angew. Bot.*, 61:85-95, 1987.
- SHETTY, K.G.; HETRICK B.A.D. & SCHWAB, A.P. Effects of mycorrhizae and fertilizer amendments on zinc tolerance of plants. *Environ. Poll.*, 88:307-314, 1995.
- SIQUEIRA, J.O.; POUYÚ, E. & MOREIRA, F.M.S. Micorrizas arbusculares no crescimento pós-transplante de mudas de árvores em solo com excesso de metais pesados. *R. Bras. Ci. Solo*, 23:569-580, 1999.
- THOMPSON, J.P. Soil sterilization method to show VA-mycorrhizae aid P and Zn nutrition of wheat in Vertisols. *Soil Biol. Biochem.*, 22:229-240, 1990.
- TURNAU, K.; KOTTKE, I. & OBERWINKLER, F. Element localization in mycorrhizal roots of *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn collected from experimental plots treated with cadmium dust. *New Phytol.*, 123:313-324, 1993.

- VAN STEVENINCK, R.F.M.; VAN STEVENICK, M.E.; FERNANDO, D.R.; HORST, W.J. & MARSHNER, H. Deposition of zinc phytate in globular bodies in roots of *Deschampsia caespitose* ecotypes: A detoxification mechanism? *J. Plant Physiol.*, 131:247-257, 1987.
- WEISSENHORN, I.; LEYVAL, C. & BERTHELIN, J. Cd-tolerant arbuscular mycorrhizal (AM) fungi from heavy metal polluted soils. *Plant Soil*, 157:247-256, 1993.
- WEISSENHORN, I.; GLASHOFF, A.; LEYVAL, C. & BERTHELIN, J. Differential tolerance to Cd and Zn of arbuscular mycorrhizal (AM) fungal spores isolated from heavy metal-polluted soils. *Plant Soil*, 167:189-196, 1994.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. & SILVEIRA Jr., P. Sistemas de análise estatística para microcomputadores (SANEST). Pelotas, Universidade Federal de Pelotas, 1984. 151p.