

SEÇÃO III - BIOLOGIA DO SOLO

ABSORÇÃO E TRANSLOCAÇÃO DE MANGANÊS POR PLANTAS DE SOJA MICORRIZADAS, SOB DOSES CRESCENTES DESTES NUTRIENTE⁽¹⁾

E. J. B. N. CARDOSO⁽²⁾, R. B. NAVARRO⁽³⁾ & M. A. NOGUEIRA⁽⁴⁾

RESUMO

A toxidez de Mn pode ser atenuada, em algumas situações, pela micorrização das plantas. Mecanismos diretos e indiretos podem estar envolvidos nesse processo. Este trabalho visou avaliar o efeito intrínseco do fungo micorrízico arbuscular (FMA) na absorção e translocação de Mn por plantas de soja. Inicialmente, testaram-se três espécies de FMA quanto à capacidade de propiciar crescimento das plantas sob excesso de Mn. *Glomus macrocarpum* foi a mais eficiente em proteger as plantas contra o excesso de Mn, resultado da maior retenção de Mn nas raízes e menor translocação para a parte aérea. A simbiose com *Gigaspora margarita* foi ineficiente e limitou o desenvolvimento das plantas. Num segundo experimento, empregaram-se um cultivar tolerante e outro sensível ao excesso de Mn, em associação ou não com *G. macrocarpum*. Pretendeu-se verificar ocorrência de oxidação de Mn nas raízes das plantas micorrizadas, sob excesso de Mn. Não houve efeito da micorrização na oxidação de Mn nas raízes, mas na dose de 15 mg kg⁻¹ de Mn, as plantas micorrizadas tiveram maior teor de Mn nas raízes. Houve efeito do cultivar, tendo o tolerante apresentado maior oxidação de Mn nas raízes.

Termos de indexação: manganês, metal pesado, micorriza, nutrição de plantas, toxidez.

⁽¹⁾ Recebido para publicação em abril de 2002 e aprovado em março de 2003.

⁽²⁾ Professora Titular do Departamento de Solos e Nutrição de Plantas da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ/USP. Caixa Postal 09, CEP 13418-900 Piracicaba (SP). Bolsista do CNPq. E-mail: ejbncard@esalq.usp.br

⁽³⁾ Mestre em Microbiologia Agrícola, ESALQ/USP. E-mail: rosangelanavarro@hotmail.com

⁽⁴⁾ Professor Adjunto do Departamento de Microbiologia da Universidade Estadual de Londrina – UEL. Caixa Postal 6001, CEP 86051-990 Londrina (PR). E-mail: nogueira@uel.br

SUMMARY: *CHANGES IN MANGANESE UPTAKE AND TRANSLOCATION BY MYCORRHIZAL SOYBEAN UNDER INCREASING MN DOSES*

Under certain circumstances, Mn toxicity may be alleviated in mycorrhizal plants. Direct and indirect mechanisms can be involved in this process. Our objective was to evaluate the intrinsic effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on the uptake and translocation of Mn by soybean plants. Initially, three AMF were tested to determine their capacity in enhancing plant growth under Mn excess. Glomus macrocarpum was most efficient at protecting plants against Mn excess, as a result of a higher Mn retention in the roots and lower translocation to the shoots. The symbiosis with Gigaspora margarita was inefficient and restricted plant growth. In a second experiment, we used a Mn-tolerant and a Mn-susceptible soybean cultivar, with and without G. macrocarpum, to investigate if there is an increase of Mn oxidation in roots of mycorrhizal plants. No effect of mycorrhiza on Mn oxidation in the roots was detected, but at the rate of 15 mg kg⁻¹ of Mn, the mycorrhizal plants presented a greater Mn root content. There was a cultivar effect, which caused a higher content of oxidized Mn in the roots of the tolerant one.

Index terms: manganese, heavy metal, mycorrhiza, plant nutrition, toxicity.

INTRODUÇÃO

As plantas, bem como os microrganismos, podem ser afetados quando expostos ao excesso de metais pesados em seu ambiente de crescimento. No solo, os metais podem provir tanto do material de origem quanto das atividades industriais, urbanas ou agrícolas. No caso do Mn, sua ocorrência nos solos brasileiros é predominantemente pedogênica (Borkert et al., 2001), com teores disponíveis que variam de 3 a 190 mg dm⁻³ nos horizontes superficiais de solos do estado de São Paulo (Valadares & Camargo, 1981).

O Mn é absorvido pelas plantas na forma de íon divalente, sendo reconhecidos três compartimentos de Mn nas raízes. O primeiro refere-se à fração trocável, no apoplasto, onde permanece adsorvido às cargas negativas dos constituintes da parede celular. O segundo, denominado lábil, é o Mn que se encontra no citoplasma, enquanto o último, não-lábil, refere-se ao Mn depositado nos vacúolos. Seu transporte das raízes para a parte aérea é feito como íon divalente, via xilema, seguindo a corrente transpiratória, sofrendo pouca remobilização. É um dos nutrientes que apresentam as maiores variações em termos de teor nas plantas (Mukhopadhyay & Sharma, 1991).

Dentre as pesquisas que tratam do Mn na nutrição de plantas, a maioria se refere à sua toxidez, pela sua maior possibilidade de ocorrência, principalmente em solos com drenagem deficiente e com valores de pH inferiores a 5,5, fatores que aumentam sua disponibilidade (Abreu et al., 1994).

A discrepância entre a necessidade e o teor de Mn encontrado nos tecidos vegetais indica que, ao

contrário da maioria dos nutrientes, sua absorção é pouco regulada pela planta, o que pode levar ao acúmulo de Mn a níveis tóxicos (Clarkson, 1988).

Nesse contexto, vários trabalhos de pesquisa demonstraram que plantas colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares (FMA) foram mais tolerantes ao excesso de Mn ou até conseguiram suprimir sua toxidez (Bethlenfalvay & Franson, 1989; Cardoso, 1996; Nogueira & Cardoso, 2000), além de outros metais pesados (Díaz et al., 1996), por meio da diminuição de seus teores na parte aérea.

Os mecanismos que atuam na atenuação da toxidez de Mn em plantas micorrizadas não são totalmente conhecidos, mas alguns resultados demonstram a atuação de processos pelos quais os metais são retidos nas hifas dos FMAs no interior das raízes (Dehn & Schüepp, 1989), seja pela complexação com grânulos de polifosfato no micélio fúngico (Galli et al., 1994), seja pela adsorção às hifas externas (Joner et al., 2000). Outro mecanismo de proteção contra o excesso de Mn pode ser sua oxidação nas raízes, o que varia entre espécies de plantas e mesmo entre variedades da mesma espécie (Foy et al., 1988). Entretanto, não se sabe se a micorrização é capaz de aumentar a retenção do excesso de Mn nas raízes por meio do aumento de sua oxidação.

O presente trabalho foi constituído por dois experimentos, cujos objetivos foram: (1) avaliar o efeito da inoculação com três espécies de FMA sobre a absorção e translocação de Mn, bem como a atenuação da toxidez em plantas de soja (*Glycine max* L. Merrill) expostas ao excesso de Mn; (2) avaliar se a inoculação com FMA aumenta a oxidação de Mn nas raízes de plantas de soja.

MATERIAL E MÉTODOS

A atenuação da toxidez de Mn pode se dar tanto por efeitos indiretos da micorrização, como pela alteração da composição da comunidade microbiana da micorrizosfera (Kothari et al., 1991), ou, ainda, pelo aumento da absorção de P, principalmente em solos com alta capacidade de fixação de fosfatos (Li et al., 1991). Para limitar as interferências de outros microrganismos do solo e da fixação de P, este trabalho foi realizado em substrato arenoso autoclavado.

Experimento 1. Absorção e translocação de manganês por plantas micorrizadas

O substrato de cultivo foi constituído por areia de rio peneirada (< 2 mm), tratada por 24 h com HCl a 5 cL L⁻¹. A areia foi lavada diversas vezes até à retirada do ácido, autoclavada a 121 °C por 2 h e acondicionada em vasos de 2 kg de capacidade, cada qual constituindo uma unidade experimental.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4², sendo quatro níveis do fator micorrização (*Glomus macrocarpum* Tul & Tul, *G. etunicatum* Becker & Gerdemann, *Gigaspora margarita* Becker & Hall e um controle sem FMA), em combinação com quatro níveis do fator doses de Mn (0,0; 4,0; 8,0 e 12,0 mg kg⁻¹ de Mn adicionado na forma de MnCl₂.4H₂O em solução), com quatro repetições.

Antes da distribuição dos tratamentos, todas as parcelas receberam 0,13 mg kg⁻¹ de Mn, dose mínima, com a finalidade de prevenir deficiência no tratamento 0,0. A distribuição dos inóculos dos FMAs em cada vaso foi feita com uma suspensão de esporos obtidos por peneiramento úmido (Gerdemann & Nicholson, 1963), de vasos de multiplicação cultivados com milho. Os esporos de cada espécie foram desinfestados com solução de hipoclorito de sódio a 0,3 cL L⁻¹ por 3 min e enxaguados com água destilada. Foram adicionados cerca de 90 esporos por vaso, a 5 cm da superfície, imediatamente antes do transplantio de três plântulas de soja do cultivar IAC-8, previamente germinadas por seis dias em câmara de germinação Gerbox, selecionadas quanto à uniformidade. Após uma semana, desbastou-se para uma planta por vaso.

O experimento foi instalado em casa de vegetação, tendo as plantas recebido 50 mL da solução nutritiva de Steinberg diluída a 1/3 (Foy et al., 1967), isenta de Mn, duas vezes por semana, além de irrigações diárias com água destilada, conforme a necessidade.

Aos 50 dias do transplantio (DAT), a parte aérea das plantas foi cortada na altura do colo e lavada duas vezes em água deionizada. As raízes foram lavadas em água de torneira e duas vezes em água deionizada. Ambas foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 60 °C até peso constante, sendo então pesadas para a obtenção da massa do material seco da parte aérea (MSPA) e de raízes (MSR).

Cada parte foi moída em moinho tipo Wiley e submetida à digestão nítrico-perclórica (Bataglia et al., 1983), com vistas em determinar os teores de P, Ca, Mg, Cu, Fe e Mn por análise multielementar simultânea por espectrometria de emissão atômica com plasma induzido de argônio. O K foi determinado por fotometria de chama no mesmo extrato. O teor de N foi determinado apenas na parte aérea, por meio do método colorimétrico com indofenol azul em auto-analisador Tecnicon, após digestão sulfúrica (Bataglia et al., 1983).

A quantidade total de nutrientes acumulada em cada parte analisada foi avaliada com base no teor obtido e na produção de material seco. A eficiência micorrízica foi calculada com base na massa de material seco total (MS_{total} = MSPA + MSR) segundo a fórmula:

$$\text{Eficiência Micorrízica (\%)} = \frac{[(\text{MS}_{\text{total}} \text{ planta micorrizada} - \text{MS}_{\text{total}} \text{ planta-controle}) / (\text{MS}_{\text{total}} \text{ planta-controle})] \times 100}{1}$$

A colonização micorrízica foi avaliada em lâminas sob microscópio (Biermann & Linderman, 1981), após coloração das raízes (Phillips & Haymann, 1970).

A análise estatística das variáveis foi realizada, aplicando-se o programa SANEST (Zonta et al., 1984) para análise da variância, seguido de análise de regressão, para os fatores quantitativos, e o teste de Tukey a P < 0,05, para os qualitativos. A variável colonização micorrízica foi transformada para arcsen (x/100)^{1/2} antes da análise.

Experimento 2. Oxidação de manganês nas raízes

O substrato foi composto por uma mistura de sílica e vermiculita (3:1, v/v), autoclavado a 121 °C por 2 h e acondicionado em vasos de 2 kg de capacidade, constituindo a unidade experimental.

O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 2 x 2, sendo três doses de Mn (0, 15 e 30 mg kg⁻¹, na forma de MnCl₂.4H₂O em solução aos 21 DAT); dois cultivares de soja: IAC-13, considerado sensível, e IAC-31 Foscarin, considerado tolerante a níveis tóxicos de Mn (Miranda et al., 1986); presença e ausência de micorriza (*Glomus macrocarpum* Tul & Tul var. *macrocarpum* e controle não micorrizado), com quatro repetições. Essa espécie de FMA foi escolhida por ter sido a mais eficiente em promover o crescimento, aumentar a retenção de Mn nas raízes e diminuir sua translocação para a parte aérea das plantas no experimento anterior.

Cada vaso recebeu uma plântula pré-germinada e o inóculo de FMA, utilizando-se 10 g de substrato proveniente de vasos de multiplicação com milho que continham esporos, hifas e pedaços de raízes colonizadas, dispostos imediatamente abaixo da radícula da plântula transplantada. Os vasos do

tratamento-controle não micorrizado receberam 10 g de substrato semelhante, porém sem propágulos de FMA.

Durante 20 dias, a adubação de todas as plantas foi feita com a aplicação da solução nutritiva de Steinberg (Foy et al., 1967), exatamente como no experimento anterior, com 0,13 mg L⁻¹ de Mn. As doses de Mn de cada tratamento foram distribuídas aos 21 DAT, após o que a solução nutritiva fornecida passou a não mais conter Mn.

As plantas foram colhidas aos 40 DAT, tendo sido a parte aérea tratada como no experimento 1. Amostras das raízes (0,5 g de material fresco), depois de lavadas em água deionizada, foram submetidas à estimativa da deposição de Mn oxidado, conforme Kenten & Mann (1959), modificado por Horiguchi (1987). Esse método baseia-se no princípio de que o Mn³⁺ presente nas raízes, quando extraído na forma de manganipirofosfato, apresenta absorvância máxima a 258 nm. Após redução para Mn²⁺ pela adição de hidrazina, o valor da absorvância decresce. Portanto, quanto maior a diferença no valor de absorvância de uma mesma amostra, maior a quantidade de Mn oxidado presente.

Dessa forma, as raízes, depois de lavadas em água deionizada, foram mergulhadas em 100 mL de tampão pirofosfato (50 mol L⁻¹ a pH 7,0) e submetidas à extração do Mn oxidado pela utilização de um oscilador ultrassônico (40 kHz) por três vezes. O extrato foi reunido em volume único e centrifugado a 2.000 g por 10 min. O espectro de absorvância a 258 nm foi obtido da solução sobrenadante, utilizando-se um espectrofotômetro Hewlett-Packard modelo HP 8451 A, com malha de diodos, equipado com célula de fluxo 1780S. A estimativa do Mn oxidado foi obtida pela diferença na absorvância de duas alíquotas da mesma amostra, com e sem a adição de sulfato de hidrazina (0,5 mL de solução 0,1 mol L⁻¹ por 0,5 mL de amostra).

O remanescente do sistema radicular foi utilizado para a estimativa da MSR e determinação da taxa de colonização micorrízica, após coloração, conforme Phillips & Haymann (1970), avaliada segundo Ambler & Young (1977).

A análise estatística dos dados foi semelhante à do primeiro experimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1. Absorção e translocação de manganês por plantas micorrizadas

A produção de material seco pela soja, tanto da parte aérea quanto das raízes, foi significativamente ($P < 0,01$) influenciada pela presença do FMA, em interação com as doses de Mn (Figura 1a e 1b). Nas doses de 8 e 12 mg kg⁻¹ de Mn, as plantas associadas

à espécie *G. macrocarpum* tiveram significativo aumento de biomassa da parte aérea e raízes, em comparação com as dos demais tratamentos. Nas doses de 0 e 4 mg kg⁻¹ de Mn, as plantas associadas às duas espécies de *Glomus* não apresentaram incrementos de biomassa da parte aérea em relação ao controle. A simbiose com *G. margarita* mostrou-se ineficiente mesmo sem adição do Mn. A eficiência micorrízica de *G. macrocarpum* aumentou com as doses de Mn, sendo de 8, 15, 38 e 57 %, respectivamente, para as doses crescentes de Mn (Figura 1c). Para as demais espécies, a eficiência, em geral, foi pouco expressiva ou negativa. Caso de ineficiência simbiótica envolvendo *G. margarita* e soja também foi verificado anteriormente (Nogueira & Cardoso, 2000).

A colonização micorrízica foi menor que 10 % (não apresentado). A espécie de FMA com maior percentagem de colonização foi *G. margarita*, cerca de 8 %, diferindo significativamente das demais ($P < 0,01$), que, por sua vez não diferiram entre si e apresentaram colonização média de 4,5 %. Verificase que nem sempre existe relação direta entre a percentagem de colonização radicular e a eficiência micorrízica (Graham et al., 1982), conforme foi demonstrado para a produção de biomassa (Figura 1a e 1c). Apesar de *G. margarita* ter alcançado maior colonização, houve menor desenvolvimento das plantas, contrastando com os resultados obtidos por aquelas associadas a *G. macrocarpum*.

Para Allen (2001), uma medida mais apropriada seria a do comprimento de raízes colonizadas. Por ser uma medida relativa, a percentagem de colonização diminui-se o desenvolvimento radicular for mais rápido que a capacidade de colonização dos FMAs. Isso pode ocorrer quando o hospedeiro entra em fase reprodutiva, como foi o caso, quando as plantas foram colhidas. Nessa fase, ocorre um desvio do dreno de fotoassimilados para o desenvolvimento das estruturas reprodutivas (flores e vagens em início de formação), em detrimento aos FMAs. Nesse caso, apesar de diminuir o valor relativo, o comprimento de raízes colonizadas ainda permanece constante. Não houve efeito significativo das doses de Mn sobre essa variável.

Dos nutrientes avaliados, apenas os macronutrientes primários foram influenciados pelos FMAs, sem que houvesse efeito das doses de Mn ou interação entre esses fatores (Quadro 1). Os teores e conteúdos de Ca, Mg, Cu e Fe não foram influenciados pelos tratamentos (não apresentados). O teor de N foi menor nas plantas micorrizadas com *G. macrocarpum* e maior nas plantas com *G. margarita*, respectivamente, plantas com a maior e a menor produção de biomassa, o que evidencia o efeito diluição sobre esse nutriente.

Com relação ao conteúdo, não houve efeito da micorrização. O P geralmente tem seu teor aumentado nas plantas micorrizadas, mas esse efeito

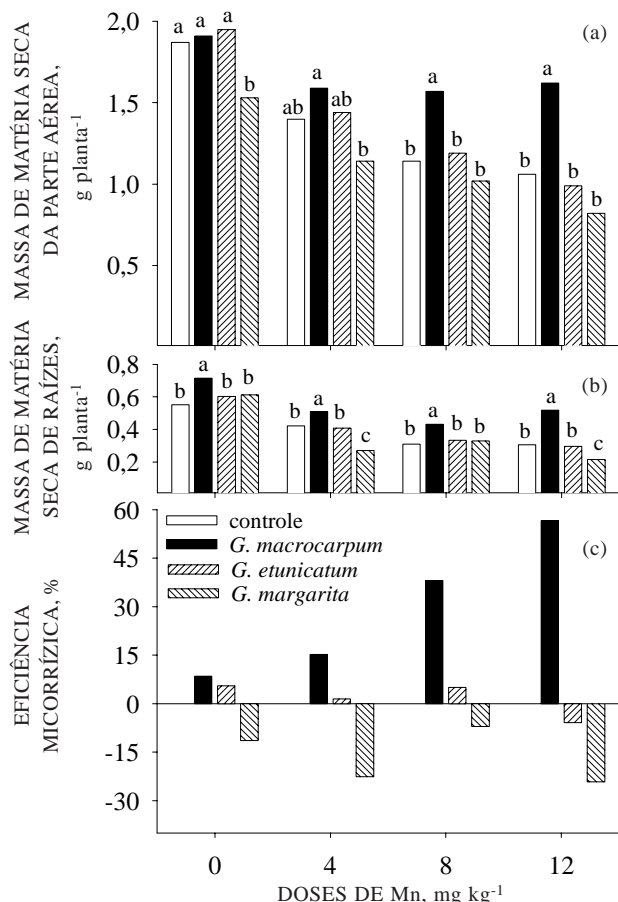


Figura 1. Produção de material seco pela parte aérea (a) e raízes (b) de plantas de soja cv. IAC-8 colonizadas por três espécies de fungos micorrízicos arbusculares e plantas-controle, em cada dose de Mn adicionada ao substrato e eficiência micorrízica (c). Letras iguais, na mesma dose de Mn, não diferem entre si (Tukey $P < 0,05$).

não foi constatado nesse experimento. Isso foi vantajoso, pois foi possível avaliar os efeitos intrínsecos da micorrização sobre a proteção contra o excesso de Mn. A atenuação da toxidez de Mn por plantas micorrizadas pode ser atribuída a um efeito indireto do maior teor de P nos tecidos, pela formação de complexos com o Mn dentro da planta que diminuem sua atividade (Mukhopadhyay & Sharma, 1991). O único efeito verificado para o P foi quanto ao conteúdo, em razão da maior biomassa produzida pelas plantas com *G. macrocarpum* e menor nas plantas com *G. margarita*.

O K teve seu teor aumentado nas plantas micorrizadas, o que contribuiu para aumentar seu conteúdo nas plantas com *G. macrocarpum* em relação às plantas com *G. margarita* e controle. O excesso de Mn causa alterações fisiológicas na planta como o fechamento estomatal, o que diminui as taxas de transpiração (Suresh et al., 1987). Como o

Quadro 1. Teor e conteúdo de N, P e K na parte aérea de plantas de soja cv. IAC-8 micorrizadas e não micorrizadas (Experimento 1)

Tratamento	Nutriente	Teor	Conteúdo
		g kg ⁻¹	mg planta ⁻¹
Controle	N	31,3 bc	42 a
<i>G. macrocarpum</i>		27,7 c	45 a
<i>G. etunicatum</i>		32,5 b	42 a
<i>G. margarita</i>		41,4 a	47 a
Controle	P	0,88 a	1,15 ab
<i>G. macrocarpum</i>		0,78 a	1,32 a
<i>G. etunicatum</i>		0,86 a	1,19 ab
<i>G. margarita</i>		0,84 a	0,99 b
Controle	K	12,4 b	16,6 b
<i>G. macrocarpum</i>		14,4 a	24,2 a
<i>G. etunicatum</i>		14,1 a	19,7 ab
<i>G. margarita</i>		14,2 a	16,7 b

Médias seguidas de letras iguais, na coluna, não diferem entre si (Tukey $P < 0,05$).

transporte do K ocorre predominantemente via fluxo de massa, que, por sua vez, é dependente da taxa de transpiração, é possível explicar a razão do menor conteúdo de K justamente nas plantas dos tratamentos que apresentaram os maiores teores de Mn, como será discutido a seguir.

Os teores de Mn na parte aérea e raízes das plantas (Figura 2a) aumentaram com as doses de Mn adicionadas ao substrato, em interação significativa ($P < 0,01$) com os tratamentos de micorrização. Nota-se que, na parte aérea, nas doses de 8 e 12 mg kg⁻¹ de Mn, a presença das duas espécies de *Glomus* resultou, em geral, em menor teor de Mn em comparação com o controle, enquanto as plantas micorrizadas com a espécie menos eficiente, *G. margarita*, apresentaram teores de Mn semelhantes às do controle não micorrizado. Nas raízes, as plantas com *G. macrocarpum* na dose de 12 mg kg⁻¹ de Mn tiveram o maior teor de Mn, enquanto na associação menos eficiente, com *G. margarita*, houve efeito oposto.

Quanto ao conteúdo de Mn na parte aérea (Figura 2b), é interessante notar que, apesar da menor produção de biomassa, as plantas dos tratamentos-controle obtiveram valores semelhantes aos das associadas ao *G. macrocarpum*, principalmente nas doses de 8 e 12 mg kg⁻¹. Isso indica que a taxa de absorção de Mn pelas plantas não micorrizadas foi maior que a das plantas associadas a *G. macrocarpum*. Nesse caso, ficou evidente, na dose de 12 mg kg⁻¹ de Mn, que grande parte do Mn ficou retido nas raízes das plantas com *G. macrocarpum*.

Esses resultados indicaram a maior eficiência da espécie *G. macrocarpum* em promover a proteção das plantas contra o excesso de Mn. A associação a

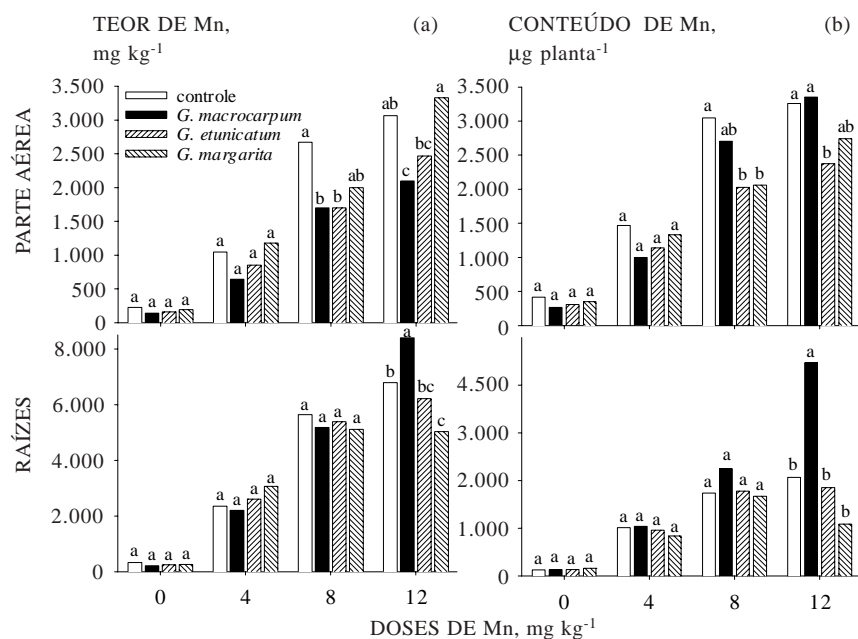


Figura 2. Teor (a) e conteúdo (b) de manganês na parte aérea e raízes de plantas de soja cv. IAC-8 colonizadas por três espécies de fungos micorrízicos arbusculares e plantas-controle, em cada dose de Mn adicionada ao substrato. Letras iguais, na mesma dose de Mn, não diferem entre si (Tukey $P < 0,05$).

esse FMA aumentou o conteúdo de Mn nas raízes das plantas expostas ao excesso de Mn e por isso sua translocação para a parte aérea foi diminuída, resultando em menor teor. Isso pode ter contribuído para o maior crescimento das plantas, resultando em maior eficiência micorrízica.

Tal resultado não está relacionado com a absorção de P, visto que as plantas de todos os tratamentos apresentaram teores semelhantes. Cardoso (1996) constatou que em plantas não micorrizadas houve correlação positiva entre o teor de P e Mn na parte aérea, enquanto nas plantas micorrizadas somente houve aumento do teor de P, mas não de Mn. Embora a autora tivesse utilizado um solo com alta capacidade de fixação de P, percebeu-se um efeito protetor contra o excesso de Mn aparentemente resultante da presença do FMA e não do aumento do teor de P atribuído à simbiose.

A retenção de outros metais no sistema radicular de plantas micorrizadas também foi relatada (Dehn & Schüepp, 1989; Díaz et al., 1996). Entretanto, o efeito protetor depende da espécie do FMA e mesmo do isolado (Díaz et al., 1996) e de sua interação com o hospedeiro e desses com o ambiente. Esses resultados podem justificar a falta de eficiência obtida na simbiose com *G. margarita*.

O maior crescimento das plantas micorrizadas, na maioria das vezes, está relacionado com o maior teor de P propiciado pelo aumento da exploração do solo pelas hifas fúngicas (Li et al., 1991), principalmente naqueles com alta capacidade de

fixação de P. Como não houve efeito da micorrização sobre o teor de P nas plantas, foi possível inferir que o efeito de *G. macrocarpum* sobre o maior crescimento das mesmas foi decorrente de sua presença nas raízes, atuando na proteção da parte aérea contra o excesso de Mn. Esse resultado gerou a hipótese, testada no segundo experimento, de que a retenção de Mn no sistema radicular de plantas micorrizadas sob excesso de Mn poderia ser consequência da atuação de mecanismos de oxidação.

Experimento 2. Oxidação de manganês nas raízes

A associação com *G. macrocarpum* resultou, na média de doses de Mn e dos cultivares, em aumento significativo da massa de material seco da parte aérea das plantas em cerca de 14 % (Quadro 2), mas não houve efeito sobre a produção de biomassa do sistema radicular. Entretanto, houve alteração da relação raiz/parte aérea, com diminuição significativa dessa variável nas plantas do cultivar tolerante (IAC-31 Foscarin), pelo aumento da produção de biomassa de parte aérea e diminuição de biomassa de raízes. Isso mostra que os efeitos fisiológicos resultantes da simbiose micorrízica dependem do cultivar de soja utilizado, com mudanças na arquitetura do sistema radicular.

A colonização radicular média dos dois cultivares foi cerca de 11 %, sem efeito dos tratamentos. Os teores dos nutrientes na parte aérea também não foram afetados nos tratamentos, exceto o Mn.

Quadro 2. Efeitos da micorrização sobre produção de material seco da parte aérea (MSPA), de material seco das raízes (MSR), relação raiz/parte aérea (R/PA), colonização micorrízica (COL) e conteúdo de alguns nutrientes na parte aérea de plantas de soja, na interação dupla “cultivar x micorrização”, na média das doses de Mn ou no efeito simples de micorrização na média de doses de Mn e cultivares de soja (Experimento 2)

Variável	Cultivar					
	IAC-13		IAC-31 Foscarin		Média	
	Controle	Glomus	Controle	Glomus	Controle	Glomus
MSPA (g planta ⁻¹)	2,24	2,48	2,92	3,40	2,58	2,94*
MSR (g planta ⁻¹)	0,63	0,67 ^{ns}	1,03	0,83 ^{ns}	-	-
R/PA	0,27	0,26 ^{ns}	0,35	0,24*	-	-
COL (%)	-	12,17	-	9,70	-	10,94
P (mg planta ⁻¹)	2,5	2,3 ^{ns}	3,2	3,8*	-	-
K (mg planta ⁻¹)	37,1	42,1	61,4	74,6	49,3	58,4*
Ca (mg planta ⁻¹)	22,8	24,8	25,0	32,1	23,9	28,5*
Cu (µg planta ⁻¹)	58,3	42,3*	33,1	63,7*	-	-
Zn (µg planta ⁻¹)	116	80 ^{ns}	89	148*	-	-

*: Diferença significativa entre controle e tratamento micorrizado (*Glomus*); ns: diferença não-significativa (Tukey P < 0,05).

Quanto ao conteúdo, alguns nutrientes foram influenciados pela micorrização ou pelos cultivares (Quadro 2). Para o P, a micorrização apresentou efeitos apenas no cultivar tolerante, com um aumento de 20 % em relação à planta não micorrizada. Independentemente do cultivar, a micorrização promoveu maiores conteúdos de K (15,5 %) e Ca (16,1 %). Quanto ao Cu, a micorrização causou efeitos inversos nos cultivares. Enquanto no cultivar IAC-13 a presença do FMA reduziu o conteúdo desse nutriente, no cultivar IAC-31 Foscarin este foi aumentado. Esse mesmo efeito, embora não significativo no cultivar IAC-13, também foi observado para o Zn. Não houve efeito das doses de Mn sobre essas variáveis. Não houve efeito dos fatores estudados sobre o conteúdo de Mg e Fe, enquanto o Mn, como esperado, somente foi afetado pelas doses de Mn (não apresentados).

O teor de Mn na parte aérea das plantas não foi afetado nem pelos cultivares, nem pelo FMA, ao contrário do experimento anterior, mas apenas pelas doses de Mn (Figura 3).

Entretanto, nas raízes, houve significativo aumento do teor desse elemento apenas na dose de 15 mg kg⁻¹, na presença do FMA, na média dos cultivares, corroborando os resultados do experimento anterior. Esses resultados indicam que os dois cultivares de soja comportaram-se de maneira semelhante quanto à absorção de Mn, quando associados a *G. macrocarpum*.

Além disso, não foram verificadas diferenças em relação ao aspecto das plantas no desenvolvimento dos sintomas de toxidez, em consequência dos elevados teores de Mn presentes nos seus tecidos. Na maior dose de Mn, algumas plantas apresentaram

necrose na altura do colo, independentemente do cultivar ou do tratamento micorrízico.

O nível crítico superior para o Mn no tecido das plantas varia com a espécie e mesmo entre

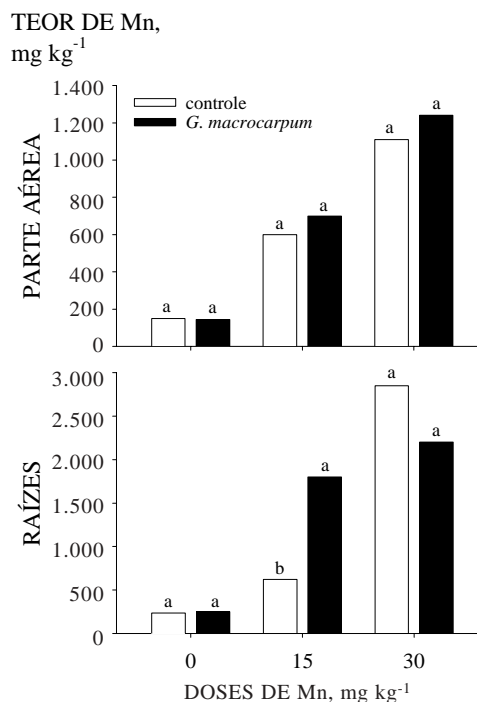


Figura 3. Teor de Mn na parte aérea e raízes de plantas de soja colonizadas por *Glomus macrocarpum* e plantas-controle, na média dos cultivares IAC-13 e IAC-31 Foscarin, em cada dose de Mn adicionada ao substrato. Letras iguais, na mesma dose de Mn, não diferem entre si (Tukey P < 0,05).

variedades. A soja é considerada moderadamente sensível ao excesso de Mn, tolerando teores nos tecidos entre 300 e 400 mg kg⁻¹, mas algumas variedades, consideradas altamente tolerantes, suportam até 1.500 mg kg⁻¹ (Foy et al., 1988). Não existe um valor seguro para se afirmar como nível crítico superior para o Mn, visto que a toxidez pode ser influenciada por fatores ambientais, como a temperatura, e pelo estado nutricional da planta com relação ao P, Ca, Si e Fe (Foy et al., 1988; Mukhopadhyay & Sharma, 1991). Além disso, a presença de micorriza também altera esses valores, conforme demonstrado neste trabalho e em outros anteriores (Bethlenfalvay & Franson, 1989; Cardoso, 1996).

A estimativa da deposição de Mn oxidado nas raízes das plantas revelou que houve efeito significativo das doses de Mn, em interação com os cultivares (Figura 4), mas não da micorrização. Dessa forma, a hipótese de que o aumento do teor de Mn nas raízes das plantas micorrizadas se dá por mecanismos de oxidação não foi comprovada. Entretanto, ficou claro que esse mecanismo pode estar envolvido na resistência do cultivar, visto que o tolerante (IAC-31 Foscarin) proporcionou mais Mn oxidado nas raízes, em relação ao sensível (IAC-13), conforme verificado pelos coeficientes angulares das equações de regressão, distintos entre si a $P < 0,05$. Apesar dessas diferenças nas raízes, não houve reflexo sobre os teores de Mn na parte aérea das plantas.

Com relação ao aumento do teor de Mn nas raízes das plantas da dose de 15 mg kg⁻¹ de Mn, outros mecanismos, que não a oxidação, podem estar envolvidos e, dentre eles, a retenção de metais pelo

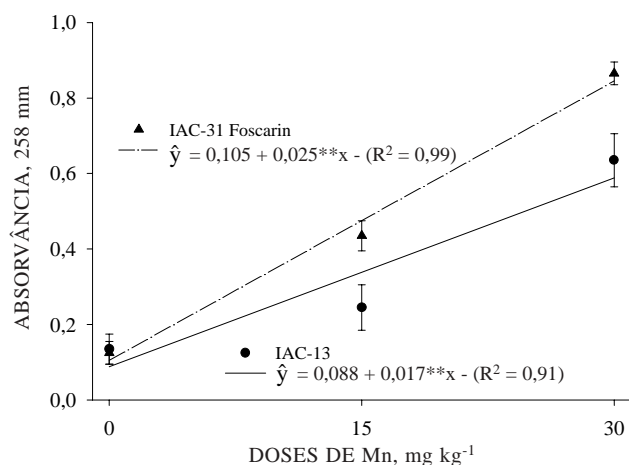


Figura 4. Estimativa da deposição de Mn oxidado em raízes de dois cultivares de soja (IAC-13 e IAC-31 Foscarin), em função de doses de Mn adicionadas ao substrato, na média dos tratamentos com e sem FMA. Barras verticais indicam o erro-padrão de oito repetições. ** = coeficientes significativos a $P < 0,05$.

micélio fúngico (Joner et al., 2000). Sabe-se que o micélio dos FMAs tem alta CTC e, portanto, pode adsorver metais à sua superfície, principalmente aos grupos SH de proteínas denominadas metalotioneínas, como a cistina (Dehn & Schüepp, 1989). Nesse caso, o não-efeito da micorrização sobre o conteúdo de Mn nas raízes das plantas na maior dose de Mn pode estar relacionado com a saturação dos sítios de adsorção de Mn na biomassa fúngica.

CONCLUSÕES

1. Plantas de soja micorrizadas apresentaram alteração da absorção de Mn, de acordo com o teor deste no substrato.
2. O efeito dos fungos micorrízicos na absorção de Mn pela soja dependeu da espécie fúngica, constituindo um componente da sua eficiência micorrízica.
3. A associação micorrízica eficiente diminuiu o teor de Mn na parte aérea da soja cultivada sob excesso de Mn por proporcionar maior conteúdo de Mn nas raízes.
4. A oxidação de Mn no sistema radicular não foi evidenciada como mecanismo de proteção de soja micorrizada sob excesso de Mn. Entretanto, percebeu-se maior oxidação nas raízes do cultivar considerado resistente ao excesso de Mn.

LITERATURA CITADA

- ABREU, C.A.; NOVAIS, R.F.; RAIJ, B. van & RIBEIRO, A.C. Comparação de métodos para avaliar a disponibilidade do manganês em solos. R. Bras. Ci. Solo, 18:81-90, 1994.
- ALLEN, M.F. Modeling arbuscular mycorrhizal infection: is % infection an appropriate variable? Mycorrhiza, 10:255-258, 2001.
- AMBLER, J.R. & YOUNG, J.L. Techniques for determining root length infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. Soil. Sci. Soc. Am. J., 32:621-627, 1977.
- BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R. & GALLO, J.R. Métodos de análise química de plantas. Campinas, Instituto Agrônomo, 1983. 48p. (Boletim técnico, 78)
- BETHLENFALVAY, G.J. & FRANSON, R.L. Manganese toxicity alleviated by mycorrhizae in soybean. J. Plant Nutr., 12:953-970, 1989.
- BIERMAN, B. & LINDERMAN, G. Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizae: a proposed method towards standardization. New Phytol., 88:63-67, 1981.
- BORKERT, C.M.; PAVAN, M.A. & BATAGLIA, O.C. Disponibilidade e avaliação de elementos catiônicos: ferro e manganês. In: FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P.; RAIJ, B. van & ABREU, C.A., eds. Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura. Jaboticabal, CNPq/FAPESP/Potafós, 2001. p.151-185.

- CARDOSO, E.J.B.N. Interaction of mycorrhiza, phosphate and manganese in soybean. In: AZCÓN-AGUILAR, C. & BAREA, J.M., eds. Mycorrhizas in integrated systems: from genes to plant development. In: EUROPEAN SYMPOSIUM ON MYCORRHIZAS, 4., Granada, 1994. Proceedings. Luxemburg, European Commission Report, 1996. p.304-306.
- CLARKSON, D.T. The uptake and translocation of manganese by plant roots. In: GRAHAM, R.D.; HANNAM, R.J. & UREN, N.C., eds. Manganese in soils and plants. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1988. p.101-111.
- DEHN, B. & SCHÜEPP, H. Influence of VA mycorrhizae on the uptake and distribution of heavy metals in plants. *Agr., Ecosyst. Environ.*, 29:79-83, 1989.
- DÍAZ, G.; AZCÓN-AGUILAR, C. & HONRUBIA, M. Influence of arbuscular mycorrhizae on heavy metal (Zn and Pb) uptake and growth of *Lygeum spartum* and *Anthyllis cytisoides*. *Plant Soil*, 180:241-249, 1996.
- FOY, C.D.; FLEMING, A.L.; BURNS, G.R. & ARMIGER, W.H. Characterization of differential aluminum among varieties of wheat and barley. *Soil Sci. Soc. Am.*, 31:513-521, 1967.
- FOY, C.D.; SCOTT, B.J. & FISHER, J.A. Genetic differences in plant tolerance to manganese toxicity. In: GRAHAM, R.D.; HANNAM, R.J. & UREN, N.C., eds. Manganese in soils and plants. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1988. p.293-307.
- GALLI, U.; SCHÜEPP, H. & BRONOLD, C. Heavy metal binding by mycorrhizal fungi. *Physiol. Plant.*, 92:364-368, 1994.
- GERDEMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Myc. Soc.*, 46:235-244, 1963.
- GRAHAM, J.H.; LINDERMAN, R.G. & MENGE, J.A. Development of external hyphae by different isolates of mycorrhizal *Glomus* spp. in relation to root colonization and growth of troyer citrange. *New Phytol.*, 91:183-189, 1982.
- HORIGUCHI, T. Mechanism of manganese toxicity and tolerance of plants II. Deposition of oxidized manganese in plant tissues. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 33:595-606, 1987.
- JONER, E.J.; BRIONES, R. & LEYVAL, C. Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. *Plant Soil*, 226:227-234, 2000.
- KENTEN, R.H. & MANN, P.J.G. The oxidation of manganese by peroxidase systems. *Biochem. J.*, 46:67-73, 1959.
- KOTHARI, S.K.; MARSCHNER, H. & RÖMHELD, V. Effect of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and rhizosphere micro-organisms on manganese reduction in the rhizosphere and manganese concentrations in maize (*Zea mays* L.). *New Phytol.*, 117:649-655, 1991.
- LI, X.L.; GEORGE, E. & MARSCHNER, H. Extension of the phosphorus depletion zone in VA-mycorrhizal white clover in a calcareous soil. *Plant Soil*, 136:41-48, 1991.
- MIRANDA, M.A.C.; MIYASAKA, S. & MASCARENHAS, H.A.A. Melhoria da soja no estado de São Paulo. In: FUNDAÇÃO CARGILL. A soja no Brasil Central. 3.ed. Campinas, 1986. p.77-112.
- MUKHOPADHYAY, M.J. & SHARMA, A. Manganese in cell metabolism of higher plants. *Bot. Rev.*, 57:117-149, 1991.
- NOGUEIRA, M.A. & CARDOSO, E.J.B.N. Colonização radicular e produção de micélio externo por duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares em soja. *R. Bras. Ci. Solo*, 24: 329-338, 2000.
- PHILLIPS, J.M. & HAYMANN, A.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for assessment of infection. *Trans. Brit. Myc. Soc.*, 55:158-161, 1970.
- SURESH, R.; FOY, C.D. & WEIDNER, J.R. Effects of excess soil manganese on stomatal function in two soybean cultivars. *J. Plant. Nutr.*, 10:749-760, 1987.
- VALADARES, J.M.A. & CAMARGO, O.C. Manganês em solos do estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 17., Salvador, 1981. Programas e resumos. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1981. p.85.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. & SILVEIRA-JR., P. Sistemas de análise estatística para microcomputadores (SANEST). Pelotas, Universidade Federal de Pelotas. 1984. 151p.