



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DO SOLO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO**

**ERICKA PALOMA VIANA MAIA**

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS DE SABIÁ (*Mimosa Caesalpiniaefolia* Benth.)**  
**ASSOCIADO A MICORRIZAS ARBUSCULARES E RIZÓBIOS EM SOLO DE**  
**MINERAÇÃO DE MANGANÊS**

**FORTALEZA**

**2019**

ERICKA PALOMA VIANA MAIA

RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS DE SABIÁ (*Mimosa Caesalpiniaefolia* Benth.)  
ASSOCIADO A MICORRIZAS ARBUSCULARES E RIZÓBIOS EM SOLO DE  
MINERAÇÃO DE MANGANÊS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós -  
graduação em Ciência do Solo, do  
Departamento de Ciências do Solo da  
Universidade Federal do Ceará, como parte dos  
requisitos para obtenção do título de Mestre.  
Área de Concentração: Química, Fertilidade e  
Biologia do solo.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Furtado Mendes  
Filho

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

M185r Maia, Ericka Paloma Viana.

Respostas morfofisiológicas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* benth.) associado a micorrizas arbusculares e rizóbios em solo de mineração de manganês / Ericka Paloma Viana Maia. – 2019. 69 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Fortaleza, 2019.

Orientação: Prof. Dr. Paulo Furtado Mendes Filho.

1. Fitorremediação. 2. Reabilitação. 3. Microbiologia do solo. I. Título.

CDD 631.4

---

ERICKA PALOMA VIANA MAIA

RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS DE SABIÁ (*Mimosa Caesalpiniaefolia* Benth.)  
ASSOCIADO A MICORRIZAS ARBUSCULARES E RIZÓBIOS EM SOLO DE  
MINERAÇÃO DE MANGANÊS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós -  
graduação em Ciência do Solo, do  
Departamento de Ciências do Solo da  
Universidade Federal do Ceará, como parte dos  
requisitos para obtenção do título de Mestre.  
Área de Concentração: Química, Fertilidade e  
Biologia do solo.

Aprovada em: 25 / 10 / 2019.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Paulo Furtado Mendes Filho (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Fernando Felipe Ferreyra Hernandez  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. José de Souza Oliveira Filho  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)

---

Prof. Dr. Arthur Prudêncio de Araújo Pereira  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Maria de Fátima Viana  
Fernandes e José Ivan Fernandes Maia

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por estar ao meu lado em todos os momentos, por guiar os meus passos, por todas as oportunidades concedidas por ele, por todo o seu propósito em minha vida.

Aos meus pais, Maria de Fátima e José Ivan, por todo amor incondicional, por serem os meus maiores incentivadores, por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos importantes da minha vida. Não existem palavras que descreva o tamanho do meu amor, respeito e gratidão por vocês.

Aos meus irmãos, Fernando, Ivan Junior e Ana, por todo o apoio e companheirismo e amizade

Ao meu namorado Heuder, pelo amor, carinho, apoio, incentivo e companheirismo. Por torcer sempre pelo meu sucesso e vibrar comigo as minhas conquistas alcançadas.

Ao meu orientador Prof. Paulo Mendes, pelas oportunidade dada ao longo desses dois anos, pela sua contribuição na minha formação profissional, pelos ensinamentos, compreensão e confiança na realização desse trabalho.

A equipe de microbiologia do solo, especialmente ao Prof. Zé Filho, Israel, Kaio, Danilo, Jarlane, Arlene, Max e Leolete.

Aos amigos e irmãos de orientação que me ajudaram ao longo do experimento, Israel, Kaio, Danilo e Jarlane.

Aos amigos e colegas de mestrado Wesley, Tancio, Ana carla, João, Emanuela, André, Ícaro.

Aos amigos Patricia Carvalho, Marco Aurélio, Jenilton Gomes.

À universidade Federal do Ceará e ao Departamento de Ciências do Solo pela contribuição na minha formação profissional.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

“Qualquer desafio que você encontra na vida  
faz parte de um projeto cuja intenção é ajudá-lo  
a crescer.”

Karen Berg

## RESUMO

O excesso de manganês no solo promove distúrbios morfofisiológicos nas espécies vegetais comprometendo o estabelecimento e conseqüentemente a reabilitação das áreas degradadas pela exploração desse minério, sendo necessárias intervenções antrópicas. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações morfofisiológicas relacionadas com a tolerância ou sensibilidade de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) inoculada com fungos micorrízicos arbusculares e rizóbios em solos degradados pela mineração de Mn. O estudo foi realizado em casa de vegetação, adotando-se um delineamento inteiramente casualizado, com parcelas subdivididas no tempo, considerando-se: i) parcelas com cinco tratamentos (controle “sem inoculação”, rizóbios, micorrizas e mix (micorrizas + rizóbios)); ii) subparcelas constituíram as épocas de avaliação. Foram avaliadas as variáveis fisiológicas fotossíntese, condutância estomática, concentração interna de CO<sub>2</sub>, transpiração e razão entre a concentração interna e externa de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>/C<sub>a</sub>) em quatro épocas e o índice SPAD (Soil Plant Analysis Development) em sete épocas. Além disso, foram avaliadas as variáveis morfológicas altura de planta e diâmetro de caule em oito épocas ao longo do desenvolvimento das plantas. Ao término do experimento foram analisados a massa da matéria seca de raiz (MMSR) e da parte aérea (MMSPA), área foliar (AF), número e massa da matéria seca dos nódulos, colonização e abundância de esporos, além dos teores de manganês (Mn), fósforo (P), pH do solo e acúmulo total dos macro e micronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, Mn, Cu, Zn e Fe) na parte aérea das plantas. A dupla inoculação (Rizóbios + Micorrizas) promoveu alterações fisiológicas nas plantas, estimulou o crescimento e a incorporação de biomassa, o que pode ser explicado pelo maior fornecimento de nutrientes pelas associações, além de estratégias desses microrganismos para diminuir a fitotoxidez favorecendo a tolerância e qualidade das mudas. A dupla inoculação (micorrizas + rizóbios) favorece a tolerância e o estabelecimento do sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) em solos de áreas degradadas pela mineração de manganês.

**Palavras-chave:** Fitorremediação. Reabilitação. Microbiologia do solo.

## ABSTRACT

The excess of manganese in the soil promotes morphophysiological disturbances in plant species, compromising the establishment and consequently the rehabilitation of areas degraded by the exploitation of this ore, requiring human intervention. Thus, the objective of this work was to evaluate the morphophysiological changes related to the tolerance or sensitivity of thrush (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia in soils degraded by Mn mining. The study was carried out in a greenhouse, adopting a completely randomized design, with plots subdivided over time, considering: i) plots with five treatments (control “without inoculation”, rhizobia, mycorrhiza and mix (mycorrhiza + rhizobia)); ii) subplots constituted the evaluation periods. The physiological variables photosynthesis, stomatal conductance, internal CO<sub>2</sub> concentration, transpiration and ratio between internal and external CO<sub>2</sub> concentration (C<sub>i</sub> / C<sub>a</sub>) in four periods and the SPAD index (Soil Plant Analysis Development) in seven periods were evaluated. In addition, the morphological variables plant height and stem diameter were evaluated in eight seasons throughout the development of the plants. At the end of the experiment, the root dry matter (MMSR) and aerial part (MMSPA) mass, leaf area (AF), nodule dry matter number and mass, colonization and spore abundance were analyzed, in addition to manganese levels (Mn), phosphorus (P), soil pH and total accumulation of macro and micronutrients (N, P, K, Ca, Mg, Mn, Cu, Zn and Fe) in the aerial part of the plants. The double inoculation (Rhizobia + Mycorrhizae) promoted physiological changes in plants, stimulated the growth and incorporation of biomass, which can be explained by the greater supply of nutrients by the associations, in addition to strategies of these microorganisms to decrease phytotoxicity favoring tolerance and quality of seedlings. The double inoculation (mycorrhiza + rhizobia) favors tolerance and the establishment of thrush (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) In soils in areas degraded by manganese mining.

**Keywords:** Phytoremediation. Rehabilitation. Soil microbiology.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa de localização das áreas de coleta de solo e de realização do experimento .....	31
Figura 2 – Climograma do município de Fortaleza para o primeiro semestre de 2019 ....	32
Figura 3 – Concentração de manganês (Mn) e fósforo (P) em mg kg <sup>-1</sup> em plantas de sabiá ( <i>M. caesalpiniaefolia</i> Benth.) cultivadas sob os diferentes tratamentos. Mn na parte aérea (A) e raízes (B), P na parte aérea (C) e raízes (D) .....	42
Figura 4 – Aspecto final das plantas de sabiá ( <i>M. caesalpinifolia</i> Benth.) sob os diferentes tratamentos .....	45
Figura 5 – Altura de planta (A) e Diâmetro de caule (B) de plantas de sabiá ( <i>M. caesalpiniaefolia</i> Benth.) em função de diferentes tratamentos com inoculação microbiana em solo proveniente da mineração de Manganês .....	46
Figura 6 – Índice SPAD em plantas de sabiá ( <i>M. caesalpinifolia</i> Benth.) cultivadas sob diferentes tratamentos em solo proveniente da mineração de Manganês .....	48
Figura 7 – Massa seca de nódulos em raízes de plantas de sabiá ( <i>M. caesalpiniaefolia</i> Benth.) cultivada sob diferentes tratamentos .....	49
Figura 8 – Densidade de esporos e percentual de colonização de raízes em plantas de sabiá ( <i>M. caesalpinifolia</i> Benth.) em solos da mineração de manganês .....	51
Figura 9 – Colonização micorrízica nas raízes de plantas de sabiá ( <i>M. caesalpinifolia</i> Benth.) .....	52
Figura 10 – Fotossíntese líquida (A), condutância estomática (B) condutância interna (C) taxa de transpiração (D) e relação Ci/Ca (E) em plantas de sabiá em função da interação entre tratamentos com inoculação de dias após a emergência ....	54

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização química e física de um solo (0-20 cm) sob área degradada pela mineração .....	32
Tabela 2 – Teor de Manganês, Fósforo e pH do solo, após o cultivo de sabiá ( <i>M. caesalpiniaefolia</i> Benth.) quando submetida aos diferentes tratamentos .....	39
Tabela 3 – Acúmulo de nutrientes na parte aérea (PA) de plantas de sabiá ( <i>M. caesalpiniaefolia</i> Benth.) quando submetidas a diferentes tratamentos .....	40
Tabela 4 – Área foliar, Índice de Qualidade de Dickson (IQD), Peso da Matéria Seca de Raízes (PMSR) e Peso da Matéria Seca da Parte Aérea (PMSPA) em plantas de sabiá ( <i>M. caesalpiniaefolia</i> Benth.) quando submetidas a diferentes tratamentos .....	44
Tabela 5 – Altura de planta (Alt. Planta); Diâmetro de caule (Diam. Caule) e Índice SPAD de Plantas de sabiá ( <i>M. caesalpiniaefolia</i> Benth.) quando submetidas a diferentes tratamentos .....	45
Tabela 6 – Síntese da análise de variância para fotossíntese líquida (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), concentração interna de CO <sub>2</sub> (Ci) e relação concentração interna/externa de CO <sub>2</sub> (Ci/Ca) em plantas de sabiá em função dos tratamentos e dias após a emergência .....	53

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CM	Colonização Micorrízica
DCS	Departamento de Ciência do Solo
FMA	Fungos Micorrízicos Arbusculares
H	Altura da parte aérea
IQD	Índice de Qualidade de Dickson
Mn	Manganês
MMSPA	Massa da Matéria Seca da Parte Aérea
MMSR	Massa da Matéria Seca da Raiz
P	Fósforo

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2</b>	<b>HIPÓTESE</b> .....	16
<b>3</b>	<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	17
<b>3.1</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	17
<b>4</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	18
<b>4.1</b>	<b>Manganês no solo</b> .....	18
<b>4.2</b>	<b>Manganês na planta</b> .....	19
<b>4.3</b>	<b>Fungos micorrízicos arbusculares</b> .....	21
<b>4.4</b>	<b>Rizóbios</b> .....	23
<b>4.5</b>	<b>Reabilitação de áreas degradadas pela mineração</b> .....	24
<b>4.6</b>	<b>Sabiá (<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i> Benth.)</b> .....	25
<b>4.7</b>	<b>Fitorremediação</b> .....	26
<b>4.8</b>	<b>Aspectos morfofisiológicos de plantas sob estresse provocado por metais</b> .....	28
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	30
<b>5.1</b>	<b>Caracterização das áreas de coleta do solo e de realização do experimento</b> .....	30
<b>5.2</b>	<b>Caracterização do Solo</b> .....	31
<b>5.3</b>	<b>Origem dos inóculos microbianos</b> .....	32
<b>5.4</b>	<b>Espécie vegetal e origem das sementes</b> .....	32
<b>5.5</b>	<b>Instalação e condução do experimento</b> .....	32
<b>5.6</b>	<b>Delineamento experimental</b> .....	34
<b>5.7</b>	<b>Variáveis avaliadas</b> .....	34
<b>5.7.1</b>	<i>Variáveis fisiológicas</i> .....	34
<b>5.7.2</b>	<i>Variáveis morfológicas</i> .....	35
<b>5.7.3</b>	<i>Variáveis microbiológicas</i> .....	36
<b>5.7.4</b>	<i>Variáveis químicas</i> .....	37
<b>5.8</b>	<b>Análises estatísticas</b> .....	37
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	38
<b>6.1</b>	<b>Teores de manganês (Mn), fósforo (P) e pH no solo</b> .....	38
<b>6.2</b>	<b>Acúmulo de nutrientes na parte aérea das plantas de Sabiá</b> .....	39
<b>6.3</b>	<b>Concentração de manganês (Mn) e fósforo (P) na parte aérea e raízes</b> .....	40
<b>6.4</b>	<b>Variáveis morfológicas das plantas de Sabiá</b> .....	42
<b>6.5</b>	<b>Índice relativo de clorofila (SPAD) nas plantas de Sabiá</b> .....	47

<b>6.6</b>	<b>Massa da matéria seca de nódulos nas raízes das plantas de Sabiá.....</b>	<b>48</b>
<b>6.7</b>	<b>Densidade de esporos e colonização micorrízica nas raízes de Sabiá.....</b>	<b>50</b>
<b>6.8</b>	<b>Trocas gasosas de Sabiá em solo de mineração de Mn .....</b>	<b>52</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>58</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>59</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A reabilitação de solos contaminados por metais pesados tem sido um tema bastante discutido pela comunidade científica, tendo em vista que estes elementos não são degradados e, uma vez na cadeia trófica, não podem ser retirados, comprometendo todo o ecossistema.

As principais fontes de emissão de metais no ambiente são as indústrias metalúrgicas, os resíduos urbanos, a mineração e a agricultura. No tocante a degradação e contaminação dos solos, a atividade mineradora é que se destaca, isso devido as dimensões das áreas escavadas para extração do minério, retirada da vegetação e as quantidades de rejeitos gerados, os quais são normalmente armazenados em grandes pilhas dentro da área de mineração.

O Brasil apresenta um grande número de áreas exploradas pela mineração, sendo atualmente um dos maiores exportadores do minério de manganês e tem uma representação significativa no mercado mundial, visto que este é bastante utilizado pela indústria metalúrgica na fabricação de ligas metálicas para produção do ferro, baterias, fertilizantes, defensivos agrícolas, entre outros produtos. Com isso, a grande necessidade pelo minério de manganês faz com que o número de áreas de exploração aumente.

O manganês, embora seja um elemento essencial para o funcionamento de todas as células vivas, em níveis elevados causa sérios danos tanto a vida humana quanto vegetal. Nos seres humanos causa problemas neurológicos, motores, má formação do feto e infertilidade. Nas plantas, promove uma série de disfunções fisiológicas que comprometem seu desenvolvimento e produção. Várias são as preocupações em torno desse elemento que, por ser considerado um elemento essencial, tem seu potencial de toxidez muitas vezes desconsiderado nos estudos de contaminação e reabilitação de solos contaminados.

Diante disso, novas propostas biotecnológicas têm surgido para auxiliar a reabilitação de áreas degradadas pela mineração, como por exemplo, a fitorremediação, que consiste na utilização de plantas que possuem a capacidade de crescer e incorporar ou mesmo absorver grandes quantidades de metais em seus tecidos. As estratégias que potencializam a capacidade das plantas a se adaptarem a essas condições têm despertado grande interesse, tanto do ponto de vista ambiental como comercial. Diante disso, as simbioses radiculares com os fungos micorrízicos arbusculares e as bactérias fixadoras do nitrogênio têm recebido destaque especial.

A inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em plantas tem apresentado bons resultados na reabilitação de áreas degradadas pela mineração, isso devido a sua capacidade de maximizar a absorção de nutrientes, especialmente dos nutrientes menos móveis e aumentar a tolerância das plantas aos metais pesados, contribuindo para o estabelecimento e sucessão vegetal nessas áreas. Os rizóbios também têm chamado atenção nas últimas décadas, uma vez que, a maioria das pesquisas são realizadas visando apenas a fixação biológica do nitrogênio (FBN). Contudo, essa perspectiva vem sendo alterada já que as bactérias dos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* são frequentemente identificadas em locais contaminados com metais tóxicos, o que aponta o seu potencial biotecnológico.

Apesar de inúmeros estudos evidenciarem os benefícios dessas associações, pouco ainda se sabe sobre a interação leguminosas - rizóbios - micorrizas para a reabilitação de áreas degradadas pela mineração e, como esses micro-organismos contribuem para o aumento da tolerância das plantas.

Se faz necessário também compreender a fisiologia das plantas associadas a rizóbios e micorrizas, o que permitirá esclarecer quais alterações esses micro-organismos podem promover sobre a fisiologia vegetal quando associados a planta e como podem auxiliar numa maior tolerância aos contaminantes.

## **2 HIPÓTESE**

As associações simbióticas de fungos micorrízicos arbusculares e rizóbios com sabiá (*Mimosa Caesalpiniaefolia* Benth.) potencializam alterações morfofisiológicas nas plantas, aumentando sua tolerância às altas concentrações de manganês.

### 3 OBJETIVO GERAL

Avaliar as alterações fisiológicas, morfológicas e nutricionais relacionadas com a tolerância ou sensibilidade de sabiá (*Mimosa Caesalpiniaefolia* Benth.) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e rizóbios em solo da mineração de manganês.

#### 3.1 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar as alterações fisiológicas (fotossíntese, condutância estomática, concentração interna de CO<sub>2</sub>, transpiração e relação Ci/Ca) com o intuito de verificar possíveis alterações potencializadas pela interação simbiótica entre os micro-organismos simbiontes e plantas de sabiá.
- ✓ Avaliar o efeito das inoculações sobre o crescimento das plantas (altura de planta, diâmetro do caule, área foliar, matéria seca da parte aérea e raízes).
- ✓ Avaliar a qualidade de mudas - Índice de qualidade de Dickson (IQD).
- ✓ Caracterização das simbioses (colonização micorrízica, abundância de esporos na rizosfera e nodulação).
- ✓ Avaliar a absorção dos nutrientes pelas plantas.

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Manganês no solo

O manganês foi descoberto em 1774 pelo químico sueco Carl Wilhelm Scheele e isolado no mesmo ano por seu colaborador, Johan Gottlieb Gahn, sendo o décimo segundo elemento mais frequente na crosta terrestre, pertencente ao grupo de metais de transição (SANTANA, 2009). É o terceiro elemento de transição mais abundante após o ferro e o titânio e está presente em diversas formas na natureza, inclusive resultante de processos naturais e antrópicos diversos.

Na natureza, embora esteja amplamente disperso nas rochas, esse elemento não é encontrado em sua forma elementar. Por meio de ação do intemperismo, os compostos de manganês são oxidados e reprecipitados formando minerais secundários que estão presentes em centena de minerais, sempre ligado a outros elementos na forma de óxidos, carbonatos, sulfetos, fosfatos, silicatos e boratos (SILVA *et al.*, 2016).

Segundo Almeida (2010), os principais minerais que contem manganês são a pirolusita, ( $\text{MnO}_2$ ) com 61,9%, manganita ( $\text{MnO}(\text{OH})$ ) com 62,5%, hausmanita ( $\text{MnO} \cdot \text{Mn}_2\text{O}_3$ ) com 72%, braunita ( $3\text{Mn}_2\text{O}_3 \cdot \text{MnSiO}_3$ ) com 66,6%, rodocrosita ( $\text{MnCO}_3$ ) com 47,6%, ramsdelita ( $\text{Mn}^{4+}\text{O}_2$ ) com 63,2%, romanechita ( $(\text{BaH}_2\text{O})_2\text{Mn}_5\text{O}_{10}$ ) com 45-60% e tefroita ( $\text{Mn}^{2+}_2\text{SiO}_4$ ) com 54,3%, sendo a pirolusita, romanechita e a magnetita os mais requeridos pela indústria em geral.

Diante dos processos antropogênicos, esse elemento é depositado no ambiente por meio da indústria de fertilizantes, na petroquímica, nos processos de eletro-chapamento, no processamento de metais, nos curtumes e na mineração (HASHIM *et al.*, 2017). Cerca de 1500 t de Mn são liberadas no ambiente a cada ano, muitos dos quais podem entrar no solo na forma de Mn solúvel, podendo acarretar diversos danos (LIANG *et al.*, 2011). Vários autores (PATIL *et al.*, 2016; LIU *et al.*, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2018) relataram a preocupação com a liberação do manganês no ambiente por meio das práticas antrópicas (mineração, indústria metalúrgica, fabricação de baterias, entre outras) já que o mesmo acumula-se no ambiente e em altas concentrações podem causar uma série de danos aos organismos vivos. No entanto, é válido ressaltar que a mineração é a segunda maior atividade que contribui para a contaminação dos solos com manganês, ficando atrás apenas dos resíduos urbanos.

A biogeoquímica do manganês é complexa, ocorrendo diferentes estados redox no ambiente, incluindo formas bastante estáveis como o  $\text{Mn}^{2+}$  (reduzida) e o  $\text{Mn}^{4+}$  (oxidada), bem

como a forma intermediária instável como  $Mn^{3+}$  (BRADY; WEIL, 2013). A predominância de cada forma ou o equilíbrio entre elas são governados química e biologicamente. Segundo Ghiorse (1984), a oxidação do Mn é essencialmente biológica, enquanto a redução pode ser tanto química como biológica. Os micro-organismos atuam na oxidação transformando a forma divalente para a trivalente que, em seguida, é reduzida a  $Mn^{2+}$ . O manganês bivalente (Mn II) é a forma mais solúvel de Mn no solo, enquanto Mn III e Mn IV são os menos solúveis (GUEST *et al.*, 2002).

Duas condições são predispostas a ter solo com altas concentrações de Mn, incluindo aqueles próximos a minas de Mn ou tanques de rejeitos. A disponibilidade e mobilidade do manganês no solo são influenciadas por diversos fatores como pH da solução do solo, matéria orgânica, potencial redox entre outros. O conteúdo total de Mn é variável, sendo que os teores desse elemento nos solos brasileiros variam na faixa entre 10 a 4000  $mg\ kg^{-1}$ , enquanto seu teor solúvel varia entre 0,1 a 100  $mg\ kg^{-1}$  (MALAVOLTA, 1980). No entanto, ao contrário de outros elementos, não existe uma faixa de valores que corresponda a uma condição de contaminação por manganês no solo, o que dificulta os estudos que visam a reabilitação de áreas contaminadas com o elemento, comprometendo a compreensão da atividade dos organismos frente a presença desse contaminante.

Em relação ao estabelecimento de níveis de manganês no solo, em que o mesmo pode ser considerado contaminado ou não, Rufino (2006) e Garcia (2015) relatam que a classificação pode ser feita levando-se em consideração o impacto da sua presença nas águas subterrâneas ou superficiais, nos tecidos vegetais ou mesmo em comparação com solos semelhantes próximos.

## **4.2 Manganês na planta**

O Manganês é um oligoelemento que desempenha um papel essencial nos processos fisiológicos, bioquímicos e moleculares nas plantas. Atua na ativação de diferentes enzimas, síntese de clorofila, fotossíntese e biossíntese de lignina (FREI, 2013; SCHMIDT *et al.*, 2016). Embora seja essencial para o funcionamento dos organismos, o excesso de Mn pode causar toxidez.

O excesso de Mn pode ocorrer em solos ácidos ou em solos com potencial redox muito baixo, condições que aumentam a concentração de manganês trocável ( $Mn^{2+}$ ) na solução do solo, tornando-o potencialmente fitotóxico (MORA *et al.*, 2002). A absorção de Mn pela planta ocorre predominantemente na forma  $Mn^{2+}$ , por meio de difusão e interceptação, exceto

em solos muito ricos no elemento em que o fluxo de massa tem participação maior (MALAVOLTA, 2006). Os efeitos danosos do excesso desse elemento resultam do rápido transporte do Mn disponível no solo para as células das raízes e em seguida para a parte aérea da planta.

A toxidez do manganês, após a provocada por alumínio, é o fator que mais limita o desenvolvimento das plantas. Apesar disso, os sintomas visuais associados a toxidez de Mn têm sido amplamente relatados na literatura em espécies vegetais de interesse agrônômico. No entanto, carece ainda de mais estudos em relação às espécies arbóreas que são utilizadas em programas de reabilitação de áreas contaminadas por manganês.

Os sintomas mais frequentes observados nas plantas estão relacionados a distorção da lâmina foliar, necrose com inclusões de cor roxa escura nas folhas e no caule, crescimento retardado da planta e queima das pontas das folhas (KOHNO; FOY, 1983; SANTOS *et al.*, 2017). Em casos mais severos de toxidez as raízes apresentam coloração marrom devido às altas concentrações desse elemento, possivelmente devido à grande deposição do Mn oxidado. Tal fato foi relatado por Alam *et al.* (2001), que verificaram que em plantas de cevada cultivadas em solução nutritiva com excesso de Mn as raízes apresentavam coloração escura (marrom), atribuindo-se esse escurecimento a uma possível deposição de óxido de Mn e de compostos fenólicos.

Efeitos sobre a diminuição da taxa de fotossíntese pela toxidez de Mn foram relatados por Weng *et al.* (2013) e Rojas-Lillo *et al.* (2014), no entanto, a compreensão sobre esse tema ainda não está bem elucidada. Estudos indicam que durante o estresse por metais pesados, os elétrons energizados são alocados para o oxigênio (FISCHER *et al.*, 2015). Além disso, uma menor disponibilidade de oxigênio reduz a eficiência da cadeia de transporte de elétrons e menos NADP<sup>+</sup> é reduzido, o que diminui a taxa de fixação de CO<sub>2</sub> (GURURANI *et al.*, 2015).

Os sintomas da toxidez do manganês são decorrentes da degradação de lipídios, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos, prejudicando o metabolismo celular e causando morte celular em alguns casos (FERNANDO *et al.*, 2013). Além disso, pode limitar ou impedir a absorção e a translocação de outros nutrientes essenciais como cálcio (Ca<sup>2+</sup>), magnésio (Mg<sup>2+</sup>), e (K<sup>+</sup>) potássio (HUANG *et al.*, 2016).

A faixa ótima das concentrações foliares de Mn na maioria das espécies de culturas é bastante ampla, variando de 30 mg kg<sup>-1</sup> a 500 mg kg<sup>-1</sup> (MILLALEO *et al.*, 2010) provocando, abaixo desses valores, deficiência e, acima, toxidez (DECHEN; NACHTIGALL, 2006). Esses níveis de tolerância variam de acordo com as espécies e variedades vegetais.

Em plantas não tolerantes, quando as concentrações de Mn excedem os níveis adequados, as taxas de crescimento da parte aérea e das raízes são inibidas em resposta ao excesso do Mn (MILLALEO *et al.*, 2010; ZHAO *et al.*, 2017), enquanto que em espécies tolerantes a toxidez do Mn reduz o transporte para os tecidos da parte aérea, fenômeno que tem sido reconhecido como uma estratégia da própria planta para aumentar sua tolerância (MOU *et al.*, 2011).

Lavres Junior *et al.* (2008) trabalhando com três genótipos de soja (Santa Rosa, IAC-15 e IAC-Foscarin 3) cultivados em solução nutritiva com cinco doses de Mn (2, 100, 150, 200 e 250  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) verificaram que o genótipo IAC-Foscarin 31 apresentou maior tolerância ao excesso de Mn na solução, o que poderia ser justificado pela formação de um sistema radicular bem desenvolvido que promovia um acúmulo e a compartimentalização do Mn no apoplasto das raízes.

### 4.3 Fungos micorrízicos arbusculares

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) estão entre os organismos pioneiros a realizar interações com as raízes de vegetais superiores, conforme registros fósseis que datam de cerca de 400 milhões de anos e são considerados peça fundamental para que as espécies vegetais conseguissem conquistar o ambiente terrestre (PIROZYNSKI, 1981; MOHAN *et al.*, 2014; GAI *et al.*, 2015).

Esses micro-organismos pertencem ao filo Glomeromycota e classe Glomeromycetes, e são distribuídos em 4 ordens (Archaeosporales, Diversisporales, Glomerales e Paraglomerales), 11 famílias e 25 gêneros (REDECKER *et al.*, 2013), totalizando 288 espécies descritas até o momento (ÖPIK; DAVISON, 2016). Atuam na manutenção dos ecossistemas florestais e agrícola, auxiliando no desenvolvimento e estabelecimento das plantas, colonizando as raízes de mais de 90% das espécies vegetais prospectadas, sendo considerada uma das associações mutualísticas mais comuns entre raízes de plantas.

O estabelecimento dessa simbiose se inicia por meio de sinais moleculares que são emitidos pelas plantas por exsudação radicular, iniciando assim a comunicação dos parceiros envolvidos e, dessa maneira, a planta e o fungo se reconheçam e sinalizem a necessidade de estabelecer associação. Entre os compostos exsudados pelas plantas, os isoflavonóides são exemplos de sinalizadores e promotores da atividade associativa dos FMA, com destaque para a formononetina (SIQUEIRA *et al.*, 1991).

Os FMA proporcionam vários benefícios aos seus hospedeiros, ampliam a área de absorção radicular da planta, conseqüentemente, maximizando a absorção de nutrientes, especialmente aqueles elementos de baixa mobilidade no solo, melhorando a relação água - planta, aumentando a tolerância das plantas à seca e a patógenos (DONG et al., 2008; PEREIRA *et al.*, 2010) além de contribuírem para a redução da disponibilidade pela imobilização de metais pesados para as plantas.

Deve ser destacado que existem inúmeras evidências de que o mutualismo com FMA contribui para o aumento da tolerância das plantas aos metais pesados do solo (RIVERA-BECERRIL *et al.*, 2002) e que as plantas colonizadas por FMA tendem a ser pioneiras em locais contaminados. No entanto, o entendimento sobre essa interação e os mecanismos utilizados pelos FMA na atenuação de metais pesados ainda não estão totalmente elucidados.

Estudos têm demonstrado que as estruturas micorrízicas podem estabilizar os metais no solo, reduzir a absorção e minimizar o risco de toxidez para as plantas (GONZÁLEZ-CHÁVEZ *et al.*, 2004). Garcia (2019) trabalhando com microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS) verificou acúmulo de manganês na superfície dos esporos de FMA. É também evidente que os arbúsculos, vesículas e vacúolos fúngicos parecem estar envolvidos no armazenamento de íons tóxicos (KALDORF *et al.*, 1999), acumulando os elementos indesejáveis nessas estruturas e evitando sua translocação para a planta. A produção da glicoproteína excretada por esses fungos, denominada de glomalina (ou proteína assemelhada a glomalina) também promove fortes ligações com metais pesados, como Cu, Cd, Pb e Zn no solo, ou mesmo passivamente adsorvê-los junto as paredes celulares do micélio extrarradicular (GONZALEZ-CHAVE *et al.*, 2004; VODNIK *et al.*, 2008; CORNEJO *et al.*, 2017).

Na literatura especializada, vários pesquisadores têm chamado atenção para a importância da utilização de espécies nativas de FMA para restabelecimento da vegetação em áreas contaminadas com metais. Soares (2010) e Garcia *et al.* (2016) afirmam que para garantir o êxito na reabilitação de solos contaminados por metais, utilizando plantas inoculadas com FMA, deve-se utilizar isolados fúngicos bem adaptados às condições excessivas do contaminante, à planta hospedeira e às condições edafoclimáticas.

Pesquisas futuras devem se concentrar no esclarecimento dos mecanismos moleculares por meio dos quais os FMA melhoram a tolerância das plantas ao estresse gerado por metais pesados no solo, tendo em vista o grande número desses elementos que estão sendo indevidamente liberados no ambiente.

#### 4.4 Rizóbios

Rizóbios são bactérias gram-negativas de vida livre comumente presentes no solo. Esses micro-organismos pertencem à família Rhizobiaceae, usualmente referenciadas em dois grupos de acordo com o crescimento rápido (típico no gênero *Rhizobium*, comum em regiões temperadas) ou o crescimento lento (típico no gênero *Bradyrhizobium*, comum nas regiões tropicais). Entretanto, nos solos do semiárido brasileiro é muito comum a ocorrência de estirpes que apresentam crescimento rápido, uma vez que as condições edafoclimáticas preponderantes selecionam estirpes adaptadas principalmente à sobrevivência em detrimento da capacidade fixadora. Atualmente são conhecidos 12 gêneros e 62 espécies, sendo os gêneros mais conhecidos *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium* e *Allorhizobium* (FIGUEIREDO *et al.*, 2008; RUMJANEK *et al.*, 2006), capazes de converter o nitrogênio atmosférico em formas utilizáveis pela planta hospedeira.

O nitrogênio de origem biológica pode ser melhor aproveitado pelas plantas já que se encontra prontamente disponível e, portanto, menos susceptível a perdas por lixiviação, volatilização ou desnitrificação (CARDOSO, 2012).

Essas bactérias vão além da fixação biológica do nitrogênio, auxiliando no crescimento das plantas através da síntese de fitohormônios e enzimas que contribuem para a solubilidade de fosfato inorgânico e a mineralização de fosfato orgânico, aumentando sua disponibilidade para as plantas (VESSEY, 2003; HARA; OLIVEIRA, 2004).

Durante a fixação biológica do nitrogênio é liberado  $H^+$  (hidrogênio) subproduto da fixação simbiótica e que recentemente revelou-se com qualidades bioativas que aumentam a tolerância da planta a fatores abióticos como estresse oxidativo e toxidez por metais pesados (CUI *et al.*, 2013; JIN *et al.*, 2013). Os rizóbios possuem a capacidade bioquímica e ecológica de degradar poluentes orgânicos e são resistentes a metais pesados, além de estimularem a sobrevivência e a ação de outras bactérias biodegradantes, diminuindo assim a concentração de poluentes (TENG *et al.*, 2015).

Chen *et al.* (2018), estudando o efeito da inoculação de rizóbio na tolerância ao cobre de mudas de *Medicago sativa*, verificaram que plantas inoculadas apresentaram redução no estresse oxidativo em função do aumento da atividade de enzimas antioxidantes contribuindo, assim, para uma maior tolerância das plantas ao excesso desse metal.

Esses micro-organismos, de uma maneira geral, são capazes de desenvolver estratégias para sobreviverem em ambientes contaminados, podendo atuar diretamente sobre os metais por quelação, precipitação, transformação, biossorção e acumulação, apresentando um

grande potencial biotecnológico em programas de revegetação de áreas contaminadas. Gupta *et al.* (2016) trabalhando com isolados de bactérias resistentes a metais pesados em solos em torno das áreas de mineração de ferro, constataram que a espécie *Rhizobium halophytocola* pode ser considerada metalófila, já que desenvolveu vários mecanismos de resistência pela exposição constante a ambientes contendo metais pesados, especialmente manganês. Esta propriedade de resistência múltipla a metais pesados desses isolados pode ser benéfica para trabalhos de desintoxicação e remoção de metais pesados do solo no processo de revegetação.

Abreu *et al.* (2018), estudando tolerância e eficiência de rizóbios nativos de uma área de mineração de manganês verificaram que essas bactérias foram capazes de induzir a formação de nódulos radiculares, fixar nitrogênio e aumentar a tolerância das plantas ao excesso de manganês, além de uma alta capacidade de competição com as demais estirpes nativas. Diante disso, as estirpes nativas isoladas de ambientes altamente perturbados, representam uma enorme fonte de estudos para um potencial emprego biotecnológico em áreas contaminadas sob revegetação.

A associação entre rizóbios e leguminosas tem grande potencial para ações de biorremediação de áreas contaminadas com metais e surge como uma opção promissora, uma vez que, a maioria das leguminosas acumulam metais pesados principalmente em suas raízes, translocando níveis muito baixos para os brotos (KONG *et al.*, 2015, PAJUELO *et al.*, 2011; CHEN *et al.*, 2018). Essa estratégia se torna muito importante na prevenção da lixiviação e transferência de metais tóxicos para a cadeia alimentar.

#### **4.5 Reabilitação de áreas degradadas pela mineração**

Diferente de muitas outras atividades empresariais, a mineração é, por natureza, uma atividade temporária, gerando receitas durante um período finito e às vezes relativamente curto, mas com um grande potencial de impactar o ambiente, causando sérios problemas como a contaminação das águas, dos solos, alterações na estrutura do solo, favorecendo a erosão e perda da biodiversidade, o que torna a recuperação dessas áreas uma questão prioritária para conservação do ambiente.

A recuperação, no sentido mais amplo, de áreas degradadas visa recuperar as condições originais do habitat ou ecossistema modificado, retornando essas condições o mais próximo possível do seu estado de referência histórica (BALAGUER *et al.*, 2014). Além disso, a recuperação de uma área degradada pode se dar por intervenções antrópicas que visam destinar um novo uso a mesma.

Já a reabilitação significa o retorno a um estado biológico apropriado aos objetivos de uso da área planejado a longo prazo. (IBAMA, 1990). A reabilitação do solo é complexa e os resultados aparecem de modo lento, especialmente em áreas de mineração a céu aberto, onde ocorre a retirada da cobertura vegetal original, alterando as condições físicas, químicas e microbianas do solo, além de promover a retirada do banco de sementes nativas.

A reabilitação de áreas degradadas pode ser realizada com sucesso a partir da utilização de espécies de leguminosas arbóreas e herbáceas capazes de formar simbiose simultânea e eficiente com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico e com fungos micorrízicos. Além disso, modelos de reabilitação de solos degradados devem se basear em tecnologias que sejam capazes de melhorá-lo por meio do aporte de matéria orgânica com baixa relação carbono/nitrogênio (FRANCO *et al.*, 1992), permitindo o restabelecimento da atividade microbiana do solo e contribuindo para a sucessão vegetal.

#### **4.6 Sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.)**

A *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. é uma espécie de leguminosa arbórea pertencente à família Leguminosae e subfamília Mimosoideae e é uma das principais espécies lenhosas que compõem a vegetação da caatinga, sendo conhecida por diversos nomes no território nacional, entre eles sabiá, sansão-do-campo, unha-de-gato, cebiá e angiquinho-sabiá (MAIA, 2012; LEAL *et al.*, 2008). É cultivada com diversas finalidades e, por isso, é conhecida também como uma árvore de múltiplo uso (MENDES, 2013).

As plantas de sabiá geralmente em condições naturais estão associadas simultaneamente a fungos micorrízicos arbusculares e bactérias fixadoras de nitrogênio (ALMEIDA *et al.*, 1986), favorecendo a nutrição da planta, absorção de água e tolerância a estresses abióticos. Além disso, das plantas com características ecológicas de formar uma simbiose tripartite (leguminosa - fungo micorrízico - rizóbio) a *M. caesalpiniaefolia* Benth. apresenta-se como uma espécie potencial (SOUSA; SILVA, 1996).

Essa espécie apresenta um grande potencial para reabilitação de áreas degradadas, já que apresenta crescimento rápido, rusticidade, pouca exigência nutricional e adaptação as baixas pluviosidades. Além de apresentar grande potencial para fitorremediação de áreas contaminadas por metais pesados, conforme observado em estudos conduzidos por Garcia *et al.* (2016) e Cipriani *et al.* (2013).

## 4.7 Fitorremediação

Como já mencionado anteriormente, um dos problemas ambientais mais sérios da atualidade é a contaminação dos solos com metais pesados, pois, ao contrário dos poluentes orgânicos, os metais não podem ser degradados biologicamente, o que os tornam persistentes no ambiente.

Nos últimos anos, diferentes técnicas foram desenvolvidas no intuito de remediar os solos contaminados com metais pesados, usando-se estratégias físicas, químicas e biológicas no intuito de reabilitar essas áreas. As estratégias físicas e químicas proporcionaram rápidos resultados na descontaminação do solo, porém, oferecem grandes desvantagens como alterações na estrutura dos solos por meio de escavações, adição de agentes quelantes, lavagem do solo, além do alto custo de implantação dessas técnicas, que podem torna-las inviáveis em muitos casos (GADD, 2014).

Esses métodos usualmente geram subprodutos prejudiciais ao meio que podem causar poluição secundária (GADD, 2014). Diante dessa constatação, a fitorremediação tem se consolidado como uma tecnologia sustentável, acessível e barata que pode ser utilizada em grandes áreas.

As espécies vegetais possuem estratégias bioquímicas para tolerar o excesso de metais e sua presença no solo tende a reduzir a lixiviação, controlar a erosão e adicionar matéria orgânica ao solo, o que pode levar à complexação dos metais pesados presentes.

A fitorremediação baseia-se, portanto, na utilização dessas espécies vegetais, associadas ou não a micro-organismos, na mitigação do solo e água contaminados com compostos orgânicos e inorgânicos, especialmente pela capacidade dessas plantas em degradar, acumular ou estabilizar os contaminantes.

Dependendo das propriedades e natureza química dos contaminantes, a fitorremediação pode ocorrer por fitoextração, fitodegradação, fitoestabilização, fitovolatilização e rizofiltração. Na fitoextração ocorre a absorção de íons metálicos do solo e sua posterior translocação para os tecidos vegetais, os quais, após a retirada das plantas, são removidos do ambiente; na fitodegradação, que é um processo pelo qual o contaminante é absorvido e metabolizado, sofrendo bioconversão no interior das plantas e é empregado principalmente na remediação na presença de compostos orgânicos no solo; fitoestabilização se caracteriza pela imobilização dos íons metálicos nas superfícies das raízes das plantas; na fitovolatilização, após a metabolização dos compostos metálicos nos tecidos vegetais, ocorre a liberação destes na superfície foliar na forma gasosa; na rizofiltração os íons metálicos são

absorvidos e removidos da água contaminada pelas raízes das plantas (THAKUR *et al.*, 2016).

O sucesso da fitorremediação depende da capacidade de se selecionar uma planta adequada, já que as plantas respondem de forma diferenciada aos contaminantes e às suas concentrações, de maneira que para o êxito da fitorremediação as espécies devem apresentar características como ser de reconhecida tolerância aos metais, ter um sistema radicular denso e profundo, apresentar alta produção da biomassa vegetal e capacidade de desenvolver-se em condições adversas (COUTINHO; BARBOSA, 2007). Algumas espécies de leguminosas arbóreas têm se destacado pelo rápido crescimento e formação de extensos sistemas radiculares, além de formarem associações simbióticas eficientes com rizóbios e fungos micorrízicos arbusculares, o que contribui para uma melhor nutrição e tolerância da planta aos metais, favorecendo o seu estabelecimento em áreas contaminadas.

Vários autores têm destacado a eficiência das leguminosas arbóreas para a reabilitação de solos contaminados (ABREU, 2018; NOGUEIRA, 2012; LIMA *et al.*, 2015) destacando que explorar os mecanismos fisiológicos relacionados às respostas de estresse de Mn ou de qualquer outro metal é decisivo para a identificação e emprego de espécies mais adequadas para fitorremediação de solos contaminados.

Garcia *et al.* (2016) trabalhando com a espécie vegetal sabiá (*M. caesalpiniaefolia* Benth.) em solos de áreas de mineração de manganês, verificaram que o acúmulo desse elemento foi maior no seu sistema radicular do que na parte aérea, sugerindo sua potencial utilização para a reabilitação de áreas degradadas pela mineração de manganês, com grande potencial na fitoestabilização de excessos desse metal.

Deve ser ressaltado que as plantas desenvolveram ao longo do seu processo evolutivo mecanismos para tolerar o excesso de metais pesados como a biossíntese de compostos quelantes, tais como os ácidos orgânicos, as fitoquelatinas e as metalotioneínas. Passaram também a promover a retenção de metais nas raízes, evitando a translocação do metal para a parte aérea e a imobilização do metal nas paredes celulares (ALMEIDA *et al.*, 2007). Souza *et al.* (2012) trabalhando com três espécies arbóreas de leguminosas nativas, *M. caesalpiniaefolia*, *Erythrina speciosa* e *Schizolobium parahyba*, na revegetação de áreas contaminadas com chumbo (Pb), verificaram que a espécie *M. caesalpiniaefolia* foi a espécie mais tolerante, não demonstrando sintomas de toxidez, diferente das demais espécies avaliadas.

#### 4.8 Aspectos morfofisiológicos de plantas sob estresse provocado por metais

As plantas apresentam respostas fisiológicas distintas quando são submetidas a contaminantes, podendo ser sensíveis, exibindo sintomas de toxicidade, ou tolerantes, desenvolvendo mecanismos que evitam os efeitos deletérios. A tolerância a um metal pesado específico é controlada por uma complexa inter-relação de mecanismos morfológicos, fisiológicos, bioquímicos e genéticos que ainda não estão elucidados (MALEKI *et al.*, 2017).

A tolerância de uma planta é detectada quando esta é capaz de sobreviver em um ambiente com elevadas concentrações de metais, ou seja, onde outras plantas não conseguiriam devido aos seus efeitos tóxicos. Em condições de estresse por metais pesados, as plantas podem adquirir tolerância devido ao desenvolvimento de mecanismos que as tornam adaptadas a este estresse usando diferentes estratégias para lidar com os metais pesados que entraram em suas células (SOUZA *et al.*, 2011). Entre esses mecanismos de tolerância pode-se destacar a restrição do transporte da raiz para a folha, acúmulo em tricomas, exsudatos que podem complexar os metais pesados, tipo de ligação entre o elemento e o componente da parede celular, produção intracelular de compostos com propriedades quelantes e bombeamento ativo para os vacúolos (SILVA *et al.*, 2014).

Alterações em características fisiológicas e anatômicas têm sido observadas em muitos estudos de fitorremediação, onde o estresse provocado pelos metais pesados influencia significativamente no transporte de água, trocas gasosas, clorofila, absorção de elementos essenciais, entre outros, resultando na inibição dos processos de crescimento da planta.

Na literatura científica, muitos autores relatam as alterações fisiológicas promovidas nas plantas pelo estresse promovido por metais. Sá *et al.* (2011), estudando o efeito do Cádmio sobre as características fisiológicas e anatômicas de mudas de eucalipto, plantadas em concentrações crescentes de Cd em solução nutritiva, perceberam que quanto maior o estresse provocado pelo metal na planta maiores as alterações ecofisiológicas, e também que menores são os teores de clorofila, massa da matéria seca da parte aérea e raiz, taxa de transpiração, resistência estomática, além do menor crescimento das plantas.

Pan *et al.* (2018), trabalhando com respostas morfofisiológicas e mecanismos de tolerância de *Xanthium strumarium* ao estresse de manganês, observaram que a taxa fotossintética líquida, a condutância estomática, a concentração de CO<sub>2</sub> intercelular e a taxa de transpiração diminuem em resposta ao estresse de Mn, como também os teores de proteína e prolina solúveis das folhas aumentaram inicialmente, diminuindo à medida que a concentração de Mn aumentava. A atividade do aparato fotossintético por exemplo é muito afetada pela

interferência do metal na síntese de clorofila, tendo em vista que fotossíntese é sensível às interferências ambientais (KALAJI *et al.*, 2012). No entanto, outros autores (ROMANOWSKA *et al.*, 2006; TUBA *et al.*, 2010) relatam que o fotossistema I (PSI) é mais tolerante ao impacto do metal pesado do que o fotossistema II (PSII), sendo um bom parâmetro para avaliação de plantas que serão utilizadas na fitorremediação.

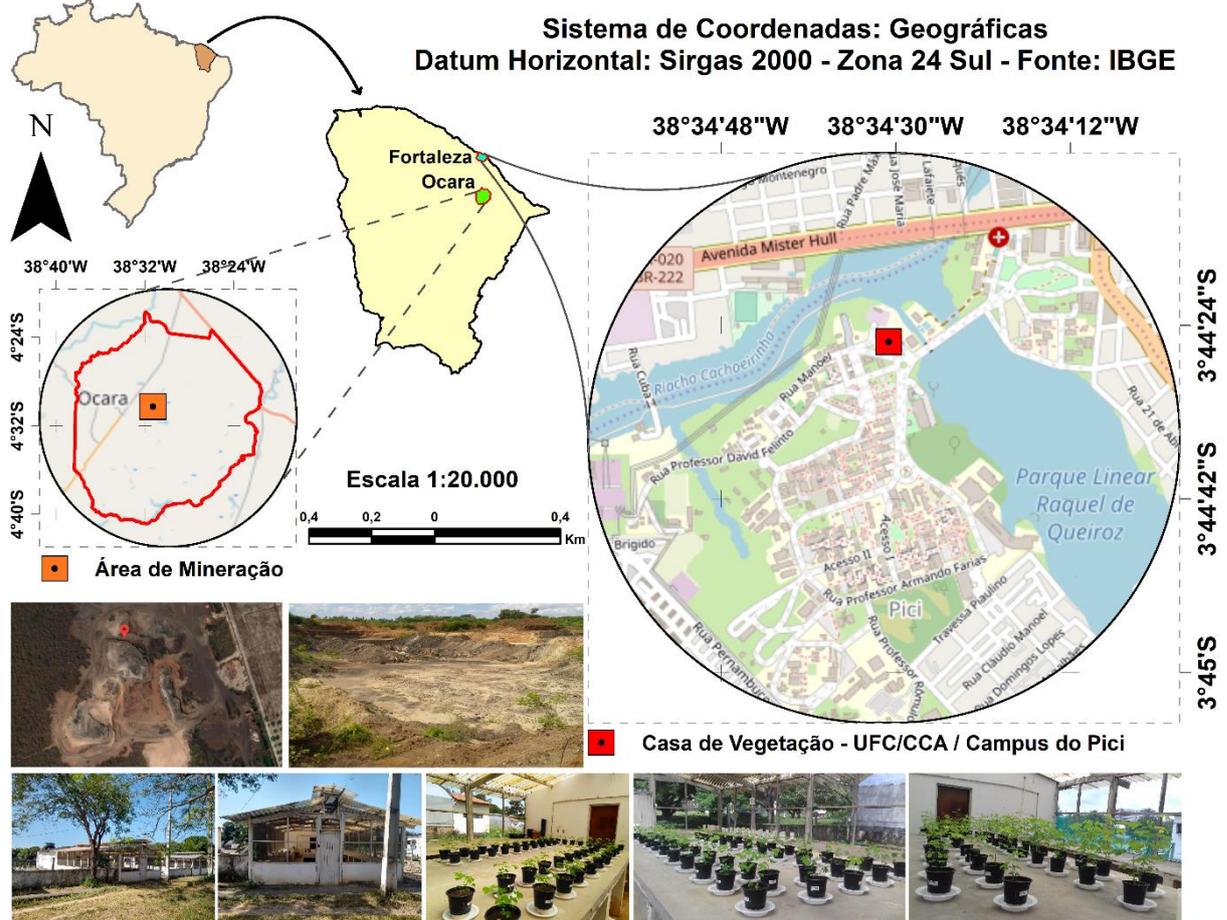
Diante disso, estudos com enfoques fisiológicos na tentativa de compreender o comportamento de plantas utilizadas na fitorremediação, estando essas associadas ou não aos micro-organismos, devem ser mais explorados no intuito de esclarecer-se como estas são capazes de tolerar ou não o estresse e como esses organismos são capazes de contribuir para tolerâncias.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Caracterização das áreas de coleta do solo e de realização do experimento

O solo foi coletado na camada de 0-20 cm em uma área degradada pelo processo de extração mineral de manganês situada no município de Ocara - CE, localizando a 101 km de Fortaleza, sob as coordenadas  $4^{\circ}30'14.05''\text{S}$  e  $38^{\circ}31'17.65''\text{W}$ . A classificação do clima da região é Aw de acordo Köppen e Geiger, com temperatura média de  $26,1^{\circ}\text{C}$  e pluviosidade média anual de 915 mm (Figura 1).

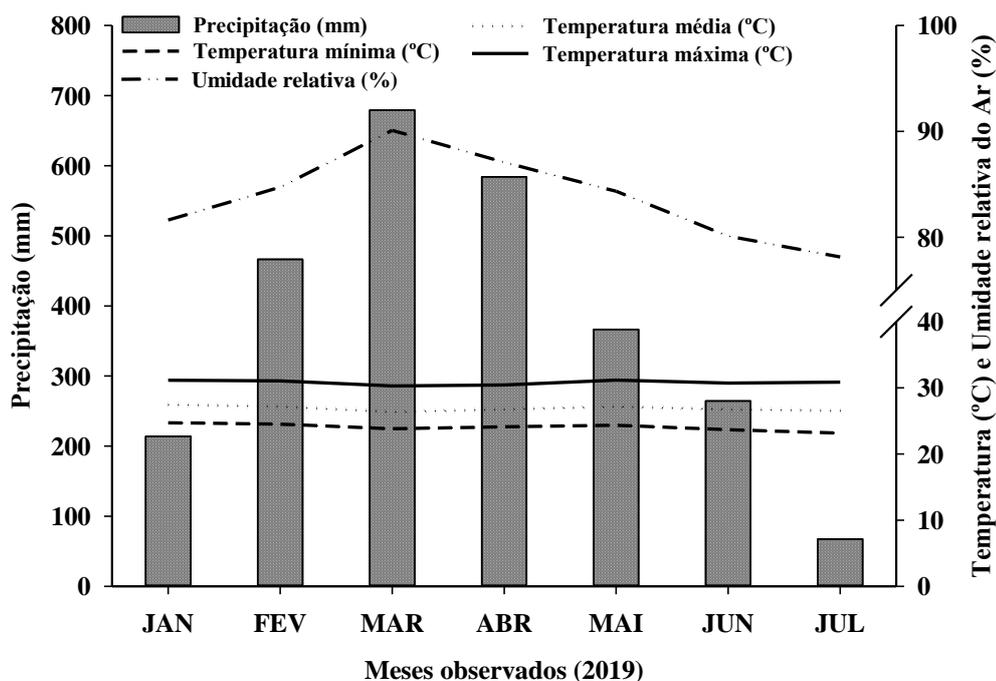
Figura 1 - Mapa de localização das áreas de coleta de solo e de realização do experimento



Fonte: elaborado pelo autor.

A condução do experimento ocorreu durante os meses de fevereiro a maio de 2019. Para melhor compreensão do clima da região, os dados meteorológicos foram organizados na forma de climograma (Figura 2). A temperatura não variou ao longo do período do experimento, porém, os maiores volumes de precipitação e as maiores umidades relativas foram coincidentes e ocorreram nos meses de realização do experimento.

Figura 2 - Climograma do município de Fortaleza para o primeiro semestre de 2019



Fonte: Funceme (2019)

## 5.2 Caracterização do Solo

O solo da área foi classificado como Argissolo (SANTOS *et al.*, 2018). As análises para a caracterização química e física estão descritas no trabalho de Abreu (2018), e foram realizadas conforme os procedimentos metodológicos propostos por Silva (2009) (Tabela 1).

Tabela 1 - Caracterização química e física de um solo (0-20 cm) sob área degradada pela mineração

Prof.	pH	P <sub>total</sub>	P <sub>disponível</sub>	K	Ca	Mg	Al	Al + H	SB	T	V	m
cm	H <sub>2</sub> O	-- mg dm <sup>3</sup> --		----- cmol <sub>c</sub> dm <sup>3</sup> -----				-- cmol <sub>c</sub> dm <sup>3</sup> --		----- % -----		
0-20	5,3	24,6	0,3	0,018	2	1,48	0,1	3,3	3,5	6,8	51,4	2,8
Prof.	N	COT		Mn		Cu		Fe		Zn		
cm	----- g kg <sup>-1</sup> -----			----- mg kg <sup>-1</sup> -----								
0-20	0,66	24,6		421		2,56		5,11		1,67		
Granulometria												
Areia				Silte				Argila				
----- mg kg <sup>-1</sup> -----												
227,6				387,4				385				

Autor: Abreu (2018).

### 5.3 Origem dos inóculos microbianos

As estirpes rizobianas utilizadas no experimento foram isoladas de uma área de mineração de manganês (ABREU, 2018) e multiplicadas no Laboratório de Microbiologia do Solo do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará. Com base no referido trabalho foram selecionadas as cinco estirpes mais promissoras, codificadas como SAI 8, SAI 9, SAI 10, SAI 11, SAI 14.

Os esporos dos fungos micorrízicos arbusculares utilizados no experimento foram adquiridos na EMBRAPA Agrobiologia, Seropédica-RJ. As espécies obtidas foram *Rhizoglyphus clarum*, *Dentiscutata heterogama* e *Acaulospora foveata*. Além dessas espécies, também foi utilizada uma espécie nativa isolada das áreas de mineração de manganês identificada como pertencente ao gênero *Diversispora* sp. e preservada no Laboratório de Microbiologia do Solo do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará.

### 5.4 Espécie vegetal e origem das sementes

A escolha do Sabiá (*M. caesalpiniaefolia* Benth.) para o experimento foi baseada na sua capacidade de formar associações simbióticas tanto com fungos micorrízicos arbusculares como com rizóbios. Além disso, é uma planta nativa da caatinga, adaptada às condições edafoclimáticas da região, apresentando grande potencial para estudos de fitorremediação do solo. As sementes de Sabiá (*M. caesalpiniaefolia* Benth.) foram adquiridas na BIOSEMENTES, empresa especializada na comercialização de sementes, localizada em Ilhéus/BA.

### 5.5 Instalação e condução do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Ciências do Solo (DCS) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará (UFC), Campus do Pici, localizada no município de Fortaleza/CE, sob as coordenadas geográficas 3°45'47"S e 38°31'23"W, com uma altitude média de 47 m em relação ao nível do mar. Segundo a classificação de Köppen o clima da região é caracterizado como sendo do tipo Aw (Tropical quente), com temperatura média anual de 27°C e precipitação de 1600 mm (Figura 1).

O solo utilizado para o experimento foi esterilizado em autoclave por 2 ciclos de 60 minutos em temperatura de 121 °C e 1 atm de pressão. Os vasos foram preenchidos com 1 kg de solo.

Antes da semeadura as sementes passaram por uma solução de álcool etílico 70% por 30 segundos para quebra da tensão superficial e, em seguida, por uma solução de hipoclorito de sódio a 1% por 10 minutos, para a desinfecção superficial. Após esses tratamentos foram realizadas 5 lavagens com água destilada esterilizada para retirar o excesso do hipoclorito (HUNGRIA; ARAÚJO, 1994).

Em seguida, foi procedida a inoculação das estirpes de rizóbio às sementes dos tratamentos inoculados por meio do carreamento das células rizobianas multiplicadas no caldo bacteriano ( $10^9$  células viáveis por mL de caldo) em turfa neutralizada e esterilizada, utilizando-se uma solução de sacarose 10% para promoção da adesão do inoculante ao tegumento das sementes. Os tratamentos com inoculação micorrízica foram feitos com solo inóculo (solo contendo esporos e fragmentos de raízes colonizadas) no momento da semeadura, colocando-se 20 g de solo inóculo contendo cerca de 150 esporos de FMA, logo abaixo da linha de plantio. Foram semeadas inicialmente 5 sementes por vaso e, 10 dias após a emergência, foi realizado um desbaste deixando-se as duas plântulas mais vigorosas por vaso. Em seguida, as plântulas dos tratamentos inoculados com rizóbio receberam uma inoculação de reforço com 2,0 mL do caldo rizobiano contendo  $10^9$  células viáveis por mL de caldo por planta.

Foi realizada uma adubação de base, antes da semeadura, comum a todos os tratamentos, consistindo na aplicação de  $50 \text{ mg dm}^{-3}$  de N, P e K, também, na mesma ocasião, foi aplicada uma solução de micronutrientes nas seguintes doses: B =  $0,81 \text{ mg dm}^{-3}$  ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ), Cu =  $1,33 \text{ mg dm}^{-3}$  ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), Mo =  $0,15 \text{ mg dm}^{-3}$  [ $(\text{NH}_4)_6 \cdot \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ], Fe =  $3,66 \text{ mg dm}^{-3}$  e Zn =  $4,0 \text{ mg dm}^{-3}$  ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), de acordo com Gonçalves et al. (2013).

No tratamento com adubação de (N e P), além da adubação de base, aos 30 dias foram aplicados  $150 \text{ mg dm}^{-3}$  de N, em duas aplicações, e  $250 \text{ mg dm}^{-3}$  de P, totalizando uma aplicação de  $200 \text{ mg dm}^{-3}$  de N e  $300 \text{ mg dm}^{-3}$  de P.

Os adubos fontes de nutrientes utilizados foram Ureia (N), Superfosfato Simples (P) e Cloreto de Potássio (K). A adubação com Ca e Mg não foi realizada, uma vez que, esses já correspondiam a 29,4 e 21,7 % da CTC, respectivamente. Entretanto, uma certa quantidade de Ca e Mg foram adicionados pela ocasião da aplicação do Superfosfato Simples, que contém 16% de Ca e 8% de Mg em sua composição. As plantas permaneceram na casa de vegetação por um período de 90 dias, sendo irrigadas com água estéril, sempre procurando manter a umidade do solo próxima à capacidade de campo.

## 5.6 Delineamento experimental

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, em esquema de parcelas subdivididas no tempo, com 10 repetições, perfazendo um total de 50 unidades experimentais. As parcelas representaram os seguintes tratamentos:

- 1) Controle (Plantas sem as doses recomendadas de N e P, sem inoculação).
- 2) Adubação de N e P (Plantas adubadas com as doses recomendadas de N e P, sem inoculação).
- 3) Inoculação com rizóbios (Plantas inoculadas somente com as cinco estirpes de rizóbios, sem adubação com as doses recomendadas de N e P)
- 4) Inoculação com micorrizas (Plantas inoculadas somente com as quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares, sem a adubação com as doses recomendadas de N e P).
- 5) Mix (plantas inoculadas com as cinco estirpes de rizóbios + as quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares, sem adubação com as doses recomendadas de N e P).

As subparcelas foram constituídas por:

- 1) Oito épocas de avaliação (30, 38, 46, 45, 62, 70, 78, 86 dias após a emergência) para altura de plantas e diâmetro do caule.
- 2) Sete épocas de avaliação (38, 46, 54, 62, 70, 78, 86 dias após a emergência) para o índice relativo de clorofila (SPAD).
- 3) Quatro épocas de avaliação (40, 55, 70, 85 dias após a emergência) para trocas gasosas.

## 5.7 Variáveis avaliadas

### 5.7.1 Variáveis fisiológicas

- I. Trocas gasosas: (fotossíntese líquida, condutância estomática, concentração interna de CO<sub>2</sub>, transpiração e Relação Ci/Ca) foram determinadas no período da manhã, entre 8:00 e 12:00 horas. Para a realização dessas avaliações foi

utilizado o medidor de gases por infravermelho IRGA modelo LI-6400XT (LI-COR, Inc., Lincoln, NE, USA). As mensurações foram realizadas nas folhas mais jovens do terço médio das plantas totalmente expandidas, para todos os tratamentos.

- II. Índice relativo de clorofila (IRC): as determinações foram feitas com clorofilômetro portátil (SPAD-502) e as medições foram realizadas nas folhas do terço médio da planta totalmente expandidas, de todos os tratamentos.

### 5.7.2 Variáveis morfológicas

- I. Altura da planta: foi avaliada por meio da medição da distância do colo da planta (rente ao substrato) e a extremidade do broto terminal do ramo principal.
- II. Diâmetro do caule: foi avaliado com utilização de paquímetro digital, sendo determinado aos 5 cm acima do coleto das plantas.
- III. Área foliar: foi avaliada ao final do experimento, sendo retiradas as folhas das plantas e colocadas no scanner de área foliar modelo 6400-40 da LI-COR.
- IV. Massa da matéria seca de parte aérea (MSPA): as amostras de parte aérea foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa a 60 °C por, aproximadamente, uma semana, até obtenção de peso constante. Em seguida, as amostras secas em estufa foram pesadas em balança digital.
- V. Massa da matéria seca de raiz (MSR): após separadas da parte aérea, as amostras de sistema radicular foram lavadas, secas ao ar, acondicionadas em sacos de papel e mantidas em estufa a 60 °C por aproximadamente uma semana, até apresentar massa constante. Então, as raízes secas foram pesadas em balança digital analítica.
- VI. Índice de Qualidade de Dickson (IQD): a avaliação da qualidade das mudas foi realizada pelo Índice de Qualidade de Dickson (IQD), (DICKSON et al., 1960) obtido através do cálculo:

$$IQD = \frac{MST (g)}{\frac{H (cm)}{DC(mm)} + \frac{PMSPA (g)}{PMSR (g)}}$$

Em que, (MST) = massa seca total, em g; (H) = altura da parte aérea, em cm; (DC) diâmetro do coleto, em mm; (PMSPA) = peso da matéria seca da parte aérea, em g; PMSR = peso de matéria seca das raízes, em g.

### 5.7.3 Variáveis microbiológicas

Foram determinados os seguintes parâmetros microbiológicos:

- I. Colonização micorrízica: para avaliação da colonização micorrízica as raízes foram lavadas em água corrente, selecionadas aquelas mais finas e armazenadas em um recipiente com solução de álcool a 70% até o momento da análise. A clarificação e coloração das raízes para análise da colonização foi feita de acordo com metodologia proposta por Phillips e Hayman (1970) e adaptada por Koske e Gemma, (1989) e Grace e Stribley, (1991). A percentagem de colonização foi obtida segundo sugestão de McGONIGLE et al. (1990).
- II. Abundância de esporos de FMA: para determinação da abundância de esporos pesou-se 100 g de solo via peneiramento úmido de cada amostra dos tratamentos, seguindo os procedimentos descritos por Gerdemann e Nicholson (1963).
- III. Massa da matéria seca dos nódulos: para a avaliação da massa da matéria seca dos nódulos, as raízes foram lavadas e os nódulos foram retirados e acondicionados em placas de Petri e secos em estufa com circulação forçada de ar a 65°C até atingir massa constante. Em seguida foram pesados em balança digital analítica.

#### 5.7.4 Variáveis químicas

Análise química do tecido vegetal e do solo:

- I. Análise química da parte aérea e raiz: após a determinação da massa da matéria seca da parte aérea e raiz o material foi triturado para serem analisados os teores de N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn e Mn. O teor de nitrogênio foi determinado apenas na parte aérea pelo método micro-Kjeldahl (TEDESCO et al., 1995). Os demais elementos foram determinados na parte aérea e raízes por digestão via seca (incineração) e extraídos pela solução de ácido nítrico 1 mol L<sup>-1</sup> (SILVA, 2009). As leituras de Ca, Mg, Fe, Cu, Zn e Mn foram feitas por absorção atômica, as de P foram feitas por colorimetria em espectrofotômetro e as de K, em fotômetro de chama.
  
- II. Análise do solo: para a realização das análises químicas, as amostras foram secas, seguindo-se os procedimentos preconizados pela metodologia descrita por Silva (2009), sendo determinados pH em água, o Mn e o P disponíveis pela extração por Mehlich I (SILVA, 2009). A leituras do Mn foram feitas por absorção atômica e as de P por colorimetria em espectrofotômetro.

#### 5.8 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Mediante a constatação de diferença significativa, os dados foram comparados por meio do teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). As variáveis altura de planta, diâmetro de caule, índice SPAD e as trocas gasosas, foram analisadas ao longo do tempo e comparadas também por meio de ajustes a modelos de regressão. A seleção dos modelos foi realizada com base na significância e no coeficiente de determinação ( $R^2$ ). As análises estatísticas foram processadas utilizando-se o software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2019).

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Teores de manganês (Mn), fósforo (P) e pH no solo

Os resultados das análises de manganês (Mn), fósforo (P) e pH do solo (Tabela 2) evidenciam a influência dos tratamentos sobre o solo da rizosfera das plantas.

Tabela 2 - Teor de Manganês, Fósforo e pH do solo, após o cultivo de sabiá (*M. caesalpiniaefolia* Benth.) quando submetida aos diferentes tratamentos

Tratamentos	Mn ----- mg kg <sup>-1</sup> -----	P	pH -- H <sub>2</sub> O --
Controle	420,21 a	9,05 b	6,26 a
Adub. (N e P)	392,04 b	19,76 a	5,91 ab
Rizóbios	432,54 a	7,31 b	5,70 b
Micorrizas	421,4 a	2,38 c	5,74 b
Mix	418,21 a	3,68 c	6,06 ab
	----- F -----		
F. V	7,319**	112,848**	5,744**
C. V. (%)	5,34	77,21	4,90

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si por meio de Teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns; \*\* e \*: Não significativo; significativo a 1 e 5 % de probabilidade, respectivamente.

<sup>2</sup> Tratamentos: Cont. (Controle); Adub. (N e P); Rizóbios; Micorriza e Mix (Rizóbios + Micorriza).

<sup>3</sup> FV: Fontes de Variação.

Os teores de Mn disponíveis na solução do solo estão muito acima da média, uma vez que, nos solos brasileiros seu teor solúvel varia de 0,1 a 100 mg kg<sup>-1</sup> (MALAVOLTA, 1980). Houve diferença significativa para os teores de Mn disponíveis no solo, sendo que os menores valores foram encontrados no tratamento com adubação (N e P), isso pode estar relacionado com a formação de precipitados de baixa solubilidade entre o Mn e o fósforo (P) (Mn.H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.(OH)<sub>2</sub>), tendo em vista que esse tratamento recebeu uma adubação complementar de P na forma de fosfato monoamônico (MAP). Resultados semelhantes foram encontrados por Habte e Soedarjo (1996), que verificaram menor disponibilidade de Mn<sup>2+</sup> quando doses maiores de P foram aplicadas nos substratos.

É válido destacar ainda a estreita relação existente entre o P e o Mn, o que demanda a necessidade de uma melhor investigação da dinâmica da adubação fosfatada em áreas degradadas pela mineração de manganês (Mn), tendo em vista que pode ser uma das possíveis estratégias utilizadas para auxiliar na reabilitação dessas áreas.

Os valores de P disponíveis no solo (Tabela 2) apresentaram diferença estatística significativa entre os tratamentos, conforme teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), onde os menores valores foram referentes aos tratamentos com Micorrizas e o Mix. A explicação para esse comportamento pode estar relacionada aos benefícios gerados pelos FMA, os quais são capazes de promover a exploração de um maior volume de solo através das suas hifas externas

(MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). O maior valor de P no solo ocorreu no tratamento com adubação (N e P), o que já era esperado, tendo em vista que o solo recebeu adição de P. Os valores de pH apresentaram diferenças sutis entre os tratamentos, uma vez que a reação do solo foi ácida em todos os casos, sendo que os menores valores, no caso dos tratamentos com inoculação de micro-organismos (Rizóbios, Micorriza e Mix) ocorreram provavelmente devido a dois fatores principais: a liberação de compostos ácidos pelas raízes (exsudados radiculares) e absorção de cátions da solução do solo que, uma vez sendo absorvidos, as plantas tendem a compensar o equilíbrio eletroquímico existente entre o interior da células (citossol) e meio externo liberando íons  $H^+$  em função da bomba de prótons  $H^+$ -ATPase, diminuindo assim o pH do solo (MARSCHNER, 2012 ; FERNANDES *et al.*, 2018).

## 6.2 Acúmulo de nutrientes na parte aérea das plantas de Sabiá

O acúmulo de nutrientes avaliados na parte aérea das plantas de sabiá apresentou diferença estatística significativa entre todos os tratamentos de inoculação, conforme teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). (Tabela 3).

Tabela 3 - Acúmulo de nutrientes na parte aérea (PA) de plantas de sabiá (*M. caesalpinifolia* Benth.) quando submetidas a diferentes tratamentos

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Cu	Zn	Fe
----- mg planta <sup>-1</sup> -----									
Cont.	90,98 d	0,66 b	10,09 c	5,64 c	1,55 c	0,15 c	0,01 c	0,03 c	0,04 c
Adub. (N e P)	232,65 c	4,03 a	29,40 b	18,66 b	5,28 b	0,66 a	0,05 b	0,11 b	0,11 b
Rizóbios	82,13 d	0,59 b	8,29 c	4,88 c	1,45 c	0,16 c	0,01 c	0,02 c	0,04 c
Micorriza	308,55 b	4,37 a	27,64 b	19,33 b	5,51 b	0,60 ab	0,07 a	0,11 b	0,16 a
Mix	446,31 a	4,20 a	33,94 a	24,27 a	7,54 a	0,52 b	0,07 a	0,14 a	0,19 a
----- F -----									
F. V	69,32**	138,26**	113,11**	108,61**	97,75**	9,94**	105,28**	141,56**	35,98**
C. V. (%)	25,10	19,10	16,06	18,26	20,04	22,33	20,09	16,30	34,21

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si por meio de Teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns; \*\* e \*: Não significativo; significativo a 1 e 5 % de probabilidade, respectivamente.

<sup>2</sup> Tratamentos: Cont. (Controle); Adub. (N e P); Rizóbios; Micorrizas e Mix (Rizóbios + Micorrizas).

<sup>3</sup> F.V: Fontes de Variação.

Com base nos resultados obtidos, podemos inferir sobre a capacidade das plantas de absorverem e acumularem os nutrientes e, conseqüentemente, de se estabelecerem em áreas degradadas pela mineração de Mn, uma vez que, a camada fértil do solo é retirada em virtude da exploração do minério. Conforme pode ser observado, as plantas do tratamento Mix apresentaram os maiores valores de acúmulo dos macronutrientes (N, K, Ca, Mg,), no entanto, o acúmulo de P não apresentou diferença estatística significativa entre os tratamentos Micorrizas e Adubação (N e P).

Quanto a absorção e acúmulo de nitrogênio pelas plantas, pode-se observar que o tratamento Mix contribuiu com um incremento de 490% de nitrogênio em relação ao tratamento controle e 543% em relação ao tratamento com Rizóbios. Esses resultados constataam a importância da dupla inoculação Rizóbios + Micorrizas e evidenciam um forte sinergismo entre esses micro-organismos, sendo possível também comprovar no modelo testado que a eficiência da fixação biológica do nitrogênio depende do fósforo prontamente disponível. Püschel *et al.* (2017) em seus estudos constataram que os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) estimulam a fixação biológica de nitrogênio pela maior aquisição de fósforo. É válido destacar que as plantas do tratamento Micorrizas apresentaram o segundo melhor resultado, seguido do tratamento de Adubação (N e P).

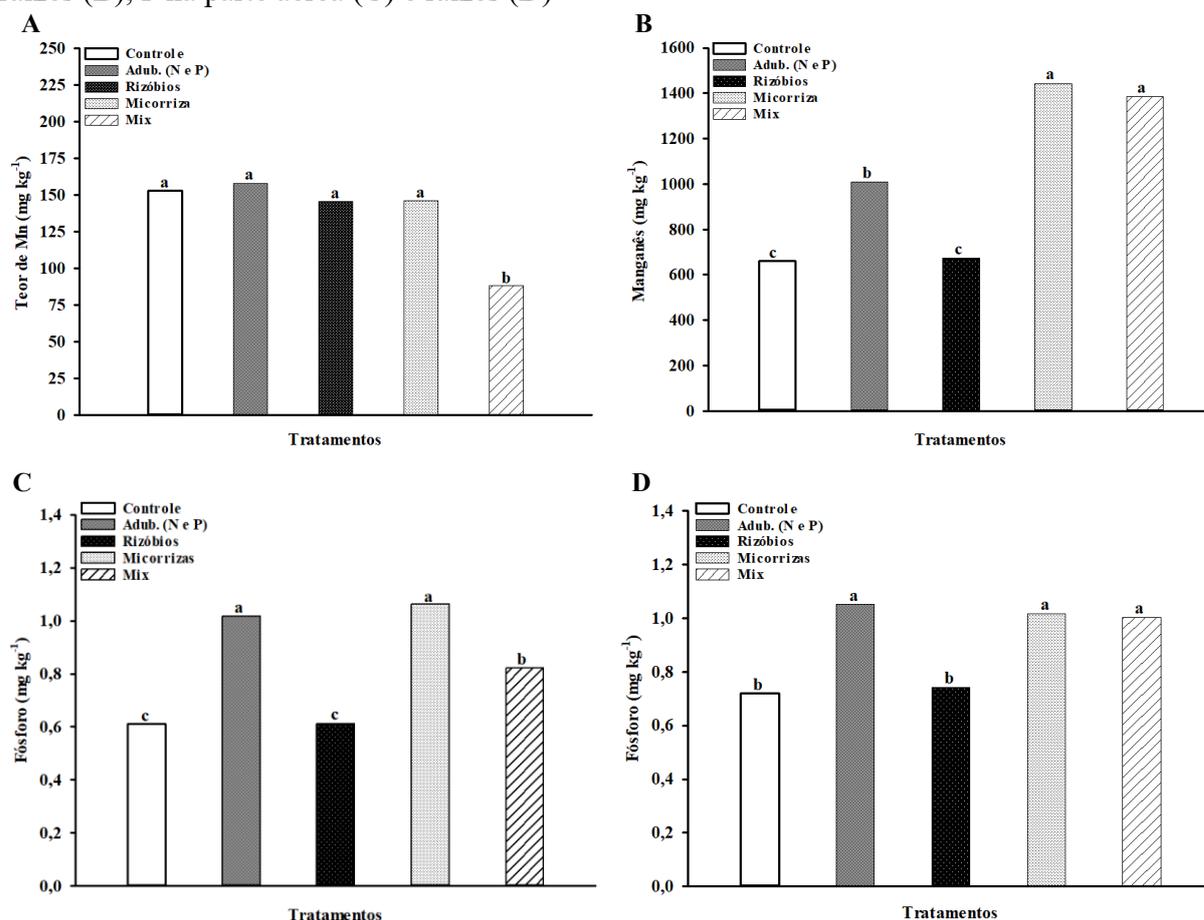
Avaliando a absorção de fósforo pelas plantas nota-se que não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos Mix, Micorrizas e Adubação (N e P), resposta que pode estar relacionada ao fato das plantas do tratamento com adubação mineral completa terem mais fósforo disponível para a absorção, enquanto que as plantas do tratamento Mix e Micorrizas, por estarem associadas aos FMA, tiveram uma maior eficiência na absorção desse elemento. Isso acontece pela alta afinidade das hifas externas dos FMA pelo fósforo (P) inorgânico que podem explorar os poros do solo inacessíveis às raízes e, dessa forma, aumentar a translocação do P inorgânico para as plantas (BAGO, 2000).

Para o acúmulo dos micronutrientes (Tabela 3) as plantas do tratamento Mix e Micorrizas apresentaram os maiores valores de absorção e acúmulo de Fe e Cu. Para o elemento Zn, o tratamento Mix apresentou os maiores resultados. As plantas do tratamento Adubação (N e P) e Micorrizas apresentaram os maiores acúmulos de Mn e não se diferenciaram estatisticamente entre si. No entanto, as plantas do tratamento Mix apresentaram valores inferiores de acúmulo de manganês em relação a adubação (N e P). Isso pode ser explicado pelo efeito da associação (micorrizas + rizóbios) que atuam na imobilização do elemento impedindo sua translocação para parte aérea.

### **6.3 Concentração de manganês (Mn) e fósforo (P) na parte aérea e raízes**

Os valores das concentrações de Mn na parte aérea das plantas de *M. caesalpiniaefolia* Benth. apresentaram diferença estatística pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Os valores foram maiores nos tratamentos controle, Adubação (N e P), Rizóbios e Micorrizas, os quais não diferiram estatisticamente entre si, enquanto para o tratamento Mix, ocorreram as menores concentrações de manganês (Figura 3A).

Figura 3 - Concentração de manganês (Mn) e fósforo (P) em  $\text{mg kg}^{-1}$  em plantas de sabiá (*M. caesalpiniaefolia* Benth.) cultivadas sob os diferentes tratamentos. Mn na parte aérea (A) e raízes (B), P na parte aérea (C) e raízes (D)



Fonte: autor

Quanto ao Mn nas raízes das plantas, houve diferença estatística significativa entre os tratamentos e os que apresentaram as maiores concentrações foram os tratamentos Mix e Micorrizas (Figura 3B).

Os valores para as concentrações de P na parte aérea e raízes (Figura 3C e 3D) mostraram diferença estatística significativa entre os tratamentos. Nota-se também certa semelhança para as concentrações dos nutrientes na parte aérea e raízes nos respectivos tratamentos de inoculação. Para a parte aérea (Figura 3C), os maiores valores foram para os tratamentos com Micorrizas e Adubação (N e P), enquanto as maiores concentrações de fósforo nas raízes (Figura 3D) ocorreram nos tratamentos Adubação (N e P), Micorriza e Mix.

Para as concentrações de Mn é importante ressaltar que a ausência de efeito significativo nos tratamentos citados pode estar relacionada a um efeito de diluição do Mn na parte aérea das plantas, tendo em vista que as plantas do tratamento micorrizas e Adubação (N e P) apresentaram uma maior produção de biomassa vegetal em relação ao Controle e Rizóbios.

As plantas dos tratamentos de Adubação (N e P) e Micorrizas apresentaram os maiores valores de fósforo na parte aérea. Na literatura são relatadas as contribuições dos FMA na atenuação dos efeitos da presença de metais pesados no solo (GARCIA *et al.*, 2017; HRISTOZKOVA *et al.*, 2017), porém, pouco se sabe a respeito dos mecanismos utilizados para interação entre os micro-organismos simbiotes e as plantas, as quais podem sobreviver em ambientes contaminados por metais pesados, como é o caso do Mn. No entanto, existe uma relação positiva entre o fósforo e o manganês que, provavelmente, faz com que o fósforo seja um fator importante para a atenuação da toxidez do manganês pelas plantas, podendo, a afinidade dos FMA com o fósforo ser um ponto estratégico para a reabilitação dessas áreas. Segundo Nogueira e Cardoso (2002), as plantas colonizadas por FMA apresentam um maior acúmulo de P o qual pode se complexar com o manganês, diminuindo assim sua atividade na planta.

As maiores concentrações de manganês nas raízes expressam o potencial de fitoestabilização desse elemento pelas plantas colonizadas pelos FMA, o que pode ser explicado pela retenção do elemento pelas estruturas fúngicas. Além disso, excreções produzidas pelos FMA, como a glomalina, são capazes de reter os metais pesados que estão disponíveis na solução do solo (WU *et al.*, 2014), contribuindo para a imobilização do elemento na rizosfera.

Na literatura são relatadas diversas estratégias dos FMA na fitoproteção da planta, entre elas, a imobilização dos elementos traços na sua biomassa. Cabral *et al.* (2010) em seus estudos verificaram que o micélio dos FMA possui alta capacidade de retenção dos metais, atuando como uma barreira física que inibe a translocação destes das raízes para parte aérea. Essa estratégia auxilia o crescimento e sobrevivência das plantas colonizadas em locais contaminados. Somado a isso, verifica-se também o aumento da absorção de fósforo pelas plantas inoculadas, promovendo uma maior tolerância por reduzir a translocação dos elementos metálicos das raízes para a parte aérea (SOARES *et al.*, 2007).

#### **6.4 Variáveis morfológicas das plantas de Sabiá**

Os resultados para variáveis Índice de qualidade de Dickson (IQD), Área foliar, Massa da matéria seca de raízes (PMSR) e Massa da matéria seca da parte aérea (PMSPA) das plantas de *M. caesalpiniaefolia* Benth. mostraram diferenças significativas entre os tratamentos que receberam inoculação (Tabela 4).

Tabela 4 - Área foliar, Índice de Qualidade de Dickson (IQD), Peso da Matéria Seca de Raízes (PMSR) e Peso da Matéria Seca da Parte Aérea (PMSPA) em plantas de sabiá (*M. caesalpiniaefolia* Benth.) quando submetidas a diferentes tratamentos

Tratamentos	Área foliar ----- cm <sup>2</sup> -----	PMSR ----- g -----	PMSPA ----- g -----	IQD -
Cont.	151,59 c	1,23 c	1,07 c	0,19 c
Adub. (N e P)	499,99 ab	2,62 b	3,99 b	0,52 b
Rizóbios	131,58 c	1,37 c	0,97 c	0,20 c
Micorriza	477,46 b	2,97 ab	4,16 b	0,52 b
Mix	563,55 a	3,36 a	5,11 a	0,65 a
F. V	136,16**	83,010**	222,662**	102,29**
C. V. (%)	15,33	14,43	13,20	15,55

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si por meio de Teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns; \*\* e \*: Não significativo; significativo a 1 e 5 % de probabilidade, respectivamente.

<sup>2</sup> Tratamentos: Cont. (Controle); Adub. (N e P); Rizóbios; Micorriza e Mix (Rizóbios + Micorriza).

<sup>3</sup> F.V: Fontes de Variação.

O tratamento inoculado com o Mix apresentou os maiores resultados para todas as variáveis analisadas, enquanto os tratamentos Controle e Rizóbios apresentaram os menores. Esses resultados evidenciam que a inoculação conjunta entre rizóbios e micorrizas favorece o crescimento das plantas e a incorporação de biomassa, o que pode ser explicado pelo maior fornecimento de nutrientes pelas associações formadas, sendo que os FMA promovem um maior acúmulo de fósforo e os rizóbios de nitrogênio. Além disso, alguns autores relatam a indução de hormônios nas plantas quando estas estabelecem associações simbióticas com micro-organismos, os quais estimulam o crescimento e a resistência destas.

As plantas do tratamento inoculado apenas com rizóbios apresentou um resultado inesperado, na ausência dos FMA. Esse tratamento não se diferenciou do controle, apresentando baixos valores de Área foliar, IDQ, PMSR, PMSPA, esse comportamento pode estar atrelado a altas concentrações de Mn e, o que implica, consequentemente, na baixa eficiência de absorção de outros dos nutrientes, especialmente do fósforo (BAI *et al.*, 2016), tendo em vista que esse elemento é essencial para o crescimento das plantas, atuando no metabolismo vegetal, desempenhando um papel importante na transferência de energia da célula, na respiração e na fotossíntese das plantas (MARSCHNER, 2012).

Avaliando a qualidade das mudas expressa pelo IQD, observa-se que as plantas do tratamento Mix apresentaram os maiores valores do índice, seguido da Adubação (N e P) e Micorrizas, quanto a isso, sabe-se que quanto maior o IQD melhor é a qualidade da muda produzida (CALDEIRA *et al.*, 2012), o que é explicado pela robustez e o equilíbrio da distribuição da biomassa vegetal, resultando em plantas mais aptas e resistentes para se transferirem para o campo. Os efeitos dos tratamentos que receberam inoculação com micro-organismos também podem ser verificados na Figura 4, que mostra a distribuição dos tratamentos e o aspecto das plantas na fase final do experimento.

Figura 4 - Aspecto final das plantas de sabiá (*M. caesalpinifolia* Benth.) sob os diferentes tratamentos



Fonte: Autor

As variáveis altura de planta, diâmetro do caule e índice SPAD também foram influenciadas significativamente em função dos tratamentos de inoculação recebidos (Tabela 5).

Tabela 5 - Altura de planta (Alt. Planta); Diâmetro de caule (Diam. Caule) e Índice SPAD de Plantas de sabiá (*M. caesalpiniaefolia* Benth.) quando submetidas a diferentes tratamentos

Tratamentos		Alt. Planta	Diam. Caule	Índice SPAD
		----- cm -----	----- mm -----	-
Tratamentos	Cont.	19,49 b	2,16 e	28,25 c
	Adubação (N e P)	36,05 a	2,78 c	31,92 b
	Rizóbios	21,43 b	2,47 d	32,03 b
	Micorriza	36,24 a	3,20 b	29,97 c
	Mix	36,14 a	3,43 a	37,85 a
Épocas	I	19,76	1,49	27,16
	II	22,65	1,87	29,81
	III	25,53	2,25	31,66
	IV	28,42	2,62	35,58
	V	31,31	2,99	33,31
	VI	34,20	3,37	33,27
	VII	37,09	3,74	33,24
	VIII	39,97	4,12	-
		----- F -----		
Trat. Inoculação (I)		86,96**	384,15**	59,169**
Época (E)		42,39**	758,74**	24,747**
I x E		3,30**	9,58**	5,827**
C. V. (%)	Trat. Inoculação	27,67	8,40	12,30

<sup>1</sup> Época: Épocas de avaliação após o plantio das plantas de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. em dias após o plantio (DAP).

<sup>2</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si por meio de Teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

<sup>3</sup> ns, \*\* e \*: Não significativo; significativo a 1 e 5 % de probabilidade, respectivamente.

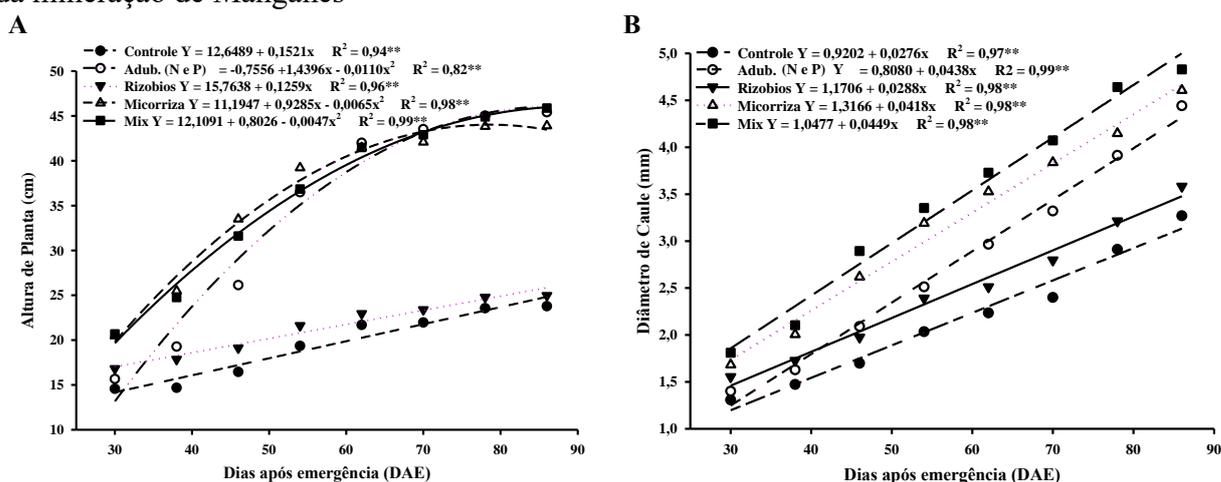
Para variável altura de planta, os tratamentos Adubação (N e P), Micorrizas e Mix apresentaram os maiores valores e não diferenciaram significativamente entre si, conforme teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

As plantas do tratamento Mix também apresentaram os maiores resultados para as variáveis diâmetro do caule e o índice SPAD. Esses resultados refletem um balanço adequado dos nutrientes nas plantas, especialmente do fósforo e nitrogênio, refletindo a importância da inoculação com os micro-organismos simbiotes na fisiologia e, conseqüentemente, no crescimento das plantas. O índice SPAD, que está relacionado com os teores de clorofila, apresentou os menores resultados nas plantas do tratamento Controle e Micorrizas, o que pode estar relacionado às concentrações de nitrogênio nas plantas. Além disso, as altas concentrações de manganês nas folhas podem ter contribuído para a diminuição da taxa fotossintética, refletindo no menor teor de clorofila nas plantas e evidenciando o potencial da interação tripartite (leguminosa-rizóbio-micorriza) para a reabilitação de áreas degradadas pela mineração de manganês.

Houve interação significativa ( $p \leq 0,01$ ) entre os tratamentos que receberam inoculação e as épocas de avaliação para as variáveis analisadas (Tabela 5). Para o fator épocas, é possível observar uma tendência de aumento nos valores das variáveis ao longo do tempo.

As variáveis das equações de regressão ajustadas para os dados de altura de planta e diâmetro do caule evidenciam uma resposta significativa as inoculações (Figura 5A e 5B).

Figura 5 - Altura de planta (A) e Diâmetro de caule (B) de plantas de sabiá (*M. caesalpiniaefolia* Benth.) em função de diferentes tratamentos com inoculação microbiana em solo proveniente da mineração de Manganês



Para a variável altura de planta (Figura 5A) os tratamentos Mix, Micorrizas e Adubação (N e P) se adequaram ao ajuste quadrático, enquanto os tratamentos Controle e Rizóbios se adequaram a um ajuste linear. Para variável Diâmetro do caule (Figura 5B) todos os tratamentos se adequaram ao ajuste linear.

Os tratamentos Mix, Adubação (N e P) e Micorrizas favoreceram o crescimento das plantas ao longo do experimento. O maior crescimento dessas plantas está associado ao adequado balanço dos nutrientes, especialmente do fósforo e do nitrogênio, o que explica o comportamento semelhante das plantas do tratamento Mix e Adubação (N e P). Conforme Foyer et al. (2018), o P e o N, por serem nutrientes essenciais à nutrição das plantas e quando disponíveis em quantidades equilibradas no solo, geralmente promovem aumentos significativos para as características altura da planta, biomassa e diâmetro do caule. A dupla inoculação (rizóbios-micorrizas) e o estabelecimento da simbiose amplia a capacidade de absorção de nutrientes por parte do macro-simbionte autotrófico e, conseqüentemente, aumenta os índices morfológicos como altura de planta, diâmetro de caule e produtividade (SILVA, 2016).

Almeida e Raymundo-Júnior (2006), estudando o crescimento de mudas de angico-do-cerrado inoculadas com rizóbio e micorriza, observaram que a dupla inoculação proporcionou, entre outros benefícios, um maior crescimento em altura das mudas, com diferenças estatísticas significativas em relação ao tratamento de inoculação apenas com rizóbios.

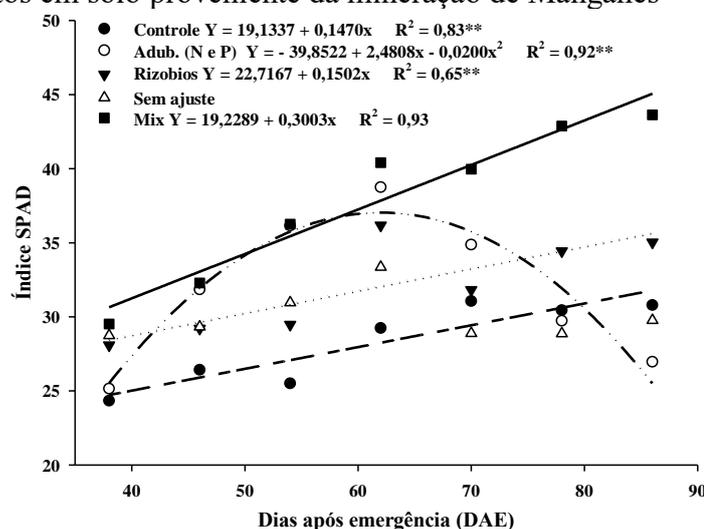
É válido ressaltar que no presente ensaio houve uma maior estabilização no crescimento das plantas do tratamento Micorrizas em torno dos 70 DAE. Além disso, observou-se um limitado crescimento das plantas nos tratamentos Controle e Rizobios ao longo do experimento, comportamento compatível para o efeito das altas concentrações de manganês no solo. Pan *et al.*, (2018) verificaram em seus estudos que o estresse do Mn limita o crescimento das plantas como resultado das alterações fisiológicas e bioquímicas, especialmente da fotossíntese.

Para o diâmetro do caule também foi observado uma resposta mais expressiva para as plantas do tratamento Mix, evidenciando mais uma vez o potencial benéfico para a planta da dupla simbiose com FMA e rizóbios. Segundo D'ávila *et al.* (2011) e Hoppe et al. (2003), em geral o parâmetro diâmetro do caule é a característica mais observada para indicar a capacidade de sobrevivência da muda no campo. Isso porque o diâmetro do caule tem correlação com o tamanho médio do sistema radicular (ELOY *et al.*, 2013) e, conseqüentemente, as plantas têm maior capacidade de se adaptar às condições adversas que o ambiente impõe.

## 6.5 Índice SPAD nas plantas de Sabiá

Os resultados para o índice SPAD ajustaram-se a modelos lineares de regressão para os tratamentos Controle, Rizóbios e Mix, sendo que o tratamento Mix apresentou os maiores índices SPAD com incrementos de 0,30 a cada DAE (Figura 6).

Figura 6 - Índice SPAD em plantas de sabiá (*M. caesalpinifolia* Benth.) cultivadas sob diferentes tratamentos em solo proveniente da mineração de Manganês



O tratamento Adubação (N e P) ajustou-se ao modelo quadrático, apresentando resposta máxima estimada de 37,07 aos 62 DAE tendo, após esse período, os valores médios observados, decrescido até o final do período de avaliação. O tratamento Micorrizas não mostrou ajuste a nenhum dos modelos utilizados, apresentando distribuição aleatória ao longo do ciclo de crescimento.

Fica evidente o potencial da dupla inoculação para um maior aumento na tolerância das plantas em ambientes contaminados, já que os teores de clorofila se mantiveram crescentes ao longo do experimento. Pereira *et al.* (2019) observaram resultados também positivos nos teores de clorofila e na razão de área foliar em plantas de *Vicia Faba* submetidas a inoculação com *Rhizobium laguerreae* e FMA.

É válido salientar que os maiores teores de clorofila nas plantas do tratamento Mix podem também estar relacionados com a menor absorção de Mn e com maior absorção de nitrogênio. Segundo Cardoso (2012), as plantas são mais eficientes no aproveitamento do nitrogênio fixado pelas bactérias, principalmente por este se encontrar disponível e menos susceptível a perdas. Isso também pode explicar o comportamento de decréscimo nos teores de clorofila ao longo do tempo nas plantas do tratamento Adubação (N e P), como também as altas concentrações de manganês.

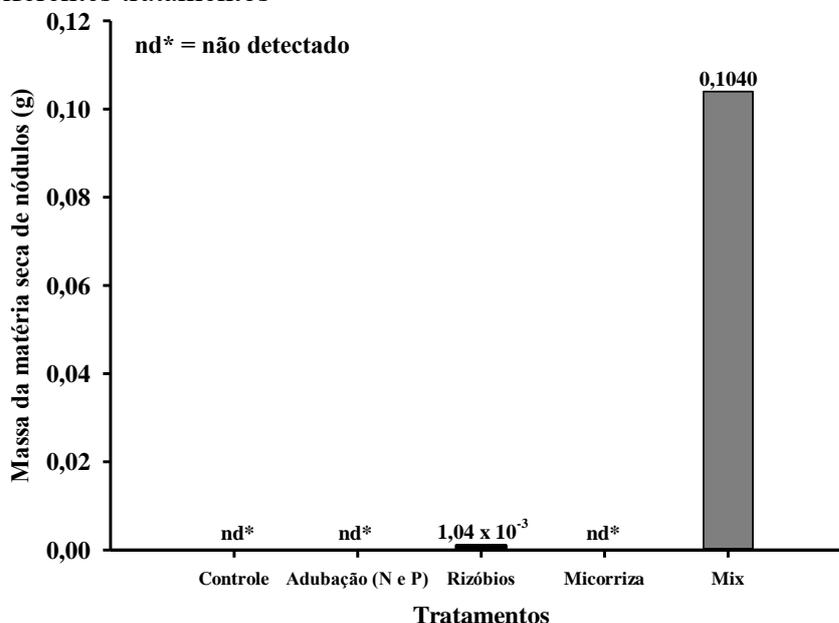
Em concentrações ideais, o Mn participa ativamente da síntese de clorofila compondo a estrutura de proteínas e enzimas do sistema fotossintético, além disso, conforme Hakala *et al.* (2006), o Mn funciona nos parâmetros da clorofila, provavelmente, através do sistema oxidante do fotossistema II e da fotólise das moléculas de água que fornecem energia para a fotossíntese.

Alguns autores têm relatado os efeitos negativos dos metais pesados nos pigmentos fotossintéticos. Chandra e Kang (2016), trabalhando com a exposição de híbridos de álamo a metais pesados verificaram reduções significativas nos teores de clorofila e carotenóides nas folhas, o que reforça ainda mais os resultados obtidos aqui no presente trabalho no que se refere a esse parâmetro. Keller *et al.* (2015), trabalhando com o efeito do silício em mudas de trigo (*Triticum turgidum* L.) cultivadas em hidroponia e expostas ao Cu, verificaram que a toxicidade desse elemento por metais pesados reduziu o conteúdo de pigmentos fotossintéticos, entre eles a clorofila.

## 6.6 Massa da matéria seca de nódulos nas raízes das plantas de Sabiá

Observando-se a Figura 7 podemos evidenciar que as plantas do tratamento Rizóbios apresentaram valores muito pequenos para a variável massa da matéria seca de nódulos.

Figura 7 - Massa seca de nódulos em raízes de plantas de sabiá (*M. caesalpiniaefolia* Benth.) cultivada sob diferentes tratamentos



A explicação para isso pode ser a produção baixa de nódulos com tamanhos muito pequenos, os quais não se diferenciaram. Já as plantas do tratamento Mix apresentaram nódulos

bem desenvolvidos, o que resultou na maior produção de massa da matéria seca de nódulos observada. É válido salientar que as estirpes utilizadas são provenientes da área de mineração de manganês, indicando a tolerância desses isolados às altas concentrações desse elemento no tratamento Mix.

Diante desses resultados, pode-se inferir que ocorreram limitações nutricionais à formação dos nódulos, principalmente fósforo, o que comprometeu a eficiência das bactérias fixadoras de nitrogênio nas plantas do tratamento Rizóbios. Além disso, foi possível perceber que os FMA favoreceram a nodulação e a fixação do nitrogênio pelas bactérias nas plantas do tratamento Mix, o que pode estar relacionado ao maior fornecimento do fósforo proporcionado pelos FMA, influenciando positivamente o processo de fixação biológica do nitrogênio.

Resultados encontrados por Jesus *et al.* (2005), estudando a dependência de micorrizas para a nodulação de leguminosas arbóreas tropicais, verificaram que as espécies de *Piptadenia gonoacantha* (Mart.) e *Piptadenia paniculata* Benth. dependem da micorrização para um crescimento satisfatório e para a nodulação com rizóbios em solos com baixa disponibilidade de fósforo.

Tavares *et al.* (2016), trabalhando com produção de mudas de *M. caesalpiniaefolia* benth. verificaram que a nodulação dessa leguminosa foi favorecida pela inoculação micorrízica. *Centrolobium tomentosum* (MARQUES *et al.*, 2001) e *Anadananthera peregrina* (GROSS *et al.*, 2004) são também exemplos de leguminosas que apresentam maiores desenvolvimento, nodulação e fixação de nitrogênio quando inoculadas com FMA. Bulgarelli *et al.* (2017) trabalhando com a dupla inoculação verificou que os FMA promoveram o aumento da nodulação e a atividade aparente da nitrogenase em relação às plantas inoculadas apenas com rizóbios.

Na literatura são muitos os autores que relatam a importância do fósforo para a fixação do nitrogênio, já que o processo é altamente exigente em energia em forma de ATP. Além disso, a concentração de fósforo encontrado nos nódulos é três vezes superior do que é encontrado em qualquer órgão da planta (VADEZ, 1997). Desse modo, torna-se evidente a contribuição dos FMA para a fixação biológica de nitrogênio, tendo em vista, a contribuição desses micro-organismos na absorção de fósforo. Diante disso, é válido salientar a contribuição da dupla inoculação ou interação tripartite (leguminosa-micorrizas-rizóbios), como uma estratégia biotecnológica indispensável para a reabilitação de áreas degradadas pela mineração, especialmente por se tratar de solos que tiveram a sua camada fértil removida.

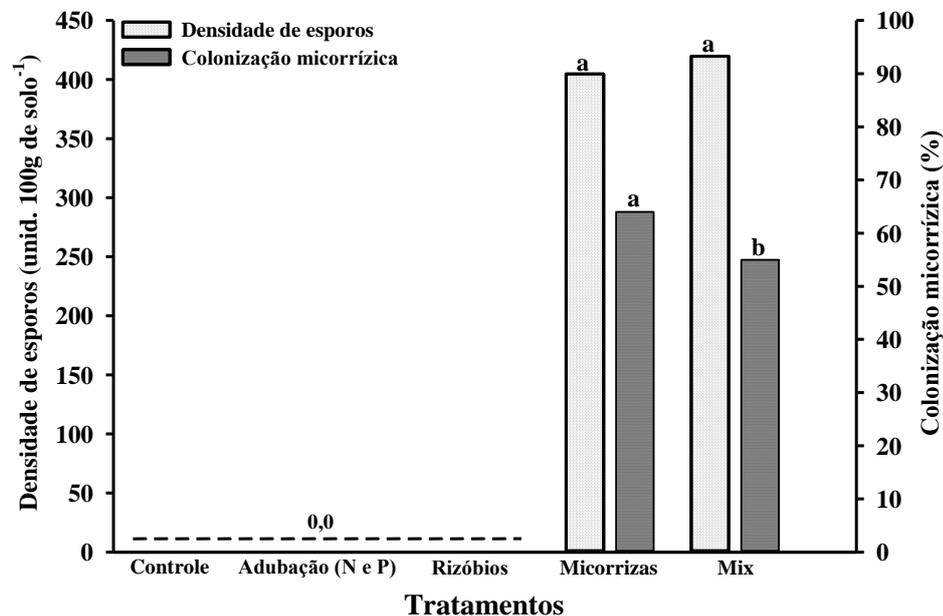
Diante disso, fica claro a necessidade de realização de mais pesquisas que venham esclarecer as lacunas existentes no que se refere aos mecanismos que controlam o sinergismo

entre os FMA, as bactérias e as raízes de plantas, pois embora tenham sido realizados alguns trabalhos, os mecanismos propostos ainda necessitam de confirmações experimentais mais completas.

### 6.7 Densidade de esporos e colonização micorrízica nas raízes das plantas de Sabiá

Como podemos observar na Figura 8, não houve diferença estatística pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) para a variável densidade de esporos entre os tratamentos Mix e Micorrizas. Para o percentual de colonização micorrízica o tratamento Micorrizas apresentou os maiores valores, diferindo estatisticamente do tratamento Mix. Os demais tratamentos apresentaram valores nulos, tanto de colonização micorrízica quanto de densidade de esporos, o que era esperado.

Figura 8 - Densidade de esporos e percentual de colonização de raízes em plantas de sabiá (*M. caesalpinifolia* Benth.) em solos da mineração de manganês

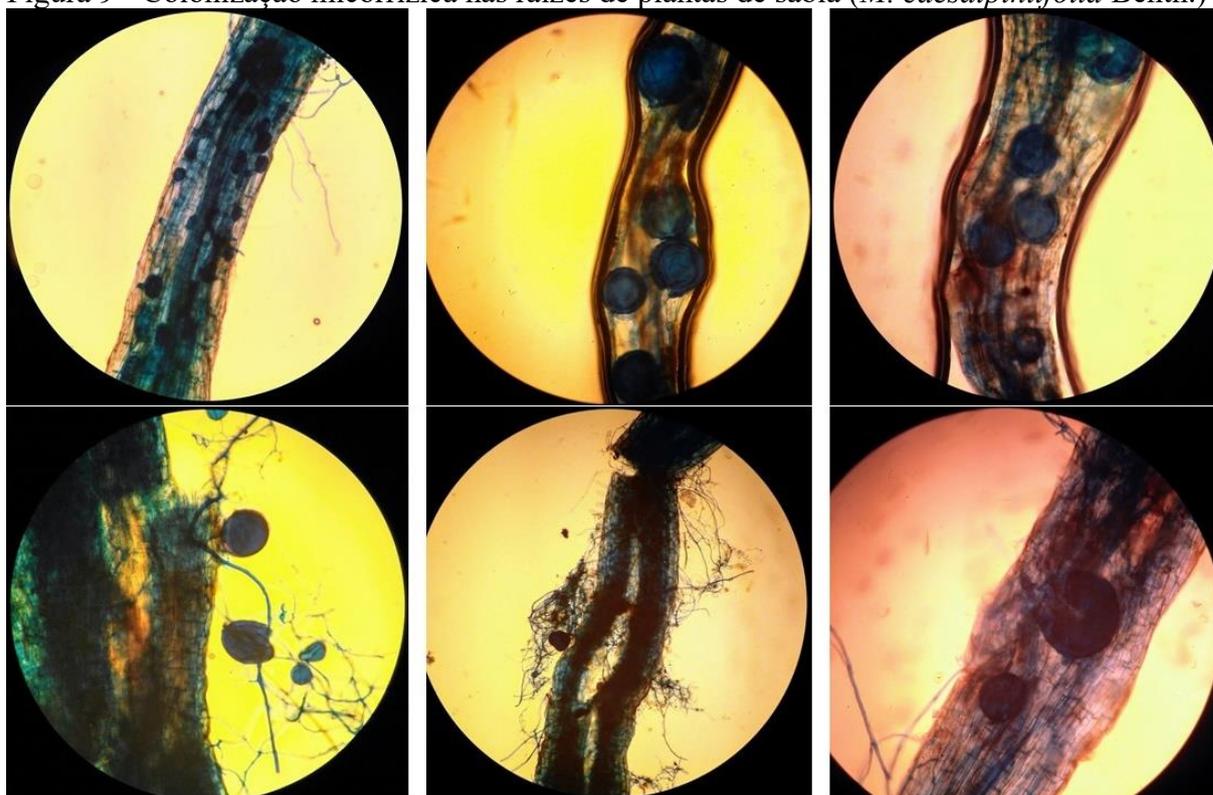


Em relação a Densidade de esporos, podemos concluir que, como as concentrações de Mn no solo do experimento eram similares, a presença desse elemento e fatores intrínsecos à própria simbiose regularam sua produção no solo, além do fato de ambos os tratamentos estarem sob influência da rizosfera da mesma espécie hospedeira.

Garcia *et al.*, (2016) avaliando a tolerância de *M. caesalpiniaefolia* Benth. associada a micorrizas arbusculares em substrato da mineração de manganês encontraram valores similares aos aqui obtidos para a densidade de esporos no solo.

A colonização das raízes das plantas do tratamento Micorrizas apresentaram as maiores taxas de colonização (65% das raízes colonizadas), seguido pelas plantas do tratamento Mix (55% das raízes colonizadas) (Figura 8). Esses resultados expressam o potencial das espécies dos FMA utilizadas no experimento para inoculação de plantas em áreas degradadas pela mineração de manganês, uma vez que, a alta concentração desse elemento no solo não limitou a colonização (Figura 9) nem a esporulação no solo. Na literatura alguns autores relatam a redução do crescimento micelial, esporulação e colonização dos FMA devido às altas concentrações de metais pesados no solo (YANG *et al.*, 2015; AMIR *et al.*, 2013), podendo comprometer a simbiose e, conseqüentemente, os benefícios gerados ao hospedeiro.

Figura 9 - Colonização micorrízica nas raízes de plantas de sabiá (*M. caesalpinifolia* Benth.)



Diante disso, as espécies de FMA adaptadas a altas concentrações de metais pesados merecem destaque, já que podem desempenhar funções importantes na proteção das plantas contra a toxidez desses elementos, sem grandes comprometimentos de sua fisiologia. Rosa *et al.* (2016), estudando os parâmetros fisiológicos em videiras 'Paulsen 1103' (*Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*) inoculadas com FMA em solo contaminado com cobre, concluíram que os benefícios proporcionados às videiras pela associação simbiótica podem variar entre as espécies de FMA e que a inoculação com esses fungos pode reduzir a disponibilidade de Cu às videiras e, com isso, reduzir o efeito tóxico do Cu nas células das plantas.

## 6.8 Trocas gasosas de Sabiá em solo de mineração de Mn

Os parâmetros fisiológicos avaliados foram influenciados significativamente, tanto de forma aditiva, cada fator separadamente, quanto em função da interação entre os fatores inoculação (I) e épocas de coletas (E) (Tabela 6). Os tratamentos Mix e Micorrizas destacaram-se na promoção dos maiores valores de fotossíntese líquida (*A*), transpiração (*E*) e condutância estomática (*gs*), enquanto isso, para as demais variáveis analisadas, os tratamentos não se diferenciaram estatisticamente entre si.

Tabela 6 - Síntese da análise de variância para fotossíntese líquida (*A*), condutância estomática (*gs*), transpiração (*E*), concentração interna de CO<sub>2</sub> (*Ci*) e relação concentração interna/externa de CO<sub>2</sub> (*Ci/Ca*) em plantas de sabiá em função dos tratamentos e dias após a emergência

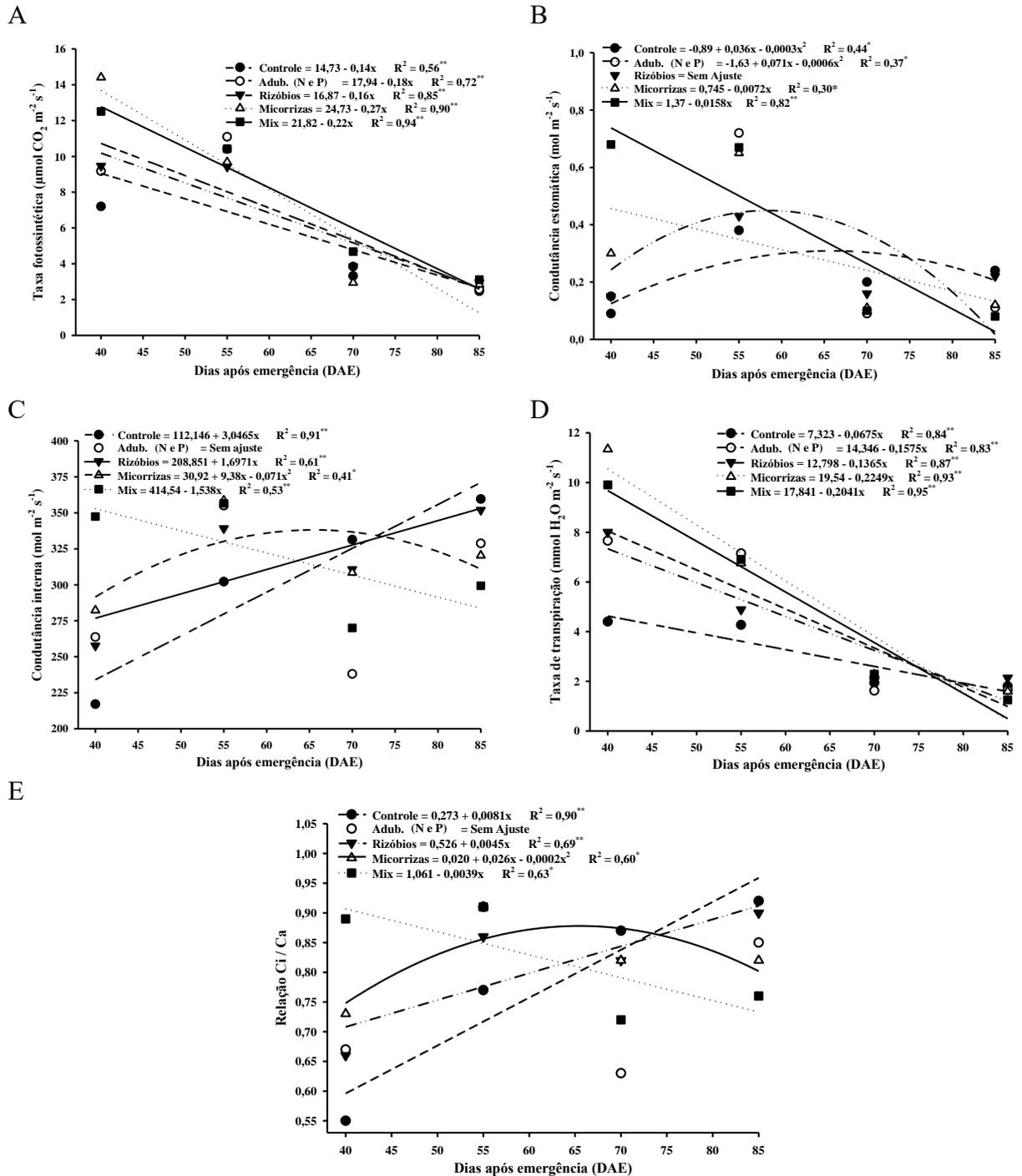
		<i>A</i>	<i>gs</i>	<i>CO</i> <sub>2</sub>	<i>E</i>	<i>Ci/Ca</i>
Tratamentos	Controle	6,16 b	0,22 b	295,10 a	3,27 c	0,76 a
	Asub. (N e P)	6,66 b	0,27 b	296,37 a	4,52 b	0,76 a
	Rizóbios	6,56 b	0,24 b	312,19 a	4,44 bc	0,80 a
	Micorriza	8,86 a	0,30 b	310,35 a	6,66 a	0,80 a
	Mix	8,80 a	0,45 a	325,08 a	6,20 a	0,84 a
Épocas	I	11,14	0,33	282,74	8,71	0,72
	II	10,21	0,56	340,80	5,93	0,87
	III	3,73	0,13	291,72	2,03	0,77
	IV	2,78	0,15	332,04	1,68	0,85
ANOVA <sub>(FV)</sub>		----- F -----				
Trat. Inoculação (I)		18,720**	9,946**	2,481*	22,604**	2,450*
Épocas de Coletas (E)		248,117**	47,387**	16,750**	171,103**	14,409**
I x E		4,899**	7,542**	6,792**	3,219**	6,868**
C. V. (%)		19,67	48,50	12,43	28,08	12,61

<sup>1</sup> ns; \*\* e \*: Não significativo; significativo a 1 e 5 % de probabilidade, respectivamente. *A* – μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>; *gs* - mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>; *E* - mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. *Ci* - μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>; concentração interna/externa de CO<sub>2</sub> (*Ci/Ca*).

A análise de regressão para os dados das trocas gasosas (Figura 10) indica que a taxa fotossintética e a transpiração diminuíram ao longo das quatro épocas de avaliação, ajustando-se a modelos lineares decrescente em todos os tratamentos.

Os efeitos de diminuição foram ainda mais pronunciados nos tratamentos com Micorrizas e Mix, nesses a taxa fotossintética passou de cerca de 12 para menos de 4 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e a transpiração, de cerca de 11 para menos de 3 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, ao longo do período de avaliação, enquanto nos demais tratamentos essa diminuição foi menos acentuada.

Figura 10 - Fotossíntese líquida (A), condutância estomática (B) condutância interna (C) taxa de transpiração (D) e relação Ci/Ca (E) em plantas de sabiá em função da interação entre tratamentos com inoculação de dias após a emergência



A diminuição nas taxas fotossintética e de transpiração pode se dar tanto em função do efeito adverso causado pela contaminação com o Mn, como também devido a diminuição natural da atividade bioquímica e fisiológica que ocorrem ao longo do crescimento das mudas (TAIZ et al., 2017).

Como as plantas dos tratamentos Micorrizas e Mix estavam mais desenvolvidas, acabaram sofrendo mais com os efeitos danosos causados pela contaminação com o Mn. Destaca-se que os tratamentos Micorrizas e Mix apresentavam, respectivamente, reduções de 0,27 e 0,22  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  de taxa fotossintética, e 0,22 e 0,20  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  de transpiração a cada dia após a emergência. Conforme os modelos ajustados para esses parâmetros e em termos proporcionais aos valores máximo e mínimo encontrados.

A diminuição da fotossíntese e da transpiração acompanharam a redução da condutância estomática, exceto para os tratamentos Controle e Adubação (N e P), demonstrando que essas taxas foram fortemente governadas e limitadas por fatores difusionais, fato que está relacionado às resistências estomática e mesofílica que o  $\text{CO}_2$  encontra à sua difusão, desde a atmosfera, passando pelos espaços intercelulares, até atingir os sítios de carboxilação no estroma cloroplastídico (FLEXAS et al., 2008). Contudo, o tratamento controle e adubação (N e P) apresentaram variações em relação aos demais para a condutância estomática, mostrando crescimento inicial até por volta dos 60 DAE, seguido de decréscimo até o final do ciclo.

As aberturas estomáticas microscópicas proporcionam uma rota de baixa resistência para o movimento de difusão de gases através da epiderme e da cutícula foliar e, quando ocorre um evento de estresse como a contaminação por Mn, por exemplo, as folhas manifestam alta resistência estomática, o que é importante para restringir e regular a perda de água pela planta e para o controle da taxa de absorção de dióxido de carbono, necessária à fixação continuada de  $\text{CO}_2$  durante a fotossíntese (TAIZ et al., 2017). Além disso, o fechamento dos estômatos pode estar relacionado a uma estratégia das plantas para tolerarem as altas concentrações de Mn no solo.

Os resultados para a taxa de transpiração em todos os tratamentos mostraram-se semelhantes aos da taxa fotossintética ajustando-se a modelos lineares decrescentes ao longo das épocas de avaliação. Esses dois parâmetros, na maioria dos casos, costumam caminhar juntos, uma vez que, de acordo com Ferraz et al. (2012), o rendimento fotossintético depende da taxa de transpiração. De forma geral, com o fechamento dos estômatos, a difusão do  $\text{CO}_2$  juntamente com o efluxo de vapor de água é diminuída, resultando em menores taxas de transpiração (ZEIST et al., 2018).

Outro fator que pode ter levado a diminuição da taxa fotossintética e da transpiração é a redução no conteúdo de clorofila nas folhas das plantas, resultado do aumento do grau de estresse devido a toxicidade do Mn, causando diminuição na densidade de cloroplastos e, assim, clorose foliar (SILVA et al., 2015).

Para a condutância estomática (Figura 10B) os dados dos tratamentos Mix e Micorrizas também se ajustaram a modelos de regressão lineares negativos, diminuindo ao longo das quatro épocas de avaliação; o tratamento com Rizóbios não se ajustou aos modelos testados, logo, a Adubação (N e P) e o Controle ajustaram-se a modelos quadráticos, com resposta máxima estimada de  $0,47 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  aos 59 DAE e  $0,19 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  aos 60 DAE, respectivamente. Conforme Silva et al. (2015), as trocas gasosas nas plantas superiores são controladas, principalmente, pelo mecanismo de abertura e fechamento estomático (controle difusional), dessa maneira, o desbalanço nutricional devido as altas concentrações de Mn e a clorose foliar causada pelo estresse da contaminação prejudicam o influxo de  $\text{CO}_2$  e o efluxo de vapor de água pela folha, diminuindo a condutância estomática.

Essa diminuição pode ter ocorrido para a manutenção do ajuste osmótico na planta, como parte do processo de tolerância a qualquer estresse presente (OLIVEIRA et al., 2019), sendo este um mecanismo primário de defesa.

Para o parâmetro concentração interna de  $\text{CO}_2$ , o comportamento foi variável entre os tratamentos, a Adubação (N e P) não apresentou ajuste aos modelos testados, o Mix e Micorrizas ajustaram-se a modelos linear decrescente e quadrático, respectivamente, enquanto que, o tratamento com Rizóbios e o Controle cresceram linearmente ao longo do tempo. No entanto, se o controle do processo fotossintético houvesse sido somente difusional, o esperado seria um comportamento semelhante ao que ocorreu para a condutância estomática, fotossíntese e transpiração, isto é, diminuição ao longo do período experimental. O comportamento diferente do esperado, no caso de controle difusional, indica que, supostamente, a fotossíntese foi também afetada por uma limitação bioquímica. Nessa situação, a assimilação de  $\text{CO}_2$  pela enzima Rubisco (ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase) é prejudicada, ocorrendo o aumento de  $\text{CO}_2$  na câmara de carboxilação, mas não é assimilado pela enzima, essa é uma possibilidade para a ocorrência do aumento de  $\text{CO}_2$  interno, em detrimento da diminuição da taxa fotossintética e da transpiração.

Conforme Taiz et al. (2017), para a ocorrência da fotossíntese o  $\text{CO}_2$  precisa difundir-se do interior da folha para o sítio de carboxilação da Rubisco e essa difusão depende tanto do gradiente de  $\text{CO}_2$  na folha, quanto de resistências ao longo da rota de difusão deste, por se tratar de mais de uma, as resistências aparecem em pontos variados do mesofilo foliar e impõem muita limitação a fotossíntese. Dentre essas resistências destacam-se a resistência da camada limítrofe, a estomática, a dos espaços intercelulares e a do mesofilo, todas limitando a etapa bioquímica da fotossíntese.

Em condições de estresse abiótico, a capacidade fotossintética da planta é limitada pela concentração de CO<sub>2</sub> que chega ao local de carboxilação e ao aproveitamento enzimático, além disso, nesses casos as resistências a difusão se pronunciam de forma mais acentuada, especialmente em plantas C3, que não apresentam separação entre a fixação inicial de CO<sub>2</sub> e o ciclo de Calvin (GALMÉS *et al.*, 2017). Estes mesmos autores constataram que a concentração de CO<sub>2</sub> que prevalece dentro de folhas é dependente, principalmente, das condutâncias estomática e interna e que as condições do ambiente impulsionam modificações cinéticas na Rubisco, alterando as taxas de assimilação do CO<sub>2</sub>. Ainda no trabalho de Galmés *et al.* (2017), foi verificada relação negativa entre o CO<sub>2</sub> no interior dos cloroplastos e a assimilação deste, enquanto o CO<sub>2</sub> aumentou, a assimilação pela Rubisco diminuiu, comportamento semelhante ao observado nesse trabalho.

Os efeitos de tratamentos contendo FMA ou associação de FMA + Rizóbios (Mix) podem também interferir nas trocas gasosas promovendo variações na taxa fotossintética e/ou na dinâmica do CO<sub>2</sub> no processo fotossintético. Chen *et al.* (2017), usando três associações de FMA em mudas de pepino, concluíram que a taxa fotossintética e a transpiração foram maiores nos tratamentos com inoculações microbianas do que no controle, enquanto para a condutância interna de CO<sub>2</sub>, não houve diferença entre os tratamentos. Isso mostra que a condutância interna de CO<sub>2</sub> é muito dependente das condições do meio e da dinâmica da enzima Rubisco.

Como as plantas inoculadas nos tratamentos Mix e as Micorrizas foram as que apresentaram maior tamanho (Tabela 5), também foram as que mais manifestaram sintomas de estresse no período final do experimento. Silva *et al.* (2019) retratam que isso é absolutamente normal e ocorre, provavelmente, devido à menor difusão de CO<sub>2</sub> na câmara subestomática, em consequência do fechamento dos estômatos nas plantas com maior porte.

Em condições normais, quando não há estresse nas plantas, a concentração interna de CO<sub>2</sub> tende a ser diretamente correlacionada com o rendimento fotossintético (ZEIST *et al.*, 2017), mas isso não ocorreu para os tratamentos Mix e Micorrizas, embora para este último o decréscimo no CO<sub>2</sub> interno só tenha vindo ocorrer após os 66 DAE, com base na equação. Tal comportamento pode ter ocorrido em decorrência da causa já supracitada. Os demais tratamentos satisfizeram a situação prevista pelo autor acima.

Para a relação entre as concentrações interna e externa de carbono (C<sub>i</sub>/C<sub>a</sub>), os tratamentos comportaram-se de forma contrastante, enquanto o tratamento com Rizóbios e o Controle aumentaram ao longo do período de avaliação, o com Micorrizas e o Mix diminuiram.

Contudo, os resultados, de maneira geral, não apresentaram grande amplitude, variando de cerca de 0,6 a 0,9. Os valores da razão  $C_i/C_a$  para o tratamento Mix diminuiu de 0,92 até cerca de 0,75, o tratamento Micorrizas apresentou valor máximo estimado da razão  $C_i/C_a$  de 0,86 aos de 65 DAE.

O tratamento controle foi o que apresentou razão  $C_i/C_a$  mais baixa no início das avaliações, aumentando de cerca de 0,58 para 0,95 ao final do experimento. A relação negativa entre os comportamentos dos tratamentos Mix versus Controle e Rizóbios pode ter se dado, sobretudo, devido ao maior tamanho que as plantas do tratamento Mix apresentaram, assim, estas desencadeiam reações fisiológicas de proteção de modo a diminuir a condutância interna e a transpiração e, como consequência, menor razão  $C_i/C_a$  é evidenciada. Mesmo com o comportamento variável entre os tratamentos, segundo Farquhar *et al.* (1989), os valores encontram-se dentro de uma faixa considerada normal, uma vez que plantas C3 crescendo em condições adequadas de desenvolvimento apresentam razão  $C_i/C_a$  em torno de 0,7.

A razão  $C_i/C_a$  é um bom indicador da limitação estomática da fotossíntese, sendo que em condições ambientais favoráveis, esta razão tende a permanecer constante para um grande número de espécies (EHLERINGER; CERLING, 1995). Conforme Lemos *et al.* (2012), quando as condições favorecem a diminuição da condutância estomática, a manutenção da taxa fotossintética só é possível com a fixação interna de carbono mais eficiente no mesófilo foliar. De maneira geral, sob condições de estresse, as plantas exibem uma redução da razão  $C_i/C_a$ , quando em comparação com as plantas sob condições de controle (LEMOS *et al.*, 2012). Desse modo, é possível que esse fator tenha sido responsável pelos valores de  $C_i/C_a$  encontrados nesse trabalho.

## 7 CONCLUSÕES

A dupla inoculação (micorrizas + rizóbios) favorece a tolerância e o estabelecimento de sabiá (*M. caesalpiniaefolia* Benth.) em solos de áreas degradadas pela mineração de manganês.

A inoculação de micorrizas + rizóbios favorece o balanço de nutrientes na planta e melhora o aproveitamento de N e P em solos com elevados teores de Mn.

A micorrização favorece a formação de nódulos e conseqüentemente a fixação biológica de nitrogênio.

A adubação fosfatada e/ou nitrogenada deve ser levada em consideração para não limitar o potencial dos micro-organismos na revegetação de áreas degradadas pela mineração.

O IQD confirma que a dupla inoculação (micorrizas + rizobios) favoreceu a qualidade das mudas produzidas.

Os tratamentos com inoculações Micorrizas e Mix, potencializam alterações morfológicas e fisiológicas nas plantas desencadeando maior tolerância as altas concentrações de manganês no solo.

A dupla inoculação (micorrizas + rizóbios) potencializa o fechamento estomático favorecendo o sistema de defesa da planta.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, M. G. P. **Tolerância e eficiência de rizóbios nativos de área de mineração de manganês no desenvolvimento de leguminosas**. 2018. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.
- ALAM, S.; KAMEI, S.; KAWAI, S. Amelioration of manganese toxicity in barley with iron. **Journal of Plant Nutrition**, [s.l.], v. 24, p. 1421-1433, 2001.
- ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications. **Chemosphere**, [s.l.], v. 91, p. 869-881, 2013.
- ALMEIDA, A. B. **Caracterização químico-mineralógica de minérios de manganês**. 2010. 87 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Minas) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2010.
- ALMEIDA, A. F.; RAYMUNDO-JÚNIOR, O. Crescimento de mudas de *Anadenanthera falcata*, em casa-de-vegetação, inoculadas com rizóbio e micorrizas. **Holos Environment**, [s.l.], v. 6, p. 22-30, 2006.
- ALMEIDA, A. A. F., VALLE, R. R., MIELKE, M. S., GOMES, F. P. Tolerance and prospection of phytoremediator woody species of Cd, Pb, Cu and Cr. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 19, p. 83-98, 2007.
- ALMEIDA, R. T; VASCONCELOS, I.; NESS, R. L. L. Infecção micorrízica vesículo-arbuscular e nodulação de leguminosas arbóreas do Ceará, Brasil. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 17, p. 89-97, 1986.
- AMIR, H.; LAGRANGE, A.; HASSAÏNE, N.; CAVALOC, Y. Arbuscular mycorrhizal fungi from New Caledonian ultramafic soils improve tolerance to nickel of endemic plant species. **Mycorrhiza**, [s.l.], p. 585-595, 2013.
- BAGO, B. Putative sites for nutrient uptake in arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, [s.l.], v.226, p. 263-274, 2000.
- BAI, B.; SURI, V. K.; KUMAR, A.; CHOUDHARY, A. K. Tripartite symbiosis of *Pisum*–*Glomus*–*Rhizobium* leads to enhanced productivity, nitrogen and phosphorus economy, quality, and biofortification in garden pea in a Himalayan acid Alfisol. **Journal of Plant Nutrition**, [s.l.], v. 40, p. 600-613, 2016.
- BALAGUER, A. L.; ESCUDERO, A.; MARTÍN-DUQUEEC, J. F.; MOLA, G.; ARONSON, J. The historical reference in restoration ecology: Re-defining a cornerstone concept. **Biological Conservation**, [s.l.], v. 176, p. 12-20, 2014.
- BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **Elementos da natureza e propriedades dos solos**. 3.ed. Porto Alegre: Bookman, 2013. 704 p.

- BULGARELLI, R. G.; MARCOS, F. C. C.; RIBEIRO, R. V.; ANDRADE, S. A. L. Mycorrhizae enhance nitrogen fixation and photosynthesis in phosphorusstarved soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Environmental and Experimental Botany**, [s.l.], v. 140, p. 26-33, 2017.
- CABRAL, L.; SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S.; PINTO, J. E. B. P. Retenção de metais pesados em micélio de fungos micorrízicos arbusculares. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, p. 25-29, 2010.
- CALDEIRA, M. V. W.; DELARMELINA, W. M.; LÜBE, S.G.; GOMES, D. R.; GONÇALVES, E. O.; ALVES, A. F. Biossólido na composição de substrato para a produção de mudas de *Tectona grandis*. **Floresta**, Curitiba v. 42, p. 77-84, 2012.
- CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**, Piracicaba, 2012. 113 p.
- CHANDRA, R.; KANG, H. Mixed heavy metal stress on photosynthesis, transpiration rate, and chlorophyll content in poplar hybrids. **Forest Science and Technology**, [s.l.], v. 12, p. 55-61, 2016.
- CHEN, J.; LIUA, Y. Q.; YANC, X. W.; WEIC, G. H.; ZHANG, J. H.; FANGA, L. C. Rhizobium inoculation enhances copper tolerance by affecting copper uptake and regulating the ascorbate-glutathione cycle and phytochelatin biosynthesis-related gene expression in *Medicago sativa* seedlings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], v. 162, p. 312-323, 2018.
- CHEN, S.; ZHAO, H.; ZOU, C.; LI, Y.; CHEN, Y.; WANG, Z.; JIANG, Y.; LIU, A.; ZHAO, P.; WANG, M.; AHAMMED, G. J. Combined Inoculation with Multiple Arbuscular Mycorrhizal Fungi Improves Growth, Nutrient Uptake and Photosynthesis in Cucumber Seedlings. **Frontiers in Microbiology**, [s.l.], v. 8, p.1-11, 2017.
- CIPRIANI, H. N. Arsenic toxicity in *Acacia mangium* Willd. and *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. Seedlings. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, [s.l.], v. 37, p. 1423-1430, 2013.
- CORNEJO, P.; MEIER, S.; SEGUEL, A.; DURÁN, P.; GARCÍA, S.; DURÁN, N.; BORIE, F. Contribution of Bradford-reactive soil protein to the copper sequestration in a Cu-polluted soil using *Oenothera picensis*. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Temuco v.17, p. 1-8, 2017.
- COUTINHO, H. D.; BARBOSA, A. R. Fitorremediação: considerações gerais e características de utilização. **Silva Lusitana**, [s.l.], v. 15, p. 103 -117, 2007.
- CUI, W.; GAO, C.; FANG, P.; LIN, G.; SHEN, W. Alleviation of cadmium toxicity in *Medicago sativa* by hydrogen-rich water. **Journal of Hazardous Materials**, [s.l.], v. 260, p. 715-724, 2013.
- D'AVILA, F. S.; PAIVA, H. N.; LEITE, H. G.; BARROS, N. F.; LEITE, F. P. Efeito do potássio na fase de rustificação de mudas clonais de eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, p. 13 - 19, 2011.
- DECHEN, A. R.; NACHTIGALL, G. R. Micronutrientes. In: FERNANDES, M.S. (Ed.).

**Nutrição mineral de plantas.** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 327-354.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **Forestry Chronicle**, Mattawa, v. 36, p. 10-13, 1960.

DONG, Y.; ZHU, Y. G.; SMITH, F. A.; WANG, Y. S.; CHEN, B. D. Arbuscular mycorrhiza enhanced arsenic resistance of both white clover (*Trifolium repens* Linn.) and ryegrass (*Lolium perene* L.) plants in an arsenic-contaminated soil. **Environmental Pollution**, [s.l.], v. 155, p. 174-181, 2008.

EHLERINGER, J. R.; CERLING, T. E. Atmospheric CO<sub>2</sub> and the ratio of intercellular to ambient CO<sub>2</sub> concentrations in plants. **Tree Physiology**, Victoria, v. 15, p. 105-111, 1995.

ELOY, E.; CARON, B. O.; SCHMIDT, D.; BEHING, A.; SCHWERS, L.; ELLI, E. F. Avaliação da qualidade de mudas de *Eucalyptus grandis* utilizando parâmetros morfológicos. **Floresta**, Curitiba, v. 43, p. 373 - 384, 2013.

FARQUHAR, G. D.; EHLERINGER, J. R.; HUBICK, K. T. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, [s.l.], v. 40, p. 503-537, 1989.

FERNANDES, M. S.; SOUZA, S. R.; SANTOS, L. A. **Nutrição mineral de plantas**. 2. Ed. Viçosa: SBCS, 2018.

FERNANDO, D. R.; MARSHALL, A. T.; FORSTER, P. I.; HAEBEE, S. E.; SIEGELE, R. Multiple metal accumulation within a manganese-specific genus. **American Journal of Botany**, [s.l.], v. 10, p. 690 -700, 2013.

FERRAZ, R. L. S.; MELO, A. S.; SUASSUNA, J. F.; RITO, M. E. B.; FERNANDES, P. D.; NUNES JUNIOR, E. S. Trocas gasosas e eficiência fotossintética em ecotipos de feijoeiro cultivados no semiárido. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.42, n. 2, p. 181-188, 2012.

FERREIRA, D. F. SISVAR: Um sistema de análise de computador para efeitos fixos projetos de tipo de partida dividida revista brasileira de biometria, [s.l.], v. 37, p. 529-535, 2019.

FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. L.; STANFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. S. **Microrganismo e Agrobiodiversidade: O Novo Desafio Para a Agricultura**. Guaíba: AGROLIVROS, 568 p. 2008.

FISCHER, W. W.; HEMP, J.; JOHNSON, J. E. Manganese and the evolution of photosynthesis **Manganese and Evolution of Photosynthesis**, [s.l.], v. 45, p. 351-357, 2015.

FLEXAS, J.; RIBAS-CARBÓ, M.; DIAZ-ESPEJO, A.; GALMÉS, J.; MEDRANO H. Mesophyll conductance to CO<sub>2</sub>: current knowledge and future prospects. **Plant, cell e environment**, [s.l.], v. 31, p. 602-621, 2008.

FOYER, C. H.; NGUYEN, H. T.; LAM, H. A seed change in our understanding of legume biology from genomics to the efficient cooperation between nodulation and arbuscular

mycorrhizal fungi. **Plant Cell Environ**, [s.l.], v. 41, p. 1949-1954, 2018.

FRANCO, A. A.; CAMPELLO, E. F.; SILVA, E. M. R da.; FARIA, S. M de. **Revegetação de solos degradados**. Seropédica: EMBRAPA-CNPAB, 1992. 11p (Comunicado Técnico).

FREI, M. Lignin: Characterization of a Multifaceted Crop Component. **The Scientific World Journal**, [s.l.], v. 201, p. 1-25, 2013.

GADD, G. M.; BAHRI-ESFAHANI, J.; LI, Q.; RHEE, Y. J.; WEI, Z.; FOMINA, M.; LIANG, X. Oxalate production by fungi: significance in geomycology, biodeterioration and bioremediation. **Fungal Biology Reviews**, [s.l.], v. 28, p. 36-55, 2014.

GAI, J.; GAO, W.; LIU, L.; CHEN, Q.; FENG, G.; ZHANG, J.; CHRISTIE, P.; LI, X. Infectivity and community composition of arbuscular mycorrhizal fungi from different soil depths in intensively managed agricultural ecosystems. **Journal of Soils and Sediments**, [s.l.], v. 15, p. 1200-1211, 2015.

GALMÉS, J. et al. Coordination between leaf CO<sub>2</sub> diffusion and Rubisco properties allows maximizing photosynthetic efficiency in *Limonium* species. **Plant, Cell e Environment**, [s.l.], v. 40, p. 2081-2094, 2017.

GARCIA, K. G. V, GOMES, V. F. F. ALMEIDA, A. M. M. MENDES FILHO, P. F. Micorrizas arbusculares no crescimento de mudas de sabiá em um substrato proveniente da mineração de manganês. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 11, p. 15-20, 2016.

GARCIA, K. G. V. **Desenvolvimento de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. colonizada com micorrizas arbusculares em solos degradados por mineração de Mn**. 2015. 66 f. Dissertação (Programa de ciência do solo) - Universidade Federal do Céara, Fortaleza, 2015.

GARCIA, K. G. V. **Potencial de leguminosas colonizadas por micorrizas arbusculares para revegetação de áreas de mineração de manganês**. 2019, 107 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

GARCIA, K. G. V.; GOMES, V. F. F.; MENDES FILHO, P. F.; MARTINS, C. M.; ALMEIDA, A. M. M. A.; SILVA JÚNIOR, J. M. T. Tolerância de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. associada a micorrizas arbusculares em substrato da mineração de manganês, **Revista de Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 60, p. 247-255, 2017.

GERDEMANN, J. W.; NICHOLSON, T. H. Spores of mycorrhizae Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, [s.l.], v. 46, p. 235-244, 1963.

GHIORSE, W. C. Biology of iron and manganese-depositing bacteria. **Annual Review of Microbiology**, [s.l.], v. 38, p. 515-550, 1984.

GONÇALVES, E. O.; PAIVA, H. N.; NEVES, J. C; GOMES, J. M. Nutrição de mudas de *Mimosa Caesalpiniaefolia* Benth. sob diferentes doses de N, P, K, Ca e Mg. **Ciência Florestal**, Santa Maria v. 23, p. 273-286, 2013.

- GONZÁLEZ-CHAVÉZ, M. C.; CARRILLOGONZÁLEZ, R.; WRIGHT, S.F.; NICHOLS, K.A. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. **Environmental Pollution**, [s.l.], v. 130, p. 317-323, 2004.
- GRACE, C.; STRIBLEY, D. P. A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Mycological Research**, [s.l.], v. 95, p. 1160-1162, 1991.
- GROSS, E.; CORDEIRO, L.; CAETANO, F. H. Nodulação e micorrização em *anadenanthera peregrina* var. *falcata* em solo de cerrado autoclavado e não autoclavado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [s.l.], v. 28, p. 95-101, 2004.
- GUEST, C. A.; SCHULZE, D. G.; THOMPSON, I. A.; HUBER, D. M. Correlating manganese X-ray absorption near-edge structure spectra with extractable soil manganese. **Soil Science Society of America Journal**, [s.l.], v. 66, p.1172-1181, 2002.
- GUPTA, R.; KUMAR, T.; MITTAL, A. Isolation, identification and characterization of heavy metal resistant bacteria from soil of an iron industry, haryana (India). **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, [s.l.], v.7, p.1308-1313. 2016.
- GURURANI, M. A.; VENKATESH, J.; TRAN, L. S. Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition **Molecular Plant**, [s.l.], v.8, p. 1304-1320, 2015.
- HABTE, M.; SOEDARJO, M. Response of *Acacia mangium* to vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation, soil pH, and soil P concentration in an oxisol. **Canadian Journal of Botany**, [s.l.], v. 74, p. 155-161, 1996.
- HAKALA, M.; RANTAMAKI, S.; PUPUTTI, E. M.; TYYSTJARVI, T.; TYYSTJARVI, E. Photoinhibition of manganese enzymes: insights into the mechanism of photosystem II photoinhibition. **Journal of Experimental Botany**, [s.l.], v. 57, n.8, p. 1809-1816, 2006.
- HARA, F. A. S.; OLIVEIRA, L. A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios de solos ácidos e álicos de presidente Figueiredo, Amazonas. **Acta amazônica**, [s.l.], v. 34, n. 2, p. 343-357. 2004.
- HASHEM, M. A.; NUR-A-TOMAL, M. S.; MONDAL, N. R.; RAHMAN, M. A. Hair burning and liming in tanneries is a source of pollution by arsenic, lead, zinc, manganese and iron. **Environmental Chemistry Letters**, [s.l.], v.15, n.3, p. 501-506, 2017.
- HOPPE, J. M.; SHUMACHER, M. V.; VIVIAN, J. A. C. V. **Efeitos de diferentes tipos de substrato e recipientes sobre o desenvolvimento pós-plantio da acácia negra (*Acacia mearnsii* de Willd)**. Santa Maria: CEPEF-FATEC, 2003. Cap. 6, p. 69. (Relatório Técnico).
- HRISTOZKOVA, M.; GENEVA, M.; STANCHEVA, I.; BOYCHINOVA, B.; DJONOVA, E. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in attenuation of heavy metal impact on *Calendula officinalis* development. **Applied Soil Ecology**, [s.l.], v. 101, p. 57-63, 2016.
- HUANG, Y. L.; YANG, S.; LONG, G. X.; ZHAO, Z. K.; LI, X. F.; GU, M. H. Manganese toxicity in sugarcane plantlets grown on acidic soils of southern. **Plos one**, [s.l.], v.11, p. 1-18,

2016.

HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S.; **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA, 1994. 552 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Manual de recuperação de áreas degradadas pela mineração: técnicas de revegetação**. Brasília: IBAMA; 1990. 96 p.

JESUS, E. da C.; SCHIAVO, J. A.; de FARIA, S. M. Dependência de micorrizas para a nodulação de leguminosas arbóreas tropicais. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 545-552, 2005.

JIN, Q. J.; ZHU, K. K.; CUI, W. T.; XIE, Y. J.; HAN, B.; SHEN, W. B. Hydrogen gas acts as a novel bioactive molecule in enhancing plant tolerance to paraquat-induced oxidative stress via the modulation of heme oxygenase signalling system. **Plant Cell Environ**, [s.l.], v. 36, p. 956-969, 2013.

KALAJI, H. M.; CARPENTIER, R.; ALLAKHVERDIEV, S. I.; BOSA, K. Fluorescence parameters as early indicators of light stress in barley. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, [s.l.], v.112, p. 1-6, 2012.

KALDORF, M.; KUHN, A. J.; SCHRÖDER, W. H.; HILDEBRANDT, U.; BOTHE, H. Selective Element Deposits in Maize Colonized by a Heavy Metal Tolerance Conferring Arbuscular Mycorrhizal Fungus. **Journal of Plant Physiology**, [s.l.], v.159, p. 718-728, 1999.

KELLER. C. E.; RIZWAN. M; DAVIDIAN. J. C; POKROVSKY. O. S; BOVET. N; CHAURAND. P; MEUNIER. J. D. Effect of silicon on wheat seedlings (*Triticum turgidum* L.) grown in hydroponics and exposed to 0 to 30 IM Cu. **Planta**, [s.l.], v. 241, n. 4, p. 847-860, 2015.

KOHNO, Y.; FOY, C. D. Manganese toxicity in bush bean as affected by concentration of manganese and iron in the nutrient solution. **Journal of Plant Nutrition**, [s.l.], v. 6, p.363-386, 1983.

KONG, Z. Y.; GLICK, B. R.; DUAN, J.; DING, S.; TIAN, J.; MCCONKEY, B. J.; WEI, G. H. Effects of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase-overproducing *Sinorhizobium meliloti* on plant growth and copper tolerance of *Medicago lupulina*. **Plant and Soil**, [s.l.], v. 391, p. 383-398, 2015.

KOSKE, R. E.; GEMMA, J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycological Research**, [s.l.], v. 92, n. 4, p. 468-488, 1989.

LAVRES JUNIOR, J.; REIS, A. R.; ROSSI, M. L; CABRAL, C. P.; NOGUEIRA, N. L.; MALAVOLTA, E. Changes in the ultrastructure of soybean cultivars in response to manganese supply in solution culture. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 67, n.3, p. 287-294, 2008.

LEAL, J. V.; ALVES, E. U.; BRUNO, R. de L. A. PEREIRA. W. E.; ALVES, A. U.; GALINDO, E. A.; ALVES, A. U. Épocas de colheita e tratamentos prégerminativos para

superação da dormência de sementes de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 32, n. 2, p. 203-210, 2008.

LEMOS, J. P.; GALVÃO, J. C. C.; SILVA, A. A.; FONTANETTI, A.; CORRÊA, M. L. P.; CECON, P. R. Morphophysiology of corn plants in competition with Picão-Preto and Trapoeraba submitted to clearings. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 487-496, 2012.

LIANG, Q.; WANG, Q.; GAO, C.; WANG, Z.; QI, Q. The effect of cyclodextrins on the ethanol tolerance of microorganisms suggests potential application. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, [s.l.], v. 38, p. 753–756. 2011.

LIMA, K. D. R.; CHAER, G. M. C.; ROWS, J. R. C. R.; VANDER MENDONÇA, V.; RESENDE, A. S. Seleção de espécies arbóreas para revegetação de áreas degradadas por mineração de piçarra na caatinga. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 28, n. 1, p. 203-213, 2015.

LIU, K.; FRAN, L.; LI, Y.; ZHOU, Z.; CHEN, C.; CHEN, B.; YU, F. Concentrations and health risks of heavy metals in soils and crops around the Pingle manganese (Mn) mine area in Guangxi Province. **Environmental Science and Pollution Research**, [s.l.], v. 25, p. 30180-30190, 2018.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. 2. ed. Fortaleza: Printcolor Gráfica e Editora, 2012. 413p.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Ceres, 1980, 251 p.

MALAVOLTA, E. **Manual de Nutrição Mineral de Plantas**. 1. ed. São Paulo: Agronômica Ceres Ltda, 2006, 638p.

MALEKI, M.; GHORBANPOUR, M.; KARIMAN, K. Physiological and antioxidative responses of medicinal plants exposed to heavy metals stress. **Plant Gene**, [s.l.], v.11, p. 247-254, 2017.

MARQUES, M. S.; PAGANO, M.; SCOTTI, M. R. M. M. L. Dual inoculation of a woody legume (*Centrolobium tomentosum*) with rhizobia and mycorrhizal fungi in south-eastern Brazil. **Agroforestry Systems**, [s.l.], v. 52, n. 2, p. 107-117, 2001.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3.ed. Amsterdam, Netherlands: Elsevier/ Academic Press, 2012. 688 p.

MCGONIGLE, T. P.; MILLER, M. H.; EVANS, D. G.; FAIRCHILD, G. L.; SWAN, J. A. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, [s.l.], v. 115, p. 495-501, 1990.

MENDES, M. M. C. Crescimento e sobrevivência de mudas de Sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) inoculadas com micro-organismos simbiotes em condições de campo. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, n. 2, p. 309-320, 2013.

MILLALEO, R.; REYES-DÍAZ, M.; IVANOV, A. G.; MORA, M. L.; ALBERDI, M. Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance

mechanisms. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Temuco, v.10, n. 10, p. 470-481, 2010.

MOHAN, J. E.; COWDEN, C. C.; BAAS, P.; DAWADI, A.; FRANKSON, P. T.; HELMICK, K.; HUGHES, E.; KHAN, S.; LANG, A.; MACHMULLER, M. Mycorrhizal fungi mediation of terrestrial ecosystem responses to global change: mini-review. **Fungal Ecology**, [s.l.], v. 10, p. 3-19, 2014.

MORA, M. L.; CARTES, P.; DEMANET, R.; CORNFORTH, I. S. Effects of lime and gypsum on pasture growth and composition on an acid Andisol in Chile, South America. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, [s.l.], v. 33, p. 2069-2081, 2002.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006.

MOU, D.; YAO, Y.; YANG, Y.; ZHANG, Y.; TIAN, C.; ACHAL, V. Plant high tolerance to excess manganese related with root growth, manganese distribution and antioxidative enzyme activity in three grape cultivars. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], v. 74, n.4, p. 776-786, 2011.

NOGUEIRA, M. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Interações microbianas na disponibilidade e absorção de manganês por soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 11, p. 1605- 1612, 2002.

NOGUEIRA, N. O.; OLIVEIRA, O. M.; MARTINS, C. A. S.; BERNARDES, C. O. Utilização de leguminosas para recuperação de áreas degradadas. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 8, n. 11, p. 21- 22, 2012.

SOARES, C. R. F. S.; SIQUEIRA, J. O.; CARVALHO, J. G. DE.; GUILHERME, L. R. G. Nutrição fosfática e micorriza arbuscular na redução da toxicidade de cádmio em trema (*Trema micranta* (L.) Blum. **Revista Árvore**, Viçosa, v.31, n.5, p. 783-792, 2007.

OLIVEIRA, A. S. L. de.; SOUZA, E. S. de.; PESSOA, L. G. M.; FERREIRA-SILVA, S. L.; SOUZA, R. M. S.; ANTONINO, A. C. D. Growth and photosynthetic efficiency of *Atriplex nummularia* under different soil moisture and saline tailings. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.32, n. 2, p. 493-505, 2019.

ÖPIK, M.; DAVISON, J. Uniting species and community oriented approaches to understand arbuscular mycorrhizal fungal diversity. **Fungal Ecology**, [s.l.], v. 24, p. 1-8, 2016.

PAJUELO, E.; RODRÍGUEZ-LLORENTE, I. D.; LAFUENTE, A.; CAVIEDES, M. A. Legume–rhizobium symbioses as a tool for bioremediation of heavy metal polluted soils. In: Khan, M.S., Zaidi, A., Goel, R., Musarrat, J. (Ed.), *Biomanagement of Metal Contaminated Soils*. **Springer Netherlands**, 2011. p. 95-123.

PAN, G.; LIU, W.; ZHANG, H.; LIU, P. Morphophysiological responses and tolerance mechanisms of *Xanthium strumarium* to manganese stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], v. 165, p. 654-661, 2018.

PATIL, D, S.; CHAVAN, S. M.; OUBAGARANADIN, J. U. K. A review of technologies for

manganese removal from wastewaters. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [s.l.], v. 4, n.1, p. 468-487, 2016.

PEREIRA, A. A.; BORGES, J. D.; LEANDRO, W. L. Metais pesados e micronutrientes no solo e em folhas de *Brachiaria decumbens* às margens de rodovias. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 3, p. 207-217, 2010.

PEREIRA, E. L. **Influência do glifosato na sorção do manganês em diferentes solos**. 2009. 74 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2009.

PEREIRA, S.; MURCHA, A.; GONÇALVES, B.; BACELAR, E.; LÁTR, A.; FERREIRA, H.; OLIVEIRA, I. ROSA, E.; MARQUES, G. Improvement of some growth and yield parameters of faba bean (*Vicia faba*) by inoculation with *Rhizobium laguerreae* and arbuscular mycorrhizal fungi. **Crop and Pasture Science**, [s.l.], v.70, n. 7, p. 595-605, 2019.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, [s.l.], v. 55, n. 1, p. 158-161, 1970.

PIROZYNSKI, K. A. Interactions between fungi and plants throughout the ages. **Canadian Journal of Botany**, [s.l.], v. 59, p. 1824-1827, 1981.

PÜSCHEL, D.; JANOUŠKOVÁ, M.; VOŘÍŠKOVÁ, A.; GRYNDLEROVÁ, H.; MIROSLAV VOSÁTKA, M.; JANSKA, J. Arbuscular Mycorrhiza Stimulates Biological Nitrogen Fixation in Two *Medicago* spp. through Improved Phosphorus Acquisition. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 8, p. 1-12, 2017.

REDECKER, D.; SCHUBLER, A. STOCKINGER, H.; STÜRMER, S. L.; MORTON, J. B.; WALKER, C. An evidence based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomeromycota*). **Mycorrhiza**, [s.l.], v. 23, p. 515-531, 2013.

RIVERA-BECERRIL, F.; CALANTZIS, C.; TURNAU, K.; CAUSSANEL, J-P.; BELIMOVA, A.; GIANINAZZI, S.; STRASSER, R. J.; GIANINAZZI-PEARSON. Cadmium accumulation and buffering of cadmium-induced stress by arbuscular mycorrhiza in three *Pisum sativum* L. genotypes. **Journal of Experimental Botany**, [s.l.], v. 53, n. 371, p. 1177-1185, 2002.

RODRIGUES, J. L. G.; ARAUJO, C. F. S.; SANTOS, N. R. S.; BANDEIRA, M. J.; ANJOS, A. L. S.; CARVALHO, C. F.; LIMA, C. S.; ABREU, J. N.; MERGLER, D.; MENEZES FILHO, J. A. Airborne manganese exposure and neurobehavior in school-aged children living near a ferro-manganese alloy plant. **Environmental Research**, [s.l.], v. 118, p. 66-77, 2018.

ROJAS-LILLO, Y.; ALBERDI, M.; ACEVEDO, P.; INOSTROZA-BLANCHETEAU, C.; RENGEL, Z.; MORA, M. L.; REYES-DÍAZ, M. Manganese toxicity and UV-B radiation differentially influence the physiology and biochemistry of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) cultivars. **Functional Plant Biology**, [s.l.], v. 41, n.2, p. 156-167, 2014.

ROMANOWSKA, E.; WRÓBLEWSKA, B.; DROŻAK, A.; SIEDLECKA, M. High light intensity protects photosynthetic apparatus of pea plants against exposure to lead. **Plant**

**Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 44, p. 387-394, 2006.

ROSA, D. J.; AMBROSINI, V. G.; BRUNETTO, G.; SOARES, C. R. F. S.; PESCADOR, M. B. R. Parâmetros fisiológicos em videiras ‘Paulsen 1103’ (*Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares em solo contaminado com cobre. **Ciência Técnica Vitivinícola**, [s.l.], v. 31, p. 14-23, 2016.

RUFINO, G. M. **Biacumulação e translocação de manganês em *Sinapis Alba* e *Brassica Juncea* sob doses crescentes deste metal no solo: uma alternativa de fitorremediação**. 2006. 57f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade de Taubaté, Taubaté, 2006.

RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M. V.; NEVES, M. C. P.; MORGADO, L. B. **Feijão-caupi tem uma nova estirpe de rizóbio, BR 3267, recomendada como inoculante**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 15. Seropédica - RJ. 2006.

SÁ, T. C. L.; MARQUES, M.; SOARES, A. M.; GOMES, M. P.; MARTINS, G. Respostas fisiológicas e anatômicas de plantas jovens de eucalipto expostas ao cádmio. **Revista Árvore**, Viçosa, v.35, n. 5, p. 997-1006, 2011.

SANTANA, A. L. Economia Mineral do Brasil Manganês. **Departamento Nacional de Produção Mineral**, p. 117-128, 2009.

SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos.; OLIVEIRA, V. A. de.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A. de.; ARAUJO FILHO, J. C. de.; OLIVEIRA, J. B. de.; CUNHA, T. J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2018, 356 p.

SANTOS, E. F.; SANTINI, M. K.; PAIXÃO, A. P.; FURLANI JÚNIOR, E.; JOSÉ LAVRES, J.; CAMPOS, M. REIS, A. R. Physiological highlights of manganese toxicity symptoms in soybean plants: Mn toxicity responses. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v.113, p. 6-19, 2017.

SCHMIDT, S. B.; JENSEN P. E.; HUSTED, S. Manganese Deficiency in Plants: The Impact on Photosystem II. **Trends in Plant Science**, [s.l.], v.21, p. 622-632, 2016.

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 627 p. 2. Ed. Revisada e ampliada - Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

SILVA, F. G. da.; DUTRA, W. F.; DUTRA, A. F.; OLIVEIRA, I. M. de.; FILGUEIRAS, L. M. B.; MELO, A. S. de. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em plantas de berinjela sob lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.19, n.10, p. 946-952, 2015.

SILVA, G. C. O. e. **Influência da inoculação de fungos micorrízicos no desenvolvimento inicial de barueiro (*Dipteryx alata*)**. 2016. 78 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de São João del Rei, Sete Lagoas, 2016.

SILVA, M. L. S.; VITTI, G. G.; TREVIZAM, A. R.; Heavy metal toxicity in rice and soybean plants cultivated in contaminated soil. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n.2, p. 248-254, 2014.

- SIQUEIRA, J. O.; SAFIR, G. R.; NAIR, M. G. Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation and growth of white clover by flavonoid compounds. **New Phytologist**, [s.l.], v. 118, p. 87-93, 1991.
- SOARES, C. R. F. S.; SIQUEIRA, J. J.; CARVALHO, J. G.; GUILHERME, L. R. G. Nutrição fosfática e micorriza Arbuscular na redução da toxicidade de cádmio em trema [*Trema micranta* (L.) Blum.]. **Revista árvore**, Viçosa, v. 31, n. 5, p. 83-792, 2007.
- SOARES, C. R. F. S.; SIQUEIRA, J. O.; CARVALHO, J. G. de.; GUILHERME, R. G.; CARNEIRO, M. A. C. Micorrizas arbusculares na recuperação de áreas degradadas. In: Siqueira J. O.; SOUZA F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010. p. 441-474.
- SOUSA, F. A. de.; SILVA, E. M. R. da. Micorrizas Arbusculares na revegetação de áreas degradadas. In: SIQUEIRA, J.O. ed. **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1996. p. 255-290.
- SOUZA, E. P.; SILVA, I. F.; FERREIRA, L. E. Mecanismos de tolerância a estresses por metais pesados em plantas: tolerance mechanisms the stresses for heavy metals in plants. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 17, p. 67-173, 2011.
- SOUZA, S. C. R.; ANDRADE, S. A. L.; SOUZA, L. A. S.; SCHIAVINAT, M. A.; Lead tolerance and phytoremediation potential of Brazilian leguminous tree species at the seedling stage. **Journal of Environmental Management**, [s.l.], v. 110, p. 299-307, 2012.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.
- TAVARES, S. R. L.; FRANCO, A. A.; SILVA, E. M. R. Produção de mudas de sabiá *Mimosa Caesalpiniaefolia* benth noduladas e micorrizadas em diferentes substratos. **Holos**, [s.l.], v. 7, 231-241, 2016.
- TEDESCO, M. J. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 1. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995.
- TENG, Y.; WANG, X.; LI, L.; LI, Z.; LUO, Y. Rhizobia and their bio-partners as novel drivers for functional remediation in contaminated soils. **Frontiers Plant Science**, [s.l.], v. 6, p. 1-11, 2015.
- THAKUR, S.; SINGH, L.; WAHID, Z.; SIDDIQUI, M.; ATNAW, S.; MD DIN, M. Plant-driven removal of heavy metals from soil: uptake, translocation, tolerance mechanism, challenges, and future perspectives. **Environmental Monitor Assessment**, [s.l.], v. 188, p. 1-12, 2016.
- TUBA, Z.; SAXENA, D. K.; SRIVASTAVA, K.; SINGH, S.; CZEBOL, S.; KALAJI, H. M. Chlorophyll a fluorescence measurement for validating the tolerant bryophytes for heavy metal (Pb) biomapping. **Current Science**, [s.l.], v. 98, p. 1505-1508, 2010.
- VADEZ, V.; BECK, D. P.; LASSO, J. H.; DREVON, J. J. Utilization of the acetylene

reduction assay to screen for tolerance of symbiotic N<sub>2</sub> fixation to limiting P nutrition in common bean. **Physiologia Plantarum**, [s.l.], v. 99, p. 227-232, 1997.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, [s.l.], v. 255, p. 571-586, 2003.

VODNIK, D.; GRÈMANA, H.; MAÈEKA, I.; VAN ELTERENB, J. T.; KOVAÈEVIÈC, M. The contribution of glomalin related soil protein to Pb and Zn sequestration in polluted soil. **Science Total Environment**, [s.l.], v. 392, p. 130-136, 2008.

WENG, X. Y.; ZHAO, L. L.; ZHENG, C. J.; ZHU, J. W. Characteristics of the hyperaccumulator plant *Phytolacca acinosa* (phytolaccaceae) in response to excess manganese. **Journal of Plant Nutrition**, [s.l.], v 36, p. 1355-1365, 2013.

WU, Z.; MCGROUTHER, K.; HUANG, J.; WU, P.; WU, W.; WANG, H. Decomposition and the contribution of glomalin-related soil protein (GRSP) in heavy metal sequestration: Field experiment. **Soil Biology and Biochemistry**, [s.l.], v. 68, p. 283-290, 2014.

YANG, Y.; SONG, Y.; SCHELLER, H. V.; GHOSH. A.; BAN, Y, CHEN, H.; TANG, M. Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Robinia pseudoacacia* in uncontaminated and heavy metal contaminated soils. **Soil Biology and Biochemistry**, [s.l.], v. 86, p. 146-158, 2015.

ZEIST, A. R.; RESENDE, J. T. V.; SILVA, I. F. L.; OLIVEIRA, J. R. F.; FARIA, C. M. D. R.; GIACOBBO, C. L. Agronomic characteristics of tomato plant cultivar Santa Cruz Kada grafted on species of the genus Solanum. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.35, p. 419- 424, 2017.

ZEIST, A. R; ZANIN, D. S.; CAMARGO, C. K.; RESENDE. J. T.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Fruit yield and gas exchange in bell peppers after foliar application of boron, calcium, and Stimulate. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 36, p. 498-503, 2018.

ZHAO, J.; WANG, W.; ZHOU, H.; WANG, R.; ZHANG, P.; WANG, H.; PAN, X.; XU, J. Manganese toxicity inhibited root growth by disrupting auxin biosynthesis and transport in *Arabidopsis*. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 8, p. 272, 2017.