

11508 - Efeito da formononetina na esporulação de fungos micorrízicos arbusculares em solo contaminado com arsênio

Effect of formononetin on sporulation of arbuscular mycorrhizal fungi in soil contaminated with arsenic

SILVA PEREIRA, Letícia¹; GONÇALVES OLIVEIRA PRADO², Isabelle; LOPES LEAL, Patrícia³; SIQUEIRA, José Oswaldo⁴

¹Universidade Federal de Lavras, leticia.ufla@hotmail.com; ²Universidade Federal de Lavras, bellegoprado@gmail.com; ³Universidade Federal de Lavras, lealpat@yahoo.com.br; ⁴Universidade Federal de Lavras, siqueira@dcsl.ufla.br

Resumo: Neste trabalho avaliou-se o efeito do isoflavonóide formononetina como estimulante da esporulação de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em solos contaminados com Arsênio. Vasos de 500 mL receberam mistura de solo não contaminado e solo contaminado com As, oriundo de área de mineração, na proporção de 2:1. Os vasos contendo a mistura de solo receberam 400 mg kg⁻¹ solo de formononetina pura. As espécies de FMAs inoculadas foram *Glomus clarum*, *Gigaspora gigantea*, *Gigaspora albida* e *Acaulospora morrowie*. Como controle, foram utilizados vasos contendo a mistura de solo inoculado com FMAs na ausência de formononetina. Em vasos contendo formononetina foram registradas médias do número de esporos iguais a 203, 63, 65 e 31 para *G. clarum*, *G. albida*, *G. gigantea* e *A. morrowie*, respectivamente. Nos tratamentos controles, a esporulação foi menor em todas as espécies de FMAs avaliadas. Os resultados apontam que a formononetina foi eficiente na esporulação das espécies de FMAs testadas.

Palavras-chave: Arsênio, formononetina, fungos micorrízicos, recuperação ambiental.

Abstract: The objective of this study was to evaluate the effect of the isoflavone formononetin to stimulate the sporulation of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in soils contaminated with arsenic (As). Pots received 500 mL mixture of uncontaminated soil and contaminated soil with As, in a 2:1 ratio. The pots containing the mixture of soil received 400 mg kg⁻¹ soil of pure formononetin. The AMF species were inoculated *Glomus clarum*, *Gigaspora gigantea*, *Acaulospora morrowie* and *Gigaspora albida*. As a control, were used pots containing a mixture of soil inoculated with mycorrhizal fungi in the absence of formononetin. In pots containing formononetin were recorded average number of spores equal to 203, 63, 65 and 31 for *G. clarum*, *G. albida*, *G. gigantea* e *A. morrowie*, respectively. In control treatments, decreased the number of spores for all AMF species evaluated. The results suggest that formononetin was effective in sporulation of AMF species tested.

Key words: Arsenic, formononetin, mycorrhizal fungi, environmental recuperation

Introdução

Várias técnicas têm sido utilizadas visando a reabilitação de áreas contaminadas por elementos-traço, porém a mais vantajosa é a fitorremediação que consiste no uso de plantas e sua microbiota associada para absorver, transformar e remover poluentes do solo (ACCIOLY & SIQUEIRA, 2001). Esta técnica tem sido utilizada sem, no entanto,

dispensar maiores cuidados aos fatores que afetam a atividade dos microrganismos do solo, especialmente daqueles envolvidos na transformação dos poluentes ou na absorção destes pelas plantas remediadoras. Entre estes, e de interesse particular, estão os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) que atuam ampliando o sistema radicular das plantas, facilitando a absorção de água e nutrientes, favorecendo assim o estabelecimento das plantas e a ação filtrante e purificadora do solo (SAFIR et al., 1990).

Recentemente, tem sido estudado em várias partes do mundo, o envolvimento da simbiose micorrízica na redução da fitotoxidez de As. Estudos têm demonstrado que a maioria das plantas adaptadas a solos contaminados com As são geralmente associadas aos FMAs (GONZÁLEZ-CHAVEZ et al., 2002b; WANG et al., 2002; AGELY et al., 2005) e isto estaria relacionado com o aumento na aquisição de P pelas plantas micorrizadas (AHMED et al., 2006; CHEN et al., 2007). A tolerância de plantas micorrizadas a elementos-traço parece estar associada a fungos de crescimento rápido e que produzem grande massa de micélio, com constante renovação do mesmo, visto que a tolerância à planta hospedeira está associada ao acúmulo desses elementos no micélio fúngico (CHRISTIE et al., 2004).

A descoberta de substâncias que estimulam a colonização micorrízica, os isoflavonóides (SIQUEIRA et al., 1991a), abre nova perspectiva para a aplicação dos FMAs na reabilitação de áreas contaminadas por elementos-traço. Um produto comercial a base de formononetina sintética, denominado Myconate[®], tem se mostrado eficiente em aumentar a taxa de colonização micorrízica das plantas hospedeiras e, conseqüentemente, os benefícios da micorrização em situações de estresse (SIQUEIRA et al., 1991b), mas estudos envolvendo o emprego deste produto em solos contaminados por elementos-traço ainda são escassos no Brasil, no entanto acredita-se que o uso da formononetina pode facilitar a revegetação de solos com excesso de elementos-traço e que contenham propágulos viáveis de FMAs.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do isoflavonóide formononetina como estimulante da esporulação das espécies de fungos micorrízicos arbusculares *Glomus clarum*, *Gigaspora gigantea*, *Gigaspora albida* e *Acaulospora morrowie*, em solos contaminados com Arsênio (As).

Materiais e Métodos

Utilizaram-se vasos de 500 mL contendo mistura de solo não contaminado e solo contaminado com As, na proporção de 2:1. O solo contaminado utilizado para a mistura é oriundo de área de mineração de ouro, no Quadrilátero Ferrífero/MG. A formononetina (7 hidroxí, 4 metoxi-isoflavona) foi pesada e diluída em 1 L de água destilada obtendo-se uma solução com 5 mg L⁻¹ de formononetina. Os vasos contendo a mistura de solo receberam 130 mL dessa solução equivalente a 400 mg kg⁻¹ solo de formononetina pura. Cada vaso foi inoculado aplicando-se 5 mL de solo com 10 esporos mL⁻¹ de FMA. As espécies de fungos micorrízicos utilizadas neste estudo foram *Glomus clarum*, *Gigaspora gigantea*, *Gigaspora albida* e *Acaulospora morrowie*, pertencentes à coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia/DCS-UFLA. Adotou-se como planta hospedeira *Brachiaria decumbens*. Como controles, foram utilizados vasos contendo a mistura de solo inoculado com culturas puras dos diferentes FMAs, na ausência de formononetina. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação por 4 meses para multiplicação dos

fungos e após esse período foi avaliado o número de esporos de FMAs. Para cada tratamento, foram realizadas 5 repetições.

Resultados e Discussão

Foram observados efeitos da aplicação do isoflavonóide formononetina na esporulação de todas as espécies dos FMAs na presença de solo contaminado com As (Tabela 1) e esses efeitos variaram de acordo como os isolados testados. Na ausência de formononetina o número de esporos foi menor para todos os isolados, quando comparado ao tratamento com formononetina.

Tabela 1 – Efeito da formononetina na esporulação de FMAs

Tratamento	Número de esporos de FMAs*			
	<i>Glomus clarum</i>	<i>Gigaspora albida</i>	<i>Gigaspora gigantea</i>	<i>Acaulospora morrowie</i>
Com Formononetina	203	63	65	31
Sem Formononetina	145	42	32	17

*Média de 5 repetições

A maior esporulação, quando aplicada formononetina, foi registrada para *Glomus clarum* (203 esporos) representando aproximadamente 30% a mais do valor encontrado no tratamento sem o isoflavonóide. Dentre os isolados de FMAs, *Acaulospora morrowie* apresentou menor esporulação para ambos os tratamentos. Apesar do baixo número de esporos que esta espécie apresentou, a formononetina promoveu aumento de 43% da esporulação. Candido e Siqueira (2009) também observaram que o grau de esporulação variou entre as espécies de FMAs avaliadas e inclusive entre isolados geográficos da mesma espécie de FMAs. O efeito estimulante da formononetina parece se limitar a condições de baixo potencial de inóculo inicial (SIQUEIRA et al., 1991a). De maneira geral, o comportamento diferenciado de isolados específicos de FMAs tem sido encontrado onde a formononetina estimula algumas espécies de FMAs (Nair et al., 1991; Siqueira et al., 1991a, 1991b; Silva-Júnior & Siqueira, 1998), porém é necessário entender a relação do número de propágulos infectivos inicial com a resposta à aplicação de formononetina. Além disso, em alguns casos, a aplicação da formononetina pode apresentar-se como inibidora de *G. etunicatum*, *G. macrocarpum* (TSAI & PHILLIPS, 1991) e *G. rósea* (BÉCARD et al., 1992; CHABOT et al., 1992).

Embora o efeito da formononetina sobre os FMAs não seja generalizado, esse produto tem potencial para promover uniformização e aumento da produção de esporos. Como a densidade de esporos é geralmente baixa em solos contaminados com metais-traço a aplicação de produtos à base de formononetina pode contribuir para aumentar os benefícios dos FMAs no processo de recuperação ambiental por meio da técnica de fitorremediação.

De forma geral, pode-se concluir com esse trabalho que:

1. A aplicação da formononetina aumenta a esporulação dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em *Brachiaria decumbens*, e o efeito varia de acordo com o isolado fúngico.
2. O efeito da formononetina na esporulação é maior nos isolados de atividade mais baixa.
3. O uso da formononetina pode facilitar a revegetação de solos com excesso de metais pesados e que contenham propágulos viáveis de FMAs, sendo, portanto, de grande interesse tecnológico atual.
4. Avaliar o grau de colonização radicular pelos isolados de FMAs utilizados nesse trabalho será a próxima etapa deste estudo.

Bibliografia Citada

BAPTISTA, M.J.; SIQUEIRA, J.O. Efeito de favonóides na germinação de esporos e no crescimento assimbiótico do fungo micorrízico arbuscular *Gigaspora gigantea*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.6, p.127-134, 1994.

BÉCARD, G.; DOUDS, D.D.; PFEFFER, P.E. Extensive in vitro hyphal growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in the presence of CO₂ and favonols. **Applied and Environmental Microbiology**, v.58, p.821-825, 1992.

MOREIRA, F.M. de S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2.ed. atual. e ampl. Lavras: Ufa, 2006. 729p.

NAIR, M.G.; SAFIR, G.R.; SIQUEIRA, J.O. Isolation and identification of vesicular-arbuscular mycorrhiza stimulatory compounds from clover (*Trifolium repens*) roots. **Applied and Environmental Microbiology**, v.57, p.434-439, 1991.

SILVA-JÚNIOR, J.P. da; SIQUEIRA, J.O. Aplicação de formononetina sintética ao solo como estimulante da formação de micorriza no milho e na soja. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.9, p.33-39, 1997.

SILVA-JÚNIOR, J.P. da; SIQUEIRA, J.O. Colonização micorrízica e crescimento da soja com diferentes fungos e aplicação do isofavonóide formononetina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, p.953-959, 1998.

SIQUEIRA, J.O.; LAMBAIS, M.R.; STURMER, S.L. Fungos micorrízicos arbusculares: características, associação simbiótica e aplicação na agricultura. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.25, p.12-21, 2002.

SIQUEIRA, J.O.; SAFIR, G.R.; NAIR, M.G. Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation and growth of white clover by favonoid compounds. **New Phytologist**, v.118, p.87-93, 1991a.

SOUZA, F.A. de; TRUFEM, S.F.B.; ALMEIDA, D.L. de; SILVA, E.M.R. da; GUERRA, J.G.M. Efeito de pré-cultivos sobre o potencial de inóculo de fungos micorrízicos arbusculares e produção da mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, p.1913-1923, 1999.

TSAI, S.M.; PHILLIPS, D.A. Flavonoids released naturally from alfalfa promote development of symbiotic Glomus spores in vitro. **Applied and Environmental Microbiology**, v.57, p.1485-1488, 1991.