

SEÇÃO III - BIOLOGIA DO SOLO

FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM SOLOS DE ÁREA POLUÍDA COM METAIS PESADOS⁽¹⁾

O. KLAUBERG-FILHO⁽²⁾, J. O. SIQUEIRA⁽³⁾ & F. M. S. MOREIRA⁽³⁾

RESUMO

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) ocorrem de forma generalizada e formam importante simbiose com a maioria das plantas, mesmo em solos poluídos com metais pesados. Neste estudo, avaliaram-se a ocorrência e a diversidade dos FMAs em quatro locais com gramíneas em uma área de solo contaminado com metais pesados pela extração e industrialização do Zn. Verificou-se a ocorrência generalizada dos FMAs nos locais estudados, sendo esta influenciada pelas concentrações de metais no solo. Encontrou-se um total de 21 espécies, sendo: sete pertencentes ao gênero *Acaulospora*, seis de *Scutellospora*, cinco de *Glomus*, duas de *Gigaspora* e uma de *Entrophospora*. *Glomus occultum*, *Acaulospora morrowiae*, *Acaulospora mellea*, *Glomus intraradices*, *Glomus clarum* e *Scutellospora pellucida* foram as de maior ocorrência. A densidade de esporos, a riqueza de espécies e o aumento da dominância relacionaram-se inversamente com as concentrações de metais no solo. *Acaulospora mellea*, *Glomus clarum* e *Glomus occultum* dominaram as populações de esporos no solo. Concluiu-se que os metais pesados exerceram efeito diferenciado sobre os FMAs, dependendo do grau de poluição.

Termos de indexação: poluição do solo, ecologia microbiana, diversidade de fungos micorrízicos.

⁽¹⁾ Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor, apresentada ao Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras – UFLA. Financiada pelo convênio FAEPE/CMM e FAPEMIG. Recebido para publicação em junho de 2000 e aprovado em agosto de 2001.

⁽²⁾ Professor do Departamento de Ciência do Solo, Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC-CAV. Caixa Postal 281, CEP 88520-000 Lages (SC). E-mail: a2okf@cav.udesc.br

⁽³⁾ Professor do Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras – UFLA. Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras (MG). Bolsista do CNPq.

SUMMARY: VESICULAR ARBUSCULAR MYCORRHIZAE FUNGI IN SOILS POLLUTED WITH HEAVY METALS

The arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are ubiquitous establishing symbiosis with a large number of plants in spite of soil contamination with heavy metals. This study aimed to evaluate AMF occurrence and diversity in soils of four locations cultivated with grass species and contaminated with heavy metals as a result of Zn extraction and industrialization. AMFs were found in all locations, with species predominance being affected by heavy metal concentration in soil. Twenty one species were identified, belonging to the following genus: Acaulospora (seven species), Scutellospora (six species), Glomus (five species), Gigaspora (two species), Entrophospora (one species). The most frequent species identified were: Glomus occultum, Acaulospora morrowiae, Acaulospora mellea, Glomus intraradiales, Glomus clarum, and Scutellospora pellucida. Spore density, species richness and increase in species dominance were all inversely related to heavy metal concentration. The AMF populations were dominated by Acaulospora mellea, Glomus clarum, and Glomus occultum. It was concluded that heavy metals exert differential effects on AMF populations, which are affected by the level of heavy metal pollution.

Index terms: soil pollution, microbial ecology, heavy metals, arbuscular mycorrhizal fungi, mycorrhizal fungi diversity.

INTRODUÇÃO

As atividades de mineração, processamento de minérios e indústria metalúrgica são de grande importância sócio-econômica, entretanto, são responsáveis por consideráveis aumentos nos níveis de contaminação ambiental. O solo, sedimentos e recursos hídricos são contaminados com metais tóxicos e metalóides, o que constitui sério problema ambiental, quando estão em concentrações que afetam a saúde humana e o meio ambiente. A contaminação do solo com metais pesados pode ocasionar o declínio ou desaparecimento das populações de plantas, animais e microrganismos (Dahlin et al., 1997; Dias-Júnior et al., 1998; Colpaert, 1998).

A recuperação de solos degradados pelo excesso de metais pode ser conseguida por meio de vários processos, sendo a revegetação a estratégia mais recomendada e mais barata (Vangronsveld & Cunningham, 1998). Entretanto, para o estabelecimento de uma comunidade de plantas estáveis nestas condições, a comunidade microbiana deve ser diversa e funcional, incluindo, por exemplo, os fungos que formam as micorrizas arbusculares (MAs). Estes ocorrem nas raízes da maioria das plantas, mesmo em condições adversas (Brundrett, 1991; Cuenca et al., 1998), e em solos com excesso de metais pesados (Griffioen et al., 1994; Weissenhorn et al., 1995a,b; Corbett et al., 1996), tornando-se os microrganismos predominantes na rizosfera e com grande influência sobre as plantas.

As MAs aumentam a capacidade das plantas em absorver água e nutrientes e tolerar estresses

diversos, como os causados por metais tóxicos no solo (Turnau et al., 1993; Griffioen et al., 1994; Nogueira, 1996; Leyval et al., 1997; Siqueira et al., 1999). Por essa razão, os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e a simbiose micorrízica em solos poluídos têm sido objeto de diversos estudos em várias regiões do mundo (Gildon & Tinker, 1981; Ernst et al., 1984; Walker et al., 1984; Koske & Walker, 1986; Bethlenfalvay & Franson, 1989; Ietswaart et al., 1992; Christie & Kilpatrick, 1992; Sambandan et al., 1992; Raman et al., 1993; Weissenhorn et al., 1993; Griffioen, 1994; Noyd et al., 1995; Pawlowska et al., 1996).

Estudos sobre a ecologia dos FMAs em sistemas tropicais poluídos são escassos. Em condições controladas e para solos de clima temperado, contaminados artificialmente, tem-se verificado drástica redução da colonização micorrízica por metais pesados (Leyval et al., 1997; Siqueira et al., 1999), fato nem sempre confirmado no campo. Gildon & Tinker (1983) observaram colonizações de até 35% em raízes de trevo em solo contaminado; o mesmo verificaram Griffioen et al. (1994) em *Agrostis capillaris* que apresentou extensiva colonização em solo contaminado com Zn e Cd, próximo a uma refinaria de Zn.

Esses resultados evidenciam que os FMAs podem adquirir tolerância aos metais pesados, dependendo do grau de poluição do solo e da ocorrência de plantas hospedeiras (Galli et al., 1993), visto que tais fungos são biotróficos obrigatórios na natureza.

Sabe-se que os fungos micorrízicos mudam com o ecossistema (Schenck et al., 1989), mas as tentativas de estabelecer relações entre estrutura das comunidades de FMAs e variáveis edáficas não

têm apresentado muito sucesso, dadas as dificuldades metodológicas e a complexidade do sistema micorrízico e suas interações (Siqueira et al., 1989). No caso do impacto dos metais pesados, esta avaliação é mais difícil em razão das dificuldades de separação dos efeitos tóxicos dos metais daqueles decorrentes de outros fatores ambientais (Díaz-Raviña & Baath, 1996).

Apesar dessas dificuldades, esforços para conhecer melhor a ecologia destes fungos em solos poluídos são de grande interesse, principalmente quando se pretende manipular as populações nativas ou introduzir espécies/ecotipos mais eficientes, com o objetivo de promover a fitoestabilização da área (Vangronsveld et al., 1996). A contribuição das MAs para as plantas em solo com excesso de metais pesados está relacionada com diversos aspectos, tais como: diversidade, abundância, persistência e eficiência das populações que podem variar entre locais, dependendo de variáveis ambientais e presença de vegetação.

Portanto, considerando as MAs como importantes componentes dos ecossistemas, torna-se fundamental conhecer o impacto da poluição e o grau de adaptação das populações de FMAs nativas em áreas poluídas, o que foi objeto do presente estudo.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi desenvolvido em área do pátio de uma unidade de extração e industrialização de zinco da Companhia Mineira de Metais - CMM, localizada no município de Três Marias (MG). A área, anteriormente coberta por vegetação de Cerrado, apresenta atualmente diferentes estádios de degradação ambiental, causada pela contaminação por metais pesados, com variações no modo, no grau de contaminação e no tipo de cobertura vegetal (Ribeiro Filho et al., 1999). A contaminação deu-se por meio da deposição e mistura com o solo de minérios de zinco e rejeitos industriais depositados na área ao longo de décadas. Para promover a fitoestabilização da área, a empresa efetuou a semeadura de gramíneas, as quais se estabeleceram em alguns locais e atualmente apresentam sintomas de fitotoxidez por excesso de metais.

Com base na vegetação de gramíneas existentes, selecionaram-se quatro locais de uma das glebas poluídas. Estes locais foram denominados conforme a predominância de gramíneas em: AN - *Andropogon* sp.; BD - *Brachiaria decumbens* Stapf. Prain; BM1 - *Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf. (capim-bengo), apresentando sintomas de fitotoxidez acentuados (clorose e declínio/morte das plantas), e BM2 - local contíguo a BM1, constituído de capim-bengo com sintomas de fitotoxidez atenuados (clorose). De um Latossolo Vermelho-Amarelo (Ribeiro-Filho et al.,

1999), foram coletadas seis amostras de solo rizosférico e raízes de cada local, totalizando 24 amostras, as quais foram empregadas para ensaio sobre a ocorrência e diversidade de FMAs. A amostragem foi realizada em abril de 1997 (término da estação chuvosa na região), quando se presume que tenha ocorrido a esporulação dos FMAs.

As amostras coletadas foram colocadas em sacos plásticos e transportadas para o Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde foram mantidas a 4°C até o processamento. No laboratório, as amostras de solo foram passadas em peneira de 2 mm e cuidadosamente homogeneizadas. Subamostras foram retiradas e submetidas a análises químicas. O pH foi determinado em água; o fósforo, potássio e metais pesados foram extraídos por Mehlich-1, e Ca e Mg por KCl 1 N, conforme EMBRAPA (1979). Os metais pesados foram analisados por espectrofotometria de absorção atômica. Os esporos de FMAs foram extraídos de 50 g de solo seco ao ar, utilizando a técnica de peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963), seguida de centrifugação em solução de sacarose 50%. Apenas os esporos não parasitados e com citoplasma intacto foram separados em tipos morfológicos e contados, utilizando microscópio estereoscópico em ampliação de 16x. Foram identificados o gênero e, quando possível, a espécie dos tipos. As raízes coletadas foram lavadas, clarificadas, coloridas com azul de tripan (Koske & Gemma, 1989) e colocadas em placas de Petri para avaliação do percentual do comprimento de raiz colonizada pelo método das interseções em placas reticuladas (Giovannetti & Mosse, 1980).

Para recuperar o máximo de populações de FMAs, especialmente aquelas sem esporulação no momento da coleta, estabeleceram-se vasos de cultivo. Das amostras homogeneizadas, retiraram-se 500 dm³ de solo e raízes para a multiplicação dos esporos dos FMAs em cultura armadilha (Vetsberg, 1995). Para isto, as amostras foram diluídas (1:1, v/v) em substrato fumigado com Bromex (dose de 196 cm³ m⁻³) e colocadas em vasos onde foi semeada *Brachiaria decumbens*. O substrato fumigado constituiu-se de uma mistura de areia lavada e Latossolo Vermelho-Escuro (LE) (1:2, v/v) com pH corrigido para 5,5 e fertilizada com 60 mg kg⁻¹ de P₂O₅ e 50 mg kg⁻¹ de K₂O. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação e, após dois ciclos (cortes) sucessivos de cultivo (1 ano cada ciclo), as populações de esporos nos vasos foram então extraídas (Gerdemann & Nicolson, 1963) e identificadas taxonomicamente.

A identificação dos FMAs, no campo e nos vasos de cultivo, foi feita com base no tamanho, cor e forma dos esporos na lupa, quando possível, ou com base na análise das estruturas subcelulares dos esporos no microscópio (Schenck & Pérez, 1987; Morton, 1993). Os esporos foram montados em lâminas permanentemente em PVLG (álcool polivinílico,

ácido láctico e glicerina) e PVLG misturado com reagente de Melzer. Para identificação, os esporos foram comparados com 'vouchers' de espécies conhecidas e com as descrições originais de cada espécie constante na página da International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi, West Virginia, USA (INVAM, 1998).

Com a determinação da densidade total e por espécie das populações de FMAs no campo, foram calculados a riqueza de espécies (RQ), o índice de diversidade de Shanon-Wiener (H') e o índice de dominância de Simpson (D_s) para cada local, de acordo com as seguintes equações:

$RQ = n^\circ$ de espécies/amostra (observadas em campo)

$H' = \sum p_i \cdot \log p_i$, sendo $p_i = n_i/N$, em que n_i é a densidade de esporos da espécie "i"; N a densidade total de esporos na amostra; H' representa a heterogeneidade da comunidade de FMAs.

$D_s = 1 - L$, sendo $L = \sum n_i \cdot (n_i - 1) / (N \cdot (N - 1))$

Determinou-se, ainda, a frequência das espécies (% de ocorrência sobre o total de amostras) com base nos esporos recuperados em campo e nos vasos de cultivo armadilha com braquiária.

Os valores de densidade de esporos e riqueza de espécies foram transformados em $\log(x + 1)$ e a percentagem do comprimento de raiz colonizada em arco seno da raiz ($x/100$), com vistas em obter uma distribuição normal dos dados. Testes de significância foram realizados para as variáveis densidade de esporos, percentagem do comprimento de raiz colonizada, índices de diversidade e metais pesados Zn, Cu, Cd, e Pb no solo, utilizando análise de variância e comparação de médias por Tukey (5%). Foram feitas análises de correlação linear de Pearson entre a densidade total de esporos e a colonização micorrízica, e entre os índices de diversidade calculados e as concentrações dos metais pesados no solo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de solo rizosférico apresentaram elevada fertilidade e pH (Quadro 1), sendo isto resultante possivelmente de calagem e fertilização realizadas para a semeadura das gramíneas. As concentrações dos metais Zn, Cu, Cd, e Pb no solo dos quatro locais (Quadro 2) foram muito elevadas e muito acima da faixa de concentração total considerada fitotóxica para as plantas, conforme Kabata-Pendias & Pendias (1985): Zn = 70-400, Cu = 60-125 e Cd = 3-8 mg kg⁻¹. O Pb apresentou valores muito próximos aos da faixa considerada fitotóxica que é de 100-400 mg kg⁻¹. As concentrações de Zn mais elevadas ocorreram nos locais BD e BM1. Em AN e BM2, estas foram 2,5 e 4 vezes menores

Quadro 1. Características químicas do solo nos locais de amostragem na área poluída da Companhia Mineira de Metais, em Três Marias (MG)

| Local | Característica química | | | | | |
|-------|------------------------|-------------------------|-------|--|-----|---------------------|
| | pH (H ₂ O) | P | K | Ca | Mg | MO |
| | | — mg dm ⁻³ — | | — cmol _c dm ⁻³ — | | mg dm ⁻³ |
| BM2 | 6,7 | 21,7 | 170,5 | 1,9 | 1,0 | 1,9 |
| AN | 6,5 | 17,3 | 164,1 | 2,9 | 0,7 | 2,0 |
| BM1 | 6,2 | 13,0 | 180,8 | 4,6 | 1,0 | 2,8 |
| BD | 6,3 | 22,7 | 106,9 | 2,2 | 0,8 | 1,7 |

MO = Matéria orgânica. Médias de seis repetições.

que em BD, respectivamente. Comportamento semelhante ocorreu para o Cu. As variações nas concentrações de Cd e Pb, entretanto, não apresentaram comportamento tão diferenciado entre os locais de amostragem.

A análise de variância revelou ausência de variação significativa para colonização micorrízica entre os locais amostrados (Quadro 2). Observou-se grande intervalo de valores nas amostras para esta característica. Em AN a colonização variou de 5 a 24%, em BD de 8 a 29%, enquanto em BM1 e BM2 ocorreram os maiores intervalos, 1 a 37% e 5 a 45%, respectivamente. A densidade de esporos, a riqueza de espécies e os índices de diversidade calculados, ao contrário, apresentaram variação conforme o local de amostragem (Quadro 2).

Os valores de densidade de esporos variaram de 335 a 8 esporos/50 g de solo e foram maiores nos locais com menor contaminação, o que possivelmente está relacionado com o melhor crescimento vegetativo do hospedeiro e maior nível de colonização micorrízica (Stürmer & Bellei, 1994). Em áreas degradadas, a densidade de esporos normalmente é muito reduzida (Brundrett, 1991); entretanto, a revegetação destas pode aumentar a densidade e a diversidade das populações de esporos. Cuenca et al. (1998) observaram que, em locais degradados, onde a densidade variava de 4 a 24 esporos/100 g de solo, após a revegetação com gramínea, a densidade passou a ficar entre 109 e 3.301 esporos/100 g de solo.

A riqueza de espécies variou de 4 a 1,2 espécies por amostra, sendo menor em BD (Quadro 2), local com maior contaminação por zinco. Neste local, o índice de heterogeneidade de Shannon-Wiener (H') e o de dominância de Simpson (D_s) indicam que domina apenas uma espécie de FMA. BM2, AN e BM1 não apresentaram diferenças em termos de riqueza e heterogeneidade da comunidade de FMAs, entretanto, BM2 apresentou alto valor de D_s (0,61), o que indica a dominância de no mínimo duas espécies. A diversidade de Shannon-Wiener (H') da comunidade de FMAs foi menor em solo

Quadro 2. Colonização micorrízica (CM), densidade de esporos (DE), índices de diversidade e concentrações de Zn, Cu, Cd e Pb no solo em diferentes locais na área contaminada (amostras de campo)

| Local | CM | DE | Índice de diversidade ⁽¹⁾ | | | Metais pesados | | | |
|-------|----|---------|--------------------------------------|---------|----------------|---------------------|--------|-------|-------|
| | | | RQ | H' | D _s | Zn | Cu | Cd | Pb |
| | % | nº/50 g | | | | mg dm ⁻³ | | | |
| BM2 | 27 | 335 a | 3,8 a | 0,30 ab | 0,61 ab | 4.146 d | 265 b | 18 b | 102 a |
| AN | 12 | 50 ab | 4,0 a | 0,42 a | 0,44 b | 6.055 c | 455 b | 90 a | 52 b |
| BM1 | 14 | 35 bc | 3,0 a | 0,36 a | 0,48 b | 13.309 b | 812 a | 90 a | 125 a |
| BD | 18 | 8 c | 1,2 b | 0,10 b | 0,82 a | 16.080 a | 586 ab | 39 ab | 125 a |

⁽¹⁾ RQ = riqueza de espécies; H' = Diversidade de Shanon-Wiener; D_s = Dominância de Simpson. Médias seguidas por diferentes letras, na mesma coluna, são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05). Médias de seis repetições.

contaminado se comparada à observada por Alvarenga (1996) em área de Cerrado natural. Enquanto na área contaminada o maior valor de H' foi de 0,40 para o local AN; Alvarenga (1996) observou valor de H' duas vezes maior, 0,82. Reduções na diversidade normalmente se devem à perda da diversidade de hospedeiros e à baixa estabilidade do ecossistema (Siqueira et al., 1989), ocasionadas normalmente por estresses, como no caso da poluição do solo com metais pesados.

Apesar de se tratar de uma área seriamente poluída, esta apresentou elevada diversidade, considerando o pequeno número de espécies normalmente observadas em áreas desse tipo. Griffiths (1994), por exemplo, encontrou uma única espécie (*Scutellospora dipurpurea*) em *Agrotis capillaris*, em solo contaminado com Zn, na Noruega; Noyd et al. (1995) relataram apenas duas espécies em mina de taconita com excesso de Fe e Zn, em Minnesota; Ietswaart et al. (1992) também identificaram apenas duas espécies em solo metalífero, contaminado por Zn, Cd e Pb, na Noruega. Pawłowska et al. (1996) observaram seis espécies em rejeito de calamina na Polônia também contaminado com Zn, Cd e Pb. Sambandan et al. (1992) foram os que encontraram o maior número, 14 espécies, em área contaminada por Zn, Cd, Cu, Pb e Ni na Índia. Em todos estes estudos, a identificação das espécies foi realizada em amostras de campo, o que pode ter subestimado o número de espécies existentes.

Neste estudo, foram encontradas 21 espécies de FMAs: sete pertencentes ao gênero *Acaulospora*, seis de *Scutellospora*, cinco de *Glomus*, duas de *Gigaspora* e uma de *Entrophospora*. (Figura 1). Dentre estas, doze espécies (*Acaulospora morrowiae*, *Acaulospora tuberculata*, *Acaulospora* sp#1., *Glomus intraradices*, *Scutellospora pellucida*, *Scutellospora persicae*, *Scutellospora heterogama*, *Scutellospora castanea* e *Scutellospora* sp#1, *Glomus leptotichum*,

Glomus microaggregatum e *Entrophospora colombiana*) foram detectadas apenas em vasos de cultura armadilha. *A. morrowiae* e *E. colombiana* não foram encontradas nas amostras em campo, revelando ausência de esporulação naquela condição que, no entanto, foi favorecida pelas condições nos vasos de cultura armadilha. Entretanto, a semelhança entre seus esporos e os de *A. mellea* tornou difícil a diferenciação entre elas no campo. As espécies *G. occultum* e *G. diaphanum* foram agrupadas em um único tipo denominado *G. occultum/diaphanum* em razão da grande semelhança entre os seus esporos. Esporos de *G. intraradices* não foram recuperados do solo, provavelmente por serem encontrados, com maior frequência, no interior das raízes (Kurle & Pfleger, 1996).

Nas amostras de campo, as espécies de maior frequência foram *A. mellea* e *G. clarum* que ocorreram em 79% das amostras, seguidas por *G. occultum/diaphanum* com 50% de ocorrência (Figura 1). As outras espécies apresentaram frequências de ocorrência que variaram de 4 e 8%. *G. clarum*, *A. mellea* e *G. occultum/diaphanum* dominaram as populações de esporos na rizosfera das plantas no campo, apresentando densidades relativas de 44, 35 e 17%, respectivamente, enquanto as demais espécies somaram apenas 3,2% do total de esporos recuperados (Figura 1). A dominância destas espécies na área contaminada indica sua elevada adaptação ao excesso de metais pesados. *A. mellea* foi a única espécie recuperada de amostras de campo em todos os locais, enquanto *G. clarum* ocorreu em AN, BM1 e BM2 e *G. occultum/diaphanum* somente nas áreas menos contaminadas (AN e BM2).

Com base nos dados das culturas armadilhas, verificou-se que *Glomus occultum/diaphanum* ocorreu com maior frequência (54%) em toda a área contaminada, seguida por *Acaulospora morrowiae* (38%), *Acaulospora mellea* (29%), *Glomus*

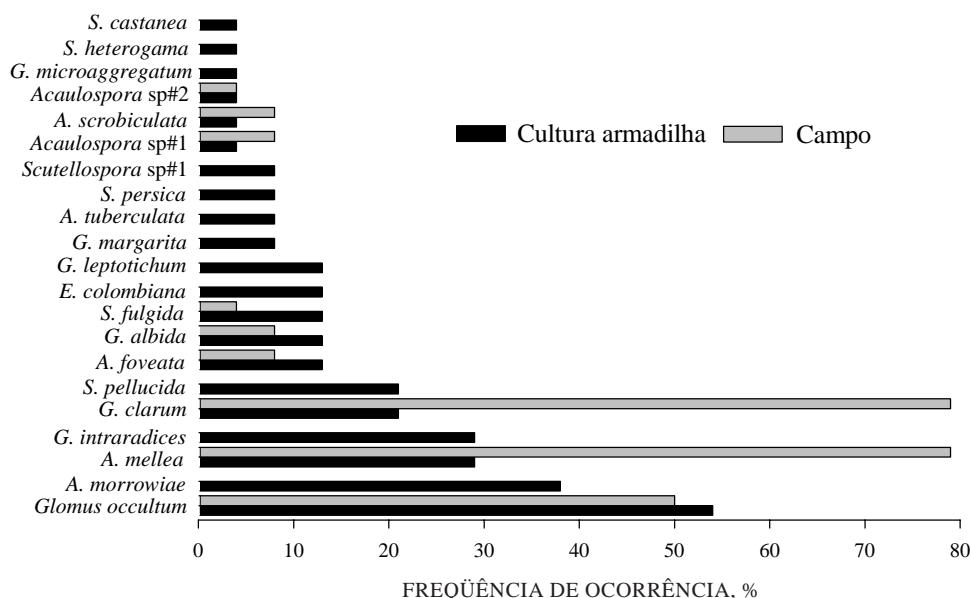


Figura 1. Espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nas amostras de solo contaminado com metais pesados e suas freqüências de ocorrência no conjunto dos locais de amostragem.

intraradices (29%) *Glomus clarum* (21%) e *Scutellospora pellucida* (21%) (Figura 1). Este aumento nos valores de freqüência de ocorrência de algumas espécies, como é o caso de *G. occultum/diaphanum*, quando da diluição das amostras de campo nos cultivos armadilha é atribuído, possivelmente a uma redução nos efeitos supressores dos metais pesados. As demais espécies recuperadas por meio de culturas armadilhas apresentaram baixa ocorrência, de 4 a 13%, sendo estas restritas a determinados locais. *Acaulospora* sp#1 e sp#2 ocorreram apenas na rizosfera de *Andropogon* sp. (AN), enquanto *A. tuberculata* e *A. scrobiculata* foram recuperadas apenas no local BD. *S. fulgida* ocorreu somente no local com predominância de *B. mutica* (BM1 e BM2), enquanto *S. castanea* e *G. microaggregatum* ocorreram somente em BM2 e *S. heterogama* em BM1. As espécies *A. foveata*, *G. margarita* e *G. albida* ficaram restritas aos locais BM2 e AN de menor contaminação. *Scutellospora* sp#1, *S. persicae* e *G. leptotichum* não apresentaram um comportamento definido de ocorrência. *Acaulospora* sp#1 e sp#2 não puderam ser identificadas, considerando o pequeno número de esporos recuperados. *Scutellospora* sp#1, observada na rizosfera de BD e BM2, é possivelmente uma nova espécie. Esta espécie apresenta apenas uma parede interna que é reativa com Melzer, o que a difere de outras *Scutellospora* que também apresentam uma parede interna mas não reagem ao Melzer (*S. fulgida*, *S. verrucosa*, *S. persicae*, *S. castanea*, *S. gregaria* e *S. coralloidea*).

Na tentativa de estabelecer as relações entre os FMAs e os teores de metais, realizaram-se correlações entre as diversas características

(Quadro 3). A colonização micorrízica apresentou baixa correlação com os teores de metais pesados, não tendo sido verificada qualquer correlação para a densidade de esporos e os índices de diversidade. Baixas correlações entre a densidade de esporos no solo e a colonização são comumente observadas em campo (Brundrett, 1991), fato normalmente relacionado com a idéia de que o número de esporos reflete muito pouco o potencial de colonização micorrízica do solo, já que o micélio externo e as raízes colonizadas são importantes fontes de propágulos dos FMAs (Barea et al., 1991). Entretanto,

Quadro 3. Matriz de correlação de Pearson entre colonização micorrízica (CM), densidade de esporos (DE), riqueza da espécies (RQ) e índices de diversidade de Shannon-Wiener (H') e de dominância de Simpson (D_s) e as concentrações de Zn, Cu, Cd e Pb no solo

| | CM | DE | RQ | H' | D _s |
|----|--------|---------|---------|--------|----------------|
| RQ | - | - | - | 0,84** | -0,78** |
| DE | - | - | 0,78** | 0,46* | -0,36* |
| CM | - | 0,28 | 0,20 | 0,18 | -0,14 |
| Zn | -0,28 | -0,77** | -0,58** | -0,44* | 0,31 |
| Cu | -0,55* | -0,56** | -0,35* | -0,19 | 0,09 |
| Cd | -0,55* | -0,19 | 0,04 | 0,04 | -0,05 |
| Pb | 0,09 | -0,22 | -0,32 | -0,38* | 0,26 |

RQ = riqueza de espécies; H' = diversidade de Shannon-Wiener; D_s = dominância de Simpson.

* e ** representam os coeficientes de correlação de Pearson significativos a P ≤ 0,05 e P ≤ 0,01%, respectivamente.

no caso de áreas degradadas, os esporos devem ser a fonte mais importante de propágulos, haja vista sua maior resistência a estresses severos (Brundrett, 1991; Cuenca et al., 1998). A densidade de esporos e a riqueza de espécies mostraram correlações negativas com os metais pesados, especialmente com as concentrações de Zn, principal poluente nesta área. Observou-se, ainda, boa correlação entre a riqueza de espécies e o índice de diversidade H' , indicando que a riqueza de espécies neste tipo de estudo pode constituir uma boa medida de diversidade, já que é mais simples de ser determinada que H' .

Em geral, os fatores que controlam a colonização e a esporulação atuam de modo muito complexo, sendo difícil relacionar características químicas do solo com variações nestas características, conforme verificado por Saggin-Júnior & Siqueira (1996), em estudos com cafeeiro.

A deposição de resíduos contaminados no solo ao longo de mais de 30 anos resultou na poluição da área de modo muito variado de local para local, conforme estudado por Ribeiro-Filho et al. (1999). De modo geral, as áreas degradadas por deposição de rejeitos industriais, contaminadas com metais pesados, tendem a apresentar alta heterogeneidade (Corbett et al., 1996). Além disso, a associação de mais de uma espécie de metal tóxico dificulta interpretações acuradas sobre a ecologia dos FMAs nestas áreas. Mesmo assim, algumas relações entre a contaminação por metais pesados e a colonização, a abundância e a diversidade das populações de FMAs foram observadas. O excesso de metais pesados afetou a densidade de esporos e a diversidade dos FMAs no solo (Quadro 3). Isto fica evidente com a redução da densidade de esporos e da riqueza de espécies no local com maior concentração de Zn e Cu.

Além de fatores edáficos, o tipo de hospedeiro e sua tolerância aos estresses ambientais também influenciam a colonização micorrízica (Siqueira et al., 1989; Griffioen et al., 1994). De fato, verificou-se colonização mais elevada em *B. mutica*, que, com base em observações de campo, apresentou maior tolerância ao excesso de metais que *Andropogon* sp. e *B. decumbens*. No caso da diversidade, o efeito da contaminação foi percebido não apenas pela diminuição da riqueza de espécies em BD, com maiores concentrações de Zn e Cu, mas especialmente pela maior dominância (D_s) ou baixa "equitabilidade" (H') entre as espécies neste local (Quadro 2).

Deve-se ter cautela na interpretação dos índices D_s e H' , já que estes são calculados com base na densidade de esporos de cada espécie observada diretamente no campo, o que pode levar a erros de interpretação resultantes do fato de que alguns fungos podem estar presentes sem necessariamente apresentar esporulação no momento da avaliação,

como foi observado por Vetsberg (1995) e, neste estudo, pelas culturas armadilhas (Figura 1). A densidade de esporos é uma característica que pode ser influenciada por outros fatores do solo e não ser correlacionada com a contaminação, como salientado por Weissenhorn et al. (1995a,b).

A riqueza de espécies FMAs foi subestimada quando se consideraram apenas os esporos recuperados diretamente de amostras de campo. De fato, a cultura armadilha revelou a presença de outras 12 espécies que ocorriam no campo (Figura 1). Em todos os locais de amostragem, observou-se aumento no número de espécies identificadas, quando se utilizaram as culturas armadilhas. No local com maior contaminação (BD), o número de espécies identificadas nas culturas armadilhas foi três vezes maior que o observado em campo, o que se deve a um efeito de diluição do excesso de metais pesados nos vasos e à conseqüente eliminação do efeito inibitório dos metais na esporulação dos FMAs.

As espécies encontradas na área contaminada foram, em sua maioria, observadas em áreas de Cerrado não cultivado no estado de Minas Gerais (Siqueira et al., 1989; Miranda & Miranda, 1997). Algumas, porém, foram relatadas pela primeira vez em solo de Cerrado, como é o caso de *Acaulospora foveata*, *Scutellospora fulgida*, *S. castanea*, *S. persicae*, *Glomus leptotichum*, *G. microaggregatum* e *Gigaspora albida*. Até o momento, relatou-se a ocorrência de um total de 26 espécies de FMAs em áreas poluídas com metais pesados no mundo todo. Estas espécies foram observadas em regiões de clima temperado, predominando espécies pertencentes ao gênero *Glomus*. Dentre as relatadas nestes estudos, apenas *G. occultum* e *G. intraradices* foram observadas aqui, onde predominam as espécies de *Acaulospora* e *Scutellospora*, gêneros de ampla ocorrência em solos tropicais (Siqueira et al., 1989; Jeffries & Dodd, 1996). Isto mostra que o potencial de adaptação dos FMAs ao excesso de metais pesados não está restrito a gêneros ou espécies únicas, ao contrário, parece bastante generalizado.

Os resultados mostraram a existência de efeito seletivo dos metais pesados sobre certos FMAs, que variou com o grau de contaminação. Isto explica a maior ocorrência de *G. occultum*, *A. morrowiae*, *A. mellea*, *G. intraradices*, *G. clarum* e *S. pellucida*. Entretanto, apenas *A. mellea*, *G. clarum* e *G. occultum* esporularam abundantemente no campo, mostrando a tolerância destas ao excesso de metais pesados. *A. tuberculata* e *A. scrobiculata*, apesar da baixa ocorrência na área, foram encontradas em locais com alta contaminação, evidenciando a boa adaptação ao excesso de metais. Ao contrário, *A. foveata*, *G. margarita*, *G. albida*, *S. catanea* e *G. microaggregatum* foram encontradas somente em locais com menor contaminação, indicando certa sensibilidade destas à contaminação.

Nem sempre as espécies mais adaptadas a estresses abióticos são as mais eficientes em proteger as plantas, como observado em estudos com cafeeiro, em que os isolados eficientes apresentaram menor densidade relativa de esporos na população de fungos indígenas daquele agrossistema (Saggin-Júnior & Siqueira, 1996). Isto salienta o dogma de que “a natureza seleciona para sobrevivência e não para eficiência”.

No caso de solos poluídos, a adaptação do fungo não deve ser a única característica considerada, quando se pretende obter ecotipos com potencial de utilização na fitoestabilização de áreas contaminadas por metais pesados, sendo este fator, entretanto, de grande importância. Até o presente, não se conhecem as conseqüências da redução da diversidade e da alteração na composição das populações de FMAs ocasionadas pela contaminação do solo com metais pesados. Todavia, preconiza-se que a menor diversidade da comunidade de FMAs no solo não é necessariamente algo desvantajoso se as poucas espécies que persistem forem benéficas nas condições ambientais dominantes. Pesquisas adicionais nos ecossistemas tropicais poluídos com metais pesados são necessárias para elucidação destes e outros aspectos relacionados com a ecologia dos FMAs e sua implicação na restauração destes solos.

CONCLUSÕES

1. Os fungos micorrízicos arbusculares e sua simbiose são de ocorrência generalizada, mesmo em solo poluído com elevada concentração de Zn, Cd, Cu e Pb. Foram encontradas 21 espécies de FMAs, sendo sete de gênero *Acaulospora*, seis de *Scutellospora*, cinco de *Glomus*, duas de *Gigaspora* e uma *Entrophospora*.

2. A colonização micorrízica das gramíneas não se relacionou com as concentrações de Zn, Cu, Cd e Pb no solo das áreas estudadas. As concentrações de Zn e Cu nas áreas estudadas relacionaram-se inversamente com a densidade de esporos de FMAs no solo.

3. Os metais pesados exerceram efeito diferenciado sobre os FMAs, dependendo do grau de poluição. A elevação do grau de poluição do solo com metais pesados reduziu a diversidade de FMAs, ocasionando dominância de espécies.

4. As espécies *A. mellea* e *G. clarum* ocorreram em todos os locais estudados e dominaram as populações de esporos na rizosfera das gramíneas estudadas, indicando seu maior potencial de adaptação ao excesso de metais pesados no solo.

LITERATURA CITADA

ALVARENGA, M.I.N. Propriedades físicas, químicas e biológicas de um Latossolo Vermelho-Escuro em diferentes ecossistemas. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 1996. 211p. (Tese de Doutorado)

BAREA, J.M.; AZCÓN-AGUILAR, C.; OCAMPO, J.A. & AZCÓN, R. Morfología, anatomía y citología de las micorrizas vesículo-arbusculares. In: BAREA, J.M. & LIVARES, J., eds. Fijación y movilización biológica de nutrientes, Madrid, 1991. p.149-173.

BETHLENFALVAY, G.J. & FRANSON, R.L. Manganese toxicity alleviated by mycorrhizae in soybean. J. Plant Nutr., 12:953-970, 1989.

BRUNDRETT, M. Mycorrhizas in natural ecosystems. Adv. Ecol. Res., 21:171-313, 1991.

CHRISTIE, P. & KILPATRICK, D.J. Vesicular-arbuscular mycorrhiza infection and cut grassland following long-term slurry application. Soil Biol. Biochem., 24:325-330, 1992.

COLPAERT, J.V. Biological interactions: the significance of root-microbial symbioses for phytoremediation of metal-contaminated soils. In: VANGRONSVEL, J. & CUNNINGHAM, S.D., eds. Metal-contaminated soils georgetown, 1998. p.75-84.

CORBETT, E.A.; ANDERSON, R.C. & RODGERS, C.S. Prairie revegetation of strip mine in Illinois: fifteen years after establishment. Rest. Ecol., 4:346-354, 1996.

CUENCA, G.; ANDRADE, Z. & ESCALANTE, G. Diversity of Glomalean spores from natural disturbed and revegetated communities growing on nutrient-poor tropical soils. Soil Biol. Biochem., 30:711-719, 1998.

DAHLIN, S.; ERNST, W.; MARTENSSON, A.T. & BAATH, E. Where's the limit? Changes in the microbiological properties of agricultural soils at low levels of metal contamination. Soil Biol. Biochem., 29:1405-1415, 1997.

DIAS JUNIOR, H.E.; MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. & SILVA, R. Metais pesados, densidade e atividade microbiana em solo contaminado por rejeitos de indústria de zinco. R. Bras. Ci. Solo, 22:631-640, 1998.

DÍAZ-RAVIÑA, M. & BAATH, E. Development of metal tolerance in soil bacterial communities exposed to experimentally increased metal levels. Appl. Environm. Microbiol., 62:2970-2977, 1996.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Manual de métodos de análise do solo. Rio de Janeiro, 1979. não paginado.

ERNST, W.H.O.; VAN DUIN, W.E. & OOLBEKKING, G.T. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in dune vegetation. Acta Bot. Neerl., 33:151-160, 1984.

GALLI, U.; SCHÜEPP, H. & BRUNOLD, C. Heavy metal binding by mycorrhizal fungi. Physiol. Plant., 92:364-368, 1993.

GERDEMANN, J.B. & NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. British Mycol. Soc., 46:235-246, 1963.

GILDON, A. & TINKER, P.B. A Heavy metal-tolerant strain of a mycorrhizal fungus. Trans. Br. Mycol. Soc., 77:648-649, 1981.

GILDON, A. & TINKER, P.B. Interactions of vesicular-arbuscular infection and heavy metal in plants. I. The effect of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. New Phytol., 95:247-261, 1983.

GIOVANNETTI, W.A.J. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol., 84:489-490, 1980.

- GRIFFIÖEN, W.A.J. Characterization of a heavy metal tolerant endomycorrhizal fungus from surroundings of a zinc refinery. *Mycorrhiza*, 4:197-200, 1994.
- GRIFFIÖEN, W.A.J.; IETSWAART, J.H. & ERNEST, W.H.O. Mycorrhizal infection of an *Agrostis capillaris* population on copper contaminated soil. *Plant Soil*, 158:83-89, 1994.
- INVAM. International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi. URL: http://invam.caf.wvu.edu/myc_info/taxonomy/species.htm. Consultado em 1998.
- IETSWAART, J.H.; GRIFFIÖEN, W.A.J. & ERNST, W.H.O. Seasonality of VAM infection in three populations of *Agrostis capillaris* (Gramineae) on soil with or without heavy metal enrichment. *Plant Soil*, 139:67-73, 1992.
- JEFFRIES, P. & DODD, J.C.C. Functional ecology of mycorrhizal fungi in sustainable soil-plant systems. In: AZCON-AGUILAR, C. & BAREA, J.M., eds. *Mycorrhizas in integrated systems: from genes to plant development*. Luxembourg, European Commission, EUR 16728, 1996. p.497-501.
- KABATA-PENDIAS, A. & PENDIAS, H. Trace elements in soils and plants. Boca Raton, CRC Press, 1985. 315p.
- KOSKE, R.E. & GEMMA, J.N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycol. Res.*, 92:486-488, 1989.
- KOSKE, R.E. & WALKER, C. Species of *Scutellospora* (Endogonaceae) with smooth-walled spores from maritime sand dunes: two new species and a redescription of the spores *Scutellospora pellucida* and *Scutellospora calospora*. *Mycotaxon*, 27:219-235, 1986.
- KURLE, J.E. & PFLEGER, F.L. Management influences on arbuscular mycorrhizal fungal species composition in a corn-soybean rotation. *Agron. J.*, 88:155-161, 1996.
- LEYVAL, C.; TURNAU, K. & HASELWANDTER, K. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza*, 7:139-153, 1997.
- MIRANDA, J.C.C. & MIRANDA, L.N. Micorriza arbuscular. In: *Biologia dos solos dos cerrados*. VARGAS, M.A.T. & HUNGRIA, M., eds. Planaltina, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1997. p.69-123.
- MORTON, J.B. Problems and solutions for integration of glomalean taxonomy, systematic biology, and the study of mycorrhizal phenomena. *Mycorrhiza*, 2:97-109, 1993.
- NOGUEIRA, A.V. As micorrizas e o excesso de metais. In: SIQUEIRA, J.O., ed. *Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas*. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1996. p.135-174.
- NOYD, R.K.; PFLEGER, F.L. & RUSSELLE, M.P. Interactions between native prairie grasses and indigenous arbuscular mycorrhizal fungi: implications for reclamation of taconite iron ore tailing. *New Phytol.*, 129:651-660, 1995.
- PAWLOWSKA, T.E.; BLASZKOWSKI, J. & RÜHLING, A. The mycorrhizal status of plants colonizing a calamine spoil mound in southern Poland. *Mycorrhiza*, 6:499-505, 1996.
- RAMAN, N.; NAGARAJAN, N.; GOPINATHAN, S.; SAMBANDAN, K. Mycorrhizal status of plant species colonizing a magnesite mine spoil in India. *Biol. Fertil. Soils*, 16:76-78, 1993.
- RIBEIRO FILHO, M.R.; CURI, N.; SIQUEIRA, J.O. & MOTTA, P.E.F. Metais pesados em solos de área de rejeitos de indústria de processamento de zinco. *R. Bras. Ci. Solo*, 23:453-464, 1999.
- SAGGIN-JÚNIOR, O.J. & SIQUEIRA, J.O. Micorrizas arbusculares em caféiro. In: SIQUEIRA, J.O., ed. *Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas*. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 1996. p.203-254.
- SAMBANDAN, K.; KANNAN, K. & RAMAN, N. Distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in heavy metal polluted soils of Tamil Nadu, Índia. *J. Environ. Biol.*, 13:159-167, 1992.
- SCHENCK, N.C.; SIQUEIRA, J.O. & OLIVEIRA, E. Changes in the incidence of mycorrhizal fungi with changes in ecosystems. In: VANCURA, V. & KUNC, F., eds. *Interrelationships between microorganisms and plants in soil*. New York, Elsevier, 1989. p.125-129.
- SCHENCK, N.C. & PEREZ, Y. Manual for identification of VA mycorrhizal fungi. *Synergistic*, 2. ed. Gainesville, INVAM, 1987. 244p.
- SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI-FILHO, A. & OLIVEIRA, E. Ocorrência de micorrizas arbusculares em agro e ecossistemas do estado de Minas Gerais. *Pesq. Agropec. Bras.*, 24:1499-1506, 1989.
- SIQUEIRA, J.O.; PEREIRA, M.A.M.; SIMÃO, J.B.P.; MOREIRA, F.M.S. Efeito da formononetina (7 Hidroxi, 4' metoxi Isoflavona) na colonização micorrízica e crescimento do milho em solo contendo excesso de metais pesados. *R. Bras. Ci. Solo*, 23:561-568, 1999.
- STÜRMER, S.L. & BELLEI, M.M. Composition and seasonal variation of spore populations of arbuscular mycorrhizal fungi in dune soils on the island of Santa Catarina, Brazil. *Can. J. Bot.*, 72:359-363, 1994.
- TURNAU, K.; KOTTKE, I. & OBERWINKLER, F. Element localization in mycorrhizal roots of *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn collected from experimental plots treated with cadmium dust. *New Phytol.*, 123:313-324, 1993.
- VANGRONSVELD, J.; COLPAERT, J.V. & VANTICHELEN, K.K. Reclamation of a bare industrial area contaminated by non-ferrous metals: physicochemical and biological evaluation of the durability of soil treatment and revegetation. *Environ. Poll.*, 94:131-140, 1996.
- VANGRONSVELD, J. & CUNNINGHAM, S.D. Introduction to the concepts. In: VANGROSVELD, J. & CUNNINGHAM, S.D., eds. *Metal-contaminated soils*. Georgetown, 1998. p.1-15.
- VESTBERG, M. Occurrence of some Glomales in Finland. *Mycorrhiza*, 5:329-336, 1995.
- WALKER, C.; REED, L.E. & SANDERS, F.E. *Acaulospora nicolsonii*, a new endogonaceous species from Great Britain. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 83:360-364, 1984.
- WEISSENHORN, I.; LEYVAL, C. & BERTHELIN, J. Cd-tolerant arbuscular mycorrhizal (AM) fungi from heavy-metal polluted soils. *Plant Soil*, 157:247-256, 1993.

- WEISSENHORN, I.; LEYVAL, C. & BERTHELIN, J. Bioavailability of heavy metals and abundance of arbuscular mycorrhiza in a soil polluted by atmospheric deposition from a smelter. *Biol. Fertil. Soils*, 19:22-28, 1995a.
- WEISSENHORN, I.; MENCH, M. & LEYVAL, C. Bioavailability of heavy metals and arbuscular mycorrhiza in a sewage-sludge-amended sandy soil. *Soil Biol. Biochem.*, 27:287-296, 1995b.