



Acúmulo de manganês em esporos de fungos micorrízicos arbusculares e favorecimento do crescimento inicial de *Mimosa caesalpiniiifolia* em solo contaminado

Kaio Gráculo Vieira GARCIA^{1*}, Paulo Furtado MENDES FILHO¹

¹Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

*E-mail: kaiovieira@ufc.br

(ORCID: 0000-0003-4980-5136; 0000-0001-7030-6206)

Submetido em 13/09/2022; Aceito em 07/12/2022; Publicado em 14/12/2022.

RESUMO: O manganês (Mn) é um micronutriente essencial para as plantas, porém, quando em excesso pode ser considerado potencialmente tóxico. Diante disso, objetivou-se avaliar o efeito de micorrizas arbusculares (MA) na promoção do crescimento de *Mimosa caesalpiniiifolia* em um solo contaminado por Mn e utilizar a microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS) para investigar a capacidade de esporos de MA em acumular Mn. Para isso, em casa de vegetação, o solo foi contaminado com níveis crescentes de Mn (0, 100, 200, 400 mg kg⁻¹). Nossos resultados mostraram que a inoculação com MA aumentou o crescimento das plantas, os teores de Mn nas raízes e diminuíram os teores de Mn na parte aérea das plantas em mais de 2800 mg kg⁻¹. O maior percentual de colonização micorrízica (61,7%) foi observado na ausência de Mn. Também verificamos, por meio de MEV e EDS, que os esporos de MA acumulam Mn na sua superfície, o que pode ser considerado um mecanismo essencial para conferir tolerância à planta contra o excesso de Mn. Coletivamente, nosso estudo mostra que a inoculação de MA alivia o estresse de Mn e aumenta o crescimento de *M. caesalpiniiifolia*.

Palavras-chave: contaminação; estresse metálico; toxidez por Mn; colonização micorrízica; biorremediação.

Manganese accumulation in arbuscular mycorrhizal fungi spores and furtherance of initial growth of *Mimosa caesalpiniiifolia* in soil contaminated

ABSTRACT: Manganese (Mn) is an essential micronutrient for plants, however, when in excess it can be considered potentially toxic. Therefore, the objective was to evaluate the effect of arbuscular mycorrhizas (AM) in promoting the growth of *Mimosa caesalpiniiifolia* in a soil contaminated by Mn and to use scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive spectroscopy (EDS) to investigate the capacity of AM spores to accumulate Mn. For this, in a greenhouse, the soil was contaminated with increasing levels of Mn (0, 100, 200, 400 mg kg⁻¹). Our results showed that inoculation with AM increased plant growth, Mn levels in roots and decreased Mn levels in shoots of plants by more than 2800 mg kg⁻¹. The highest percentage of mycorrhizal colonization (61.7%) was observed in the absence of Mn. We also verified, through SEM and EDS, that AM spores accumulate Mn on the surface, which can be considered an essential mechanism to confer tolerance to the plant against excess Mn. Collectively, our study shows that AM inoculation alleviates Mn stress and increases the growth of *M. caesalpiniiifolia*.

Keywords: contamination; metallic stress; Mn toxicity; mycorrhizal colonization; bioremediation.

1. INTRODUÇÃO

A contaminação do solo por metais pesados é considerada um problema global. Dentre os elementos metálicos, o manganês (Mn) é considerado um micronutriente essencial para o metabolismo das plantas. No entanto, quando em excesso, pode ser considerado potencialmente tóxico para as plantas e os humanos (YU et al., 2019). Nas plantas, o excesso de Mn pode causar alterações no funcionamento correto e nas estruturas das organelas das células foliares, prejudicar a fotossíntese, as atividades enzimáticas e também causar distúrbios no metabolismo, o que acaba afetando seu crescimento e desenvolvimento (CEBALLOS-LAITA et al., 2018). Os principais sintomas de toxidez por Mn incluem manchas marrons, clorose e necrose foliar e geralmente ocorrem quando as concentrações de Mn na parte aérea das plantas atingem 150 mg kg⁻¹ (HUANG et al., 2016). Em humanos, a

exposição excessiva ao Mn pode resultar em danos graves, que podem comprometer o sistema nervoso central e causar sintomas semelhantes ao parkinsonismo em estágios graves (KOWITWIWAT; SAMPANPANISH, 2020; TANG et al., 2021).

Em geral, a toxidez por Mn ocorre em solos ácidos (JIA et al., 2020). Entre as principais fontes de contaminação por Mn estão o uso intensivo de fertilizantes com potencial acidificante e a deposição de rejeitos de mineração na superfície do solo (GARCIA et al., 2020), principalmente em áreas abertas, onde a disseminação do contaminante é muitas vezes facilitada pela escassa cobertura vegetal (FERRONATO; TORRETTA, 2019; LIU et al., 2022). Assim, são urgentes estratégias que aumentem a sobrevivência das plantas e o estabelecimento da cobertura vegetal em áreas contaminadas. Estudos recentes demonstraram a capacidade da espécie vegetal tropical

Mimosa caesalpinifolia de crescer em solos contaminados por Mn quando associada a fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (GARCIA et al., 2017; GARCIA et al., 2018). Aparentemente, os FMA aumentam a tolerância de *M. caesalpinifolia* ao excesso de Mn (GARCIA et al., 2017) e incrementam o processo de fitoestabilização desse elemento (GARCIA et al., 2018).

Vários mecanismos pelos quais os FMA protegem as plantas contra o excesso de metais pesados são conhecidos, incluindo a diluição nos tecidos vegetais devido ao aumento no crescimento das plantas micorrizadas (CHRISTIE et al., 2004), a quelatação de metais por compostos secretados pelos FMA, como a proteína glomalina (VODNIK et al., 2008) e imobilização temporária dos metais em função do transporte por rede de hifas (CARNEIRO et al., 2001). No entanto, esses mecanismos são pouco estudados e ainda não foram totalmente esclarecidos. A avaliação desses mecanismos pode fornecer informações novas e complementares sobre as respostas dos FMA na promoção do crescimento e tolerância das plantas em solos contaminados por metais pesados, como o Mn.

Portanto, objetivamos avaliar a eficiência dos FMA em promover o crescimento de *M. caesalpinifolia* em um solo com níveis crescentes de Mn e usar microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS) para investigar a capacidade dos esporos de FMA em acumular Mn, o que pode constituir um dos mecanismos para conferir tolerância às plantas expostas a altos níveis

desse elemento. Nossa hipótese é que a inoculação de micorrizas arbusculares em *M. caesalpinifolia* pode contribuir para o alívio do estresse causado por quantidades excessivas de Mn no solo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal do Ceará (UFC), localizado no Campus do Pici, Fortaleza, Ceará, Brasil (3° 45' 47" S; 38° 31' 23" W; 47 m acima do nível do mar). Segundo a classificação de Köppen-Geiger, o clima da região é Aw (ou seja, tropical, com inverno seco), com precipitação anual de 1600 mm e temperatura média de 27°C (ALVARES et al., 2013).

O solo utilizado para o crescimento das plantas foi classificado como Argissolo e foi coletado a 0-20 cm de profundidade em uma área de mata nativa na Fazenda Experimental Raposa, pertencente à UFC, localizada no município de Maracanaú, Ceará, Brasil (3° 50' 66" S e 38° 38' 38" W). A escolha por este solo foi baseada na baixa quantidade de Mn disponível, o que permitiu avaliar as respostas à adição de doses crescentes de Mn. Após a coleta, o solo foi peneirado em malha de 2 mm para remoção das partículas mais grossas. Posteriormente, o solo foi autoclavado a 121°C e pressão de 1 atm por 2 horas, para eliminar a microbiota nativa. As características químicas do solo (Tabela 1) foram determinadas de acordo com a metodologia descrita por Teixeira et al. (2017).

Tabela 1. Caracterização química do solo utilizado no experimento. Table 1. Chemical characterization of the soil used in the experiment.

pH	Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	H+Al	P	N	Mn	Fe	Cu	Zn
(Água)			(cmolc kg ⁻¹)				(mg kg ⁻¹)	(g kg ⁻¹)		(mg kg ⁻¹)		
5	0,4	0,8	0,5	0,11	0,16	4,1	1,3	0,1	8,8	54,8	0,2	3,5

Cada vaso foi preenchido com 1,2 kg de solo. A adubação corretiva foi baseada nos resultados da análise química do solo. A calagem do solo foi realizada calculando a quantidade de calcário a ser adicionada pelo método de saturação por bases (v%=50). Após 10 dias de incubação, a adubação foi realizada com 55 mg kg⁻¹ de N (NH₂CONH₂), 12 mg kg⁻¹ de P (Ca(H₂PO₄)₂.H₂O) e 100 mg kg⁻¹ K (KCl), misturando-os com o substrato. Após a adubação, foram adicionadas doses crescentes de Mn para simular situações de baixa a alta disponibilidade de Mn. As doses de Mn utilizadas foram 0, 100, 200 e 400 mg kg⁻¹, fornecidas na forma de cloreto de Mn (MnCl₂.H₂O). As doses foram escolhidas com base em um experimento previamente realizado por Garcia et al. (2017). A espécie utilizada neste estudo foi *M. caesalpinifolia*. As mudas foram produzidas em bandejas plásticas, colocando-se duas sementes por célula a 2 cm de profundidade. O substrato utilizado para produção de mudas na bandeja foi areia e vermiculita autoclavada (121 °C e pressão de 1 atm por 2 horas).

Após o estabelecimento da germinação, os FMA foram inoculados nas mudas pela adição de 40 g de solo inóculo, contendo esporos e fragmentos de raízes de milho (*Zea mays* L.) colonizados pelas espécies *Claroideoglossum etunicatum*, *Acaulospora scrobiculata* e por um FMA nativo (de uma área de mineração de Mn), identificado como *Diversispora* sp. A inoculação foi realizada quando as mudas foram transplantadas para os vasos de acordo com cada tratamento proposto no experimento, depositando o solo inóculo a

aproximadamente 4 cm abaixo da superfície do substrato contido no vaso. Foi realizado uma contagem prévia dos esporos no solo inóculo, que apresentaram cerca de 400 esporos em 40 g de solo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x4, considerando: (i) quatro doses de Mn (0, 100, 200 e 400 mg kg⁻¹) e (ii) quatro tratamentos de inoculação (controle-não inoculado; *Claroideoglossum etunicatum*, *Acaulospora scrobiculata*, *Diversispora* sp.), com quatro repetições, constituindo 64 unidades experimentais. A variável colonização micorrízica foi analisada em esquema fatorial 4x3, uma vez que o controle (não inoculado) não foi considerado na análise.

Aos 60 dias após o transplantio (DAT), a parte aérea das plantas foi cortada, colocada em sacos de papel, e seca em estufa de circulação forçada de ar com temperatura em torno de 65°C para obtenção da massa seca. As raízes foram lavadas com água da torneira e secas seguindo a mesma sequência utilizada para a parte aérea. Após a obtenção da massa seca da parte aérea e da raiz, o material foi triturado em moinho tipo Wiley para determinação dos teores de manganês na parte aérea (Mn P) e nas raízes (Mn R). Os teores de Mn foram obtidos após digestão nítrico-perclórica e determinados por espectrofotometria de absorção atômica (Teixeira et al. 2017). A análise de colonização micorrízica foi realizada de acordo com Phillips and Hayman (1970).

O Mn nos esporos dos FMA foi avaliado por microscopia eletrônica de varredura (MEV) com o auxílio da técnica de

espectroscopia de energia dispersiva (EDS). Essas estruturas foram então transferidas usando uma pipeta automática de 20 μL para uma placa de Petri contendo papel de filtro faixa azul JP42 (Quanty®). As amostras foram montadas em stubs de alumínio, com fita condutora de carbono dupla face e analisadas em microscópio eletrônico de varredura (Quanta 450 FEG-FEI) com tensão de aceleração de 20 kV. A composição elementar (Mn na superfície dos esporos dos FMA) foi determinada pela técnica de EDS e expressa em “weight% = peso%”. Esta unidade refere-se à concentração relativa desse elemento na amostra.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$). Quando observado diferenças significativas, os dados qualitativos foram comparados pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$) e os dados quantitativos foram ajustados com modelos de regressão, utilizando o programa SISVAR, versão 5.6 (FERREIRA, 2011).

3. RESULTADOS

3.1. Crescimento das plantas

As plantas de *M. caesalpinijifolia* apresentaram crescimento diferenciado de acordo com os níveis de Mn aplicados no solo e as espécies de FMA. Inicialmente, a massa seca da parte aérea apresentou tendência de aumento, mas à medida que as doses de Mn aumentaram, passou a diminuir em todos os tratamentos, com exceção do tratamento com *Diversispora* sp. (Figura 1A). Plantas inoculadas com *C. etunicatum* e *A. scrobiculata* tiveram incrementos de 1,86 g e 1,06 g na massa seca da parte aérea até as doses estimadas de Mn de 186,88 mg kg^{-1} e 150 mg kg^{-1} , respectivamente. O tratamento com *Diversispora* sp., mesmo com ajuste linear decrescente, produziu massa seca da parte aérea superior aos tratamentos controle e *A. scrobiculata* em todas as doses de Mn aplicadas ao solo (Figura 1A).

A massa seca da raiz foi descrita por um modelo quadrático, com exceção do tratamento controle e *Diversispora* sp. (Figura 1B). Plantas inoculadas com *C. etunicatum* e *A. scrobiculata* apresentaram incrementos de 0,35g e 0,29g na massa seca da raiz até as doses estimadas de 160 mg kg^{-1} e 108,7 mg kg^{-1} de Mn, respectivamente, com tendência de diminuição a partir desses valores, enquanto o tratamento com *Diversispora* sp., mesmo com ajuste linear decrescente, produziu maior massa seca da raiz do que o tratamento controle (Figura 1B).

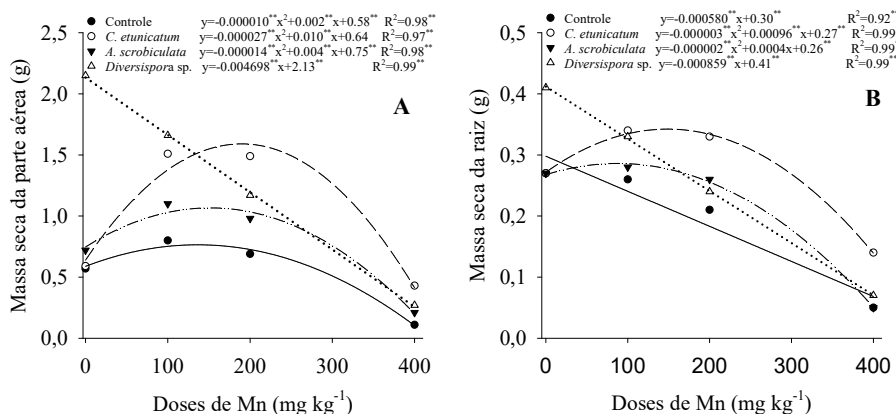


Figura 1. Massa seca da parte aérea (a) e raiz (b) de *M. caesalpinijifolia* em função dos tratamentos de inoculação com FMA e doses de Mn. Figure 1. Dry mass of shoot (a) and root (b) of *M. caesalpinijifolia* as a function of inoculation treatments with AMF and Mn doses.

3.2. Acúmulo de Mn em esporos de FMA

A análise elementar por MEV e EDS, realizada no tratamento controle (0 mg kg^{-1} de Mn) e na condição mais extrema de Mn (400 mg kg^{-1}), permitiu detectar percentuais de Mn, com base no peso deste elemento presente na amostra (Peso%), na superfície dos esporos de FMA extraídos do solo que foi cultivada com *M. caesalpinijifolia* (Figura 2A). Nos esporos de FMA extraídos do tratamento com 400 mg kg^{-1} de Mn, as porcentagens desse elemento na superfície dos esporos variaram de acordo com a espécie de FMA, correspondendo a 2,9%, 2,0% e 1,3%, respectivamente, para os tratamentos com *Diversispora* sp., *C. etunicatum* e *A. scrobiculata* (Figura 2A). Na ausência de adição de Mn ao solo (0 mg kg^{-1}), as porcentagens desse elemento na superfície dos esporos foram indetectáveis e, portanto, não foram plotadas no gráfico.

3.3. Colonização micorrízica

A colonização micorrízica diminuiu em todos os tratamentos com FMA em função das doses crescentes de Mn aplicadas ao solo, de acordo com os modelos de ajuste quadrático (*C. etunicatum* e *Diversispora* sp.) e linear decrescente (*A. scrobiculata*) (Figura 3). Os maiores percentuais de colonização micorrízica foram observados no tratamento sem adição de Mn. Essas porcentagens foram de 61,7%, 40,6% e 27,37% para os tratamentos com *C. etunicatum*, *Diversispora* sp. e *A. scrobiculata*, respectivamente (Figura 3).

3.4. Teores de Mn na parte aérea e raiz

O teor de Mn na parte aérea das plantas aumentou em função do aumento das doses de Mn aplicadas no solo em todos os tratamentos, conforme demonstrado pelo modelo quadrático (controle e *Diversispora* sp.) e aumento linear (*C. etunicatum* e *A. scrobiculata*) (Figura 4A). No entanto, na parte aérea, todas as plantas inoculadas com FMA apresentaram diminuição no teor de Mn quando comparadas ao tratamento controle, com maior intensidade nos tratamentos com FMA *Diversispora* sp. e *C. etunicatum*. Neste caso, na máxima dose de Mn aplicada ao solo, o tratamento controle apresentou teor de Mn acima de 4000 mg kg^{-1} , enquanto que nas plantas inoculadas com FMA, por exemplo, no tratamento com *Diversispora* sp., esse teor foi reduzido em mais de 2800 mg kg^{-1} de Mn (Figura 4A).

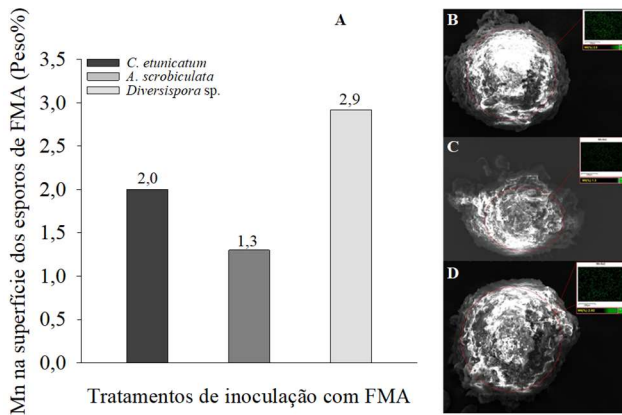
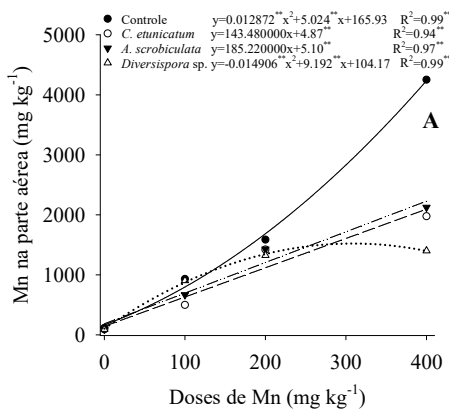


Figura 2. Mn na superfície dos esporos de FMA obtido por EDS (A) e imagens de microscopia eletrônica de varredura dos esporos de FMA (*C. etunicatum* (B), *A. scrobiculata* (C) e *Diversispora* sp. (D)).
Figure 2. Mn on the surface of AMF spores obtained by EDS (A) and scanning electron microscopy images of AMF spores (*C. etunicatum* (B), *A. scrobiculata* (C) and *Diversispora* sp. (D)).

Nas raízes, houve comportamento inverso ao da parte aérea, maior teor de Mn foi encontrado nas plantas inoculadas com FMA. Na máxima dose de Mn aplicada no solo, o tratamento controle apresentou teores de Mn inferiores a 2100 mg kg⁻¹ de Mn, enquanto que nas plantas



inoculadas com FMA, por exemplo, no tratamento com *Diversispora* sp., esse teor aumentou em mais de 2200 mg kg⁻¹ Mn (Figura 4B). Neste caso, os tratamentos com *Diversispora* sp., seguidos por *A. scrobiculata* e *C. etunicatum*, induziram aumentos significativos no teor de Mn nas raízes de 115,86%, 38,67% e 25,38%, respectivamente, em relação ao tratamento controle (Figura 4B).

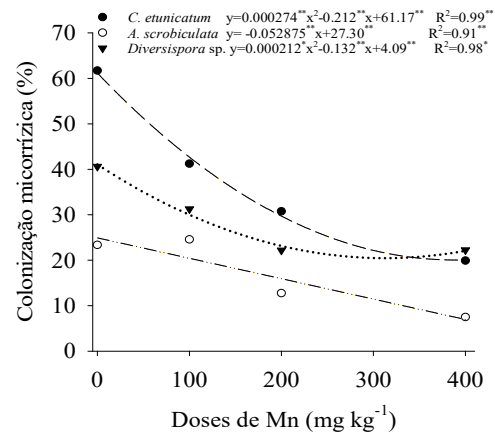


Figura 3. Colonização micorrízica em *M. caesalpinifolia* função dos tratamentos de inoculação com FMA e doses de Mn.

Figure 3. Mycorrhizal colonization in *M. caesalpinifolia* as a function of inoculation treatments with AMF and Mn doses.

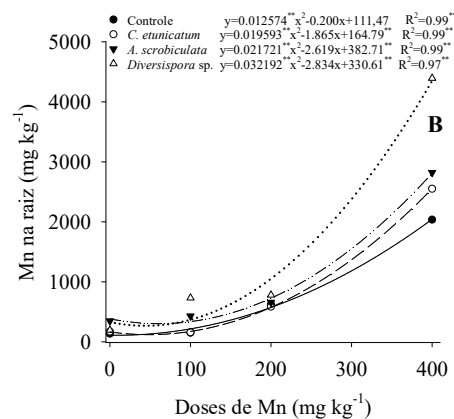


Figura 4. Teores de Mn na parte aérea (A) e raiz (B) de *M. caesalpinifolia* em função dos tratamentos de inoculação com FMA e doses de Mn.
Figure 4. Mn contents in shoot (A) and root (B) of *M. caesalpinifolia* as a function of inoculation treatments with AMF and Mn doses.

4. DISCUSSÃO

O crescimento das plantas de *M. caesalpinifolia* foram significativamente reduzidas, em termos de massa seca da parte aérea e raiz, nas maiores doses de Mn aplicadas ao solo. As plantas deste tratamento apresentaram os maiores teores de Mn na raiz e na parte aérea, resultando em sintomas de fitotoxidez mais expressivos, principalmente nas plantas do tratamento controle, o que explica a diminuição do crescimento das plantas em termos de massa seca. Nas plantas colonizadas por FMA, os sintomas de toxidez por Mn foram bem menos expressivos, principalmente nos tratamentos com FMA *C. etunicatum* e *Diversispora* sp., o que justifica a maior produção de massa seca da parte aérea e massa seca da raiz quando comparada às plantas do tratamento controle. Vários estudos mostram que os FMA têm uma influência significativa no crescimento e proteção de plantas sob estresse causado por metais pesados (GARCIA et al., 2017; ADEYEMI et al., 2021; GUPTA et

al., 2022; WANG et al., 2022). No entanto, esses benefícios podem ser dependentes das espécies de FMA, da planta hospedeira e do metal contaminante (FERROL et al., 2016).

Os esporos de FMA apresentaram afinidade em acumular Mn em sua superfície. No entanto, as porcentagens de Mn na superfície desses micro-organismos, obtidas com o auxílio de MEV e EDS, ainda são de difícil interpretação, principalmente por se tratar de um fato pouco estudado, havendo escassez de outros resultados comparativos. Até o momento, apenas um trabalho realizado anteriormente ao presente estudo, utilizou essa mesma técnica para estudar esse tipo de mecanismo em esporos de FMA (GARCIA et al., 2020). Utilizando a mesma espécie de FMA, Garcia et al. (2020) encontraram valores de Mn na superfície de esporos de FMA, extraídos de solo contaminado por Mn e cultivados com *Leucaena leucocephala*, relativamente maiores quando comparados ao nosso estudo com *M. caesalpinifolia*. No presente estudo, também encontramos uma variabilidade no

acúmulo de Mn na superfície dos esporos entre as espécies de FMA. Smith e Read (1997) sugerem que diferenças na composição química da parede celular fúngica entre diferentes espécies de FMA podem levar a esse tipo de variação. Além disso, vale ressaltar que as maiores porcentagens de Mn observadas na superfície dos esporos de FMA em nosso estudo refletiram diretamente na atenuação da fitotoxidez pelo Mn e na melhoria do crescimento das plantas. Isso leva a crer que esse tipo de estratégia dos FMA pode constituir um dos mecanismos de proteção da planta contra o excesso de Mn no solo.

Os maiores percentuais de colonização micorrízica foram observados no tratamento sem adição de Mn. Resultados semelhantes também foram observados por Li et al. (2018), quando relataram que o aumento nos níveis de arsênio no solo reduziu significativamente a colonização micorrízica, em plantas *Medicago sativa*, de 38,18% para 9,81%. Em nosso estudo, o baixo percentual de colonização micorrízica observado nas condições mais extremas de Mn parece ter sido uma estratégia vantajosa para *M. caesalpiniiifolia*, uma vez que houve melhoria no seu crescimento e alívio da fitotoxidez pelo Mn (Figura 5).

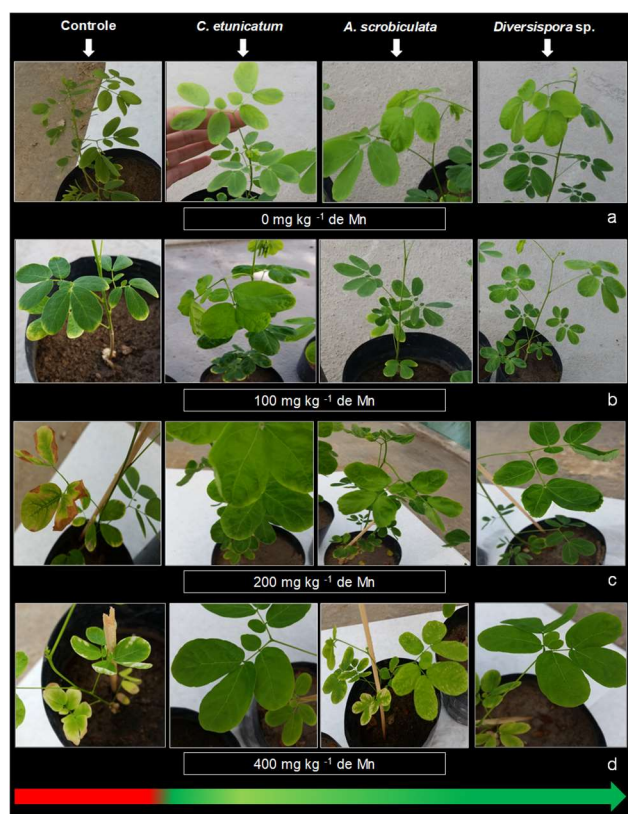


Figura 5. Aspecto dos sintomas foliares de toxidez de Mn em plantas de *M. caesalpiniiifolia* após 60 dias do transplante (a-0 mg kg⁻¹ de Mn, b-100 mg kg⁻¹ de Mn, c-300 mg kg⁻¹ de Mn e d-400 mg kg⁻¹ de Mn). Figure 5. Aspect of leaf symptoms of Mn toxicity in *M. caesalpiniiifolia* plants at 60 days after transplanting (a-0 mg kg⁻¹ of Mn, b-100 mg kg⁻¹ of Mn, c-300 mg kg⁻¹ of Mn, and d-400 mg kg⁻¹ of Mn).

Todas as plantas inoculadas com FMA apresentaram menor teor de Mn na parte aérea quando comparadas ao tratamento controle. No entanto, vale ressaltar que, independentemente da inoculação de FMA, todos os valores de Mn observados na parte aérea foram considerados altos e acima do limite tóxico para a maioria das espécies vegetais, que é de 400 mg kg⁻¹ de Mn na massa seca da parte aérea

(KABATA-PENDIAS, 2010). No entanto, os níveis de Mn absorvidos na parte aérea das plantas micorrizadas não refletiram em grandes prejuízos ao desenvolvimento de *M. caesalpiniiifolia*, quando comparados ao tratamento controle, o que demonstra o potencial desta espécie, juntamente com FMA, em tolerar o Mn. Inversamente ao que ocorreu na parte aérea, os teores de Mn nas raízes foram maiores nas plantas micorrizadas, quando comparadas ao tratamento controle. Esse comportamento indica uma menor translocação de Mn da raiz para a parte aérea e pode explicar os menores teores desse elemento na parte aérea das plantas micorrizadas. Nossos resultados corroboram com os encontrados por Spagnoletti et al. (2017) em *Glycine max* L. associado a FMA em solo contaminado com arsênio e por Garcia et al. 2018 em *M. caesalpiniiifolia* associada a FMA em solo contaminado por Mn.

5. CONCLUSÕES

Altas concentrações de Mn, a partir de 200 mg kg⁻¹, causam fitotoxidez em *M. caesalpiniiifolia*. Por outro lado, a inoculação com FMA alivia o estresse por Mn e aumenta o crescimento das plantas de *M. caesalpiniiifolia*. O acúmulo de Mn na superfície dos esporos de FMA pode ser um mecanismo essencial para conferir tolerância a *M. caesalpiniiifolia* contra o excesso de Mn. A eficiência desse mecanismo depende das espécies de FMA. A inoculação micorrízica em *M. caesalpiniiifolia* pode ser considerada uma importante estratégia biotecnológica para uso em futuras práticas de remediação de solos com excesso de Mn.

6. REFERÊNCIAS

- ADEYEMI, N. O.; ATAYESE, M. O.; SAKARIYAWO, O. S.; AZEEZ, J. O.; SOBOWALE, P. A.; OLUBODE, A.; MUDATHIR, R.; ADEBAYO, R.; ADEOYE, S. Alleviation of heavy metal stress by arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Glycine max* (L.) grown in copper, lead and zinc contaminated soils. **Rhizosphere**, v. 18, p. 1-8, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100325>
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, p. 711-728, 2013. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>
- CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Estabelecimento de plantas herbáceas em solo com contaminação de metais pesados e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 1443-1452, 2001. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2001001200001>
- CEBALLOS-LAITA, L.; GUTIERREZ-CARBONELL, E.; IMAI, H.; ABADÍA, A.; UEMURA, M.; ABADÍA, J.; LÓPEZ-MILLÁN, A. F. Effects of manganese toxicity on the protein profile of tomato (*Solanum lycopersicum*) roots as revealed by two complementary proteomic approaches, two-dimensional electrophoresis and shotgun analysis. **Journal of Proteomics**, v. 185, p. 51-63, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jpro.2018.06.016>
- CHRISTIE, P., LI, X., CHEN, B. Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. **Plant and Soil**, v. 261, p. 209-217, 2004. <https://doi.org/10.1023/B:PLSO.0000035542.79345.1b>

- FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p.1039-1042, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>
- FERROL, N.; TAMAYO, E.; VARGAS, P. The heavy metal paradox in arbuscular mycorrhizas: from mechanisms to biotechnological applications. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, p. 6253-6265, 2016. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw403>
- FERRONATO, N.; TORRETTA, V. Waste mismanagement in developing countries: A review of global issues. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, p. 1-28, 2019. <https://doi.org/10.3390/ijerph16061060>
- GARCIA, K.G.V.; GOMES, V. F. F.; MENDES FILHO, P. F.; MARTINS, C. M.; SILVA JUNIOR, J. M. T.; CUNHA, C. S. M.; PINHEIRO, J. I. Arbuscular mycorrhizal fungi in the phytostabilization of soil degraded by manganese mining. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, p. 192-202, 2018. <https://doi.org/10.5539/jas.v10n12p192>
- GARCIA, K. G. V.; GOMES, V. F. F.; MENDES FILHO, P. F.; MARTINS, C. M.; ALMEIDA, A. M. M.; SILVA JUNIOR, J. M. T. Tolerância de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. associada a micorrizas arbusculares em substrato da mineração de manganês. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 60, p. 247-255, 2017. <http://dx.doi.org/10.4322/rca.2500>
- GARCIA, K. G. V.; MENDES FILHO, P. F.; PINHEIRO, J. I.; CARMO, J. F.; PEREIRA, A. P. A.; MARTINS, C. M.; ABREU, M. G. P.; OLIVEIRA FILHO, J. S. Attenuation of manganese-induced toxicity in *Leucaena leucocephala* colonized by arbuscular mycorrhizae. **Water, Air, Soil & Pollution**, v. 231, p.1-15, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4381-9>
- GUPTA, S.; THOKCHOM, S. D.; KOUL, M.; KAPOOR, R. Arbuscular Mycorrhiza mediated mineral biofortification and arsenic toxicity mitigation in *Triticum aestivum* L. **Plant Stress**, v. 5, p. 1-13, 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.stress.2022.100086>
- 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 China. **Plos One**, v. 11, p.1-18, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148956>
- JIA, Y.; LI, X.; LIU, Q.; HU, X.; LI, J.; DONG, R.; LIU, P.; LIU, G. Physiological and transcriptomic analyses reveal the roles of secondary metabolism in the adaptive responses of *Stylosanthes* to manganese toxicity. **BMC Genomics**, v. 21, p. 3-17, 2020. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-07279-2>
- KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants** (4th ed.). Boca Raton: CRC Press, 2010.
- KOWITWIWAT, A.; SAMPANPANISH, P. Phytostabilization of arsenic and manganese in mine tailings using *Pennisetum purpureum* cv. Mott supplemented with cow manure and acacia wood-derived biochar. **Heliyon**, v. 6, p. 1-10, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04552>
- LI, J.; SUN, Y.; JIANG, X.; CHEN, B.; ZHANG, X. Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate arsenic toxicity to *Medicago sativa* by influencing arsenic speciation and partitioning. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 157, p. 235-243, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.073>
- LIU, D.; ZHENG, K.; WANG, Y.; ZHANG, Y.; LAO, R.; QIN, Z.; LI, T.; ZHAO, Z. Harnessing an arbuscular mycorrhizal fungus to improve the adaptability of a facultative metallophytic poplar (*Populus yunnanensis*) to cadmium stress: Physiological and molecular responses. **Journal of Hazardous Materials**, v. 424, p. 127430, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127430>
- 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**, v. 55, p. 158-161, 1970. [https://doi.org/10.1016/s0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/s0007-1536(70)80110-3)
- SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal Symbiosis**, 2nd ed., Academic Press: London, 605 p., 1997.
- SPAGNOLETTI, F.; CARMONA, M.; GÓMEZ, N. E. T.; CHIOCCHIO, V.; LAVADO, R. S. Arbuscular mycorrhiza reduces the negative effects of *M. phaseolina* on soybean plants in arsenic-contaminated soils. **Applied Soil Ecology**, v. 121, p. 41-47, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.09.019>
- TANG, T.; TAO, F.; LI, W. Characterisation of manganese toxicity tolerance in *Arabis paniculata*. **Plant Diversity**, v. 43, p. 163-172, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2020.07.002>
- TEIXEIRA, P. C. T.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. **Manual de Métodos de Análise de Solo** (3rd ed. 576p). Brasília: Embrapa, 2017.
- VODNIK, D.; GRČMAN, H.; MAČEK, I.; Van ELTEREN, J. T.; KOVAČEVIČ, M. The contribution of glomalin-related soil protein to Pb and Zn sequestration in polluted soil. **Science of The Total Environment**, v. 392, p. 130-136, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.11.016>
- WANG, X.; LIANG, J.; LIU, Z.; KUANG, Y.; HAN, L.; CHEN, H.; XIE, X.; HU, W.; TANG, M. Transcriptional regulation of metal metabolism- and nutrient absorption-related genes in *Eucalyptus grandis* by arbuscular mycorrhizal fungi at different zinc concentrations. **BMC Plant Biology**, v. 22, n. 1, p. 1-20, 2022. <http://dx.doi.org/10.1186/s12870-022-03456-5>
- YU, F.; LIU, K.; YE, P.; ZHOU, Z.; CHEN, C.; LI, Y. Manganese tolerance and accumulation characteristics of a woody accumulator *Camellia oleifera*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, p. 21329–21339, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05459-6>