ROSELI FREIRE DE MELO

POTENCIAL DE ESPÉCIES VEGETAIS PARA FITORREMEDIAÇÃO DE UM SOLO CONTAMINADO POR ARSÊNIO

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2006

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e Classificação da Biblioteca Central da UFV

T
M528p
2006

Melo, Roseli Freire de, 1975-
Potencial de espécies vegetais para fitorremediação de um solo contaminado por arsênio / Roseli Freire de Melo. – Viçosa : UFV, 2006.
xii, 107f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Luiz Eduardo Dias.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Solos - Remediação. 2. Fitorremediação. 3. Recuperação de terra. 4. Revegetação. 5. Solos - Poluição. 6. Solos - Teor de arsênio. I. Universidade Federal de Viçosa. II.Título.

CDD 22.ed. 628.55

ROSELI FREIRE DE MELO

POTENCIAL DE ESPÉCIES VEGETAIS PARA FITORREMEDIAÇÃO DE UM SOLO CONTAMINADO POR ARSÊNIO

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

APROVADA: 04 de setembro de 2006

Prof. Juraci Alves de Oliveira
(Co-Orientador)

Prof. Jaime Wilson V. Mello
(Co-Orientador)

Prof. Walter Antônio P. Abrahão

Prof. Emerson Silva R. Júnior

Prof. Luiz Eduardo Dias
Orientador

Especialmente aos meus pais: José Freire de Melo (*In memorian*) e Inácia Maria de Melo que com toda a humildade souberam me dar amor, carinho, incentivo durante o decorrer da minha existência. A vocês meus pais, meu eterno amor.

Aos meus queridos irmãos: Maurício, Marinaldo, Mário, Marcos Antônio, Ademar, Marinilson, Maria das Dores (Lia), João, Gabriel e Francisco que mesmo diante da distância que nos separam encontram sempre presente em minha vida.

A Aurélio Antas Miguel, pessoa que tenho grande admiração. Que mesmo quando distante encontra-se sempre presente em minha vida, transmitindo carinho, perseverança e amor.

A vocês, minha eterna gratidão.

Dedico

A DEUS

“Deus soberano e eterno, és a fonte pela qual vim ao mundo, que com tua bondade infinita deu-me força e coragem para alcançar mais uma vitória. Peço-lhe proteção e que continue iluminando cada passo de minha vida, para que eu possa enfrentar todos os obstáculos que poderão surgir em minha caminhada”.

Ofereço

Agradecimentos

À Universidade Federal de Viçosa, através do Departamento de Solos pelo acolhimento e oportunidade concedida.

À Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico CNPq pela concessão da bolsa de pesquisa.

Ao professor Luiz Eduardo Dias, pela orientação e paciência durante o decorrer deste trabalho, que além de orientador considero um verdadeiro amigo e conselheiro; a você meu eterno agradecimento.

Ao professor Juraci Alves pela amizade e consideráveis sugestões.

Aos professores Jaime Mello e Walter Abrahão pelas críticas e sugestões concedida.

Ao Pesquisador Emerson Ribeiro pelas sugestões.

Ao Professor Norivaldo dos Anjos pelas sugestões, apoio e ensinamentos.

A todos os estagiários do grupo “arsênio” em especial, Wilian, Mauro, Arlindo e Renato pela grande força na execução deste trabalho.

Aos meus amigos: Edgley, Flávia, Eliane, Fernanda Ataíde, Maria, Igor, Elton Valente, Guilherme, Ítalo, enfim a todos pela amizade sincera; a vocês meus sinceros agradecimentos.

A Roseilton, Lindemberg, Alexandre e Ana Paula pela minha recepção a Viçosa.

Aos funcionários do Departamento de Solos e dos Laboratórios Física e de Fertilidade, em especial ao Carlos Fonseca, George, Zélia, Claudinho, Carlinho, Janilson, João Milagres, Ciro, Pedro Lelis, Sônia, enfim a todos pela atenção, apoio e ensinamentos.

A Luciana, secretária da Pós graduação pela atenção em todas as horas

A todos que direto ou indiretamente contribuíram para a minha permanência no curso como também na elaboração deste trabalho.

Enfim, a todos que fizeram parte da minha vida de pós – graduação.

BIOGRAFIA

ROSELI FREIRE DE MELO, filha de Inácia Maria de Melo e José Freire de Melo, nasceu em 16 de janeiro de 1975, na cidade de Esperança, Paraíba.

Graduada em engenharia agronômica pela Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB, em setembro de 1999.

Em abril de 2002, concluiu o curso de Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas pela Universidade Federal do Ceará, na área de Microbiologia do Solo, sob a orientação da Professora Vânia Felipe Freire Gomes, desenvolveu a dissertação intitulada “Interações Rizóbio, Fungo Micorrízico e Aduabação com NPK em Feijão-de-Corda”.

Iniciou o curso de Doutorado em Ciência do Solo em setembro de 2002, na Universidade Federal de Viçosa, sob a Orientação do Professor Luiz Eduardo Dias, desenvolveu a tese intitulada “Potencial de espécies vegetais para fitorremediação de um solo contaminado por arsênio”, com aprovação em 04 de setembro de 2006.

CONTEÚDO

Página

RESUMO..... ix

ABSTRACT..... xi

1.0. INTRODUÇÃO GERAL 1

2.0. REVISÃO DE LITERATURA..... 3

2.1. O ARSÊNIO..... 3

2.1.1. Fontes de contaminação por arsênio..... 5

2.1.2. Toxidade do arsênio..... 7

2.1.3. Similaridade entre arsênio e fósforo no solo 9

2.2. ARSÊNIO EM PLANTAS 10

2.2.1. Arsênio e fósforo na planta..... 10

2.2.2. Mecanismos de desintoxicação de arsênio..... 11

2.2.3. Espécies acumuladorasTD0 4.....20 TD0 Tc(.....)Tj5 0 TD(.....)Tj4.44 (

Índice de translocação e teores críticos de arsênio no solo..... 37
CONCLUSÕES..... 39
LITERATURA CITADA……..……..... 40

CAPÍTULO 2

POTENCIAL DE ESPÉCIES HERBÁCEAS FORRAGEIRAS COMO FITORREMEDIADORAS DE SOLO CONTAMINADO POR ARSÊNIO..... 42

RESUMO..... 42
ABSTRACT..... 43
INTRODUÇÃO..... 43
MATERIAL E MÉTODOS..... 44
RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 47
Sintomas de toxidez, produção de matéria seca, altura e diâmetro de plantas.. 47
Teores e conteúdos de arsênio nos diferentes compartimentos das plantas..... 51
Índice de translocação e teores críticos de arsênio no solo..... 56
CONCLUSÕES..... 58
LITERATURA CITADA…….....
CONCLUSÕES.....

CAPÍTULO 4

POTENCIAL DE ESPÉCIES DE EUCALIPTUS PARA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO POR ARSÊNIO 79

RESUMO..... 79

ABSTRACT..... 80

INTRODUÇÃO..... 80

MATERIAL E MÉTODOS..... 81

RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 85

Sintomas de fitotoxidez e produção de matéria seca das plantas..... 85

Altura, diâmetro de plantas, área foliar e razão Raiz/Parte aérea..... 90

Teores e conteúdos de arsênio nos diferentes compartimentos das plantas..... 95

Índice de translocação e teores críticos de arsênio no solo..... 100

CONCLUSÕES..... 103

LITERATURA CITADA..... 104

6.0. CONCLUSÕES GERAIS..... 107

RESUMO

MELO, Roseli Freire de, D.S., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2006. **Potencial de espécies vegetais para fitorremediação de um solo contaminado por arsênio.** Orientador: Luiz Eduardo Dias. Co-orientadores: Juraci Alves de Oliveira e Jaime Wilson V. Mello.

O arsênio (As) é encontrado na natureza associado aos minérios de prata, ouro, antimônio, cobalto e de níquel. Existem vários casos de intoxicação e morte de milhares de pessoas contaminadas por arsênio em diversos países do mundo. No Brasil existem ocorrências de áreas com elevadas concentrações deste metalóide no Quadrilátero Ferrífero de Minas Gerais, no delta do rio Amazonas e Santana no Amapá, entre outras. Tendo em vista o impacto que o arsênio pode causar no ambiente é de grande importância o desenvolvimento de técnicas para a descontaminação de áreas com elevadas concentrações deste metalóide. O presente estudo teve como finalidade avaliar o potencial de diferentes espécies de **leguminosas herbáceas** - crotálaria (*Crotalaria spectabilis* Roth.*)*, feijão de porco (*Canavalia ensiformis* L.), mucuna preta *(Stilozobium aterrinum* Piper & Tracy), **forrageiras herbáceas** - estilosante *(Stylosanthes humilis* HBK*)*, amendoim forrageiro (*Arachis pintoi* Krapov. & Gregory), azevém (*Lolium multiflorum* L.) aveia preta (*Avena sativa* L.), **leguminosas arbustivas** - feijão guandu (*Cajanus cajan* L.), *sesbania (Sesbania virgata* Cav.), leucena *(Leucaena leucocephala* L.) e **espécies de eucaliptos** - *Eucaliptus grandis* Hill, *E. cloeziana* (F. Muell), *E. urophylla* (S.T. Black), *Corymbia citriodora* (Hill & Johnson) (*Eucalyptus citriodora* Hook) para programas de fitorremediação de áreas contaminadas por arsênio. Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação em blocos casualizados com três repetições. Amostras de Latossolo Vermelho Amarelo foram incubadas por 15 dias com diferentes doses de As 0,0; 50; 100 e 200 mg dm^{-3} para as espécies herbáceas e arbustivas e de 0,0; 50; 100; 200 e 400 mg dm^{-3} para as espécies de eucaliptos, as quais resultaram em teores recuperados (Mehlich 3) de 0,0; 12,9; 26,8; 58,7 e 128,8 mg dm^{-3}, respectivamente. Como fonte de As foi utilizado o arsenato de sódio (Na_2HAsO_4+$7H_2O$). Após o período de incubação, re

em folhas jovens, intermediárias e basais, caule, ramos, pecíolo e raízes, de acordo com as espécies. Determinaram-se os teores de arsênio nas diferentes partes das plantas, bem como, o conteúdo e índice de translocação de As para cada espécie. Por meio de análises de regressão foram estimados os teores críticos (TC) de As disponíveis no solo que proporcionaram redução de 50 % da matéria seca produzida em relação às plantas testemunhas. As espécies avaliadas mostraram comportamento diferenciado quanto à tolerância ao As. As plantas de mucuna preta, sesbania, leucena, azevém e *E. grandis* não manifestaram sintomas morfológicos visuais de toxicidade e apresentaram valores de TC no solo significativamente superiores aos observados para as demais espécies no período de tempo estudado. Os elevados conteúdos de arsênio nas raízes dessas espécies sugerem a atuação de mecanismo diferenciado de acumulação e translocação do metalóide aos tecidos da parte aérea. As espécies feijão guandu, feijão de porco, aveia forrageira e *E. cloeziana* apresentaram-se sensíveis exibindo lesões em suas folhas basais nacena, azevi42 Tcoermedão eis exidicu

ABSTRACT

MELO, Roseli Freire de, D.S., Universidade Federal de Viçosa, September de 2006. **Potential of vegetal species for phytoremediation of soil one contaminate by arsenic.** Adviser: Luiz Eduardo Dias. Co-advisers: Juraci Alves de Oliveira and Jaime Wilson V. Mello.

Arsenic is found in the nature associated with ores from silver, gold, antimonium, cobalt and nickel. Intoxication and death in thousands persons caused by arsenic were related in different countries of the word. In Brazil there is high concentrations areas of this metalloid at Quadrilátero Ferrífero of Minas Gerais State, at delta of Amazonas river and Santana in Amapá State, among others. Considering the impact that arsenic may cause on the environment it is very important to set techniques to remediate arsenic high content areas. This work had the aim to evaluate the potential of different species of **legumes herbaceous** - velvetbean (*Stizolobium aterrimum* Piper & Tracy), jack bean (*Canavalia ensiformis* (L.)) and crotalaria (*Crotalária spectabilis* Roth.), of **foragers herbaceous** - townsville stylo (*Stylosanthes humilis*), forage peanuts (*Arachis pintoi*), oat (*Avena strigosa* Schreb), and ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.), of **legumes shrubs** - jack bean (*Cajanus cajan* L.), sesbania (*Sesbania virgata* Cav.), leucena (Leucaena leucocephala Lam. (De Witt)), and **eucalyptus species** - *Eucaliptus grandis* Hill, *E. cloeziana* (F. Muell), *E. urophylla* (S.T. Black), *Corymbia citriodora* (Hill & Johnson) (*Eucalyptus citriodora* Hook) to phytoremediation programs of arsenic contaminated areas. Samples of Red-Yellow Latossol were incubated with different doses of As: 0; 50; 100 and 200 mg dm^{-3} to herbaceous and shrubs species and 0,0; 50; 100; 200 e 400 mg dm^{-3} to eucalyptus species. These doses resulted in 0,0; 12,9; 26,8; 58,7 e 128,8 mg dm^{-3} of available arsenic by Mehlich-3, respectively. Sodium arsenate ($Na_2HAsO_4+7H_2O$) was the As source used for all experiments. After the incubation time herbaceous and shrubs species were seeded and to eucalyptus species the seedlings transplantated two months of seedling. The macro and micronutrients fertilizations were done after the seeded or transplantation. After sixty five days to herbaceous and 90 days to shrubs and eucalyptus species of seeding and transplantation, plants were evaluated to height, diameter and root and shoot biomass. Arsenic content in young, intermediated, and old leaves, steam and roots, and As-translocation index were determined. By regression analysis we estimated the values of soil critical available arsenic (TC) that reduced 50% of biomass production. Species showed different behavior to arsenic tolerance: velvetbean, sesbania, leucena, ryegrass and *E. grandis* did not show As-toxic morphologic symptoms, as injuries in

leaves, and showed higher soil TC values than others species. High As content in roots from these species suggests the action of different mechanisms of accumulation and translocation of As in the shoot tissues. Jack bean, jack bean, oat forager and *E. cloeziana* showed injuries in bottom leaves when exposed to the higher dose of As, showing potential as bioindicators plants of arsenic-contaminated soils. On the other hand, species as velvetbean, ryegrass, forage peanuts, townsville stylo and *E. urophylla* showed high As-tolerance with potential to arsenic-phytostabilization plants. *E. grandis*, crotalária e *Corymbia citriodora* showed potential to be used as As-phytoextraction plants. Nevertheless, more conclusive works, in field conditions and more exposition time, to set the potential of these species must be done.

1.0. INTRODUÇÃO GERAL

O arsênio está presente naturalmente em solos e rochas, onde, normalmente, ocorre em baixas concentrações, não representando, em condições naturais, risco para os seres humanos e vida selvagem. No entanto, concentrações elevadas de As no solo, são resultantes de ações antropogênicas, por meio do uso de pesticidas (herbicidas e fungicidas), fertilizantes, atividade de mineração de ouro, chumbo, cobre e níquel, produção de ferro e aço, combustão de carvão (Smith et al., 1998; Baird, 2002), irrigação com água contaminada (Roychowdhury et al., 2002), imunizante de madeiras e biossólidos (O'Neill 1990).

A legislação ambiental vigente exige que áreas degradadas por atividades antrópicas sejam recuperadas. A recuperação de áreas degradadas e contaminadas por metais pesados, visa minimizar ou evitar a dispersão dos contaminantes para outros nichos ecológicos e a contaminação da população humana, bem como, restaurar a funcionalidade e a diversidade dos ecossistemas impactados ou degradados. Entre os metais pesados, são incluídos outros elementos tóxicos que, a rigor deveriam ser classificados como metalóides, como é o caso do As, e até não metais, como é o caso do selênio.

Na recuperação de áreas degradadas, a revegetação apresenta vantagens, devido a sua natureza permanente, combinada aos baixos custos de manutenção, proteção contra erosão eólica e hídrica, melhoria da estrutura do solo, aumento da fertilidade do solo e recuperação estética da área (Accioly & Siqueira, 2000).

A exposição de espécies vegetais ao As pode promover significativa redução na produção de matéria seca sem, contudo, para algumas espécies, apresentar outros sintomas visuais de toxicidade, como lesões foliares. Isso pode ser visto como resultado da estratégia desenvolvida pelas plantas para tolerar o As, em que o transporte do As para a parte aérea é limitado, concentrando-se mais no sistema radicular (Carbonell-Barrachina et al., 1997).

A tolerância ao arsenato é conferida, em algumas espécies vegetais, pela capacidade de diminuir sua absorção executando modificações no sistema de absorção de fosfato, reduzindo, em conseqüência, o influxo de arsenato (Meharg & Macnair, 1992, Meharg & Hartley-Whitaker, 2002). Além da redução na absorção, plantas tolerantes ao arsenato podem ainda acumular altos níveis de As, sugerindo que mecanismos de destoxificação constitutivos possam ser requeridos. Por outro lado, a presença do arsenito no interior das

células induz fortemente a síntese de fitoquelatina, que tem um papel importante na destoxificação das plantas.

A taxa de absorção de metais tóxicos no solo pelas raízes de plantas terrestres é tipicamente baixa, entretanto, algumas espécies apresentam capacidade de hiperacumular alguns elementos tóxicos. A tolerância a metais pesados e ao As tem sido relacionada com a capacidade dos organismos em sintetizar peptídeos de baixo peso molecular, ricos em enxofre, que participariam na complexação desses metais (Schmöger et al., 2000, Hartley-Whitaker, 2001). Normalmente o As é acumulado como complexo As(III)-tris-tiol, sendo que os doadores de tíois para o complexo são, provavelmente, a glutationa ou fitoquelatina.

Substratos degradados contendo elevadas concentrações de metais pesados e metalóides representam grandes fontes de contaminação ambiental. Dentre diferentes processos de mitigação deste tipo de impacto, a fitorremediação mostra-se como alternativa viável. No entanto, em se tratando de substratos contaminados por arsênio, a literatura apresenta um grupo muito reduzido de espécies com potencial fitorremediador.

A fitorremediação é a estratégia *in situ* que envolve o emprego de plantas e de microrganismos a elas associados com o fim de degradar, controlar ou reduzir os contaminantes do solo e água (Accyoly & Siqueira, 2000). A fitorremediação envolve diversos métodos, entre eles estão a fitoestabilização e a fitoextração. Fitoestabilização é o emprego de plantas a fim imobilizar os contaminantes no solo, impedindo a migração destes para outras áreas. A fitoextração é o uso das plantas, preferivelmente hiperacumuladoras, que acumulam os contaminantes principalmente na parte aérea. Subseqüentemente, as plantas são colhidas, transportadas e dispostas fora do local (Schnoor, 2002).

A principal limitação da fitorremediação refere-se ao desconhecimento de um número significativo de espécies herbáceas, arbustivas e arbóreas com potencial de atuarem como fitorremediadoras de áreas contaminadas por arsênio.

2.0. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O ARSÊNIO

O arsênio, ou simplesmente As, é um elemento classificado no grupo V da Tabela Periódica, juntamente com nitrogênio, fósforo, antimônio e bismuto. É classificado como metalóide ou semi-metal, porque em muitas situações comporta-se como um não-metal. A oxidação do As elementar (0) pode resultar em arsenato (+5), arsenito (+3) e arsina (-3) (Simon et al., 1999). A forma elementar do arsênio não ocorre naturalmente no ambiente e não é solúvel em água (WHO, 2001).

As formas inorgânicas do arsênio são mais tóxicas do que suas formas orgânicas ou metiladas como o MMA - ácido monometilarsênico e DMA - ácido dimetilarsênico, por exemplo. Em solução, os estados de oxidação mais comuns são As (III) e As (V), que ocorrem como ácido arsenioso ($H_2AsO_4^-$; $HAsO_4^{2-}$) respectivamente, estas podem ser convertidas para formas orgânicas pela ação dos microrganismos (O'Neil, 1995).

O arsênio é um metalóide amplamente distribuído na crosta terrestre e está presente em mais de duzentos minerais. É um elemento que possui grande afinidade por sulfetos (Alloway, 1990) e eles aparecem juntamente com cobre, níquel, chumbo, cobalto e outros metais (Mandal & Suzuki, 2002). Os principais minerais de As são arsenopirita (FeAsS), realgar (AsS) e ouropigmento (As_2S_3), sendo o mais comum desses a arsenopirita (WHO, 2001; Mandal & Suzuki, 2002).

Os sulfetos são instáveis quando expostos ao ar atmosférico. A oxidação destes minerais produz drenagem ácida com liberação de metais pesados e outros elementos tóxicos. Neste sentido, merece destaque a arsenopirita (As_2S_3), cujo resultado do processo de oxidação tem causado sérios problemas à saúde humana e animal na Índia, ao Sul de Bangladesh (USEPA, 2002; Matschullat et al., 2000). Isto também pode ocorrer em outros países, inclusive no Brasil.

O As, é considerado o 52º elemento mais abundante na crosta terrestre, com uma concentração média de 2,0 mg kg^{-1} (Adriano, 1986). Aproximadamente, 4,01 x 10^6 kg de As está, atualmente, na crosta de terra (Matschullat, 2000). Em média, os xistos, granitos e os arenitos têm 13; 3 e 1 mg kg^{-1} de As, respectivamente (Onishi, 1969). A concentração de As pode variar entre os diversos tipos de rochas tais como rochas ígneas (1 a 15 mg kg^{-1}), sedimentares (1 a 900 mg kg^{-1}), calcárias (1 a 20 mg kg^{-1}) e fosfatadas (1 a 200 mg kg^{-1}), conforme O' Neill (1990). Em solos contaminados pela agricultura nos Estados Unidos, os

teores de As total variam de 1,8 a 830 mg kg^{-1} e em solos não contaminados, de 0,5 a 12 mg kg^{-1} (Bishop & Chisholm, 1962).

Em águas naturais, os compostos de As encontram-se normalmente variando de 0,1 a 2,0 µg $L^{-1,}$ podendo atingir valores de até 150 µg L^{-1}, dependendo do contexto geoquímico e da atividade antropogênica (Barra & Santos, 2001). A atmosfera contém 0,8 x 10^6 kg (Walsh et al., 1979) a 1,74 x 10^6 kg de As total (Chilvers & Peterson, 1987). Aproximadamente 85 % deste As encontra-se localizado no hemisfério norte, devido ao número mais elevado de países industrializados e de solos mais desenvolvidos (Matschullat, 2000).

Pesquisa realizada por Marques (2000) evidenciou teores de As de até 38 mg kg^{-1} em latossolos sob vegetação de cerrado. Valores similares foram obtidos por Oliveira et al. (2002) ao estudarem 45 amostras de solo sob vegetação de cerrado no Brasil. O As tende-se a concentrar nos horinzontes superficiais, em virtude da deposição atmosférica e reciclagem da vegetação (Alloway, 1990). Esta concentração também pode ser atribuída à presença de óxidos e da matéria orgânica na camada superficial dos solos. A adsorção de As em substâncias orgânicas no solo depende do pH do solo, com o máximo de sorção em pH 5,5 (Thanabalasingam & Pickering, 1986). O pH tem influência na especiação e lixiviação do As no solo, sendo que a máxima adsorção para arsenito se dá, aproximadamente, em pH 7,0. Para o arsenato, entretanto, a adsorção máxima ocorre em pH 4,0 (Pierce & Moore, 1982).

O potencial tóxico e a disponibilidade do As no ambiente dependem de vários fatores incluindo o potencial redox, o pH e a presença de ligantes que competem pelos sítios de adsorção na superfície mineral (Waltham & Eick, 2002). A reação do As nos solos é muito dependente do seu estado de oxidação, sendo os óxidos e hidróxidos de ferro e alumínio os compostos mais ativos na retenção de As. A forte associação do As com minerais de ferro, principalmente goethita, nos solos foi descrita por vários autores, em diferentes contextos (Kabata-Pendias et al., 1985; Dumaresq, 1993, Lin & Wu, 2001).

A textura do solo é outro fator que afeta a disponibilidade de As (Adriano, 2001). Solos argilosos e siltosos têm maior superfície adsortiva do que solos arenosos, conseqüentemente, os primeiros retêm quantidades mais elevadas de elementos-traço comparados aos solos arenosos (Chen et al., 1999; Berti & Jacobs, 1996).

O As (III) é mais móvel, mais tóxico e mais solúvel que o As (V). A maior mobilidade do As (III) pode ser explicada pela natureza de sua interação com a superfície coloidal do solo, onde realiza complexação superficial, enquanto que As (V) faz troca de

ligante (Ladeira & Ciminelli, 2000). Em solos ácidos e em solos redutores são mais comuns os oxiânions de arsenato e os sulfetos de As, respectivamente.

2.1.1. Fontes de contaminação por arsênio

A concentração de As nos solos da crosta terrestre varia geralmente de 0,2 a 41 mg kg^{-1} (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Entretanto, na superfície de solos agrícolas expostos aos pesticidas à base de As podem ser encontradas concentrações tão elevadas quanto 600 mg kg^{-1} (Adriano, 1986), e os teores de As do solo podem variar de 400 a 900 mg kg^{-1} nas áreas de depósitos minerais (NRCC, 1978).

O As atmosférico pode ser proveniente de emissões naturais (vulcões) ou antropogênicas. Aproximadamente 60 % das emissões de As por fontes antropogênica resultam da combustão de carvão e fundição do cobre. O uso de imunizante de madeira, herbicidas, a produção de aço, a ligação e fundição do zinco e a incineração contribuem para os 40 % restantes (Matschullat, 2000). A maior parte do As metálico emitido para atmosfera encontra-se como material particulado, onde permanece em suspensão por sete a 10 dias.

Os combustíveis fósseis contêm naturalmente As. Os óleos combustíveis contêm em média de 0,015 mg kg^{-1} (O' Neill, 1990). Entretanto, a concentração de As no carvão pode variar de 15 a 150 mg kg^{-1} (Cullen & Reimer, 1989). Sendo assim, a queima de combustíveis fósseis também contribui para o aumento da contaminação do solo por As.

Os compostos arseniacais foram usados nos pesticidas por mais de 100 anos. Entretanto, desde a década de 70 seu uso foi proibido (O' Neill, 1990). O As é um inseticida eficaz no tratamento de madeira e como desfolhante de algodão. O uso médio mundial de As foi estimado em 8000 t ano^{-1} para herbicidas, em 12000 t ano^{-1} para desfolhante do algodão e em 16000 t ano^{-1} como imunizante de madeira (Chilvers e Peterson, 1987). Segundo Kabata-Pendias & Pendiais (2001), o As também é encontrado em alguns produtos utilizados na agricultura sua concentração é de 2 a 26 mg kg^{-1} para lodo de esgoto, 2 a 1200 mg kg^{-1} para os fertilizantes fosfatados, 0,1 a 21 mg kg^{-1} para os calcários, 2 a 120 mg kg^{-1} nos fertilizantes nitrogenados e de 3 a 150 mg kg^{-1} nos estercos.

O uso intensivo de arsenato de cobre cromado (ACC) tem sido preocupação recente. O ACC é um pesticida que ajuda a reduzir a deterioração por insetos e microorganismos dos produtos de madeira. O As e o cobre agem como inseticida e fungicida, respectivamente. O cromo fixa o As e o Cu à celulose da madeira e a outros

componentes (Dawson et al., 1991). Em janeiro 2004, o uso do ACC no tratamento doméstico de madeira foi interrompido voluntariamente (USEPA, 2002).

O tratamento de madeira com o ACC, consome até 250 litros da solução de ACC em 1 m^3 de madeira. Isto resulta numa solução de tratamento com concentrações de arsênio, cromo e cobre variando de 1000-5000 mg kg^{-1} (Aceto & Fedele, 1994). Uma única peça com dimensões de 3670 cm x 5,08 cm x 15,24 cm de madeira serrada tratada com ACC contêm aproximadamente 27 g de As. Quantidade suficiente para envenenar mais de 200 adultos. Em média, aproximadamente 20 g, das cinzas de madeira tratada com ACC pode conter As suficiente para matar uma pessoa adulta. Sendo que para trióxido de arsênio a dose letal está entre 100 a 200 mg (Hindmarsh, & McCurdy 1986, Mathieu et al., 1981).

O aumento na industrialização também tem conduzido ao aumento na quantidade de As atual nos biossólidos. A deposição atmosférica, por sedimentos e pelos efluentes das indústrias aumentam freqüentemente a concentração do As nos biossólidos. Woolson (1983) relata que concentrações de As em biossólidos varia de 0 a 188 mg kg^{-1} de peso seco.

O As geralmente é um subproduto da fundição de zinco, cobre, ferro, ouro e manganês (Benson et al., 1981). Um relatório do CMBEEP (1977) indicou que a fundição e refino de cobre, zinco e chumbo liberam 955, 591 e 364 toneladas métricas de As para cada milhão de tonelada métrica produzida, respectivamente. Um estudo numa área de refinaria em Tacoma, Washington constatou uma deposição de 7 a 152 t ano^{-1} de As, enquanto no Canadá foi constatada deposição de 19 a 2600 t ano^{-1} de As (Woolson, 1983).

As pilhas de rejeitos de minas podem também causar a contaminação por As. O As pode ser lixiviado destas pilhas e/ou o material mais fino pode ser disperso pelo vento. Foram constatadas concentrações de As com mais de 4 g kg^{-1} nas áreas vizinhas de minas antigas na Virgínia. O grande impacto nessas áreas é principalmente devido à dificuldade ou inabilidade das plantas em crescer nesses locais. A ausência de vegetação reduz a estabilidade do solo, provocando erosão hídrica e eólica (O' Neill, 1990).

2.1.2. Toxicidade do arsênio

Assim como os nutrientes as plantas absorvem os metais pelos mesmos mecanismos. Os metais e metalóides exercem um efeito tóxico ás planta, devido principalmente, à interferência no transporte eletrônico da respiração e fotossíntese e na inativação de diversas enzimas vitais. Como conseqüência do baixo nível energético, há uma diminuição da absorção dos nutrientes e no crescimento das plantas (Pompéia, 2000).

A poluição de águas e solos por metais pesados e metalóides é um importante fator que afeta tanto o ciclo geoquímico desses elementos, quanto a qualidade ambiental (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Porém, nos últimos anos, especialmente na década de 90, a poluição do solo tem merecido especial atenção, sendo mundialmente reconhecida como um problema que pode representar sérios riscos à saúde humana e à qualidade ambiental.

Verdadeiras catástrofes tornaram-se conhecidas no mundo, como as de Bangladesh, Mongólia e Bengala Ocidental, a partir de exposição prolongada ao As, por consumo de água contaminada. Após algum tempo, nestes locais verificou-se que milhares de pessoas apresentaram problemas sérios de saúde pela contaminação (Basu et al., 2001).

O limite de As em água potável atualmente nos Estados Unidos é 10 $\mu g\ l^{-1}$. Todos os sistemas públicos de água potável devem apresentar este padrão até o final de 2006 (USEPA, 2001). No Brasil a legislação já se encontra regularizada pela portaria da FUNASA 518 (2004) com o mesmo padrão dos EUA.

A concentração de metais e metalóides nos sucessivos níveis da cadeia trófica afeta, conseqüentemente, o homem, através dos alimentos e ingestão de águas contaminadas. Bastos & Freitas, (2000), analisaram dados sobre a real disponibilidade dos recursos hídricos e o reflexo de sua degradação na saúde humana, concluíram que são alarmantes as estatísticas relacionadas aos efeitos da contaminação da água sobre a saúde humana.

O homem tem pela frente problemas que dizem respeito diretamente à qualidade de vida e, possivelmente, à sua sobrevivência como espécie, nesse planeta. Para se avaliar bem os efeitos adversos dos agentes químicos introduzidos no ambiente, é imperativo obter conhecimento básico dos seus efeitos sobre os seres vivos, também é necessário conhecer o número de pessoas expostas e o grau de exposição.

A disponibilidade, toxicidade e o comportamento químico dos compostos de As são influenciados pela sua forma e espécie. A longa exposição ao As, assim como a sua

ingestão via água potável, causa distúrbios na pele, no fígado, gastrintestinais e no tecido nervoso (Smith et al., 2002; Basu et al., 2001).

Com relação à toxicidade referente às várias espécies de As, os compostos inorgânicos são 100 vezes mais tóxicos do que as formas metiladas MMA e DMA. O As trivalente (arsenito) é 60 vezes mais tóxico do que a forma oxidada pentavalente (arsenato), sendo que ambas as formas têm comprovadamente efeitos carcinogênicos (Angerer & Schaller, 1991; Barra et al., 2000; Thirunavukkarasu et al., 2002).

Geralmente, o grau de toxicidade de diferentes formas de As, segue a seqüência: arsenito > arsenato > ácido monometilarsenico > ácido dimetilarsenico. Diferentemente de outros metais tóxicos, a maioria dos compostos orgânicos de As são menos tóxicos que os inorgânicos (Fowler, 1977).

Compostos de As encontram-se no ambiente muitas vezes em concentrações tóxico para a maioria dos seres vivos. Em resposta, assim como as plantas, os microrganismos do solo também evoluíram mecanismos de resistências para adaptarem-se a altas concentrações de As. Estes mecanismos podem ser através da redução do As(V) para As (III), bem como redução da entrada do As na célula, por aumentar especificamente a absorção de fósforo. (Cervantes et al., 1994), ou reações da peroxidação com membranas de lipídeos (Abdrashitova et al., 1990).

Uma possível explicação para o efeito tóxico do As é a inibição de várias enzimas mitocondriais e desativação da fosforilação oxidativa, o que causa prejuízos na respiração celular. Grande parte da toxicidade do As resulta da sua capacidade de interagir com os grupos sulfidrílicos das proteínas e enzimas, e também da capacidade de substituir o P em várias reações (Goyer, 1996; Zang et al., 2004).

Em plantas a toxicidade por As pode ser evidente sob diversas maneiras. Os sintomas característicos de toxicidade nas plantas são: murchamento das folhas, crescimento lento das raízes e parte aérea, folhas com necrose, cor arroxeada e finalmente morte da planta (Woolson et al., 1971; Adriano, 1986). Em geral, o As inibe o metabolismo na maioria das plantas (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Mais especificamente, o arsenato pode romper a fosforilação oxidativa e a produção do ATP (Meharg & MacNair, 1994, Oremland & Stolz, 2003). Sendo que o arsenito afeta a função das enzimas e das proteínas ligados aos grupos sulfidrílicos (Oremland & Stoltz 2003).

Teores de As solúvel variando de 1 a 10 mg kg^{-1} parecem ser fitotóxicos para grandes culturas como feijão, alfafa e arroz (Bishop & Chisholm, 1962). Em estudo

recente, Ribeiro Jr. (2002) constatou que um teor de As disponível (Mehlich-3) de 26,9 mg dm^{-3} seria suficiente para causar a morte de plantas de sorgo.

2.1.3. Similaridade entre arsênio e fósforo no solo

O As e o fósforo (P) têm propriedades químicas similares; conseqüentemente, tem comportamentos semelhantes no solo. O P e o As podem competir pelos mesmos sítios de adsorção do solo e absorção pela planta (Adriano, 1986). A fitotoxicidade do As pode aumentar com baixos níveis de P no solo (Rumburg et at., 1960; Juska & Hanson, 1967). Estudos indicam que o P adicionado ao solo pode aumentar a fitotoxicidade liberando mais As para solução (Jacobs & Keeney, 1970).

O As é adsorvido fracamente na matéria orgânica e à semelhança do P, é altamente adsorvida a óxidos, especialmente em valor de pH baixo (McBride, 1994). Assim como ocorre com outros elementos traço, a fração de As disponível nos solos para ser absorvida pelas plantas, bem como, sua lixiviação, depende de suas interações químicas com as fases sólidas do solo.

Enquanto, As e P ocupam o mesmo grupo da tabela periódica, o P é classificado como um não-metal. Porém o fosfato (PO_4^{3-}) atua de forma benéfica para as plantas, favorecendo o crescimento. O estado de oxidação mais comum do fósforo em ambientes naturais é o P (V). Raramente são encontrados outros estados de oxidação para o P (Baes & Mesmer, 1976). Sendo que tanto a disponibilidade de P quanto a do As no solo depende da solubilidade dos minerais tais como: fosfato de alumínio, fosfato de ferro e fosfato de cálcio (Elprince, 1986). Geralmente, a máxima disponibilidade de P ocorre em pH entre 6,5 - 7,5 (Dubbin, 2001).

No solo, as reações que controlam a disponibilidade de As (V) compreende adsorção/dessorção e precipitação/dissolução (Smith et al., 1999). Tanto o arsenato quanto o fosfato são adsorção em óxidos de ferro e alumínio. O arsenato é ânion do ácido forte H_3AsO_4, que possui valores de pK_A 2,24, 6,94 e 11,5, sendo adsorvido efetivamente em pH baixo (McBride, 1994). Os ânions AsO_2^-, AsO_4^{3-}, $HAsO_4^{2-}$ e $H_2AsO_4^-$ são as formas móveis mais comuns de As, sendo adsorvida em pH entre 7-9 (Kabata-Pendias & Pendias, 2001).

2.2. ARSÊNIO EM PLANTAS

2.2.1. Arsênio e fósforo na planta

O As, na forma de arsenato, é facilmente absorvido pelas plantas devido à sua similaridade com o fosfato, que é um elemento essencial no metabolismo vegetal. Em várias espécies de plantas identificou-se a absorção de arsenato pelos sistemas de transporte de fosfato (Asher & Reay, 1979; Meharg & Macnair, 1992), sendo uma pequena parcela exportada para a parte aérea, via xilema, como oxiânions (ânions que derivam dos oxiácidos) de arsenato e arsenito (Pickering et al., 2000). Isto revela a importância dos estudos das relações existentes entre os mecanismos de absorção deste elemento. Por outro lado, foram identificadas alterações no sistema de transporte de P como mecanismos de tolerância ao As em plantas de gramíneas *Holcus lanatus*, *Deschampsia cespitos* e *Agrostis capillaris* (Meharg & MacNair, 1992, 1994a).

Por causa da similaridade química entre arsenato e fosfato, o arsenato tem a habilidade de substituir o fosfato em muitos processos bioquímicos. Por exemplo, o arsenato pode romper a fosforilação oxidativa da mitocôndria e assim reduzir a produção de nucleotídeos e do trifosfato de adenosina (ATP), que é fonte principal de energia das células. Este processo é conhecido como o arsenólisis, ou processo hidrolítico onde ocorre a substituição do fosfato por arsenato (Meharg & MacNair, 1994; Oremland & Stolz, 2003). O arsenato tem também a habilidade de substituir o fosfato no DNA, comprometendo os processos em que o nucleotídeo se envolve (Fowler, 1977).

A adição de fosfato em solos contaminados tem sido realizado para reduzir a disponibilidade de As do solo por troca competitiva de íons (Peryea, 1991). No entanto, os efeitos da aplicação desta sob o crescimento de plantas são contraditórios. Peryea (1998) estudando o efeito do As em plantas de macieira, relata que o uso de fertilizantes fosfatado aumentou a disponibilidade de As para as plantas, mesmo não havendo efeito significativo no desenvolvimento das plantas.

Embora a disponibilidade dos compostos de As aumente com a aplicação de P, com a finalidade de fitorremediação em solos oxídicos, este é um paradoxo ambiental em que há um beneficio na remoção do contaminante do solo, e por outro lado, aumenta os riscos deste ser lixiviado para o lençol freático. Em estudos com solos contaminados, Peryea & Kammereck (1997) constataram que o uso de fertilizantes fosfatados aumentou a lixiviação de As para as camadas do subsolo não contaminadas. Quanto ao aumento da

disponibilidade de As na presença de plantas hiperacumuladoras, espera-se que as plantas absorvam mais em resposta da disponibilidade de As ter sido aumentada, e assim, minimizar os riscos do As ser lixiviado para as camadas subsuperficiais.

Em estudo com *Pteris vittata* foi observado redução na lixiviação do As, provavelmente pela maior absorção do As pelas plantas. O uso de fertilizantes fosfatado em solos contaminados pode reduzir fortemente a lixiviação do As pelo aumento da absorção pelas plantas (Wang et al., 2002). A adição de fosfato neste estudo resultou em aumentou significativamente (265 %) na absorção de As pelas plantas (*Pteris vittata*). Estudo tem mostrado que a aplicação de fertilizantes fosfatados em solo contaminados com As tem resultado em um aumento na disponibilidade de aproximadamente 77 % do As total (Peryea, 1998).

2.2.2. Mecanismos de desintoxicação de arsênio

O Enxofre (S) é constituinte dos aminoácidos cistina, cisteína e metionina, os quais constituem cerca de 90 % do total de S na planta. O íon sulfato é a principal forma de S absorvida pelas plantas (Salisbury & Ross, 1992). Depois de ser absorvido, o sulfato é reduzido e incorporado em aminoácidos que são redistribuídos para as partes da planta em crescimento (Herschbach & Rennenberg, 2001). A absorção de sulfato pelas raízes é um processo ativo, dependente de energia (Cram, 1990), mediado por distintos transportadores de sulfato, que estão presentes em diferentes tipos de células (Herschbach & Rennenberg, 2001).

A cisteína é o primeiro produto estável da redução do sulfato assimilado e atua como precursora para a síntese de todos os outros compostos contendo enxofre reduzido, (Marschner, 1995). A alta toxicidade do arsenito se deve à elevada afinidade do ânion AsO_3^{3-} pelos grupos sulfidrílicos de aminoácidos como cisteína, e assim inativa uma diversidade de enzimas do metalolismo celular (Ferdorf et al., 1997).

A tolerância a metais pesados e ao As tem sido relacionada com a capacidade dos organismos em sintetizar peptídeos de baixo peso molecular, ricos em enxofre, que participariam na complexação desses elementos (Schmöger et al., 2000). Normalmente o As é estocado como complexo As(III)-tris-tiol, sendo que os doadores de tiois para o complexo são, provavelmente, a glutationa ou fitoquelatinas. Estas são enzimaticamente induzidos pela presença de cátions metálicos (Srivastava, et al., 2004), e ânions como arsenito e arsenato (Rauser, 1999). Espera-se que haja, portanto, estreita relação entre

absorção, redução e incorporação de enxofre e tolerância das plantas ao As, assumindo que os compostos tiolados, principalmente as fitoquelatinas, sejam importantes componentes do complexo mecanismo de tolerância das plantas a este metalóide.

Os mecanismos de tolerância existentes nas plantas devem manter as funções celulares mesmo na presença de altas concentrações de metais. Estes mecanismos incluem a compartimentalização dos metais em estruturas sub-celulares; exclusão e/ou diminuição do transporte através da membrana; e a formação de peptídeos quelantes, ricos em cisteínas, como as fitoquelatinas e metalotioneínas, que auxiliam direta ou indiretamente, na acumulação de metais pelas plantas (Cobbet & Goldsbrough, 2002).

Segundo Hartley-Whitaker et al., (2001) o complexo arsênico-fitoquelatinas são transportados para dentro do vacúolo, onde poderiam permanecer estáveis e prevenir re-oxidação do arsenito devido o pH ácido do vacúolo, permitindo alta acumulação de As complexado. Zang et al., (2004) estudando os mecanismos de tolerância em *Pteris vittata* observaram que as fitoquelatinas podem representar um papel constitutivo de desintoxicação, mas parece não ser o principal mecanismo de hipertolerância ao As. Um mecanismo independente da fitoquelatina é envolvido no seqüestro de As no vacúolo, o qual determina a tolerância diferencial e acumulação entre plantas hiperacumuladoras e não hiperacumuladoras. A relação precisa entre os processos constitutivos de desintoxicação em hipertolerantes e hiperacumuladoras necessita ser mais bem estudada.

2.2.3. Espécies acumuladoras e hiperacumuladoras de arsênio

A absorção de elementos metálicos pelas células, particularmente pelas raízes, é facilitada por mecanismos próprios de transporte e acumulação, pois vários elementos-traço são realmente necessários às plantas como micronutrientes.

Estudos realizados em regiões temperadas com espécies de plantas tolerantes a metais pesados, como *Agrostis tenuis*, *Agrostis stolonifera*, *Festuca rubra* e *Brassica* sp., mostraram o sucesso do estabelecimento da vegetação herbácea nessas áreas (Ebbs & Kochian, 1998; Salt et al., 1998). Plantas tolerantes e que acumulam grandes quantidades de metais em seus tecidos são designadas hiperacumuladoras (Baker, 1987), Estas conseguem acumular concentrações superiores a 1000 mg kg^{-1} de As na matéria seca, como ocorre com *Pteris vittata e Pityrogramma calomelanos* cujas concentrações de As atingem, respectivamente, 23000 e 8350 mg kg^{-1} (Ma et al., 2001; Francesconi et al., 2002).

Idealmente, as hiperacumuladoras devem apresentar elevada taxa de acumulação, ter rápido crescimento, e ter uma produção elevada de matéria seca (Wantanbe, 1997). A concentração do contaminante é geralmente muito elevada nestas plantas quando crescida em solos contaminados.

Desde a identificação inicial da *Pteris vittata* como hiperacumuladora de As, outras samambaias também foram identificadas como hiperacumuladoras. No entanto, nem todas as samambaias são hiperacumuladoras de As (Visoottiviseth at al., 2002; Zhao at al., 2002). A maioria das samambaias hiperacumuladora de As pertence ao gênero de Pteris. Espécies como *Pteris cretica*, *P. longifólia* e *P. umbrosa* mostraram ser hiperacumuladora tal como a *P. vittata* (Zhao et al., 2002). Embora nem todos os membros do gênero Pteris sejam hiperacumuladora de As. Por exemplo, Meharg (2003) encontrou que as espécies *Pteris tremula* e *Pteris stramina* não são hiperacumuladora de As.

A única espécie hiperacumuladora estudada que não pertence ao gênero *Pteris* foi a *Pityrogramma calomelanos* (Francesconi et al., 2002). Plantas desta espécie podem acumular de 2760 a 8350 mg kg^{-1} de As na parte aérea, quando crescidas em solo contendo 135 a 510 mg kg^{-1} de As solúvel (método de arsênio solúvel em água 2:20). Alguns estudos com *Pteris vittata* têm mostrado que o As é acumulado preferencialmente nas folhas (Ma et al, 2001; Tu & Ma, 2002). Os resultados da análise de especiação indicam que o As nas folhas está principalmente presente como íons de As (III). Embora ocorra a absorção das diferentes espécies de As orgânica e inorgânica por esta espécie As (III) prevaleceu na matéria seca da parte aérea (Tu et al.,2002).

2.2.4. Critérios a ser considerados para a seleção de espécies fitorremediadoras

O conhecimento das características e o melhoramento das espécies florestais para serem utilizadas na fitorremediação em condições ambientais específicas é, sem dúvida, uma ferramenta importante para o máximo aproveitamento dessas espécies, visando obter vantagens ambientais, sociais e econômicas (Wendling, 1999).

É desejável que as plantas com potencial para fitorremediação possuam algumas características que devem ser consideradas como indicativos para seleção. Com base nas análises apresentadas por diversos autores (Perkovich et al., 1996; Cunningham et al., 1996; Accioly & Siqueira, 2000; Watanabe 1997, Vose et al., 2000), essas características devem ser:

- Capacidade de absorção, concentração e tolerância ao contaminante.
- Retenção dos contaminantes nas raízes, no caso da fitoestabilização, como oposto à transferência para a parte aérea, evitando sua manipulação e disposição.
- Absorção, translocação e acumulação na parte aérea no caso da fitoextração.
- Sistema radicular profundo e denso.
- Alta taxa de acumulação mesmo em baixas concentrações do contaminante.
- Capacidade concomitante de acumular diversos contaminantes.
- Alta taxa de crescimento e produção de biomassa.
- Capacidade transpiratória elevada, especialmente em árvores e plantas perenes.
- Fácil colheita, quando for necessária a remoção da planta, da área contaminada.
- Elevada taxa de exsudação radicular.
- Resistência a pragas e doenças.
- Fácil aquisição ou multiplicação de propágulos.
- Fácil controle ou erradicação.
- Capacidade de se desenvolver bem em ambientes diversos.
- Ocorrência natural em áreas poluídas (importante na identificação, porém não é pré-requisito).

Naturalmente, é difícil reunir todas essas características numa só planta; porém, as espécies selecionadas devem reunir o maior número possível delas. Outro aspecto a ser observado é que, embora a maioria dos testes avalie plantas isoladas, várias espécies podem ser usadas em um mesmo local, ou ao mesmo tempo ou subseqüentemente, para remover mais de um contaminante (Miller, 1996). A descoberta de plantas com capacidade de acumular grandes quantidades de metais (hiperacumuladoras) resultou em avanços no uso de plantas na remediação de solos contaminados (Baker, 1987).

As plantas utilizadas, tanto para fins de fitorremediação como para revegetação, necessitam de manejo adequado da área após a implantação para assegurar a sobrevivência e o crescimento da vegetação e melhorar a estética do local. Alguns trabalhos que envolvem a recuperação de áreas degradadas relatam que o uso do topsoil (solo superficial) é o primeiro passo para a revegetação (Dias et al, 1998). No entanto, existem situações onde essa prática não é possível devido às características do solo local ou em função dos custos da retirada, estocagem e retorno do solo.

LITERATURA CITADA

ABDRASHITOVA, S. A.; ABDULLINA, G. G. MYNBAEVA, B. N.; ILYALETDINOV. A. N. Oxidation of iron and manganese by arsenic-oxidizing bacteria. Mikrobiologiya, 59:85-89, 1990.

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V.; V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. Tópicos em ciência do solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 299-352 p. 2000.

ACETO, M., & FEDELE. A. Rain water effect on the release of arsenic, copper and chromium from treated wood. Fresenius Environ. Bull. 3:389-394. 1994.

ADRIANO, D. C. Trace elements in the terrestrial environment. New York, Springer Verlag, 1986. 533p.

ADRIANO, D. C. Trace Elements in the Terrestrial Environment: Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals. Springer, New York, NY. 2001. 867 p.

ALLOWAY, B. J. Heavy metals in soils. In: ALLOWAY, B.J., ed. New York, John Wiley & Sons, 1990. 390p.

ANGERER, J.; SCHALLER, K. H. Analyses of Hazardous Substances in Biological Materials, VCH Verlagsgesellschaft mbH: Weinheim, 1991, 273p.

ASHER, C. J, REAY, P. F. Arsenic uptake by barley seedlings. Aust J Plant Physiol 6: 459 466, 1979.

BAES, J. R., C. F., MESMER, R. E., “The hydrolysis of cations”, Wiley, New York. 1976, 490p.

BAIRD, C. Química ambiental. 2.ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 621p.

BAKER, A. J. M. Metal tolerance. New Phytologist, London, 106:93-111, 1987.

BAKER, A. J. M.; McGRATH, S. P.; SODOLI, C. M. D.; REEVES, R. D. The possibility of in situ heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulating plants. Resources, Conservation and Recycling, Amsterdam, 11:41-49, 1994.

BARRA , C. M.; SANTELLI R. E.; ABRÃO J. J.; GUARDIA. M. de L. Especiação de Arsênio - Uma Revisão. Química nova, 23: 58-70, 2000.

BARRA, C. M.; DOS SANTOS, M. M. C. Speciation of Inorganic Arsenic in Natural Waters by Square-Wave Cathodic Stripping Voltammetry. Electroanalysis, 13:1098, 2001.

BASTOS, A.C. S. & FREITAS, A.C. Agentes e processos de interferência, degradação e dano ambiental. In: CUNHA, S.B. & GERRA, A.J.T., eds. Avaliação e perícia ambiental. 2.ed. Rio de Janeiro, Bertrand Brasil, 17-75 p.. 2000.

BASU, A.; MAHATA, J.; GUPTA, S.; GIRI, A. K. Genetic toxicology of a paradoxical human carcinogen, arsenic: a review. Mutation Research, 488:171-194, 2001.

BENSON, L.M.; PORTER, E. K.; PETERSON, P.J.. Arsenic accumulation, tolerance, and genotypic variation in plants on arsenical mine wastes in S.W. England.” J. Plant Nutr. 3:655-666, 1981.

BERTI, W.R., & JACOBS, L.W. Chemistry and phytotoxicity of soil trace elements from repeated sewage sludge applications. J. Environ. Qual. 25:1025-1032. 1996.

BISHOP, R.F., & CHISHOLM, D. Arsenic accumulation in Annapolis Valley orchard soil. Can. J. Soil Sci. 42:77- 80. 1962.

CARBONELL-BARRACHINA A. A; BURLO F.; BURGOS-HERNANDEZ A.; LOPEZ, E. MATAIX, J. The influence of arsenite concentration on arsenic accumulation in tomato and bean plants. *Scientia Horticulturae* 71:167-176,1997.

CERVANTES, C. JI, G.; RAMIREZ, J. L.; SILVER, S. Resistance to Arsenic Compounds in Microorganisms. Fems Microbiology Reviews, 15:355-367,1994.

CHEN, M.; MA, L.Q.; HARRIS, W.G. Baseline concentrations of 15 trace elements in Florida soils. J. Environ. Qual. 28:1173-1181, 1999.

CHILVERS, D.C., & PETERSON, P. J. Global cycling of arsenic. In T. C. Huchinson and K. M. Meema, (eds.) Lead, Mercury, Cadmium and Arsenic in the Environment. John Wiley, New York. 279-301p, 1987.

COBBETT, C.; GOLDSBROUGH, P. Phytochelatins and Metallothioneins: Roles in Heavy Metal Detoxification and Homeostasis. Annual Review of Plant Biology, 53:159-182, 2002.

Committee on Medical and Biological Effect

FENDORF, S. E.; MATTHEW, J. E.; GROSSEL, P.; SPARKS, D. L. Arsenate and chromate retention mechanism on goethite. Surface structure. Environmental Science and Technology, 31:315-320, 1997.

FOWLER, B.A. Toxicology of environmental arsenic. In Toxicology of Trace Elements. R.A. Goyer and M.A. Mehlman (eds.) Hemisphere Publishing, New York, NY. p. 79-122, 1977.

FRANCESCONI, K.; VISOOTTIVISETH, P.; SRIDOKCHAN, W. AND GOESSLER. W. Arsenic species in an arsenic hyperaccumulating fern, Pityrogramma calomelanos: A potential phytoremediator of arsenic-contaminated soils. Sci. Total Environ., 284:27-35, 2002.

FUNASA-Fundação Nacional de Saúde-Portaria nº 1.469/2000, de 29 de dezembro de 2000: aprova o controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2001. 32 p.

GOYER R.A. Toxic effects of metals. In: Klaassen CD ed. Cassarett & Doull's Toxicology – The basic Science of Poisons. Mcgraw Hill. New York, NY., 691-736p., 1996.

HARTLEY-WHITAKER. J., AINSWORTH, G.; VOOUS, R.; TEN BOOKUM, W.; SCHAT, H.; MEHRAG, A. A. Phytochelatins are involved in differential arsenate tolerance in Holcus lantus. Plant Physiol.,126:299-306, 2001.

HERSCHBACH, C.; RENNENBERG, H. Sulfur nutrition of deciduous trees. Naturwissenschaften, Berlin, 88:25-36, 2001.

HINDMARSH, J. T, McCURDY, R. F. Clinical and environmental aspects of arsenic toxicity. Crit Rev Clin Lab Sci; 23:315-347. 1986

JACOBS, L.W., & KEENEY, D. R.. Arsenic-phosphorous interactions on corn. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 1:85-93,1970.

JUSKA, F.V. & HANSON, A. A. Calif. Turfgrass Cult. 17:27-29, 1967.

KABATA-PENDIAS, A . & PENDIAS, H.. Trace elements in soils and plants. CRC Press. Inc. Boca Raton, 1985. 315p.

KABATA-PENDIAS, A. & PENDIAS, H. Trace elements in soils and plants. 3. ed. Boca Raton, CRC Press, 2001. 413p.

LADEIRA A. C.Q.; CIMINELLI V. Mobility of As(III) and As(V) in soils. In: Courtney Young (ed) Minor elements: processing and environmental aspects of As, Sb, Se, Te and Bi. Proc Conf Minor elements 2000, Littleton. Society for Mining, Metallurgy and Exploration, Littleton, 191-198p. 2000.

LIN, T. F.; WU, J. K. Adsorption of arsenite and arsenate within activated alumina grains: equilibrium and kinetics. Water Research, 35:2049-2057, 2001.

MA, L. Q.; KOMAR, K. M.; TU, C.; ZHANG, W.; CAI, Y.; KENNELLEY, E. D. A fern that hyperaccumulates arsenic. Nature, 409-579, 2001.

MANDAL, B. K.; SUZUKI, K. T. Arsenic round the world: a review. Talanta, 58:201-235, 2002.

MARQUES, J. J. G. S. M. Trace element distributions at the landscape and micrometer scales. Purdue University. 2000. 183p. PhD Thesis West Lafayette Purdue University.

Disponível em: http://www.dcs.ufla.br/marques/teses/marques.pdf acesso em: 16 de março. 2005.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. New York: Academic Press, 1995. 889p.

MATHIEU, P.; BUCHET, J. P.; ROELS, H. A, Lauwerys R. The metabolism of arsenic in humans acutely intoxicated by As_2O_3. It significance for the duration of BAL therapy. Clin Toxicol.,18:1067-1075,1981

MATSCHULLAT, J. Arsenic in the geosphere-A review. Sci. Total Environ. 249:297-312. 2000.

McBRIDE, M. B. Environmental chemistry of soils. New York, Oxford University Press, 1994. 406p.

MEHARG A. A, HARTLEY-WHITAKER J. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. New Phytol., 154:29-43, 2002.

MEHARG, A. A.; MACNAIR, M. R. Relationship between plant P status and the kinetics of arsenate influx in clones of Deschampsia cespitosa L. Beauv. that differs in their tolerance to arsenate. Plant Soil, 162:99-106, 1994.

MEHARG, A., MACNAIR, M. R. Suppression of high affinity phosphate uptake system: a mechanism of arsenate tolerance in Holcus lanatus L. J. Expt. Bot., 43:519-524, 1992.

MEHARG, A. A, NAYLOR, J., MACNAIR, M. R. Phosphorus nutrition of arsenate tolerant and nontolerant phenotypes of velvetgrass. J. Environ Qual., 23:234-23, 1994a.

MEHARG, A.A. Variation in arsenic accumulation-hyperaccumulation in ferns and their allies. New Phytol., 157:25-31, 2003.

MILLER, R. R. Phytoremediation. 1996. Disponível em <http://www.gwrtac.org> Acesso em 18 jun. 2001.

National Research Council Canada (NRCC). In Effects of arsenic on the Canadian environment. NRCC 15391. Ottawa, Canadá. 1978, 349 p.

OLIVEIRA, R. C.; CAMPOS, M. L. ; SILVEIRA, M. L. A. ; GUILHERME, L. R. G. ; MARQUES, J. J. G. S. M. ; CURI, N . Arsênio em solos do Cerrado. In: XXV Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 2002, Rio de Janeiro. Anais da XXV Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas. Rio de Janeiro: UFRRJ, 2002, 9 p.

O'NEIL, P. Arsenic. In Heavy Metals in Soils, ed. B.J. Alloway, London: Blackie Academic & Professional. 107-121p.,1995.

O’NEILL, P.Arsenic. In Heavy Metals in Soils. John Wiley and Sons, NY. 83-99 p., 1990.

ONISHI, H. Arsenic. In K.H. Wedepohl (ed.). Handbook of Geochemistry. Springer, Berlin. 1969, 33 p.

OREMLAND, R.S. & STOLZ J.F. The ecology of asenic. Science. 300:939-944, 2003.

PERKOVICH, B. S. et al. Enhanced mineralization of (4C) atrazine in K. scoparia rhizosferic soil from a pesticidecontaminated site. Pestic. Sci., 46:391-396, 1996.

PERYEA, F. J. Bioremediation of lead arsenate-contaminated soils. Proj. A-168-WASH Rep., State of Washington Water Res. Ctr., Pullman, WA, USA, 1991.

PERYEA, F. J. Phosphate starter fertilizer temporarily enhances soil arsenic uptake by apple trees grown under field conditions. Hort. Sci. 33: 826-829, 1998.

PERYEA, F.; J.; KAMMERECK, R. Phosphate-enhanced movement of arsenic out of lead arsenate contaminated top soil and through uncontaminated subsoil. Water Air Soil Pollut 93:243-254, 1997.

PICKERING, I. J.; PRINCE, R. C.; GEORGE, M. J.; SMITH, R. D.; GEORGE, G. N.; SALT, D.E. Reduction and coordination of arsenic in Indian mustard. Plant Physiol. 122:1171-1177, 2000.

PIERCE, M. L., & MOORE, C. B. Adsorption of arsenite and arsenate on amorphous iron hydroxide. Water Res., 16:1247-1253, 1982.

POMPÉIA, S. L. Resposta das plantas nativas brasileiras à poluição. In Ecofisiologia Vegetal (W. Larcher, ed.). São Carlos, 449-454 p., 2000.

RAUSER, W. E. Structure and function of metal chelators produced by plants: the case for organic acids, amino acids, phytin and metallothioneins. Cell Biochemistry and Biophysics, 31:19-48, 1999.

RIBEIRO JR, E. S. Adsorção e dessorção de arsênio em solos e substratos de mineração de ouro e práticas de mitigação de drenagem ácida em colunas de lixiviação. Viçosa, MG: UFV, 117p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, 2002.

ROYCHOWDHURY, T.; UCHINO, T.; TOKUNAGA, H.; ANDO, M. Arsenic and other heavy metals in soils from an arsenic-affected area of West Bengal, India. Chemosphere, 49:605-618, 2002.

RUMBURG, C. B. ENGEL, R. E.,; MEGGITT, W. F. Effect of phosphorus concentration on the absorption of arsenate by oats from nutrient solution. Agron. J. 52:452-453, 1960.

SALISBURY, F. B. & ROSS, C. W. Plant Physiology. Belmont, CA: Wadsworth, 357-407p.,1992.

SALT, D.E.; SMITH, R.D.; RASKIN, I. Phytoremediation. Annual Review of Plant Physiology. Plant Molecular Biology, 49:643-668, 1998.

SCANDALIOS, J.G. Oxygen stress and superoxide dismutases. Plant Physiology, 101:7-12, 1993.

SCHMOGER, M. E., OVEN, M., GRILL, E. Detoxication of arsenicby phytochelatins in plants. Plant Physiol. 122:793-801. 2000.

SCHNOOR, J. L. Phytoremediation of soil and groundwater. Pittsburgh, PA: GWRTAC. Remediation Technology Analysis. Center Technology Evaluation Report TE-02-01, 2002.

SIMON, G.; HUANG, H.; PENNER-HAHN, J.E.; KESLER, S. E.; KAO, L. Oxidation state of gold and arsenic in gold-bearing arsenic pyrite. Amer. Mnl., 84: 1071-1079, 1999.

SMITH, A., LOPIPERO, P., BATES, M., STEINMAUS, C., Arsenic epidemiology and drinking water standards. Science 296:2145-2146, 2002.

SMITH, E; NAIDU, R.; ALSTON, A. M. Arsenic in the soil environment; a review. Advances in agronomy, 64:149-195, 1999.

SMITH, E.; NAIDU, R.; ALSTON, A.M. Arsenic in the soil environment: a review. Advances in Agronomy, 64:149-195, 1998.

SRIVASTAVA, S.; MISHRA, S. Phytoremediation of Hazardous Lead from Environment. International Society of environmental Botanists. Vol. 10 No. 2 - April 2004. Disponível em:< http://www.geocities.com/isebindia/01_04/04-04-4.html> Acesso em: 06 de março 2005.

THANABALASINGAM, P.; PICKERING, W. F. “Arsenic sorption by humic acids”, Environ. Pollut. B., 12:233-246.1986.

THIRUNAVUKKARASU, O. S.; VIRARAGHAVAN, T.; SUBRAMANIAN, K. S.; TANJORE, S.; Organic arsenic removal from drinking water. Urban Water, 4:15-421, 2002.

TU, C. & MA, L. Q. Effects of arsenate and phosphate on their accumulation by an arsenic-hyperaccumulator Pteris vittata L. Plant Soil, 249:373-382, 2003.

TU, C., MA, L. Q. & BONDADA B. Arsenic accumulation in the hyperaccumulaChinese brake and its utilization potential for phytoremediation. J. Environ. Qual. 31:1671-1675, 2002.

U.S. Environmental Protection Agency (USEPA). "National Primary Drinking Water Regulations; Arsenic and Clarifications to Compliance and New Source Contaminants Monitoring (Final rule.)" Fed. Reg. January 22, 66:6975-7066. 2001.

United States Environmental Protection Agency (USEPA). Arsenic treatment technologies for soil, waste and water. Report EPA-542-R-02-004. Washington, DC. 2002.

VANGRONSVELD, J.; COLPAERT, J. V.; TICHELEN, K. K. Van. Reclamation of a bare industrial area contaminated by non-ferrous metals: physicochemical and biological evaluation of the durability of soil treatment and revegetation. Environmental Pollution, Oxford, 94:131-140, 1997.

VISOOTTIVISETHA, P.; FRANCESCONIB, K.; SRIDOKCHANA, W. The potential of Thai indigenous plant species for the phytoremediation of arsenic contaminated land Environmental Pollution, 118:453-461, 2002.

VOSE, J. M. et al. Leaf water relations and sapflow in Eastern cottonwood (Populus detoides Bartr.) trees planted for phytoremediation of a groundwater pollutant. Intern. J. Phytoremediaton., 2:53-73, 2000.

WALSH, P. R., DUCE, R. A. & FASCHING, J. L. Tropospheric arsenic over marine and Tropospheric arsenic over marine and continental regions. J. Geophys. Res. 84:1710-1718. 1979.

WALTHAM, C. A. & EICK, M. J. Kinetics of arsenate adsorption on goethite in the presence of silicic acid. Soil Sci. Soc. Am. J., 66:818. 2002.

WANG, J, ZHAO, F. J., MEHARG, A. A., RAAB A., FELDMANN J., MACGRATH, S.P. Mechanisms of arsenic hyperaccumulation in Pteris vittata. Uptake kinetics, interactions with phosphate, and arsenic speciation. Plant Physiol., 130:1552-1561. 2002.

WATANABE, M. E. Phytoremediation on the brink of commercialization. Environmental Science & Technology, Washington, 31:182-186, 1997.

WENDLING, I. Propagação clonal de híbridos de Eucalyptus spp. por miniestaquia. (Tese de Mestrado em Ciência Florestal). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 1999. 70p.

WOOLSON, E. A., AXLEY, J. H., KEARNEY, P. C. Correlation between available soil arsenic, estimated by six methods and response of corn (Zea mays L.). Soil Sci.Soc.Am.Proc. 35:101-105. 1971.

WOOLSON, E. A. Emissions, cycling, and effects of arsenic in soil ecosystems. In B.A. Fowler (ed.). Elsevier, Amsterdamp., 52-125. 1983.

World Health Organization -WHO. Arsenic and arsenic compounds. 2. ed. Environmental Health Criteria Series n.224, 2001.187p Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc224.htm>Acesso em: 16 de Dez. 2004.

ZHANG, W. CAI, Y.; DOWNUM, K. R.; MA, L. Q. Thiol synthesis and arsenic hyperaccumulation in Pteris vittata (Chinese brake fern) Environmental Pollution 131:337 345, 2004.

ZHAO, F.J., DUNHAM, S. J.; McGRATH, S. P. Arsenic hyperaccumulation by different fern species. New Phytologist, 156:27-31, 2002.

3.0. JUSTIFICATIVA

Em áreas degradadas pela explotação de minérios com elevadas concentrações de As faz-se necessário sua recuperação. No entanto, existem limitações no uso de espécies vegetais espontâneas, sendo necessária a seleção de espécies que tolerem altos teores de As do ambiente.

Grande parte das espécies espontâneas que se estabelecem em áreas mineradas possui baixa produção de biomassa tornando seu uso limitado para programas de fitorremediação. No entanto, a seleção de espécies herbáceas, arbóreas e arbustivas de rápido crescimento e elevada produção de biomassa, constitui uma opção promissora para programas de fitorremediação de sítios contaminados por arsênio. Estudos como esses são escassos em condições tropicais, justificando a realização de pesquisas que possam identificar espécies tolerantes com potencial para fitoestabilização, fitoextração e bioindicação de áreas contaminadas por As.

4.0. OBJETIVO GERAL

Avaliar a tolerância de diferentes espécies, herbáceas, arbóreas e arbustivas ao As, bem como o potencial destas para serem utilizadas na fitorremediação de áreas contaminadas por arsênio.

CAPÍTULO 1

POTENCIAL DE LEGUMINOSAS HERBÁCEAS COMO FITORREMEDIADORAS DE SOLO CONTAMINADO POR ARSÊNIO

RESUMO

O arsênio é um metalóide que pode ser encontrado em solos não contaminados em concentrações inferiores a 10 mg kg^{-1}, sendo que em áreas contaminadas, sua concentração pode chegar a valores três mil vezes superiores a este. A fitorremediação tem sido considerada como uma técnica emergente e de baixo custo para a "limpeza" de áreas contaminadas por elementos tóxicos. No entanto, poucas espécies têm sido relatadas como capazes de acumular arsênio. O presente estudo objetivou avaliar a potencialidade de mucuna preta, feijão de porco e crotalária, como espécies fitorremediadoras de solos contaminados com arsênio. Amostras de Latossolo Vermelho Amarelo foram incubadas com diferentes doses de arsenato 0; 50; 100 e 200 mg dm^{-3}, as quais resultaram numa recuperação de 0,0; 12,9; 26,8 e 58,7 mg dm^{-3} de As disponível, aos 15 dias de incubação. Após o período de incubação, realizou-se a semeadura e após a germinação, procedeu-se a adubação do solo. Aos 65 dias após a semeadura as plantas foram avaliadas quanto à altura, diâmetro e matéria seca da parte aérea e de raízes. Determinaram-se os teores de arsênio nas diferentes partes das plantas, folhas jovens, folhas intermediárias, folhas basais, caule, e raízes, bem como, o conteúdo e índice de translocação (IT) de As. Por meio de análises de regressão foram estimados os teores críticos (TC) de As disponível no solo que proporcionaram redução de 50 % na produção da matéria seca das plantas. As espécies avaliadas mostraram comportamento diferenciado quanto à tolerância ao As, com destaque para mucuna preta que não manifestou sintomas morfológicos visuais de toxidez, como lesões nas folhas, e apresentou valores de TC significativamente superiores aos observados para as demais espécies. As plantas de crotalária apresentaram maior capacidade de absorção e translocação de arsênio para a parte aérea, mostrando maior potencial para programas de fitorremediação. Os elevados conteúdos de arsênio nas raízes de feijão de porco e mucuna preta, e na parte aérea nas plantas de crotalária sugerem a atuação de mecanismo diferenciado de acumulação e translocação do metalóide nos tecidos da parte aérea das espécies herbáceas.

Palavras chave: Fitorremediação, Arsenato, *Canavalia ensiformes, Stilozobium aterrinum, Crotalaria spectabilis*

ABSTRACT

Arsenic is a metalloid found in non-contaminated soils at concentration bellow 10 mg kg^{-1} and in contaminated soils, its concentrations can reach values above three thousand times that concentration. Phytoremediation is considered as an emergent and low cost technique to "clean" contaminated areas by toxic elements. Meanwhile, few species have been related with capacity to accumulate arsenic. This study aimed to evaluate the velvetbean (*Stizolobium aterrimum* Piper & Tracy), jack bean (*Canavalia ensiformis* (L.)) and crotalaria (*Crotalaria spectabilis* Roth.) potential to phytoremediation of arsenic-contaminated soils. Samples of Red Yellowish Latossol were incubated with different doses of sodium arsenate (0; 50; 100 and 200 mg dm^{-3}). After the incubation time the species were seeded, and after germination the soil were fertilized. Sixty five days after seeding, plants were evaluated to height, diameter and root and shoot biomass. Arsenic content in young, intermediated, and old leaves, steam and roots, and As-translocation index (IT) were determined. By regression analysis we estimated the values of soil critical available arsenic (TC) that reduced 50% of biomass production. The species showed different behavior in relation to As-tolerance, with emphasis to velvetbean that did not show As-toxic morphologic symptoms, as injuries in leves, and showed high values of TC. Crotalaria plants presented more absorption and shoot translocation of arsenic, showing more potential to phytoremediation programs. The high As-contents in the roots of jack bean and velvetbean and shoot of crotalaria suggests the being of different accumulation and translocation mechanisms to shoots tissues.

Key words: phytoremediation, arsenate, *Canavalia ensiformis, Stilozobium aterrinum,Crotalaria spectabilis*

INTRODUÇÃO

O aumento de atividades industriais e de mineração tem alterado o ciclo geoquímico e a liberação de arsênio na biosfera. Estudos em locais próximos a complexos industriais e de refino de minério indicam concentrações elevadas de As no solo, as quais podem afetar a produtividade, biodiversidade e sustentabilidade dos ecossistemas, induzindo danos muitas vezes irreversíveis do equilíbrio biológico. O arsênio é um elemento tóxico encontrado em vários minérios e rejeitos, processados na indústria mineral, especialmente na extração de ouro. Alterações de ordem físicoquímicas em áreas de mineração podem desestabilizar o As contido nos minérios, permitindo seu transporte

para os diferentes compartimentos ambientais, o que se constitui num risco potencial à saúde humana (Veado et al., 2000).

Em Minas Gerais, especificamente no Quadrilátero Ferrífero, elevados teores de As em corpos d'água receptores de drenagem ácida de rejeitos minerais foram relatados por Matschullat et al. (2000).

No Brasil, a legislação ambiental exige que áreas degradadas devam ser recuperadas, mas apesar da exigência legal, a recuperação de substratos remanescentes de mineração pode ser uma tarefa difícil. A presença de arsênio e metais em concentrações que comprometem o estabelecimento de plantas e colocam em risco corpos d'água mostra-se como um sério complicador do processo de recuperação ambiental. Existe crescente interesse em técnicas biológicas para a despoluição de solos e águas contaminadas (Accioly & Siqueira, 2000), particularmente naquelas que usam espécies vegetais (Shimp et al., 1993), num processo que recebe o nome de fitorremediação.

Estudos básicos sobre a fitotoxicidade e tolerância de espécies vegetais aos estresses impostos pelo excesso de metais e As são essenciais para o desenvolvimento da tecnologia de fitorremediação de áreas contaminadas. Conhecer os padrões de absorção, translocação e acúmulo de íons metálicos, os limites de tolerância e os sintomas de fitotoxidez das espécies com potencial para introdução em áreas contaminadas, torna-se de grande importância acadêmica e tecnológica (Huang & Cunningham, 1996). Nesse âmbito, tecnologias de aplicação "in situ" com uso de plantas na imobilização e/ou estabilização possuem custo benefício mais atraente do que outras técnicas de remediação físico-química "ex situ" (Glass, 1997, Susarla et al., 2002).

Os processos de fitoestabilização envolvem a imobilização no solo, humificação e lignificação nos tecidos vegetais. Na humificação, as enzimas de plantas e de microorganismos ligam os contaminantes ao húmus do solo, e na lignificação, ocorre à imobilização do contaminante em ligninas das paredes celulares (Accioly & Siqueira, 2000). Assim, a adição de resíduos vegetais promoveria a imobilização do As no solo, reduzindo a lixiviação deste para o lençol freático (Aaron et al. 2002; Seidel & Klemm, 2005; Voigt et al.,1996).

Este trabalho teve como objetivos avaliar a produção de matéria seca, teores, acúmulo e distribuição de arsênio em raízes, caule e folhas de plantas de feijão de porco (*Canavalia ensiformis* (L.)), mucuna preta (*Stilozobium aterrinum* Piper & Tracy*)* e crotalária (*Crotalaria spectabilis* Roth.), bem como, o potencial dessas para uso em programas de fitorremediação de áreas contaminadas com arsênio.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras subsuperficiais de um Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA) (Tabela 1) coletada na região de João Pinheiro-MG, foram destorroadas, peneiradas (4 mm) e incubadas por 15 dias com As nas concentrações de 0; 50; 100 e 200 mg dm^{-3}, na forma de Na_2HAsO_4. Testes preliminares indicaram que as três últimas doses resultaram na disponibilidade de 12,9; 26,8 e 58,7 mg dm^{-3} respectivamente, de As pelo extrator Mehlich 3.

Quanto ao uso do arsenato de sódio como fonte de As, houve preocupação com a entrada de sódio no sistema, que foi respectivamente de 15,40; 30,79; 61,59 mg dm^{-3} para as concentrações 50; 100 e 200 mg dm^{-3} de As. Testes preliminares foram realizados com as doses equivalentes de Na para feijão de porco e crotalária e não foram detectados efeitos de toxicidade. A condutividade elétrica foi determinada, após 15 dias de incubação do solo com as doses de arsenato de sódio, utilizando-se uma proporção solo-água de 1:1 (50 g de solo e 50 mL de água deionizada). Após homogeneização e permanência de 24 h em repouso, a suspensão foi centrifugada por 20 min e lida em condutivímetro (Camargo et al., 1986).

A condutividade elétrica do solo variou de 116 a 314 μS cm^{-1}. Apesar do aumento da CE com o aumento das doses de arsenato de sódio no solo, não foi observado problemas de salinização, por apresentarem abaixo dos limites prejudiciais. Segundo Pizarro (1990), este solo é classificado como solo não salino, em virtude de apresentar CE <2000 μS cm^{-1}.

Tabela 1. Características químicas e físicas da amostra de LVA utilizada no experimento

pH H_20	P-rem	As-rem	$P^{1/}$	$K^{1/}$	$Ca^{2+4/}$	$Mg^{2+4/}$	$Al^{3+\ 4/}$	$H+Al^{\ 5/}$	M.O
	…. mg L^{-1}..…		……mg dm^{-3}…...		.....$cmol_c dm^{-3}$.....				dag kg^{-1}
5,2	26,29	27,82	1,1	25	0,00	0,00	1,32	4,5	2,01

Areia grossa[6/]	Areia fina[6/]	Silte[6/]	Argila [6/]	Dens. Aparent [7/]	Classe textural	Equiv. Umidad[7/]
.....%.....						kg kg^{-1}
40	17	2	41	1,29	Argilo-arenoso	0,13

1/ Extrator Mehlich I; 4/ Extrator KCl mol/L; 5/ CTC a pH 7,0 extraída com acetato de cálcio 1 ml L^{-1}; 6/ Método da pipeta (EMBRAPA, 1997); 7/ EMBRAPA (1997); LVA - Latossolo Vermelho e Amarelo; P-rem – Fósforo remanescente e As-Rem- arsênio remanescente do solo, conforme Alvarez et al. (2000) e Ribeiro Jr (2002), respectivamente.

Após o período de incubação, amostras de 1,39 dm^3 de solo foram acondicionadas em vasos plásticos e semeadas (sementes pré-germinadas) as espécies *Canavalia*

ensiformis L. (feijão de porco), *Stilozobium aterrinum* Piper & Tracy (mucuna preta) e *Crotalaria spectabilis* Roth. (crotalária) deixando três plântulas por vaso no oitavo dia após a emergência. A fim de garantir o adequado suprimento de N às plantas e por não se conhecer o efeito do As sobre a atividade de bactérias do gênero *Rhizobium*, optou-se, neste estudo, pela não inoculação das sementes com bactérias fixadoras de N_2 atmosférico.

A adubação com macronutrientes foi realizada aos nove dias após a emergência, na forma de soluções, contendo 60 mg dm^{-3} de N (fosfato de amônio e nitrato de amônio), 100 mg dm^{-3} de P (fosfatos de amônio, de cálcio e de potássio), 100 mg dm^{-3} de K (fosfato de potássio) e 50 mg dm^{-3} de Mg (sulfato de magnésio). Para todas as espécies, a adubação nitrogenada foi parcelada em duas aplicações; aos nove e aos trinta e cinco dias após emergência.

As adubações com micronutrientes foram realizadas na forma de soluções, as quais foram parceladas eqüitativamente em quatro aplicações (15, 30, 45 e 60 dias após a emergência), nas doses totais de 0,81; 3,66, 4,00; 1,33; 0,15 e 1,56 mg dm^{-3} de B, Mn, Zn, Cu, Mo e Fe, respectivamente (Alvarez, 1974).

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, num delineamento em blocos casualizados com três repetições. Durante o período experimental as temperaturas variaram de 20,4 a 31,3 ^{o}C e a variação mensal da umidade relativa foi de 69,0 a 49,8 %.

Aos 65 dias após a semeadura as plantas foram avaliadas quanto a altura e diâmetro do colo e cortadas ao nível do solo. Em seguida, foram divididas em folhas jovens (FJ), folhas intermediárias (FI), folhas basais (FB), caule (C), pecíolo (Pec), e raízes (R). As raízes foram lavadas com água de torneira até a retirada completa do solo, e após esse procedimento permaneceu por aproximadamente 1 minuto em solução a 0,1 mol L^{-1} de HCl, seguida de vários enxágüe com água deionizada.

Para a separação dos diferentes tipos de folhas, consideraram-se folhas jovens as folhas tenras, não expandidas completamente, mais os brotos; já as folhas basais foram aquelas maduras e em estágio de senescência (amareladas) e folhas intermediárias as demais. Para determinação do peso da matéria seca, as diferentes partes da planta foram secas em estufas de circulação forçada de ar, a 60-70 °C, até peso constante.

Para determinar a concentração de As nas diferentes partes das plantas, amostras de 1,00 g de material seco e finamente triturado foram submetidas à digestão nítrico-perclórica (3:1) (Tedesco et al., 1995). As amostras foram levadas para bloco digestor controlando-se a temperatura: inicialmente de 50 ºC, por aproximadamente 30 minutos; 100 ºC, por mais 30 minutos e permaneceu entre 160 a 180 ºC até completar a digestão.

A dosagem dos teores de arsênio nos extratos de plantas e As disponível no solo (Mehlich 3) foram realizadas por espectrometria de emissão atômica, com plasma induzido em argônio (ICP/AES) no comprimento de ondas de 193 nm. Para fins de avaliação da exatidão do método de determinação de As em material vegetal foi realizada a digestão (Nítrico-perclórica 3:1) de um padrão de referência de As, GBW07603 composto por ramos e folhas de arbustos cultivadas em áreas de mineração de zinco e chumbo na China, adquirida do Institute of Geophysical and Geochemical Exploration-Langtang-China. A taxa de recuperação de As da amostra padrão foi da ordem de 94 %.

Em função da quantidade acumulada de As nos diferentes compartimentos das plantas, as espécies foram classificadas quanto ao caráter de tolerância, em espécies com potenciais para fitoestabilização (tolerantes e acumuladoras de arsênio nas raízes) e fitoextração (espécies tolerantes e acumuladoras de arsênio na parte aérea). As espécies foram consideradas acumuladoras, quando as concentrações nas raízes e parte aérea foram superiores à concentração do solo (Accioly & Siqueira, 2000). Por meio de análise de regressão, considerando-se a matéria seca da parte aérea produzida em função das doses de As aplicadas, foram estipuladas as doses críticas (DC) de As que proporcionaram a redução de 50 % de matéria seca produzida em relação às plantas controle (testemunha). Substituindo-se os valores de DC nas equações de teores de As disponíveis no solo, em função das doses de As aplicadas, foi estimado o teor crítico (TC) de As disponível no solo que proporcionou a redução de 50 % da matéria seca produzida.

Por meio da quantidade de As acumulada, calculou-se o índice de translocação do As, de acordo com Abichequer e Bohnen (1998), pela seguinte equação:

$$IT\ (\%) = \frac{\text{Quantidade de As acumulada na parte aérea (folhas + caule) x 100}}{\text{Quantidade de As acumulada na planta}}$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sintomas de toxidez, produção de matéria seca, diâmetro e altura de planta

Com duas semanas após a emergência, as plantas de feijão de porco e crotalária, submetidas às doses de 100 e 200 mg dm^{-3}, começaram a apresentar sintomas visuais de toxidez, apresentando folhas basais com clorose internerval, seguida de necrose (Figura 1). As lesões nas folhas das plantas causadas pela toxidez ao As foram severas nas plantas de crotalária, no entanto, não foram suficientes para caracterizá-las como planta sensível, pois não houve a morte das plantas.

A toxidez por arsênio pode ocorrer pela inibição de várias enzimas da mitocôndria e desativação da fosforilação oxidativa, o que causa prejuízos na respiração celular. Grande parte da toxicidade do arsênio resulta de sua capacidade de interagir com os grupos sulfidrílicos de proteínas e enzimas, e também da capacidade de substituir o fósforo em várias reações (Goyer, 1996).

A produção de matéria seca pelas plantas de mucuna preta, feijão de porco e crotalária foi significativamente afetada pelas doses de As, causando redução nas variáveis de crescimento avaliadas (Figura 2). Foi observada redução na ordem de 41 %; 47 % e 43 %, para matéria seca da parte aérea das plantas de mucuna preta, feijão de porco e crotalária, respectivamente, para a dose de 200 mg dm^{-3}, em relação à testemunha.

Figura 1. Evolução dos sintomas de toxidez por arsênio em folhas de feijão de porco (1) e crotalária (2) submetidas a doses crescentes de arsênio.

Quanto à produção de matéria seca radicular, foi possível constatar que as plantas de mucuna preta apresentaram ligeira redução com apenas 9 % na maior dose aplicada em relação à planta controle (Figura 2). Comportamento diferente do feijão de porco e da crotalária que apresentaram redução na matéria seca radicular na ordem de 50 % e 29 %, respectivamente, em relação às plantas da testemunha. Esse comportamento indica maior tolerância ao arsênio da mucuna em relação às outras duas espécies.

As concentrações de arsênio aplicadas ao solo causaram ligeiro decréscimo no diâmetro de colo das plantas em todas as espécies estudadas, com exceção da mucuna preta que quando submetida á dose 200 mg dm^{-3} apresentou ganho no diâmetro de colo da ordem de 15 % em relação à dose de 100 mg dm^{-3} (Figura 5).

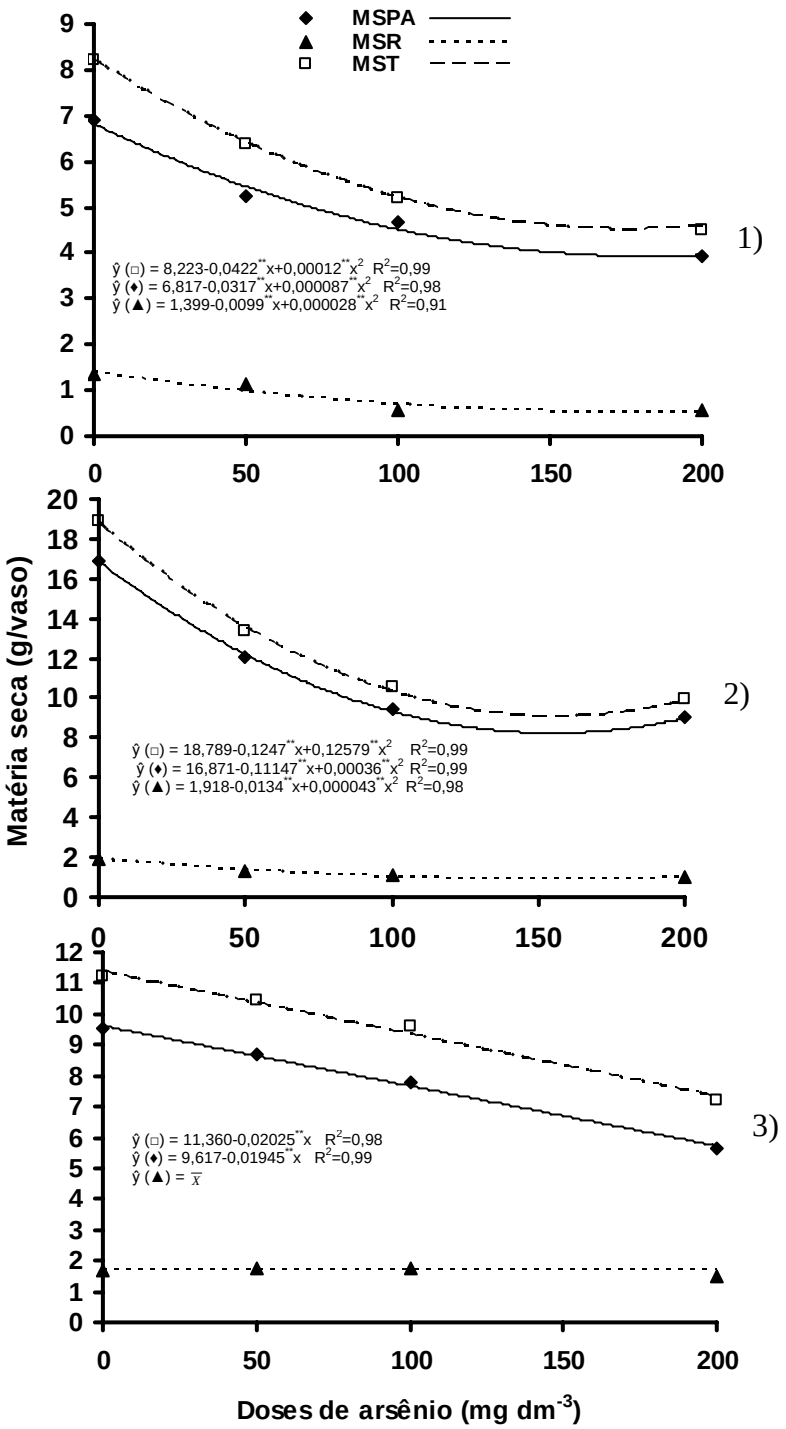


Figura 2. Matéria seca da parte aérea (MSPA), raízes (MSR) e total (MST) de plantas de crotalária (1), feijão de porco (2) e mucuna preta (3) submetidas a diferentes doses de arsênio. ** significativo a 1 % de probabilidade.

De modo geral, foi possível constatar que as plantas de mucana preta tiveram seu desenvolvimento menos afetado, sendo que, as plantas de crotalária e feijão de porco mesmo apresentando significativa redução no desenvolvimento foram capazes de permanecer crescendo até o final do experimento, aos 65 dias (Figura 3).

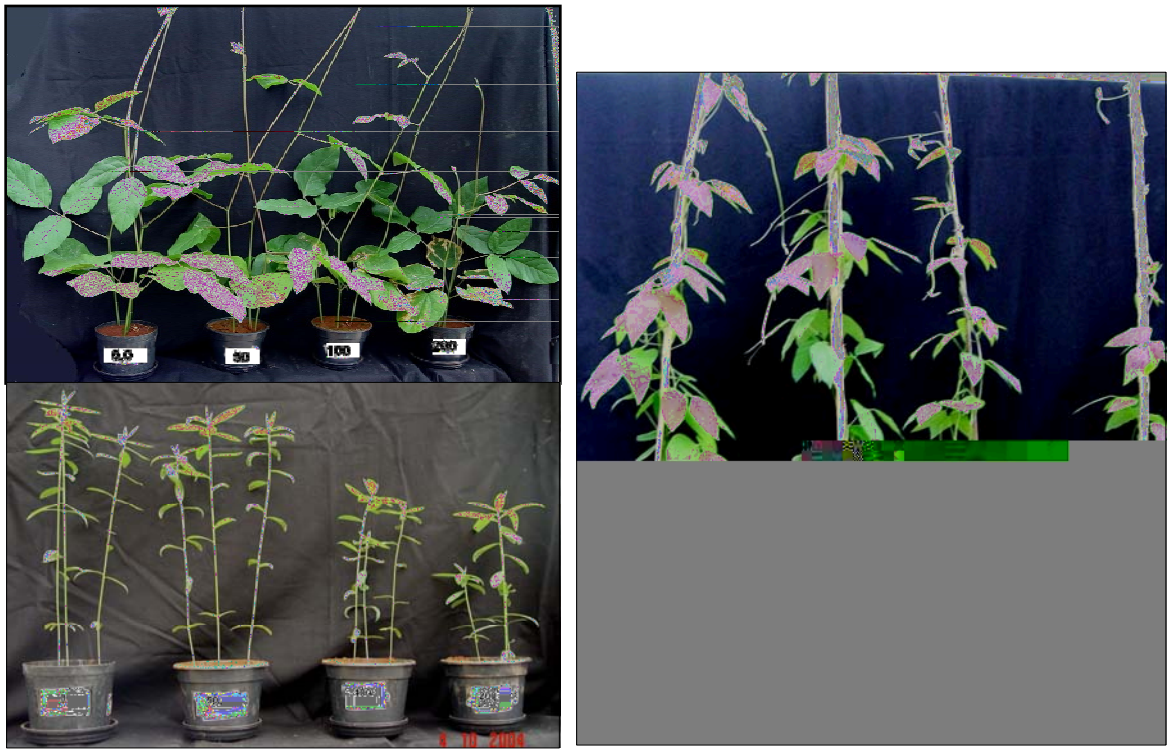


Figura 3. Plantas de feijão de porco (1), crotalária (2) e mucuna preta submetidas às doses crescentes de arsênio, aos 63 dias após a semeadura.

A altura das plantas foi significativamente ($p \leq 0,01$) afetada pelas doses crescentes de As no solo, em todas as espécies estudas. Houve resposta tipo raiz quadrada para feijão de porco, porém, linear para mucuna preta e crotalária (Figura 4). Os decréscimos foram de 40 %, 38 % e 22 % para as plantas de crotalária, feijão de porco e mucuna preta, respectivamente. O menor efeito na altura das plantas de mucuna preta, provavelmente, se deve à menor translocação do As para a parte aérea, sugerindo a existência de um mecanismo efetivo de controle interno da translocação do metalóide, conforme será discutido a seguir.

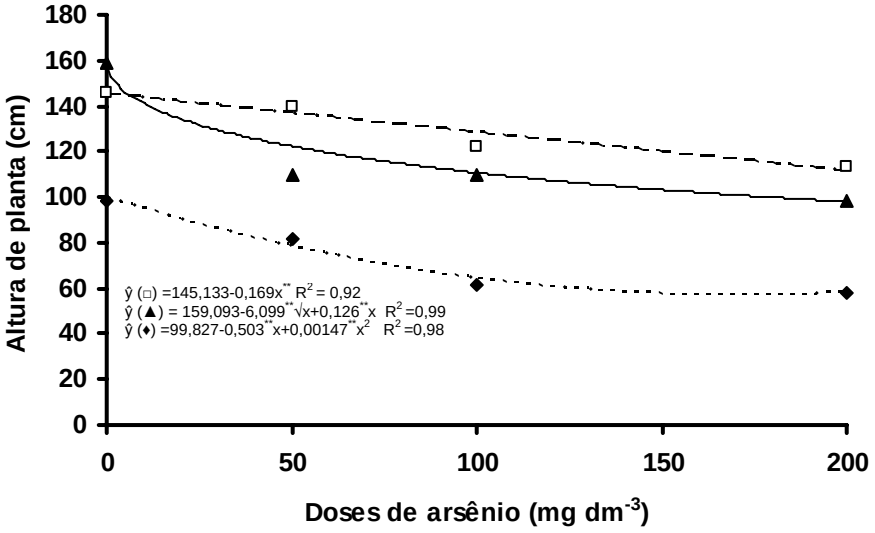


Figura 4. Altura de planta de mucuna preta (_ _□), feijão de porco (__▲) e crotalária (... ♦) submetidas a diferentes doses de As. ** efeito significativo a 1 % de probabilidade, respectivamente pelo teste F.

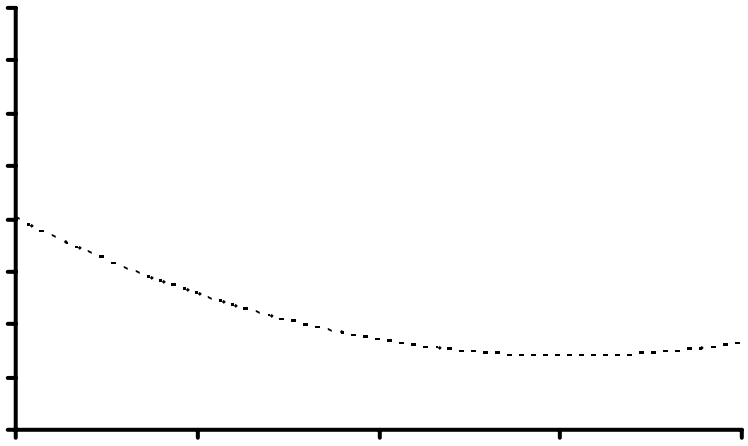


Figura 5. Diâmetro de planta de mucuna preta (_ _□), feijão de porco (__▲) e crotalária (... ♦) submetidas a diferentes doses de As. ** e * efeitos significativos a 1 % e 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F.

Teores e conteúdos de arsênio nos diferentes compartimentos das plantas

As doses crescentes de arsênio no solo influenciaram de forma significativa os teores de As nas diferentes partes das plantas, para todas as espécies estudadas (Tabela 2). O aumento das doses de As resultou em acréscimos nos teores de As nas diferentes partes das plantas, porém de forma diferenciada entre as espécies, conforme se verifica nos modelos ajustados para os teores de As nos diferentes compartimentos das plantas em função das doses aplicadas ao solo (Tabela 3). A distribuição diferenciada de elementos

tóxicos nos compartimentos da planta é, de certo modo, relacionada com a absorção e translocação do elemento e pode estar diretamente relacionada a mecanismos de tolerância (Accioly & Siqueira, 2000).

Tabela 2. Teores de arsênio em folhas jovens (FJ), folhas intermediarias (FI), folhas basais (FB), pecíolo (Pec), caule (C), e nas raízes (R) em plantas de feijão de porco, mucuna preta e crotalária em resposta a diferentes doses de arsênio

ESPÉCIES	DOSES	TEORES DE ARSÊNIO					
		Fj	FI	FB	Pec	C	R
	mg dm^{-3}	---------- mg kg^{-1} ----------					
Feijão de porco	0	**	**	**	**	**	**
	50	1,45	1,92	3,68	1,99	1,35	127,80
	100	2,39	3,13	5,01	2,16	1,58	158,15
	200	1,95	3,94	3,01	2,11	1,63	269,45
	CV (%)	5,30	5,52	4,28	5,73	5,89	2,60
Mucuna preta	0	**	**	**	**	**	**
	50	0,25	0,76	1,83	0,86	1,19	153,19
	100	0,80	1,03	1,43	2,43	2,47	190,61
	200	1,46	0,79	8,86	6,44	6,84	271,77
	CV(%)	11,97	5,99	6,71	3,77	3,80	3,31
Crotalária	0	**	**	**	-*	**	**
	50	3,70	18,60	39,93	-*	5,10	149,19
	100	7,12	23,42	50,30	-*	9,19	177,15
	200	5,93	35,36	79,30	-*	5,72	282,18
	CV(%)	7,88	6,72	5,30	-*	8,18	2,61

*Valores não determinados devido à ausência de pecíolos
** Concentrações abaixo do limite de detecção pelo método de dosagem (ICP/AES)

Os teores de As nas diferentes partes das plantas de feijão de porco foram muito diferenciados, de modo que, os maiores valores encontrados na parte aérea (Tabela 2) foram nas doses de 100 mg dm^{-3} para FJ, FB e Pec e na de 200 mg dm^{-3} para FI. Sendo que no sistema radicular os teores de As chegaram a ser 53,89 vezes superior ao considerado normal para plantas (considerando o limite de 5 mg kg^{-1}) na dose de 200 mg dm^{-3} (Tabela 2). Pires et al., (2005) constataram alta tolerância do feijão de porco ao herbicida tebuthiuron, sendo considerado com potencial para fitorremediação de solo contaminados com esse herbicida. Alguns estudos mostram que teores de As solúvel variando de 1 a 10 mg kg^{-1} já seriam fitotóxicos para algumas culturas como feijão, alfafa e arroz (Bischop & Chisholm, 1962). Um estudo recente tem constatado que um teor disponível (Mehlich 3) de 26,9 mg dm^{-3} já seria suficiente para causar morte de plantas de sorgo (Ribeiro Jr. 2002).

Tabela 3. Equações de regressão dos teores de arsênio[1)] em folhas jovens (FJ), intermediárias (FI), basais (FB), caule (C), pecíolo (Pec) raízes (R), arsênio do solo no final do experimento (AsDisp), conteúdo de arsênio na parte aérea (CAsPA), conteúdo de arsênio nas raízes (CAsR), conteúdo de arsênio total na planta (CAsT) em mucuna preta, feijão de porco e crotalária, em função de diferentes doses de arsênio aplicadas no solo (x)

ESPÉCIES	COMPARTIMENTOS	EQUAÇÃO DE REGRESSÃO	R^2
Mucuna Preta	FJ[1)]	$\hat{y} = -0{,}033+0{,}0054^{**}x$	0,99
	FI[1)]	$\hat{y} = 0{,}018+0{,}0173^{**}x-0{,}000067^{**}x^2$	0,99
	FB[1)]	$\hat{y} = 0{,}406-0{,}00486^{**}x+0{,}0002^{**}x^2$	0,96
	C[1)]	$\hat{y} = 0{,}042+0{,}016275^{**}x-0{,}000088^{**}x^2$	0,99
	Pec[1)]	$\hat{y} = -0{,}035+0{,}01547^{**}x+0{,}000085^{**}x^2$	0,99
	R[1)]	$\hat{y} = 9{,}646+2{,}7105^{**}x-0{,}00708^{**}x^2$	0,97
	AsDisp[2)]	$\hat{y} = -3{,}691+0{,}0{,}20195^{**}x$	0,95
	CAsPA[3)]	$\hat{y} = 0{,}002+0{,}00067^{**}x$	0,99
	CasR[3)]	$\hat{y} = 0{,}014+0{,}00508^{**}x-0{,}000016^{**}x^2$	0,98
	CasT[3)]	$\hat{y}= 0{,}001+0{,}0462^{**}\sqrt{x} -0{,}000528^{**}x$	0,99
Feijão de porco	FJ	$\hat{y} = -0{,}022+0{,}03743^{**}x-0{,}000138^{**}x^2$	0,99
	FI	$\hat{y} = 0{,}014+0{,}04334^{**}x-0{,}000119^{**}x^2$	0,99
	FB	$\hat{y} = 0{,}065+0{,}08695^{**}x-0{,}000362^{**}x^2$	0,99
	C	$\hat{y} = 0{,}001+0{,}2644^{**}\sqrt{x} -0{,}01058^{**}x$	0,99
	Pec	$\hat{y} = 0{,}007+0{,}3998^{**}\sqrt{x} -0{,}01784^{**}x$	0,99
	R	$\hat{y} = 1{,}809+13{,}524^{**}\sqrt{x} +0{,}360098^{**}x$	0,98
	AsDisp	$\hat{y} = -0{,}082+0{,}0745^{**}x+0{,}00046^{**}x^2$	0,99
	CAsPA	$\hat{y} = 0{,}0001+0{,}02747^{**}\sqrt{x}-0{,}00135^{**}x$	0,99
	CAsR	$\hat{y} = 0{,}031+0{,}02224^{**}\sqrt{x} -0{,}000314^{**}x$	0,97
	CAsT	$\hat{y} = 0{,}003+0{,}04933^{**}\sqrt{x} -0{,}00116^{**}x$	0,98
Crotalária	FJ	$\hat{y} = -0{,}196+0{,}1075^{**}x-0{,}00038^{**}x^2$	0,98
	FI	$\hat{y} = 1{,}190+0{,}3234^{**}x-0{,}00077^{**}x^2$	0,97
	FB	$\hat{y} = 0{,}408+4{,}8808^{**}\sqrt{x} +0{,}0444^{**}x$	0,99
	C	$\hat{y} = -0{,}236+0{,}1489^{**}x-0{,}00059^{**}x^2$	0,98
	R	$\hat{y} = 1{,}976+18{,}347^{**}\sqrt{x}+0{,}0798^{**}x$	0,98
	AsDisp	$\hat{y} = -0{,}170+0{,}1249^{**}x+0{,}00055^{*}x^2$	0,99
	CAsPA	$\hat{y} = 0{,}001+0{,}06256^{**}\sqrt{x} -0{,}001975^{**}x$	0,99
	CAsR	$\hat{y} = 0{,}006+0{,}0249^{**}\sqrt{x} -0{,}00104^{**}x$	0,78
	CAsT	$\hat{y} = 0{,}007+0{,}0867^{**}\sqrt{x} -0{,}002977^{**}x$	0,97

** e * significativo a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.
1) Teores de arsênio (mg kg^{-1})
2) As disponível Mehlich 3 após a coleta do experimento
3) Conteúdos de As (mg $vaso^{-1}$)

Para a mucuna preta, os teores mais elevados de arsênio foram observados nas plantas submetidas à dose de 200 mg dm^{-3} para a maioria dos compartimentos estudados. Exceção das FI que apresentaram maior teor na dose de 100 mg dm^{-3}. Quanto aos teores de As nas raízes, tanto as plantas de feijão de porco, quanto as de mucuna preta, apresentaram comportamentos semelhantes com os maiores teores na dose de 200 mg dm^{-3}. Os valores

chegam a ser 4,57 e 4,60 vezes superior a concentração de arsênio disponível no solo e 53,89 e 54,35 vezes mais do que a concentração em plantas normais (5,0 mg kg^{-1}). Conforme Wauchope, (1983), algumas plantas podem acumular níveis elevados de metais variando de 100 a 1000 vezes mais do que o nível normal acumulado pela maioria das espécies que é de 0,1-5,0 mg kg^{-1}.

As plantas de crotalária apresentaram teores de arsênio consideravelmente elevados quando comparados aos das plantas de feijão de porco e mucuna preta, com maiores teores no sentido acrópeto com os maiores valores na dose de 200 mg dm^{-1} para FI e FB, respectivamente. Quanto aos teores de As em FJ e C os maiores valores foram encontrados na dose de 100 mg dm^{-3} (Tabela 2). Esse comportamento pode ser explicado pela baixa mobilidade do As na planta, considerado um elemento pouco móvel, sendo assim os maiores teores ocorrem preferencialmente nas folhas basais, como observados em outros trabalhos (Zhang et al,. 2002, Ma et al., 2001).

O conteúdo de As nas diferentes partes das plantas foram influenciados significativamente ($p \leq 0,01$) pelas diferentes doses de As em todas as espécies estudadas (Tabela 3). De modo geral, os conteúdos de arsênio em plantas de feijão de porco e crotalária em função das doses aplicadas, ajustaram-se ao modelo raiz quadrático, com os maiores conteúdos no sistema radicular na dose de 200 mg dm^{-3} (0,26 mg $vaso^{-1}$) e na parte aerea (0,14 mg $vaso^{-1}$) na doses de 100 mg dm^{-3}. Para as plantas de mucuna preta ajustaram-se modelos do tipo linear, quadrática e raiz quadrada para os conteúdos de As na parte aérea, raízes e total, respectivamente (Tabela 3), com maiores conteúdos no sistema radicular (Tabela 4).

As plantas de feijão de porco e mucuna preta apresentaram maior acúmulo de As nas raízes quando comparado com os da parte aérea. Contrariamente ao observado nas plantas crotalária que apresentram maiores acúmulos na parte aérea (Tabela 4). O comportamento diferencial observado nas plantas de crotalária, merece destaque, devido ao potencial de acumulação na parte aérea, comportamento típico de espécie com potencial para fitoextração de As em ambiente contaminados.

O acúmulo de arsênio, sobretudo nas raízes e não na parte aérea nas plantas de feijão de porco e mucuna preta (Tabela 4), indicaram potencialidade para fitoestabilização de solos contaminados por As. Sendo assim, merece ressaltar que essas plantas são perenes, a matéria seca produzida no final de cada ciclo poderá ser utilizada como fonte de matéria orgânica do solo, reduzindo assim a biodisponibilidade do elemento para os ecossistemas. O aumento do teor de matéria orgânica no solo contribuirá na redução do As

disponível, podendo assim favorecer o estabelecimento de espécies arbóreas e arbustivas, utilizadas na seqüência do processo de revegetação.

O comportamento diferenciado entre as espécies pode estar relacionado à própria genética das espécies, sendo assim, a maior e/ou menor capacidade de absorção e acumulação de As, entre plantas acumuladoras e não acumuladoras parece não estar relacionado ao volume do sistema radicular produzido. Mas, a outros mecanismos relacionados a absorção de elementos químicos pelas raízes que envolvem o transporte de íons pela membrana plasmática e também a adsorção destes na parede celular das células do córtex (Marschner, 1995).

Tabela 4. Conteúdo de arsênio na parte aérea (PA), raízes (R), total (T) e arsênio disponível no solo após a coleta das plantas (AsDisp) em plantas de feijão de porco, mucuna preta e crotalária em função das diferentes doses de arsênio aplicadas ao solo

ESPÉCIES	DOSES	PA	R	T	AsDisp
	mg dm^{-3}	----------	mg vaso^{-1}	----------	mg dm^{-3}
Feijão de porco	0	*	*	*	*
	50	0,13	0,17	0,29	4,97
	100	0,14	0,17	0,30	12,69
	200	0,11	0,26	0,38	59,91
	CV (%)	3,01	6,61	4,39	4,83
Mucuna preta	0	*	*	*	*
	50	0,04	0,26	0,31	4,42
	100	0,06	0,34	0,40	12,10
	200	0,14	0,40	0,55	39,40
	CV (%)	6,59	7,63	6,61	4,74
Crotalária	0	*	*	*	*
	50	0,36	0,17	0,52	6,65
	100	0,42	0,10	0,52	18,12
	200	0,50	0,16	0,66	46,58
	CV (%)	3,92	10,09	3,08	19,76

* Concentrações abaixo do limite de detecção pelo método de dosagem (ICP/AES)

Para os teores de As disponível (Mehlich 3) no solo após a coleta das plantas, houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) para todas as espécie estudadas (Tabela 3). Os teores encontram-se significativamente superiores ao valor de referência de qualidade de solos para o Estado de São Paulo, que são de 3,5 mg kg^{-1} de As disponível determinado pelo método da USEPA 3051 ou 3151 (CETESB, 2005), e ao limite de As disponível no solo (12 mg kg^{-1}), no caso dos EUA, para que se iniciem ações de remediação (Chen et al., 2001; Davis et al., 2001).

A variação entre os teores disponível pode estar relacionada à aplicação de fertilizantes fosfatados ao solo, que aumentou a disponibilidade do arsênio ao longo do período experimental e à maior eficiência da planta em absorver e translocar o As, já que o acúmulo de arsênio não foi proporcional ao desenvolvimento do sistema radicular.

A baixa capacidade de adsorção de As e P observada nesse solo, a julgar pelos elevados teores de As e P remanescentes (Tabela 1) contribui para a maior disponibilidade do arsênio às plantas. Estudos mostram que a adubação fosfatada pode resultar em aumento na disponibilidade de aproximadamente 77 % do arsênio (Peryea, 1998), em função do deslocamento do arsenato dos sítios de adsorção pelos ânions fosfato (Creger & Peryea, 1994).

Índice de translocação e teores críticos de arsênio no solo

As doses crescentes de arsênio resultaram em efeitos significativos ($p \leq 0,01$) na translocação deste para a parte aérea nas plantas de crotalária, feijão de porco e mucuna preta (Figura 5), ajustando-se os modelos raiz quadrada, quadrático e linear. O IT de As foi maior nas plantas de crotalária chegando a 81 % e 75 % nas doses de 100 e 200 mg dm^{-3}, respectivamente.

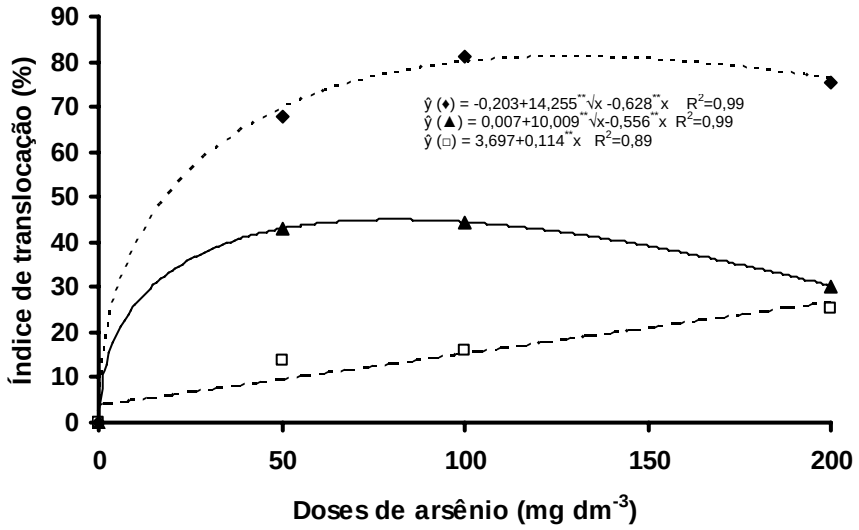


Figura 6. Índice de translocação de arsênio em plantas de mucuna preta (_ _□), feijão de porco (__▲) e crotalária (... ♦) submetidas a diferentes doses de arsênio aplicadas ao solo. * * e * efeito significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F.

De modo geral, as plantas de mucuna preta e feijão de porco apresentaram índice de translocação relativamente baixos. As plantas de feijão de porco apresentaram maiores índices nas doses de 50 e 100 mg dm^{-3} com valores de 43 % e 44 %, respectivamente (Figura 5). Ao contrário das demais espécies, os IT obtidos para a mucuna preta ajustaram-se ao modelo linear positivo, cujos valores foram significativamente inferiores, atingindo apenas 25 % na dose de 200 mg dm^{-3}. A translocação de As, frente a aplicação de doses crescentes, pode ser estimulada ou inibida, dependendo da espécie.

A avaliação da concentração de As e o conhecimento da distribuição deste em plantas, bem como os teores disponíveis no solo, permite melhor avaliar o potencial das espécies para programas de fitorremediação e/ou revegetação, bem como, seus riscos ao meio ambiente, principalmente em relação a espécies que possam entrar na cadeia trófica, contribuindo assim, para definir o uso local ou determinar a necessidade de ações que visem proteção à saúde humana e ambiental.

O maior acúmulo de As no sistema radicular em relação à parte aérea nas plantas de feijão de porco e mucuna preta pode indicar baixa capacidade de controle na absorção e/ou maior eficiência no controle da translocação deste metalóide, evitando que o As chegue aos tecidos metabolicamente mais ativos da parte aérea. Por outro lado, o maior acúmulo de As na parte aérea em relação ao sistema radicular em plantas de crotalária pode indicar uma eficiente absorção e/ou elevado potencial na translocação (Figura 5) de As, fazendo com que este chegue à parte aérea, sem resultar, no entanto, em sintomas graves de toxidez na dose de 200 mg dm^{-3}. Este comportamento pode estar relacionado aos mecanismos de síntese de fitoquelatinas que têm um papel fundamental na desintoxicação de arsênio em plantas (Sneller et al., 1999; Pickeren et al., 2000; Schmöger et al., 2000; Meharg & Hartley-Whitaker, 2002).

O teor crítico de arsênio disponível no solo (TC) necessário para reduzir em 50 % a matéria seca da parte aérea e de raízes (Tabela 5), mostra a influência que a contaminação exerce sobre as plantas (Soares, 1999). O TC de As no solo para as plantas de mucuna preta foram superiores tanto para matéria seca de raiz quanto para parte aérea, indicando que essa espécie tolera concentrações mais elevadas de As disponível no solo em relação às outras duas espécies. Entre crotalária e feijão de porco, a segunda mostrou-se menos tolerante. Esse comportamento diferencial entre espécies pode ter base genética ou fisiológica, como a possível existência de fitoquelatinas presentes nas raízes, capazes de complexar e transportar o As para o vacúolo evitando assim a toxidez das plantas (Ma et al., 2001).

Tabela 5. Teores críticos de arsênio disponível (Mehlich 3) no solo necessário para reduzir em 50 % a produção de matéria seca de raízes e parte aérea de mucuna preta, feijão de porco e crotalária cultivadas em amostras de um LVA de João Pinheiro, MG

TEOR CRÍTICO NO SOLO	MUCUNA PRETA	FEIJÃO DE PORCO	CROTALÁRIA
	---------- mg dm^{-3} ----------		
[1)]$TC_{50\% \text{ raiz}}$	93,00	32,25	50,93
$TC_{50\% \text{ parte aérea}}$	72,88	37,39	52,85

[1)] Teor crítico de As no solo para reduzir em 50 % a produção de matéria seca

De modo geral, foi possível constatar que as espécies estudadas foram tolerantes ao arsênio, com potencial de acumulação no sistema radicular para mucuna preta e feijão de porco, e na parte aérea nas plantas de crotalária o que caracteriza essas espécies com potencial para fitoestabilização de arsênio, principalmente por se tratar de espécies de rápido crescimento e elevada produção de matéria seca. No caso particular da crotalária vale ressaltar que essa espécie pode apresentar potencial para fitorremediação, mesmo não sendo considerada uma espécie hiperacumuladora. Deve-se levar em consideração o plantio seqüencial com a retirada das plantas do local contaminado, e que no campo as plantas têm comportamento diferenciado em relação ao cultivo em vaso. Nesse sentido, serão necessários, estudos em condições de campo para melhor expressar o potencial dessa espécie como planta fitorremediadora de solo contaminado com As.

CONCLUSÕES

As espécies avaliadas apresentaram comportamento diferenciado em função das diferentes doses de As aplicadas às amostras de solo. Ao se considerar a tolerância das espécies com base na concentração crítica disponível no solo a mucuna preta apresentou tolerância a concentrações mais elevadas. Por outro lado, ao se considerar o potencial de extração e acúmulo do metalóide na parte aérea das plantas, a crotalária mostrou-se como a espécie de maior potencial para programas de fitorremediação.

LITERATURA CITADA

AARON D. R.; DONALD L. M.; DIANNE, A. Natural Organic Matter Affects Arsnic Speciation and Sorption onto Hematite. Environmental Science & Technology, 13:2889-2896, 2002.

ABICHEQUER, A.D.; BOHNEN, H. Eficiência de absorção, translocação e utilização de fósforo por variedades de trigo. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 22:21-26, 1998.

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V.; V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. Tópicos em ciência do solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. 299-352 p.

ALVAREZ, V. H.V. Equilíbrio de formas disponíveis de fósforo e enxofre em dois latossolos de Minas Gerais. Viçosa, MG, 1974. 125p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Curso de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas, Universidade Federal de Viçosa, 1974.

ALVAREZ V., V.H.; NOVAIS, R.F.; DIAS, L.E. & OLIVEIRA, J.A. Determinação e uso do fósforo remanescente. B. Inf. SBCS, 25:27-32, 2000.

BISHOP, R.F., & CHISHOLM, D. Arsenic accumulation in Annapolis Valley orchard soil. Can. J. Soil Sci. 42:77- 80, 1962.

CAMARGO, O.A.; MONIZ, A.C.; JORGE, J.A.; VALADARES, J.M.A.S. Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agronômico de Campinas. Campinas: IAC, SDTC, 1986. 93p. (Boletim Técnico, 106).

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Avaliação Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo, CETESB, São Paulo, Brasil, 2005.(http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/relatorios/tabela_valores_2005.pdf)

CHEN, M.; MA, L.Q.; HOOGEWEG, C.G. & HARRIS, W.G. Arsenic background concentrations in Florida, U.S.A. surface soils: Determination and interpretation. Environ. Forensics, 2:117-126, 2001.

CREGER, T. L, PERYEA, F. J. Phosphate fertilizer enhances arsenic uptake by apricot liners grown in lead-arsenate enriched soil. Hortic Sci 29: 88-92, 1994.

DAVIS, A.; SHERWIN, D.; DITMARS, R. & HOENKE, K.A. An analysis of soil arsenic records of decision. Environ. Sci. Technol., 35:2401-2406, 2001.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solos. 2 ed. rev. e atual. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997. 212p.

GLASS, D. J.; "Evaluating Phytoremediation's Potential Share of the Hazardous Site Remediation Market", in "Phytoremediation" (Proceedings of the Second International Phytoremediation Conference), IBC Library Service, Westborough, MA, 7-39p,1997.

GOYER R.A.. Toxic effects of metals. In: Klaassen CD ed. Cassarett & Doull's Toxicology – The basic Science of Poisons. Mcgraw Hill. New York, NY., 691-736p. 1996

HUANG, J. W.; CUNNINGHAM, S. D. Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation. New Phytologist, Cambridge, Grã-Bretanha, 134:75-84, 1996.

MA, L.Q.; KOMAR, K.M.; TU, C.; ZHANG, W.; CAI, Y.; KENNELLEY, E. D. A fern that hyperaccumulates arsenic. Nature, 409-579, 2001.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 2.ed. San Diego: Academic Press, 1995. 680p.

MATSCHULLAT, J.; BORBA, R.P.; DESCHAMPS, E.; FIGUEIREDO, B.R.; GABRIO, T. & SCHWENK, M. Human and environmental contamination in the Iron Quadrangle, Brazil. Appl. Geochem., 15:181-190, 2000.

MEHARG, A. A.; HARTLEY-WHITAKER, J. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and non-resistant plant species: Tansley Review. New Phytol, 154: 29-43, 2002.

PERYEA, F. J. Phosphate starter fertilizer temporarily enhances soil arsenic uptake by apple trees grown under field conditions. Hort science, 33: 826–829, 1998.

PICKERING, I. J.; PRINCE, R. C.; GEORGE, M. J.; SMITH, R. D.; GEORGE, G. N.; SALT, D.E. Reduction and coordination of arsenic in Indian mustard. Plant Physiol., 122:1171-1177, 2000.

PIRES, F. R. et al. Inferências sobre atividade rizosférica de espécies com potencial para fitorremediação do herbicida tebuthiuron. Rev. Bras. Ci. Solo, 29-627-634, 2005.

PIZZARO, F. Drenaje agrícola y recuperación de suelos salinos. 2ª. ed. Madrid: Agrícola Española S.A., 1985, 542 p.

RIBEIRO JR, E.S. Adsorção e dessorção de arsênio em solos e substratos de mineração de ouro e práticas de mitigação de drenagem ácida em colunas de lixiviação. Viçosa, MG: UFV, 117p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, 2002.

SCHMÖGER, M. E. V.; OVEN, M; GRILL, E. Detoxification of arsenic by phytochelatins in plants. Plant Physiol, 122, 793–801, 2000.

SEIDEL, H & KLEMM, W. The influence of soluble Natural Organic Matter (NOM) on the mobility of Arsenic, stabilized by Ironoxihydroxides, in a Tailingmaterial. Christoff Andermann. Oberseminar, 2005. 1-11 p.

SHIMP, J.F.; TRACY, J.C.; DAVIS, L.C.; LEE, E.; HUANG, W.; ERICKSON, L.E. & SHNOOR, J.L. Beneficial effects of plants in the remediation of soil and groundwater contaminated with organic materials. C. R. Environ. Sci. Technol., 23:41-77, 1993.

SNELLER, F.E.C.; VAN HEERWAARDEN, L.M.; KRAAIJEVELD-SMIT, F. J. L.; TEN BOOKUM, W. M.; KOEVOETS, P. L. M.; SCHAT, H.; VERKLEIJ, J. A.C. Toxicity of arsenate in Silene vulgaris, accumulation and degradation of arsenate-induced phytochelatins. New Phytol, 144, 223-232, 1999.

SOARES, C. R. F. S. Toxidez de zinco cobre cádmio e chumbo para o eucalipto em solução nutritiva. 1999. 132 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

SUSARLA, S.; MEDINA, V.F. & McCUTCHEON, S.C. Phytoremediation: an ecological solution to organic chemical contamination. Ecol. Engin., 18:647-658, 2002.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. Análise de solo, plantas e outros materiais. Porto Alegre : UFRGS, 1995. 174 p.

VEADO, M. A. R. V. ; OLIVEIRA, A. H. ; VEADO, J. C. C. ; REVEL, G. ; PINTE, G. . Analysis of water quality and sediment composition in the Paraopeba and Das Velhas Rivers, Brazil. Water SA, Pretória, 26:249-254, 2000.

VOIGT D. E., BRANTLEY S. L., HENNET R. J.-C.: Chemical fixation of arsenic in contaminated soils. Applied Geochemistry,11:633-643, 1996.

WAUCHOPE. R. D. Uptake, translocation and phytotoxicity of arsenic in plants. Chapt. 25, In: W.H Lederer and RJ Fensterheim (eds.), Arsenic: Industrial, Biomedical, Environmental Perspectives. New york: Van Nostrand Reinhold Co. (I). 348-375p 1983.

ZHANG, W.H., CAI, Y., TU, C., MA, L.Q. Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulating plant. Sci. Total Environ. 300:167-177, 2002.

CAPÍTULO 2

POTENCIAL DE ESPÉCIES HERBÁCEAS FORRAGEIRAS COMO FITORREMEDIADORAS DE SOLO CONTAMINADO POR ARSÊNIO

RESUMO

O uso da técnica de fitorremediação para descontaminação de solos e substratos contaminados por arsênio, tem despertado crescente interesse entre pesquisadores e técnicos que atuam na área ambiental. No entanto, poucas espécies têm sido relatadas, principalmente no Brasil, como capazes de acumular arsênio. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de estilosante, amendoim forrageiro, azevém e aveia forrageira como espécies fitorremediadoras de áreas contaminadas por arsênio. Amostras de um Latossolo Vermelho Amarelo foram incubadas por 15 dias com diferentes doses de As (0,0; 50; 100 e 200 mg dm^{-3}), na forma de Na_2HAsO_4, as quais resultaram numa disponibilidade de 0,0; 12,9; 26,8 e 58,7 mg dm^{-3} de As, em seguida realizou-se a semeadura das diferentes espécies e adubações. Aos 65 dias após a semeadura as plantas foram avaliadas quanto à altura, diâmetro de colo e matéria seca da parte aérea e de raízes. Determinaram-se os teores de arsênio nas folhas jovens, intermediárias e basais, caule, e raízes, bem como o conteúdo e índice de translocação (IT) de As. Por meio de análises de regressão foram estimados os teores críticos (TC) de As disponíveis no solo que proporcionaram redução de 50% da matéria seca. As espécies estudadas apresentaram comportamento diferenciado quanto a tolerância ao As, com destaque para azevém, amendoim e estilosante que não manifestaram sintomas morfológicos visuais de toxidez. Os TC para as plantas de aveia e azevém foram significativamente superiores aos observados para as demais espécies. As plantas de amendoim e estilosante apresentaram maior capacidade de absorção e translocação de arsênio para a parte aérea. As plantas de amendoim apresentaram teores de até 23,82 mg kg^{-1} nas folhas basais e até 308,47 mg kg^{-1} nas raízes na dose de 200 mg dm^{-3} mostrando potencial para serem utilizadas em programas de fitorremediação. Já as plantas de estilosante apresentam restrições como planta remediadora, devido à baixa produção de matéria seca. Os elevados conteúdos de arsênio nas raízes de azevém e aveia e os maiores conteúdos na parte aérea das plantas de estilosante sugerem a atuação de mecanismo diferenciado de acumulação a fim de reduzir e/ou aumentar a translocação do metalóide aos tecidos metabolicamente mais ativos da parte aérea.

Palavras chave: Fitorremediação, Arsenato, *Stylosanthes humilis, Arachis pintoi, Avena sativa, Lolium multiflorum*

ABSTRACT

Decontamination of arsenic contaminated soils and substrates by phytoremediation have had more interest by environmental researches and technicians. However, a few numbers of species have been related, manly in Brazil, with capacity to accumulate arsenic. This study aimed to evaluate the potential of Townsville stylo (*Stylosanthes humilis*), forage peanuts (*Arachis pintoi*), oat (*Avena strigosa* Schreb), and ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) to phytoremediation of arsenic-contaminated soils. Samples of Red Yellowish Latossol were incubated with different doses of arsenate (0; 50; 100 and 200 mg dm^{-3}) resulting in a readiness of 0,0; 12,9; 26,8 and 58,7 mg dm^{-3}, after the incubation time the species were seed, and after germination the soil were fertilized. Sixty five days after seeding, plants were evaluated to height, diameter and root and shoot biomass. Arsenic content in young, intermediated, and old leaves, steam and roots, and As-translocation index (IT) were determined. By regression analysis we estimated the values of soil critical available arsenic (TC) that reduced 50% of biomass production. The species showed different behavior in relation to As-tolerance, with emphasis azevém, Forage peanuts and Townsville stylo that did not show As-toxic morphologic symptoms. Oat and ryegrass showed high values of TC. Forage peanuts and Townsville stylo plants presented more absorption and shoot translocation of arsenic, but forage peanuts showed more potential to phytoremediation programs, due the low biomass production of Townsville stylo. The high As-contents for the roots of azevém and oat and for Townsville stylo shoot suggests the being of different accumulation and translocation mechanisms to shoots tissues.

Key words: phytoremediation, arsenate, *Stylosanthes humilis*, *Arachis pintoi*, *Avena sativa*, *Lolium multiflorum*

INTRODUÇÃO

A degradação ambiental é provocada principalmente por ações antrópicas e processos geoquímicos, esta têm exercido forte pressão sobre a qualidade dos ecossistemas. Diferentes ações têm resultado no aumento direto e indireto da concentração de diferentes contaminantes, inclusive As em cursos d'água e em solos, excedendo o limite permitido pela legislação ambiental. Um dos principais objetivos iniciais do uso de plantas forrageiras em áreas degradadas é a cobertura do solo a fim de reduzir os processos erosivos e aumentar a entrada de nutrientes no sistema, principalmente o nitrogênio pelas leguminosas forrageiras. Assim, uma variável importante a ser considerada é a habilidade

dessas plantas em cobrir o solo rapidamente e melhorar a fertilidade do solo (Barradas et al., 2001).

A revegetação em àreas degradadas com elevados teores de As, tem se mostrado muito difícil pelo desconhecimento de espécies tolerantes, ou mesmo fitorremediadoras deste elemento. A seleção de plantas forrageiras tolerantes ao As para revegetação de solos e substratos contaminados, tem papel fundamental no processo inicial de recuperação ambiental.

O arsênio, mesmo não sendo um elemento essencial é absorvido pelas plantas e em altas concentrações pode interferir em processos metabólicos, inibindo o crescimento da vegetação, podendo levá-la à morte. O acúmulo de arsênio em tecidos vegetais varia com a sua disponibilidade e com o metabolismo da planta, que está diretamente relacionado a mecanismos de tolerância (Marin et al., 1993).

Estudos sobre a viabilidade de espécies arbóreas para a reabilitação de áreas contaminadas por substâncias tóxicas, entre estas o As, têm merecido destaque devido à maior imobilização destes elementos na matéria seca vegetal por períodos mais longos (Eltrop et al., 1991). No entanto, existem evidências de que as plantas herbáceas possuem maior tolerância ao excesso de metais no solo do que as arbóreas (Baker, 1987).

Estudos com esse enfoque são raros nas condições brasileiras, onde a contaminação do solo e a existência de áreas degradadas pelo excesso de metais são cada vez mais numerosas. Portanto, o conhecimento do comportamento de espécies herbáceas forrageiras com potenciais para fitorremediação dessas áreas se reveste da maior importância.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de quatro espécies herbáceas forrageiras como fitorremediadoras de áreas contaminadas por arsênio.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras subsuperficiais de Latossolo Vermelho Amarelo (LVA) (Tabela 1) coletada na região de João Pinheiro-MG, foram destorroadas, peneiradas (4 mm) e incubadas por 15 dias com As (arsenato de sódio) nas concentrações de 0; 50; 100 e 200 mg dm^{-3}, na forma de Na_2HAsO_4. A realização de testes preliminares nessas amostras resultaram em disponibilidade de 12,80; 26,80 e 58,70 mg dm^{-3} respectivamente, de As pelo extrator Mehlich 3.

Quanto ao uso do arsenato de sódio como fonte de As, testes preliminares foram realizados para verificar o efeito do sódio sobre algumas espécies vegetais, conforme descrito no capítulo 1.

Tabela 1. Características químicas e físicas da amostra de LVA utilizada na condução do experimento

pH H_20	P-rem	As-rem	P[1/]	K[1/]	Ca^{2+} [4/]	Mg^{2+} [4/]	Al^{3+} [4/]	H+Al [5/]	M.O
	…. mg L^{-1}..…		……mg dm^{-3}…..		.....$cmol_c dm^{-3}$.....				dag kg^{-1}
5,2	26,29	27,82	1,10	25	0,00	0,00	1,32	4,50	2,01

Areia grossa[6/]	Areia fina[6/]	Silte[6/]	Argila [6/]	Dens. Aparente [7/]	Classe textural	Equiv. Umidade[7/]
.....%.....						kg kg^{-1}
40	17	2	41	1,29	Argilo-arenoso	0,13

1/ Extrator Mehlich I (Mehlich, 1978); 4/ Extrator KCl mol/L; 5/ CTC a pH 7,0 extraída com acetato de cálcio 1 ml L^{-1}; 6/ Método da pipeta (EMBRAPA, 1997); 7/ EMBRAPA (1997); LVA - Latossolo Vermelho e Amarelo; P-rem – Fósforo remanescente e As-Rem- arsênio remanescente do solo, conforme Alvarez et al. (2001) e Ribeiro Jr (2002), respectivamente.

Após o período de incubação, amostras de 1,39 dm^3 de solo foram acondicionadas em vasos plásticos e semeadas (sementes pré-germinadas) as espécies de estilosante - *(Stylosanthes humilis* HBK*)*, amendoim forrageiro (*Arachis pintoi* Krapov. & Gregory), azevém (*Lolium multifloru. L.)* e aveia forrageira (*Avena sativa* L.). Oito dias após a emergência foi realizado o desbaste mantendo-se três plantas por vaso para amendoim e estilosante, e 20 plantas por vaso para azevém e aveia. A fim de garantir o adequado suprimento de N às plantas e por não se conhecer o efeito do arsênio sobre as estirpes de rizóbio, optou-se, neste estudo, pela não inoculação das sementes com bactérias fixadoras de N_2 atmosférico.

A adubação com macronutrientes foi realizada aos nove dias após a emergência, na forma de soluções, contendo 60 mg dm^{-3} de N (fosfato de amônio e nitrato de amônio), 100 mg dm^{-3} de P (fosfato de amônio, de cálcio e de potássio), 100 mg dm^{-3} de K (fosfato de potássio) e 50 mg dm^{-3} de Mg (sulfato de magnésio). A adubação nitrogenada foi realizada em duas etapas; aos nove e 35 dias após emergência, para todas as espécies.

As adubações com micronutrientes foram realizadas na forma de soluções, as quais foram parceladas eqüitativamente em quatro aplicações (15, 30, 45 e 60 dias após a emergência), nas doses totais de 0,81; 3,66, 4,00; 1,33; 0,15 e 1,56 mg dm^{-3} de B, Mn, Zn, Cu, Mo e Fe, respectivamente (Alvarez, 1974).

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, num delineamento em blocos casualizados com três repetições. Durante o período experimental, as temperaturas variaram de 20,4 a 31,3 ^{o}C e a média mensal da umidade relativa variou de 69,0 a 49,8 %.

Aos 65 dias após a semeadura foram determinados à altura e diâmetro do colo e logo após realizou-se a coleta das plantas, cortando-as ao nível do solo. As plantas foram divididas m folhas jovens (FJ), folhas intermediárias (FI), folhas basais (FB), caule (C), pecíolo (P), flores (F) e raízes (R). Para a separação dos diferentes tipos de folhas, consideraram-se folhas jovens as folhas tenras, não expandidas completamente mais os brotos, já as folhas basais aquelas maduras e em estágio de senescência (amareladas) e folhas intermediarias as demais. As raízes das plantas foram lavadas com água de torneira até a retirada completa do solo, e após esse procedimento permaneceu por aproximadamente 1 minuto em solução a 0,1 mol L^{-1} de HCl, seguida de vários enxágüe com água deionizada. Para determinação do peso da matéria seca, as diferentes partes da planta foram secas em estufas de circulação forçada de ar, a 60-70 °C, até peso constante (aproximadamente 72 h).

Para determinar a concentração de As nas diferentes partes das plantas, amostras de 1,00 g de material seco e finamente triturado foram submetidas à digestão nítrico-perclórica 3:1 (Tedesco et al., 1995). As amostras foram levadas para bloco digestor controlando a temperatura: inicialmente de 50 ºC, por aproximadamente 30 minutos; 100 ºC, por mais 30 minutos e finalmente entre 160 a 180 ºC até completar a digestão. A dosagem dos teores de arsênio nos extratos de plantas e As disponível no solo (Mehlich 3) foram realizadas por espectrometria de emissão atômica, com plasma induzido em argônio (ICP/AES). Foi utilizado um padrão de referência de As (capacidade de 94 % de recuperação do As), GBW07603 composto por ramos e folhas de arbustos cultivadas em áreas de mineração de zinco e chumbo na China, adquirida do Institute of Geophysical and Geochemical Exploration-Langtang-China.

Em função da quantidade acumulada de As nos diferentes compartimentos das plantas, as espécies foram classificadas quanto ao caráter de tolerância ou de acumulação de As. Por meio de análise de regressão, considerando-se a matéria seca da parte aérea produzida em função das doses de As aplicadas, foram estipuladas as doses de As que proporcionaram a redução de 50 % de matéria seca produzida pela planta-controle.

Através da análise de regressão dos teores de As disponíveis no solo, em função das doses de As aplicadas, foi estimado o teor de As disponível no solo que proporcionou a redução de 50 % da matéria seca produzida (TC).

Os conteúdos de As nas raízes, na parte aérea e o total foram calculados com base nos teores e nas produções de matéria seca. Por meio da quantidade acumulada, calculou-se o índice de translocação do As, de acordo com Abichequer e Bohnen (1998), pela seguinte equação:

IT (%) = Quantidade de As acumulada na

As doses de arsênio aplicadas ao solo resultaram em comportamento diferenciado entre as espécies (Figura 3). As plantas de aveia, amendoim e estilosante tiveram a produção de matéria seca severamente afetada, porém sem lesões foliares, quando submetidas à dose de 200 mg dm^{-3}, com redução da ordem de 76 %, 73 % e 65 %, respectivamente (Figura 2), em relação às plantas controle. As plantas de azevém tiveram maior tolerância ao As, sendo menos influenciadas que as demais, com reduções na ordem de 17 % e 38 % nas doses de 100 e 200 mg dm^{-3} para parte aérea de 13 % e 15 % para o sistema radicular, respectivamente, em relação às plantas controle. No entanto, na dose de 100 mg dm^{-3}, as plantas de aveia, amendoim e estilosante demonstraram relativa tolerância com reduções na ordem de 10 %, 42 % e 51 %, respectivamente.

A produção de matéria seca radicular das plantas de aveia, amendoim e estilosante também foi afetada pelas doses crescentes de As, com severa redução principalmente na dose de 200 mg dm^{-3} (Figura 2). O impacto que o As exerce na produção de raízes depende da sensibilidade da planta e da intensidade da contaminação, sendo consideradas espécies tolerantes aquelas que apresentam maior produção de raízes em solos contaminados (Punz & Sieghardt, 1993), como evidenciado nas plantas de *Pffafia* sp. A produção de raízes é uma característica importante para a fitoestabilização de áreas contaminadas com As, que além de proteger o solo contra a erosão, reduz a lixiviação, favorece a agregação e a atividade microbiana do solo. Outro aspecto importante na fitoestabilização é o papel da matéria orgânica, sendo esta responsável por redução de até 86 % na disponibilidade de As no ambiente (Cao & Ma, 2004).

Houve efeito significativo de doses para altura de plantas ($p \leq 0,01$). A análise de regressão resultou no ajuste de modelos de resposta raiz quadrada, quadrático e linear (Figura 4). Entre as espécies estudadas a aveia teve a altura mais afetada, com redução de até 45 %, seguida do estilosante (33 %), azevém (29 %) e amendoim (25 %) em relação à planta controle.

Estilosante e amendoim apresentaram certa tolerância, pois mesmo com redução na altura e matéria seca da parte aérea e raízes, não apresentaram lesões foliares durante o período experimental. Deve-se levar em consideração que, ao final do experimento (65 dias), as plantas já estavam emitindo botões florais, indicando que possívelmente completariam o ciclo reprodutivo.

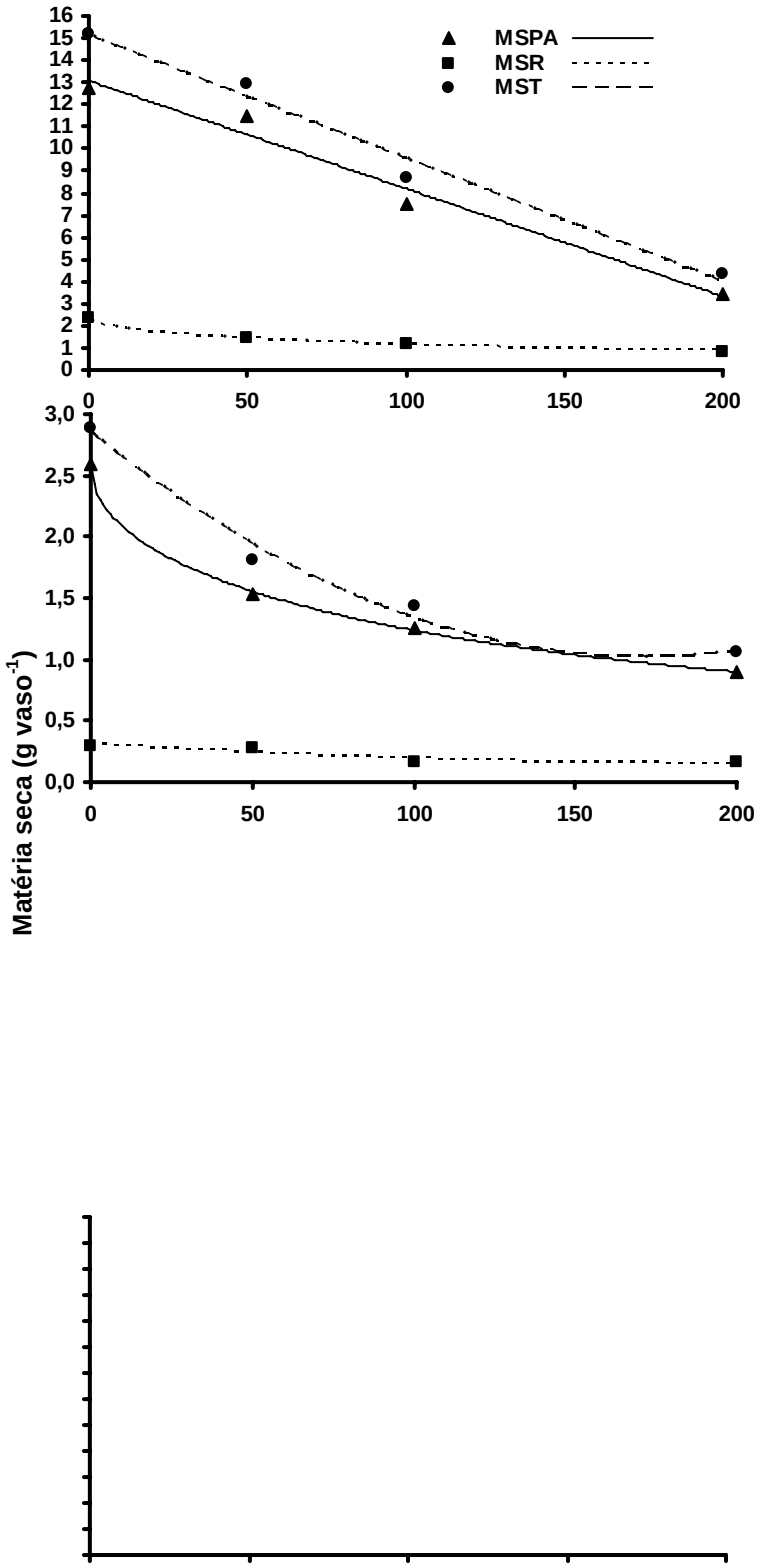


Figura 2. Matéria seca de raízes (MSR), parte aérea (MSPA) e total (MST) à esquerda, e altura à direita, de amendoim (1), estilosante (2), azevém (3) e aveia (4) submetidas a diferentes doses de arsênio. **, * e ^{ns} efeitos significativo de doses a 1% e 5% de probabilidade e não significativos, respectivamente.

De modo geral, as doses crescentes de As contribuíram para reduzir o crescimento das plantas das diferentes espécies estudadas (Figura 3).

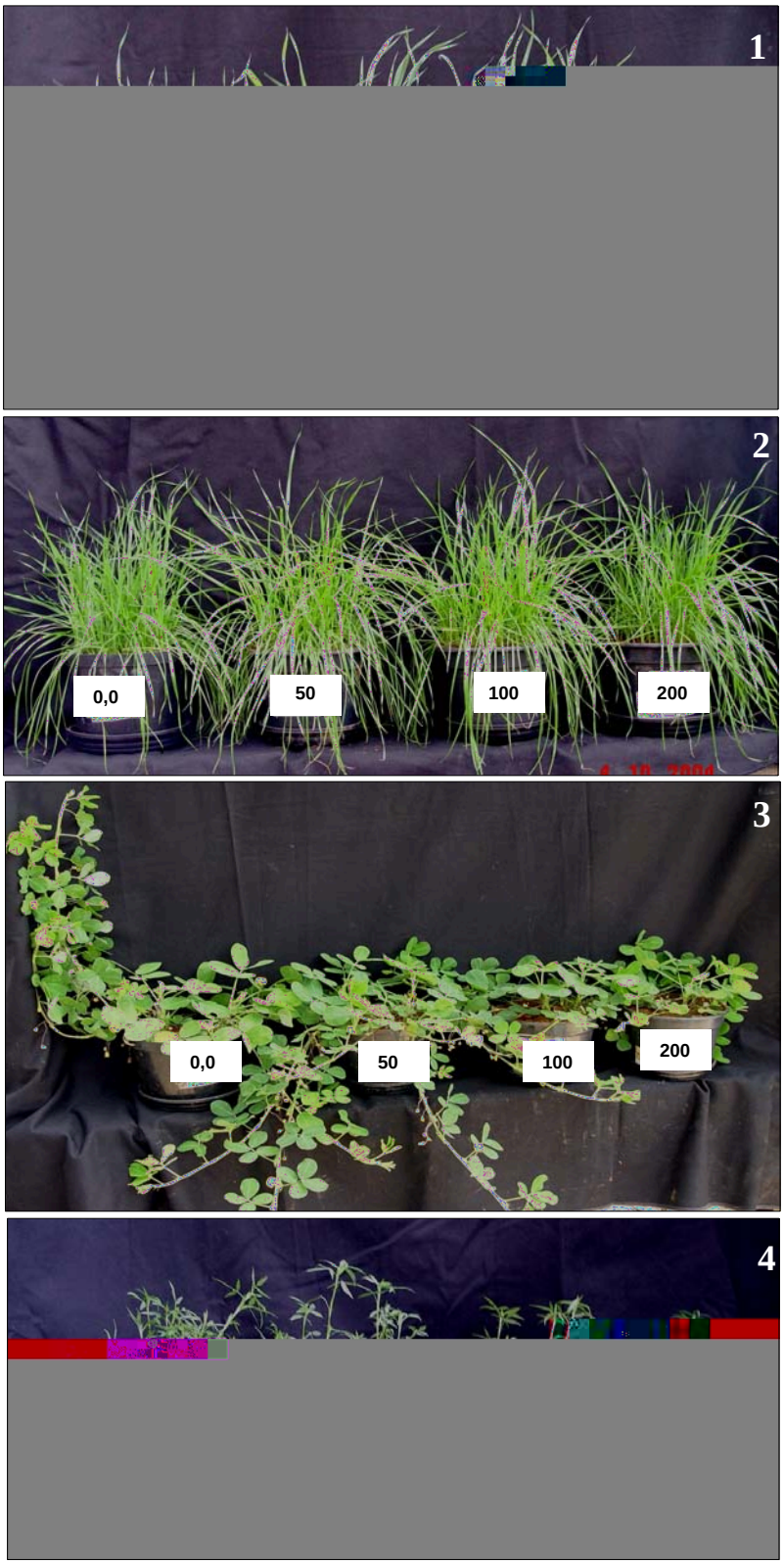


Figura 3. Plantas de aveia (1), azevém (2) amendoim (3) e estilosante (4) submetidas às doses crescentes de arsênio (0, 50, 100 e 200 mg dm^{-3}), aos 65 dias após a semeadura.

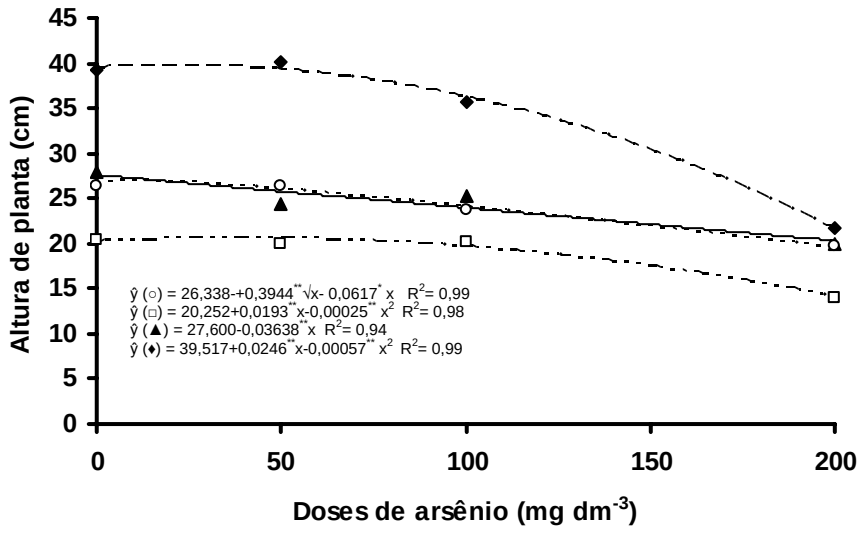


Figura 4. Altura de plantas de aveia (---♦), azevém (__▲), amendoim (.... ○) e estilosante (_ _□) submetidas a diferentes doses de As no solo. ** e * efeito significativo a 1 % e 5 % de probabilidade, respectivamente pelo teste F.

Teores e conteúdos de arsênio nos diferentes compartimentos das plantas

O aumento das doses de As no solo resultou no aumento significativo ($p \leq 0,01$) dos teores de As nas diferentes partes das plantas de todas as espécies estudadas (Tabelas 2 e 3). As diferentes folhas das plantas de aveia, azevém e amendoim apresentaram teores elevados de As, quando comparados com a faixa considerada normal em plantas (0,1-5,0 mg kg^{-1}). Na dose de 50 mg dm^{-3} os teores variaram de 5,14 a 68,70 mg kg^{-1} de As. Os teores de As nos compartimentos aéreos das plantas de amendoim foram inferiores quando comparado com as demais espécies.

De modo geral, os teores de As na parte aérea obedeceram ao sentido acrópeto com os maiores teores nas FB seguida de FI, FJ e C. Esse comportamento tem sido constatado por Tu & Ma (2003) em estudos com *Pteris vittata*. Diante das inúmeras comprovações citadas na literatura que o As e P são análogos quimicamente no solo, estes, na planta, tem comportamento diferenciado. A distribuição do As na planta se dá no sentido inverso ao do P. Sabe-se que o P é bastante móvel sendo redistribuído com facilidade dos tecidos mais velhos para os mais novos. Devido a fácil redistribuição do P na planta, os sintomas de deficiência aparecem primeiramente nas folhas mais velhas. Os maiores teores de As nas espécies estudadas foram encontrados no sistema radicular, os quais aumentaram proporcionalmente com o aumento das doses de As no solo.

Os maiores teores de As no sistema radicular foram encontrados na dose de 200 mg dm^{-3}, com valores de até 111 (aveia); 67 (azevém); 62 (amendoim) e 56 (estilosante) vezes

superiores ao limite considerado para plantas normais por Wauchope, (1983). As plantas de azevém apresentaram teores superiores aos encontrados nas plantas de aveia em todos os compartimentos da parte aérea; no entanto, as plantas de aveia chegaram a apresentar teores no sistema radicular na dose de 200 mg dm^{-3}, 33 % superior aos encontrados nas plantas de azevém. Esse comportamento permite evidenciar a elevada tolerância apresentada pelas plantas de azevém. Que mesmo apresentando teores superiores ao considerado normal na parte aérea, não manifestaram sintomas de toxidez visíveis, como lesões foliares, durante o período experimental.

Tabela 2. Teores de arsênio em folhas jovens (FJ), folhas intermediarias (FI), folhas basais (FB), caule (C), e nas raízes (R) em plantas de aveia, azevém, amendoim e estilosante em resposta a diferentes doses de arsênio aplicadas ao solo

ESPÉCIES	DOSES	Fj	FI	FB	C	R
	mg dm^{-3}	.....mg kg^{-1}.....				
Aveia	0	*	*	*	*	*
	50	5,14	8,37	13,27	3,14	258,51
	100	7,16	12,98	14,31	4,05	325,91
	200	9,06	16,75	45,33	8,90	557,14
	CV (%)	9,37	9,28	14,69	15,19	6,27
Azevém	0	*	*	*	*	*
	50	7,67	12,77	14,35	1,73	184,46
	100	12,42	20,54	36,07	2,86	316,90
	200	16,76	31,37	68,71	7,46	372,78
	CV (%)	13,25	11,30	12,72	8,31	6,35
Amendoim	0	*	*	*	*	*
	50	1,45	2,40	4,02	1,03	58,91
	100	1,67	2,87	3,76	6,52	114,14
	200	2,25	7,58	23,82	8,13	308,47
	CV (%)	9,76	12,80	5,84	10,40	2,58
Estilosante	0	*	*	*	*	*
	50	6,86	7,10	7,49	6,05	57,38
	100	10,35	9,08	8,42	8,52	116,67
	200	15,86	16,32	18,30	37,09	278,29
	CV (%)	2,26	1,70	2,03	0,89	1,16

* Concentrações abaixo do limite de detecção pelo método de dosagem (ICP/AES)

Todas as espécies estudadas emitiram botões florais na fase final do experimento (65 dias após a semeadura). Entre essas, foi possível coletar as panículas em quantidade suficiente para realização das análises, apenas nas plantas de aveia. De acordo com os resultados, foi possível constatar teores de As, superiores aos teores considerados normais em plantas (0,1 a 5,0 mg kg) na dose de 200 mg dm^{-3} nas flores de aveia (Figura 5). Teores elevados de As na parte aérea em plantas forrageiras, despertam certa preocupação quando

se pensa em pastagem natural, crescendo em áreas contaminadas, devido à possibilidade deste entrar na cadeia trófica.

Tabela 3. Equações de regressão dos teores [1)] de As em folhas jovens (FJ), intermediárias (FI), basais (FB), caule (C) e raízes (R), conteúdo de As na parte aérea (CAsPA), raízes (CAsR) e total na planta (CAsT) e As disponível no solo após a coleta das plantas (AsDisp) em plantas de aveia, azevém, estilosante e amendoim em resposta a diferentes doses de arsênio (x)

ESPÉCIES	COMPARTIMENTOS	EQUAÇÃO DE REGRESSÃO	R^2
AVEIA	FJ[1)]	$\hat{y} = 0{,}196+0{,}1032^{**}x-0{,}000296^{**}x^2$	0,98
	FI[1)]	$\hat{y} = 0{,}158+0{,}18011^{**}x-0{,}00049^{**}x^2$	0,99
	FB[1)]	$\hat{y} = -0{,}070+0{,}2184x^{**}$	0,94
	C[1)]	$\hat{y} = 0{,}285+0{,}0427x^{**}$	0,98
	R[1)]	$\hat{y} = 57{,}157+2{,}684x^{**}$	0,94
	CAsPA[2)]	$\hat{y} = 0{,}0080+0{,}0069^{**}x-0{,}000030^{**}x^2$	0,98
	CasR[2)]	$\hat{y} = 0{,}034+0{,}01508^{**}x-0{,}000053^{**}x^2$	0,98
	CasT[2)]	$\hat{y} = 0{,}042+0{,}0219^{**}x-0{,}000082^{**}x^2$	0,98
	AsDisp[3)]	$\hat{y} = -2{,}741+0{,}2595x^{**}$	0,96
AZEVÉM	FJ	$\hat{y} = 0{,}098+0{,}1672^{**}x-0{,}0042^{**}x^2$	0,99
	FI	$\hat{y} = 0{,}281+0{,}2615x^{**}-0{,}00053^{**}x^2$	0,99
	FB	$\hat{y} = -0{,}788+0{,}3494x^{**}$	0,99
	C	$\hat{y} = 0{,}114+0{,}02298^{**}x+0{,}000068^{**}x^2$	0,98
	R	$\hat{y} = -1{,}443+4{,}4355^{**}x-0{,}01281^{**}x^2$	0,99
	CAsPA	$\hat{y} = -0{,}0093+0{,}0065^{**}x-0{,}000016^{**}x^2$	0,99
	CAsR	$\hat{y} = 0{,}009+0{,}01508^{**}x-0{,}000046x^{2**}$	0,99
	CAsT	$\hat{y} = -0{,}001+0{,}2155^{**}x-0{,}00006^{**}x^2$	0,99
	AsDisp	$\hat{y} = 0{,}661+0{,}0242^{**}x+0{,}001310^{**}x^2$	0,99
ESTILOSANTE	FJ	$\hat{y} = 0{,}576+0{,}1015^{**}x-0{,}00013^{**}x^2$	0,96
	FI	$\hat{y} = 0{,}508+0{,}1136^{**}x-0{,}00018^{**}x^2$	0,97
	FB	$\hat{y} = 0{,}441+0{,}1272^{**}x-0{,}000193^{**}x^2$	0,98
	C	$\hat{y} = 0{,}936+0{,}00999^{**}x +0{,}00085^{**}x^2$	0,98
	R	$\hat{y} = -9{,}371+1{,}3995^{**}x$	0,99
	CAsPA	$\hat{y} = 0{,}001+0{,}0030120^{**}\sqrt{x}+,000093^{**}x$	0,97
	CAsR	$\hat{y} = 0{,}002+0{,}0000209^{**}x$	0,97
	CAsT	$\hat{y} = 0{,}008+0{,}00050x^{**}$	0,95
	AsDisp	$\hat{y} = -5{,}296+0{,}2966^{**}x$	0,96
AMENDOIM	FJ	$\hat{y} = 0{,}011+0{,}2267^{**}\sqrt{x}-0{,}00499^{**}x$	0,99
	FI	$\hat{y} = 0{,}0161+0{,}0365^{**}x$	0,96
	FB	$\hat{y} = 0{,}912-0{,}01966^{**}x+0{,}00066^{**}x^2$	0,97
	C	$\hat{y} = -0{,}619+0{,}07314^{**}x-0{,}00014x^{2**}$	0,90
	R	$\hat{y} = -15{,}302+1{,}5507^{**}x$	0,98
	CAsPA	$\hat{y} = 0{,}001+0{,}0165^{**}\sqrt{x} -0{,}00046^{**}x$	0,98
	CAsR	$\hat{y} = 0{,}008+0{,}00128^{**}x$	0,99
	CAsT	$\hat{y} = 0{,}042+0{,}0019^{**}x$	0,95
	AsDisp	$\hat{y} = -2{,}277+0{,}1972^{**}x$	0,97

** e * significativo a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.
1) Teores de arsênio (mg kg^{-1})
2) Conteúdos de As (mg $vaso^{-1}$)
3) As disponível Mehlich 3 após a coleta do experimento

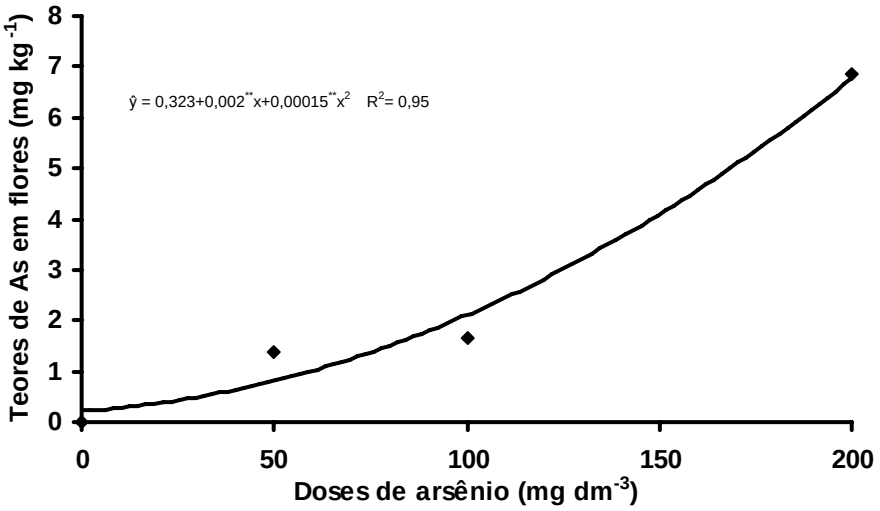


Figura 5. Teores de As em flores de plantas de aveia submetidas a diferentes doses de As no solo. ** efeito significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F.

A contaminação do solo por As exerceu grande influência sobre o acúmulo de As nos tecidos das espécies (Tabela 5), principalmente por causa do incremento dos teores de As observados nos tecidos das plantas. O acúmulo total de As nas espécies variou de 0,048 a 1,85 mg vaso^{-1} indicando comportamento muito diferenciado entre essas espécies. A maioria das espécies apresentou maior quantidade relativa de As nas raízes, destacando-se as espécies aveia e azevém com valores 0,95 e 1,21 mg vaso^{-1}, enquanto, estilosante apresentou maior quantidade relativa desse elemento na parte aérea. Porém, devido à baixa produção de matéria seca dessa espécie os valores de conteúdos foram baixos.

Os resultados sugerem que as plantas de estilosante apresentaram alta capacidade de translocação do As absorvido, o que possivelmente contribuiu para redução das variáveis de crescimento, já que estes foram influenciados negativamente pelas doses de As aplicadas, em especial na dose de 200 mg dm^{-3} (Tabela 4). Por outro lado, levando-se em consideração a ausência de lesões foliares durante o período experimental, essa espécie demonstrou certa tolerância ao As. Desse modo, seriam necessários estudos, principalmente, em condições de campo para observar o limite e o potencial dessa espécie como planta indicadora e/ou fitorremediadora, já que plantas indicadoras refletem a contaminação local nos tecidos da planta (Accioly & Siqueira 2000).

Tabela 4. Conteúdo de arsênio na parte aérea (PA), raízes (R), total (T) e arsênio disponível no solo após a coleta das plantas (AsDisp) em plantas de aveia, azevém, estilosante e amendoim em resposta a diferentes doses de arsênio

ESPÉCIES	DOSES	PA	R	T	AsDisp
	mg dm^{-3}	.....	mg $vaso^{-1}$	.....	mg dm^{-3}
Aveia	0	*	*	*	*
	50	0,29	0,61	0,90	4,04
	100	0,37	0,95	1,32	27,03
	200	0,20	0,95	1,15	48,81
	CV (%)	12,36	9,77	9,21	10,25
Azevém	0	*	*	*	*
	50	0,25	0,67	0,92	6,58
	100	0,50	1,04	1,54	14,19
	200	0,65	1,21	1,85	56,45
	CV(%)	13,19	7,91	7,07	23,47
Amendoim	0	*	*	*	*
	50	0,10	0,08	0,19	5,41
	100	0,11	0,13	0,25	13,81
	200	0,15	0,26	0,41	38,62
	CV(%)	13,02	5,72	5,72	5,08
Estilosante	0	*	*	*	*
	50	0,03	0,02	0,05	5,69
	100	0,03	0,02	0,05	19,54
	200	0,06	0,05	0,11	57,40
	CV(%)	5,58	8,65	4,02	3,40

* Concentrações abaixo do limite de detecção pelo método de dosagem (ICP/AES)

De modo geral, o acúmulo preferencial na parte aérea, bem como, no sistema radicular observadas nas espécies estudadas, podem contribuir para a imobilização do elemento na vegetação, tornando essas espécies promissoras para programas de fitorremediação, desde que essas tolerem as condições de contaminação local. Nesse sentido, são necessários estudos para conhecer o limite máximo de contaminação por As, já que estas apresentaram elevada tolerância, adaptando-se sob condições de estresse. Espécies com essas características podem facilitar o processo de imobilização do As, evitando assim, seu transporte para os componentes do ecossistema, tendo-se em vista que os metais ligam-se facilmente aos compostos orgânicos e formam complexos mais estáveis e menos tóxicos ao ambiente (Chen & Ma, 2001; Accioly & Siqueira 2000).

Quanto ao As disponível no solo, após a coleta das plantas (Mehlich 3), houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) nos teores em todas as espécies estudadas (Tabela 3). Porém, está variação nos teores disponível pode estar relacionada à aplicação de fertilizantes

fosfatados no solo, e à possível liberação de ácidos orgânicos pelo próprio sistema radicular, e/ou outros mecanismos ainda desconhecidos, já que o acúmulo de arsênio não foi proporcional ao desenvolvimento do sistema radicular. Isto foi observado nas plantas de azevém que teve seu sistema radicular pouco influenciado pelas doses de As, quando comparadas às plantas de aveia que apresentaram maior absorção. Estes valores encontram-se significativamente superiores ao valor de referencia de qualidade para solos do Estado de São Paulo que é de 3,50 mg kg^{-1} de As total (CETESB, 2005), determinado pelo método da USEPA 3050b ou 3051.

Os resultados obtidos não corroboram os obtidos por Gonzaga et al., (2005), os quais afirmam que a maior capacidade de absorção e acúmulo de As pelas plantas acumuladoras e não acumuladoras, deve-se ao volume de sistema radicular produzido. A espécie hiperacumuladora de arsênio "Chinese brake fern" (*Pteris vitatta*) apresentou volume de sistema radicular quatro vezes superior ao de *Nephrolepis exaltata* L. (não acumuladora de As) e acumulou 29 vezes mais As que essa (Gonzaga et al., 2005). Foi constatado por Cao & Ma, (2004), que a adição de fósforo no solo aumentou o acúmulo de As de 4,56 a 9,30 vezes em plantas de cenoura e 2,45 a 10,10 vezes em plantas de alface. Isso acontece devido ao aumento da disponibilidade do As pela troca do arsenato por fosfato, nos sítios de adsorção do solo.

Índice de translocação e teores críticos de arsênio no solo

O índice de translocação de As foi diferenciado em todas as espécies estudadas, com efeitos de doses altamente significativo ($p \leq 0,01$), ajustando-se modelos raiz quadrada e quadrático (Tabela 3). A translocação de As foi maior nas plantas de estilosante e de amendoim, com maiores valores na dose de 50 mg dm^{-3}, com índice de 66 % e 55 % respectivamente. Os menores índices foram constatados nas plantas de aveia, alcançando o maior valor na dose de 50 mg dm^{-3} (32,65%), seguida de decréscimo com o aumento das doses de As no solo. O índice de translocação de As nas plantas de estilosante foi consideravelmente elevado, quando comparada com as demais espécies. Isso pode indicar ausência de um mecanismo adicional de proteção, ocasionando maior impacto da contaminação no desenvolvimento das plantas, em relação às espécies que apresentaram maior acúmulo nas raízes.

Nas plantas de azevém, os índices de translocação foram crescentes com o aumento das doses, atingindo um índice de 35 % na dose de 200 mg dm^{-3} (Figura 6). O maior

acúmulo de As no sistema radicular, pode indicar a baixa capacidade de controle na absorção do metalóide e/ou maior eficiência de controle na translocação, evitando que o As chegue aos tecidos metabolicamente mais ativos da parte aérea. Este mecanismo pode estar relacionado à síntese de fitoquelatinas que tem papel fundamental na desintoxicação de arsênio em plantas (Sneller et al., 1999; Pickeren et al., 2000; Schmöger et al., 2000; Meharg & Hartley-Whitaker, 2002).

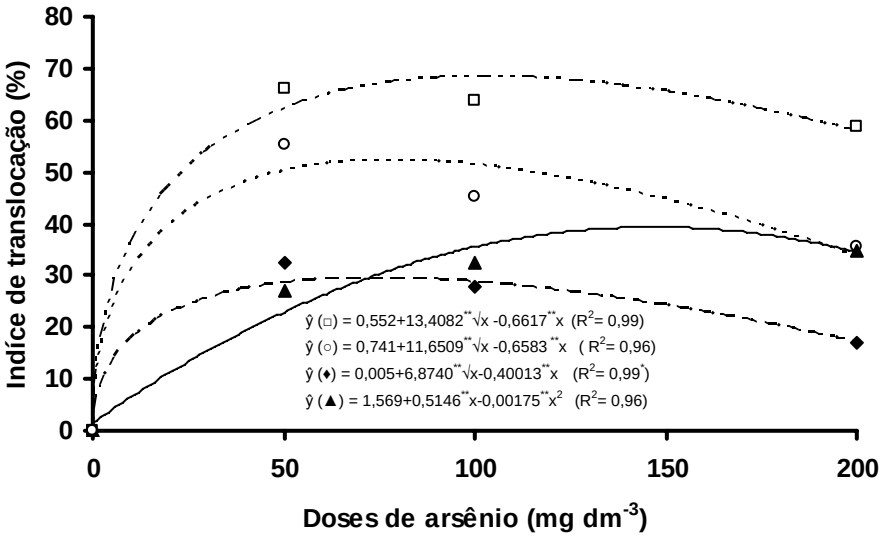


Figura 6. Índice de translocação de arsênio em plantas de aveia (---♦), azevém (__▲), amendoim (....○) e estilosante (__ _ _□) em solos com diferentes doses de As. ** efeito significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F.

As plantas de aveia e azevém apresentaram baixa translocação de As quando comparada com as leguminosas, o que pode estar relacionada a mecanismo de controle interno, evitando que o As seja translocado para os tecidos metabolicamente ativos, da parte aérea. Poucos são os estudos relacionados com a influência da contaminação de As sobre o índice de translocação deste em plantas herbáceas. Nesse sentido, são necessários esforços para conhecer as conseqüências da contaminação por As, não só em termos de sobrevivência das plantas, mas quanto aos seus efeitos sobre a translocação.

O teor crítico de As disponível no solo para reduzir 50 % da produção de matéria seca ($TC_{50\%}$), foi diferenciado em todas as espécies estudadas. (Tabela 5). Para as plantas de azevém o $TC_{50\%}$ para redução da matéria seca da parte aérea foi superiores às demais espécies, mostrando assim, elevada tolerância dessa espécie ao As, o que é comprovada pela menor influência das doses de As na produção de matéria seca. Ao contrário, das plantas de aveia que requerem maior $TC_{50\%}$ para redução da matéria seca radicular, sendo

necessário um teor no solo de 62,83 mg dm^{-3}, chegando a ser 20,5 % superior ao $TC_{50\%}$ para redução da parte aérea (Tabela 5).

Quanto aos $TC_{50\%}$ para redução da matéria seca nas plantas de amendoim e estilosante, foi possível constatar que as plantas de amendoim teriam sua produção de matéria seca radicular reduzida, com um $TC_{50\%}$ relativamente baixo, mostrando maior sensibilidade no desenvolvimento do sistema radicular do que na parte aérea. Resultados opostos foram encontrados nas plantas de estilosante, requerendo um $TC_{50\%}$ para redução da matéria seca radicular de 57 % superior ao encontrados para redução da matéria seca da parte aérea (Tabela 5). O que evidencia que as plantas de estilosante apresentam certa sensibilidade quando submetidas a doses elevadas de As, no que se refere à produção de matéria seca da parte aérea.

Tabela 5. Teores críticos de arsênio disponível (Mehlich 3) no solo necessário para reduzir em 50 % a produção de matéria seca de raízes e parte aérea de aveia, azevém, amendoim e estilosante cultivadas em amostras de um LVA de João Pinheiro, MG

TEOR CRÍTICO NO SOLO	Aveia	Azevém	Amendoim	Estilosante
	---------- mg dm^{-3} ----------			
[1]$TC_{50\%\ raiz}$	62,83	57,48	21,62	57,84
$TC_{50\%\ parte\ aérea}$	49,96	79,80	39,47	25,02

[1)] TC-Teor crítico de As no solo para reduzir em 50% a produção de matéria seca

CONCLUSÕES

Os teores de arsênio nas raízes de todas as espécies foram bastante elevados, sugerindo um eficiente mecanismo de compartimentalização, em especial nas plantas de azevém, amendoim e estilosante, a fim de reduzir a translocação do metalóide aos tecidos jovens da parte aérea.

As plantas de azevém e amendoim mostram bom potencial para programas de fitoestabilização do As. Estas não apresentaram lesões foliares por toxidez ao As mesmo com teores acima do considerado em planta normal, na parte aérea.

A maior sensibilidade da aveia a elevadas concentrações de As disponível no solo (28,7 mg dm^{-3}) sugere que essa espécie possa ser utilizada como planta bioindicadora de As; no entanto, quando a concentração de As for inferior, esta se apresenta tolerante com significativo acúmulo, tanto no sistema radicular quanto na parte aérea.

LITERATURA CITADA

ABICHEQUER, A.D.; BOHNEN, H. Eficiência de absorção, translocação e utilização de fósforo por variedades de trigo. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 22:21-26, 1998.

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V.; V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. Tópicos em ciência do solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 299-352 p, 2000.

ADRIANO, D.C. Trace Elements in the Terrestrial Environment. New York: Springer, 2001. 867p.

ALVAREZ V., H.V. Equilíbrio de formas disponíveis de fósforo e enxofre em dois latossolos de Minas Gerais. Viçosa, MG, 1974. 125p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Curso de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas, Universidade Federal de Viçosa, 1974.

ALVAREZ V., V. H.; Dias, L.E. Ribeiro Jr., E.S.; Souza, R.B.; Fonseca, C.A. Métodos de análises de enxofre em solos e plantas. Editora UFV. Univer. Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2001, 13p.

BAKER, A. J. M.; McGRATH, S. P.; SODOLI, C. M. D.; REEVES, R. D. The possibility of *in situ* heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metalaccumulating plants. Resources, Conservation and Recycling, Amsterdam,11: 41-49, 1994.

BARRADAS, C. A. A; FREIRE, L. R.; ALMEIDA, D.L.; DE-POLLI H. Comportamento de alguns adubos verdes de inverno na Região Serrana Fluminense. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 36: 1461-1468, 2001.

CAO, X & MA L. Q. Effects of compost and phosphate on plant arsenic accumulation from soils near pressure-treated wood. Environ Pollut. Dec; 132:435- 442, 2004.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Avaliação Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo, CETESB, São Paulo, Brasil, 2005.

ELTROP, L.; BROWN, G.; JOACHIM, O.; BRINKMANN, K. Lead tolerance of betula and salix in the mining area of Mechernich/Germany. Plant and Soil, Dordrecht, 131: 279 285, 1991.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solos. 2 ed. rev. e atual. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997. 212p.

GONZAGA, M. I. S., SANTOS, J. A.G. & MA, L. Q. Arsenic in the rhizosphere of *Pteris vittata*L. And *Nephrolepis exaltata* L. Environmental Pollution**,** 1-7. 2005.

LIEBIG G. F. Diagnostic criteria for soils and plants. *In* H. D. Chapman *(ed.)* Quality Printing Co., Inc., Abilene, TX, 13-23 p., 1965.

MARIN, A. R., MASSCHELEYN, P. H.; PATRICK, J. R. W. H.. Soil redox–pH stability of arsenic species and its influence on arsenic uptake by rice. Plant Soil, 152:245-253,1993.

MEHARG, A. A.; HARTLEY-WHITAKER, J. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and non-resistant plant species: Tansley Review. New Phytol, 154: 29-43, 2002.

O'NEILL, P.Arsenic. *In* Heavy Metals in Soils. John Wiley and Sons, NY. 83-99 p., 1990.

PICKERING, I. J.; PRINCE, R. C.; GEORGE, M. J.; SMITH, R. D.; GEORGE, G. N.; SALT, D.E. Reduction and coordination of arsenic in Indian mustard. Plant Physiol., 122:1171-1177, 2000.

PUNZ, W. F.; SIEGHARDT, H. The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals. Environmental and Experimental Botany, Elmsford, 44: 85-98, 1993.

RIBEIRO JR, E.S. Adsorção e dessorção de arsênio em solos e substratos de mineração de ouro e práticas de mitigação de drenagem ácida em colunas de lixiviação. Viçosa, MG: UFV, 117p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, 2002.

SCHMÖGER, M. E. V.; OVEN, M; GRILL, E. Detoxification of arsenic by phytochelatins in plants. Plant Physiol, 122:793-801, 2000.

SNELLER, F.E.C.; VAN HEERWAARDEN, L.M.; KRAAIJEVELD-SMIT, F. J. L.; TEN BOOKUM, W. M.; KOEVOETS, P. L. M.; SCHAT, H.; VERKLEIJ, J. A.C. Toxicity of arsenate in Silene vulgaris, accumulation and degradation of arsenate-induced phytochelatins. New Phytol, 144:223-232, 1999.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. Análise de solo, plantas e outros materiais. Porto Alegre : UFRGS, 1995. 174 p.

TU, C. & MA, L. Q. Effects of arsenate and phosphate on their accumulation by an arsenic-hyperaccumulator Pteris vittata L. Plant Soil, 249:373-382, 2003.

WAUCHOPE. R. D. Uptake, translocation and phytotoxicity of arsenic in plants. Chapt. 25, In: W.H Lederer and RJ Fensterheim (eds.), Arsenic: Industrial, Biomedical, Environmental Perspectives. New york: Van Nostrand Reinhold Co. (I). 348-375p 1983.

WEI, C. Y., CHEN, T. B. Hyperaccumulators and phytoremediation of heavy metal contaminated soils: a review of studies in China and abroad, Acta Ecologica Sinica (in Chinese), 21: 1196, 2000.

WOOLSON, E. A; AXLEY J. H.; KEARNEY P. C. Correlation between available soil arsenic, estimated by six methods, and response of corn (*Zea mays* L.). Soil Sc. Soc. Am. Proc. 35:101-105, 1971.

CAPÍTULO 3

POTENCIAL DE ESPÉCIES ARBUSTIVAS COMO FITORREMEDIADORAS DE SOLO CONTAMINADO POR ARSÊNIO

RESUMO

O arsênio é um metalóide, com características tóxicas e carcinogênicas, encontrado basicamente em todos os ambientes. Elevadas concentrações de arsênio no solo podem ocorrer naturalmente devido ao intemperismo de rochas ricas em arsênio, como também por atividades antrópicas. A fitorremediação é uma das estratégias da remediação que utiliza plantas para descontaminar ou imobilizar contaminantes do solo e tem sido aplicada com sucesso em solos contaminados com arsênio e outros elementos. O presente estudo objetivou avaliar o potencial de feijão guandu, sesbania e leucena, como espécies fitorremediadoras de substratos contaminados com arsênio (As). Amostras de LVA foram incubadas com diferentes doses de As. Após o período de incubação, realizou-se a semeadura, e após a germinação, a adubação do solo. Aos 90 dias após a semeadura as plantas foram avaliadas quanto à altura, diâmetro e matéria seca de folhas jovens, folhas intermediárias, folhas basais, caule, e raízes. Determinaram-se teores, conteúdos e índice de translocação (IT) de As e por meio de análises de regressão foi estimadas as concentrações de As disponíveis no solo que proporcionaram redução de 50% da matéria seca. Leucena e sesbania apresentaram elevada tolerância, enquanto feijão guandu mostrou-se muito sensível à presença de As. Os elevados teores de arsênio nas raízes de sesbania sugerem atuação de eficiente mecanismo de acumulação, a fim de reduzir a translocação do metalóide aos tecidos da parte aérea. O feijão guandu, por ser uma espécie sensível, apresenta potencial para ser utilizada como planta bioindicadora, enquanto as outras duas espécies mostram bom potencial para programas de fitorremediação ou de revegetação de áreas contaminadas com As, sendo necessário, no entanto, estudos mais conclusivos considerando-se maior tempo de exposição em condições de campo.

Palavras chave: Fitorremediação, Arsenato, *Cajanus cajan*, *Sesbania virgata*, *Leucaena leucocephala*.

ABSTRACT

Arsenic is a toxic and carcinogenic element, which has caused severe environmental and health problem worldwide. Arsenic (As) is an ubiquitous trace metalloid found in all environmental media. Its presence at elevated concentrations in soils derives from both anthropogenic and natural inputs. Technologies currently available for the remediation of arsenic-contaminated sites are expensive, environmentally disruptive, and potentially hazardous to workers. Phytoextraction, a strategy of phytoremediation, uses plants to clean up contaminated soils and has been successfully applied to arsenic contaminated soils. This work had the objective to evaluate the potential of bean guandu (*Cajanus cajan* L.), sesbania (*Sesbania virgata* Cav.), leucena (*Leucaena leucocephala* Lam. (De Witt)), to phytorremediation of arsenic contamined substrates. Samples of an Oxisol were incubated with different doses of As. After the incubation time, the species were seeded and, after the germination, the soil samples were fertilized. Ninety days after the seeded plants height and diameter and dried biomass of young, intermediary and bottom leaves, steam and roots were measured. As accumulation at each part of the plants and translocation index (IT) and, by regression analysis, soil available As that cause 50% biomass reduction were also determined. Leucena and sesbania showed high tolerance and bean guandu was more sensible to As. The high As content at the sesbania root tissues suggest a efficient accumulation mechanism to reduce translocation to shoot tissues. Due the sensibility of bean guandu it could be used as indicator plant of As contamined sites, while the others two species showed potential to phytorremediation or revegetation programs. Nevertheless, conclusive studies considering long term field exposition were needed.

Key words: phytorremediation, arsenate, *Cajanus cajan*, *Sesbania virgata*, *Leucaena leucocephala*.

INTRODUÇÃO

A industrialização e urbanização progressiva têm exposto animais e vegetais a muitos elementos químicos potencialmente tóxicos. Entre estes, o arsênio mostra-se muito preocupante em função de sua toxicidade aos seres vivos em geral.

Apesar do grande interesse pelos problemas ecológicos e ambientais causados pelo excesso de arsênio no sistema solo-planta, são escassos estudos relativos à sua absorção, translocação e acúmulo por plantas nas regiões tropicais do Brasil, principalmente quando diz respeito à seleção de espécies de plantas para possíveis uso na fitorremediação. A fitorremediação consiste na introdução de vegetação no solo (Baker et al., 1994) mediante diferentes técnicas como a fitoextração e fitoestabilização. Na fitoextração a planta absorve o contaminante, translocando-o e acumulando na parte aérea, com a retirada da planta do local contaminado (Salte et al., 1995), enquanto que a fitoestabilização consiste no uso de plantas para imobilizar contaminantes no sistema solo-planta, visando reduzir a biodisponibilidade destes e prevenir sua entrada nas águas subterrâneas ou na cadeia alimentar (Accioly & Siqueira 2000), desta forma, tornando os contaminantes menos nocivos ao ecossistema.

Um dos requisitos básicos para o sucesso de qualquer técnica de revegetação é encontrar plantas tolerantes aos contaminantes. Estudo sobre a viabilidade de espécies arbóreas para a reabilitação de áreas contaminadas por metais pesados, tem merecido destaque, por causa da maior imobilização destes na matéria seca vegetal, por períodos mais longos (Eltrop et al., 1991). No entanto, existem evidências de que as plantas herbáceas possuem maior tolerância ao excesso de metais no solo do que as arbóreas.

Este trabalho teve como objetivos avaliar a produção de matéria seca, teores, acúmulo e distribuição de arsênio em raízes, caule e folhas de plantas de feijão guandu *(Cajanus cajan* (L.) Millsp), sesbania (*Sesbania virgata* Cav.), leucena (*Leucaena leucocephala* L.), bem como, suas potencialidades para ser utilizadas em programas de fitorremediação e/ou revegetação de áreas contaminadas com arsênio.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras subsuperficiais de um Latossolo Vermelho Amarelo (LVA) (Tabela 1) coletada na região de João Pinheiro-MG, foram destorroadas, peneiradas (4 mm) e incubadas por 15 dias com As nas concentrações de 0; 50; 100 e 200 mg dm^{-3}, na forma de

arsenato de sódio (Na_2HAsO_4). Testes preliminares realizados com amostras do solo incubadas por 15 dias com as doses de 50, 100 e 200 mg dm^{-3} de As, resultaram em disponibilidade de 12,7; 27,4 e 58,9 mg dm^{-3} respectivamente, de As pelo extrator Mehlich 3.

Quanto ao uso do arsenato de sódio como fonte de As, testes preliminares foram realizados para verificar o efeito deste sobre algumas espécies vegetais, conforme descrito no capítulo 1.

Tabela 1. Características químicas e físicas da amostra de LVA utilizada na condução do experimento

pH H_20	P-rem	As-rem	P[1/]	K[1/]	Ca^{2+}[4/]	Mg^{2+}[4/]	Al^{3+}[4/]	H+Al [5/]	M.O
…. mg L^{-1}..…		……mg dm^{-3}…...			.....$cmol_c dm^{-3}$.....				dag kg^{-1}
5,2	26,29	27,82	1,1	25	0,00	0,00	1,32	4,5	2,01

Areia grossa[6/]	Areia fina[6/]	Silte[6/]	Argila [6/]	Dens. Aparent [7/]	Classe textural	Equiv. Umidad[7/]
.....%.....					kg kg^{-1}	
40	17	2	41	1,29	Argilo-arenoso	0,132

1/ Extrator Mehlich I (Mehlich, 1978); 4/ Extrator KCl mol/L; 5/ CTC a pH 7,0 extraída com acetato de cálcio 1 ml L^{-1}; 6/ Método da pipeta (EMBRAPA, 1997); 7/ EMBRAPA (1997); LVA - Latossolo Vermelho e Amarelo; P-rem – Fósforo remanescente e As-Rem- arsênio remanescente do solo, conforme Alvarez et al. (2001) e Ribeiro Jr (2002), respectivamente.

Após o período de incubação, amostras de 1,39 dm^3 de solo foram acondicionadas em vasos plásticos e semeadas as espécies de *Cajanus cajan* L. Millsp (feijão guandu), *Sesbania virgata* Cav. (sesbania) e *Leucaena leucocephala* L. (leucena), mantendo-se três plantas/vaso no oitavo dia após a emergência. Em virtude de garantir o adequado suprimento de N às plantas e por não se conhecer o efeito do arsênio sobre as estirpes de rizóbio, optou-se, neste estudo, pela não inoculação das sementes com bactérias fixadoras de N_2 atmosférico.

A adubação com macronutrientes foi realizada aos nove dias após a emergência, na forma de soluções, contendo 60 mg dm^{-3} de N (fosfato de amônio e nitrato de amônio), 100 mg dm^{-3} de P (fosfato de amônio, cálcio e de potássio), 100 mg dm^{-3} de K (fosfato de potássio) e 50 mg dm^{-3} de Mg (sulfato de magnésio). A adubação nitrogenada foi parcelada em 2 aplicações; aos nove e 35 dias após emergência para todas as espécies.

As adubações com micronutrientes foram realizadas na forma de soluções, as quais foram parceladas eqüitativamente em quatro aplicações (15, 30, 45 e 60 dias após a emergência), nas doses totais de 0,81; 3,66, 4,00; 1,33; 0,15 e 1,56 mg dm^{-3} de B, Mn, Zn, Cu, Mo e Fe, respectivamente (Alvarez, 1974).

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, num delineamento em blocos casualizados com três repetições. Durante o período experimental as temperaturas variaram de 20,4 a 31,3 ^{o}C e a média mensal da umidade relativa variou de 69,0 a 49,8 %.

Aos 90 dias após a semeadura as plantas foram avaliadas quanto à altura e diâmetro do colo e cortadas ao nível do solo. Em seguida, divididas em folhas jovens (FJ), folhas intermediárias (FI), folhas basais (FB), caule (C), e raízes (R). Para a separação dos diferentes tipos de folhas, consideram-se folhas jovens as folhas tenras, não expandidas completamente mais os brotos, já as folhas basais aquelas maduras e em estágio de senescência (amareladas) e folhas intermediárias as demais. Para determinação do peso de raízes e determinação dos teores de As, as mesmas foram lavadas com água de torneira até a retirada completa do solo (com auxílio de peneiras para não haver perda de raízes), e após esse procedimento permaneram por aproximadamente 1 minuto em solução a 0,1 mol L^{-1} de HCl, seguida de vários enxágüe com água deionizada.

Para determinação do peso da matéria seca, as diferentes partes da planta foram secas em estufas de circulação forçada de ar, a 60-70 °C, até peso constante (aproximadamente 72 h).

Para determinar a concentração de As nas diferentes partes das plantas, amostras de 1,00 g de material seco e finamente triturado foram submetidas à digestão nítrico-perclórica 3:1 (Tedesco et al., 1995). As amostras foram levadas para bloco digestor controlando a temperatura: inicialmente de 50 ºC, por aproximadamente 30 minutos; 100 ºC, por mais 30 minutos e finalmente entre 160 a 180 ºC até completar a digestão. A dosagem dos teores de arsênio nos extratos de plantas e As disponível no solo (Mehlich 3) foram realizadas por espectrometria de emissão atômica, com plasma induzido em argônio (ICP/AES). Foi utilizado um padrão de referência de As, GBW07603 composto por ramos e folhas de arbustos cultivadas em áreas de mineração de zinco e chumbo na China, adquirida do Institute of Geophysical and Geochemical Exploration-Langtang-China.

Em função da quantidade acumulada de As nos diferentes compartimentos das plantas, as espécies foram classificadas quanto ao caráter de tolerância ou de acumulação de As. Por meio de análise de regressão, considerando-se a matéria seca da parte aérea

produzida em função das doses de As aplicadas, foram estipuladas as doses de As que proporcionaram a redução de 50 % da matéria seca produzida em relação à planta-controle.

Através da análise de regressão dos teores de As disponíveis no solo, em função das doses de As aplicadas, foi estimado o teor de As disponível no solo que proporcionou a redução de 50 % da matéria seca produzida (TC).

Os conteúdos de As nas raízes, na parte aérea e o total foram calculados com base nos teores e nas produções de matéria seca. Por meio da quantidade acumulada, calculou-se o índice de translocação do As, de acordo com Abichequer & Bohnen (1998), pela seguinte equação:

$$IT\ (\%) = \frac{\text{Quantidade de As acumulada na parte aérea (folhas + caule) x 100}}{\text{Quantidade de As acumulada na planta}}$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sintomas de fitotoxidez, produção de matéria seca, diâmetro e altura de planta

Lesões foliares devido a toxidez causada pelo As foram observadas apenas nas plantas de feijão guandu, quando submetidas à dose de 200 mg dm^{-3}, com apenas duas semanas de exposição após a emergência, apresentando folhas com clorose internerval, seguida de murchamento e necrose (Figura 1). As respostas apresentadas pelo feijão guandu o caracterizam como espécie sensível ao arsênio podendo, possivelmente, ser utilizada como planta bioindicadora de efeitos em áreas contaminadas por As.

Figura 1. Sintomas de toxicidade (1) e influência no desenvolvimento (2) de plantas de feijão guandu aos 30 dias após a semeadura.

A produção de matéria seca das plantas de feijão guandu foi significativamente afetada pelas doses de As aplicadas, causando redução em todas as variáveis de

crescimento avaliadas. Foi observada redução de 74 %, 75 % e 8 % para matéria seca da parte aérea, raízes, diâmetro (Figura 2 e 3), respectivamente, quando submetida a dose de 100 mg dm^{-3}, em relação ao controle.

A toxidez por arsênio pode ocorrer pela inibição de várias enzimas da mitocôndria e desativação da fosforilação oxidativa, o que causa prejuízos na respiração celular. Grande parte da toxicidade do arsênio resulta de sua capacidade de interagir com os grupos sulfídricos das proteínas e enzimas, e também da capacidade de substituir o fósforo em várias reações (Goyer, 1996).

As plantas de leucena e sesbania foram resistentes a todas as doses de As testadas, não apresentando lesões foliares durante o período experimental. As plantas de leucena apresentaram reduções na produção matéria seca da parte aérea, raízes e total e na altura da ordem de 36 %; 27 %; 33 % e 29 %, respectivamente, com a dose de 200 mg dm^{-3} em relação ao controle. Já as plantas de sesbania a redução observada foi maior, da ordem de 47 %; 34 %; 45 % e 23 %, respectivamente, para a matéria seca da parte aérea, raízes, e total e altura (Figuras 2 e 4).

Interessante notar que a maior produção de matéria seca de raízes e total pelas plantas de leucena foi observada quando essas foram submetidas à dose de 50 mg dm^{-3} (Figura 2). Este comportamento corrobora com os observados por alguns autores, em que algumas espécies podem apresentar maior crescimento, quando submetidas a baixas concentrações de arsênio disponível (Ma et al., 2001).

O diâmetro de colo das plantas de leucena e sesbania quando submetidas às doses de 50 e 100 mg dm^{-3} apresentaram comportamento semelhante ao da planta-controle, porém com uma ligeira redução quando submetidas a dose de 200 mg dm^{-3}. De modo geral, mesmo com o retardamento do crescimento e redução na produção de matéria seca das plantas, observou-se uma tendência para que os valores de diâmetro nas plantas de sesbania fossem menos alterados em relação as plantas de leucena.

Um fato interessante observado nas plantas de sebania quando submetidas a dose de 50 mg dm^{-3} de As, foi a presença da nódulos, mostrando assim, possível tolerância de bactérias fixadoras de N_2 atmosférico, o que pode ter favorecido a tolerância dessa espécies ao As, isso pode possibilitar estudos posteriores sobre a eficiência da nodulação na presença de As para essa espécie.

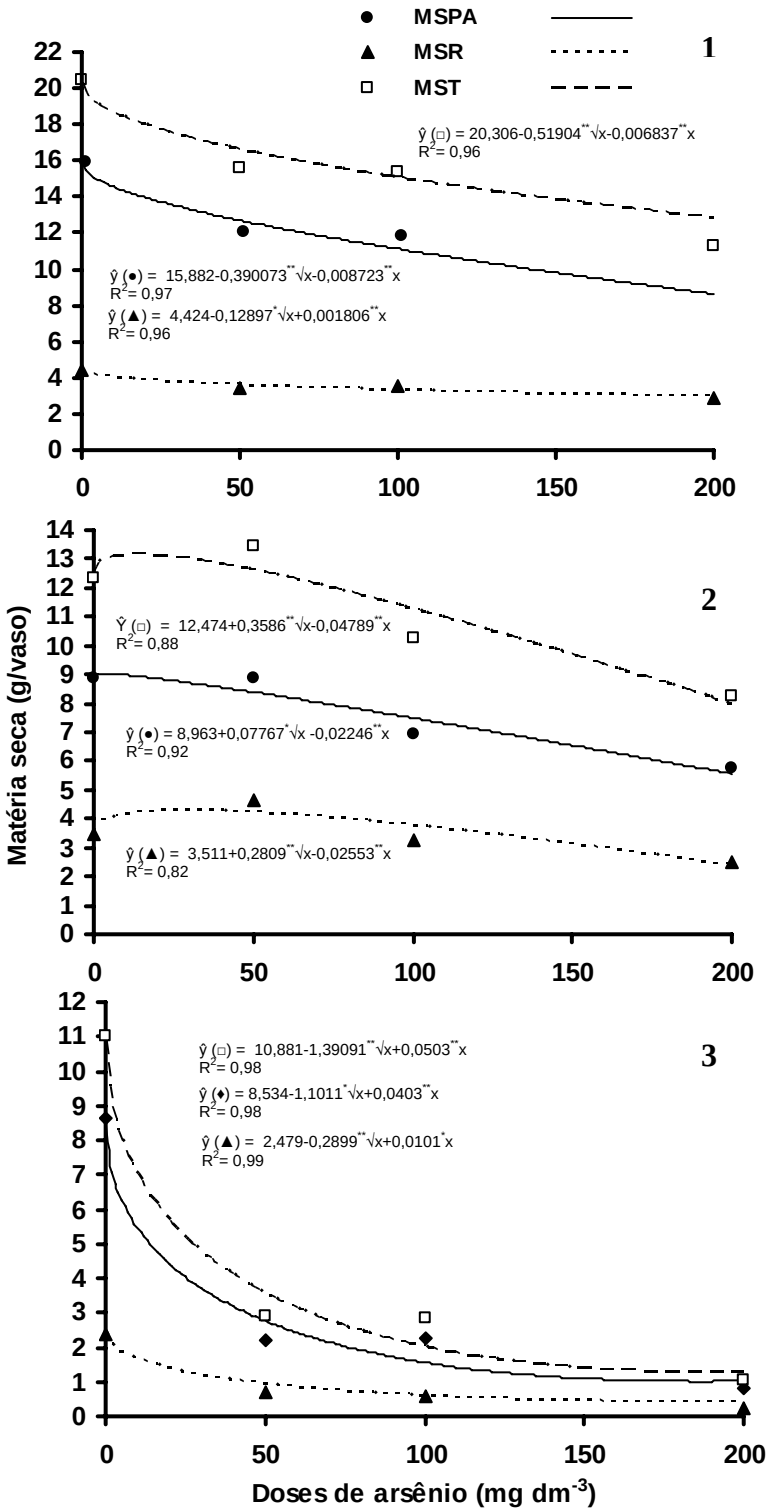


Figura 2. Matéria seca da parte aérea (MSPA), raízes (MSR) e total (MST) de sesbania (1), leucena (2) e feijão guandu (3) em solo contaminado com arsênio. ** e * efeito significativo de doses a 1 % e 5 % de probabilidade, respectivamente.

Para altura de planta de feijão guandu foi observada redução de até 55 % (Figura 3), na dose de 100 mg dm^{-3}, quando comparada ao controle. As plantas de sesbania tiveram a altura menos influenciada que as demais espécies, apresentando rápido crescimento.

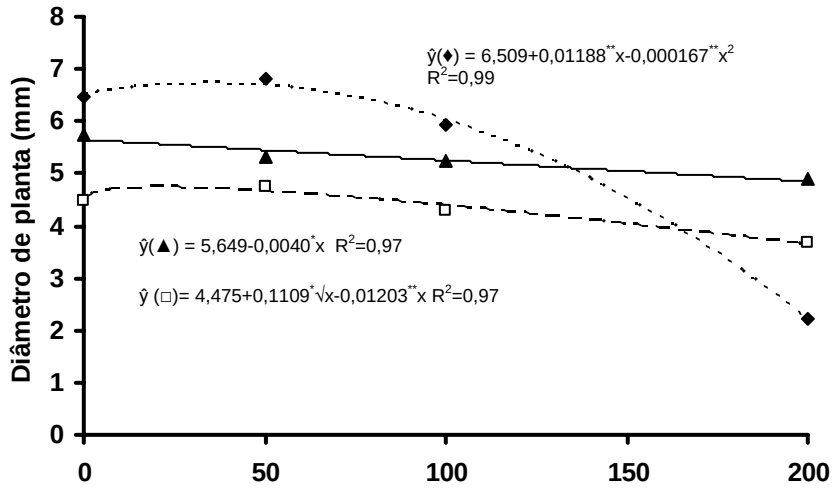


Figura 3. Altura de planta de feijão guandu (...♦), leucena (__▲) e sesbania (_ _□) em solos contaminado com As. * * e * efeito significativo a 1 % e 5 % de probabilidade, respectivamente pelo teste F.

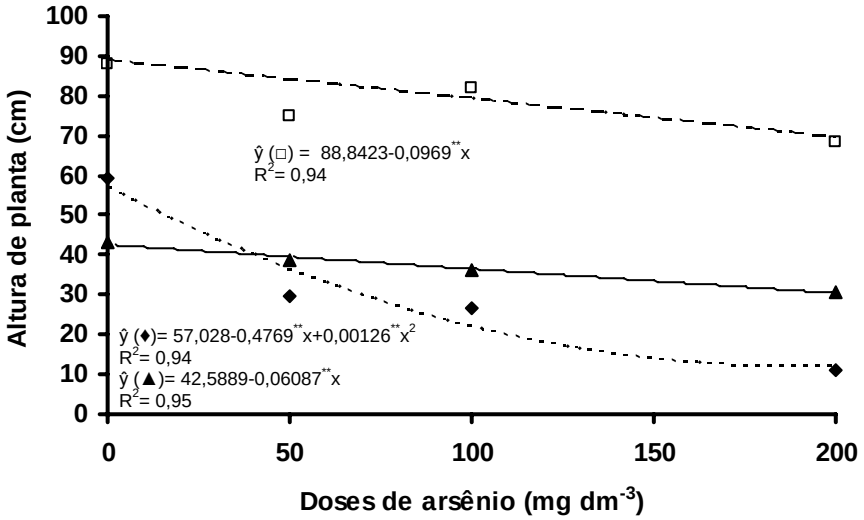


Figura 4. Altura de planta de feijão guandu (...♦), leucena (__▲) e sesbania (_ _□) em solos contaminado com As. ** efeito significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F.

Teores e conteúdos de arsênio nos diferentes compartimentos das plantas

O aumento das doses de As influenciou de forma significativa ($p \leq 0,01$) os teores de As nas diferentes partes das plantas, para todas as espécie estudadas (Tabela 2). A análise de regressão permitiu ajustes de modelos raiz quadrada e quadrático para os teores e conteúdo de arsênio nas diferentes partes das plantas (Tabela 3), com exceção dos teores de As em folhas jovens de leucena, que apresentou resposta linear.

De modo geral, a concentração de arsênio nas diferentes partes das plantas para as três espécies, ocorreu no sentido acrópeto (de baixo para cima). Os maiores teores de As foram encontrados nas raízes de plantas de leucena e sesbania (Tabela 2). Esses resultados estão de acordo com os trabalhos de Pickering et al. (2000), porém divergem daqueles encontrados em plantas hiperacumuladoras como *Pteris vittata* (Ma et al., 2001) e *Pityrogramma calomelano* (Vissottiviseth et al., 2002) que apresentaram maiores acúmulos em suas folhas.

Tabela 2. Teores de arsênio em folhas jovens (FJ), folhas intermediarias (FI), folhas basais (FB), caule (C), e nas raízes (R) em plantas de feijão guandu, leucena e sesbania em resposta a diferentes doses de arsênio

ESPÉCIES	DOSES	FJ	FI	FB	C	R
	mg dm^{-3}	.....mg kg^{-1}				
Feijão guandu	0	*	*	*	*	*
	50	7,31	7,30	12,20	26,23	14,12
	100	7,19	7,19	23,80	38,84	56,44
	200	12,08	13,64	55,05	83,09	87,10
	CV (%)	10,96	9,94	2,95	6,04	5,91
Leucena	0	*	*	*	*	*
	50	0,00	2,49	5,78	0,65	92,61
	100	0,49	2,81	8,43	1,26	267,45
	200	0,57	3,01	5,78	1,01	284,93
	CV (%)	18,17	13,06	5,59	9,61	3,44
Sesbania	0	*	*	*	*	*
	50	3,44	7,19	6,79	1,65	254,79
	100	4,99	12,72	17,14	2,95	466,17
	200	4,46	17,22	29,73	2,97	772,15
	CV (%)	4,04	2,47	4,56	7,41	2,64

* Concentrações abaixo do limite de detecção pelo método de dosagem (ICP/AES)

Os teores de As em folhas jovens e intermediárias de feijão guandu apresentaram valores semelhantes na dose de 200 mg dm^{-3} (Tabela 2). Em folhas basais e no caule os teores alcançaram valores de 55,05 e 83,09 mg kg^{-1} de arsênio, respectivamente, na dose de

200 mg dm^{-3}. Os teores de As nas raízes de feijão guandu foram relativamente baixos quando comparada com os valores encontrados nas plantas de leucena e sesbania com 87,10 mg kg^{-1} na dose de 200 mg dm^{-3}. De modo geral, os teores de As nos diferentes compartimentos Fj, FI, FB e C de feijão guandu foram relativamente elevados aos observados com o limite considerado normal em plantas (limite de 5 mg kg^{-1}). Essa distribuição reflete a baixa tolerância da espécie ao metalóide, com reduzida retenção nas raízes e ocasionando maior dano à parte aérea. Este comportamento sugere a inexistência de um mecanismo efetivo de controle interno, que evite a translocação do metalóide para os tecidos da parte aérea, reduzindo a produção de matéria seca e, conseqüentemente, elevando sua concentração naquele compartimento.

As folhas de leucena apresentaram teores relativamente baixos, principalmente em folhas jovens (Tabela 2). Os maiores teores de As foram constatados nas doses de 200 (3,00 mg kg^{-1}) e 100 mg dm^{-3} (8,43 mg kg^{-1}) para FI e FB, respectivamente. No caule os maiores teores foram constatados na dose de 100 mg dm^{-3} (1,26 mg kg^{-1}), com uma ligeira redução na dose de 200 mg dm^{-3} (1,01 mg kg^{-1}). Para o acúmulo de As na parte aérea, raízes e em toda a planta ajustaram-se modelos raiz quadrada e quadrática (Tabela 3), com valores da ordem de 0,09; 0,88 e 0,97 mg $vaso^{-1}$, para a dose de 100 mg dm^{-3} (Tabela 4).

Para os teores de As em folhas jovens, intermediárias e basais de plantas de sesbania houve efeito altamente significativo ($p \leq 0,01$), sendo que os maiores teores foram encontrados nas doses de 100 mg dm^{-3} (4,98 mg kg^{-1}) para FJ e na de 200 mg dm^{-3} para FI (17,22 mg kg^{-1}) e FB (29,73 mg kg^{-1}) (Tabela 2). No caule houve resposta tipo raiz quadrada (Tabela 3), sendo que os maiores teores foram encontrados na dose de 100 e 200 mg dm^{-3} com teores de 2,95 e 2,97 mg kg^{-1}, respectivamente.

Os teores de arsênio nas raízes das plantas de sesbania foram relativamente elevados chegando a 772,15 mg kg^{-1}, na dose de 200 mg dm^{-3}. Esse valor chega a ser 13,11 vezes superior a concentração de arsênio disponível no solo e 154 vezes mais do que a concentração em plantas normais (limite de 5,0 mg kg^{-1}). Algumas plantas podem acumular níveis elevados de metais de 100 - 1000 vezes mais do que o nível normal acumulado pela maioria das espécies que é de 0,1-5,0 mg kg^{-1} (Wauchope, 1983).

Para plantas de sesbania houve resposta quadrática nos conteúdos de As na parte aérea, raízes e total (Tabela 3), em função das doses de As. Os maiores conteúdos de arsênio foram constatados nas plantas submetidas à dose de 200 mg dm^{-3}, com valores de 0,47; 2,26 e 2,73 mg $vaso^{-1}$, respectivamente (Tabela 4).

O maior acúmulo de As no sistema radicular em relação ao transportados para a parte aérea pode indicar a baixa capacidade de controle na absorção do metalóide e/ou maior eficiência no controle na translocação, evitando que o As chegue aos tecidos metabolicamente mais ativos da parte aérea (Figura 6). Este mecanismo pode estar relacionado à síntese de fitoquelatinas que tem papel fundamental na desintoxicação de arsênio em plantas (Sneller et al., 1999; Meharg & Hartley-Whitaker, 2002).

Tabela 3. Equações de regressão dos teores [1)] de As em folhas jovens (FJ), intermediárias (FI), basais (FB), caule (C) e raízes (R), As disponível no solo no final do experimento (AsDispS) conteúdo de arsênio na parte aérea (CAsPA), raízes (CAsR) e total (CAsT) em plantas de feijão guandu, leucena e sesbania, em resposta a diferentes doses de arsênio [(x)]

ESPÉCIES	COMPARTIMENTOS	EQUAÇÃO DE REGRESSÃO	R^2
Feijão guandu	FJ[1)]	$\hat{y} = 0{,}163+0{,}8910^{**}\sqrt{x}-0{,}0054^{**}x$	0,96
	FI[1)]	$\hat{y} = 0{,}194+0{,}7183^{**}\sqrt{x}-0{,}0140^{**}x$	0,95
	FB[1)]	$\hat{y} = 0{,}269+0{,}2079^{**}x+0{,}0003^{**}x^2$	0,99
	C[1)]	$\hat{y} = 1{,}634+0{,}4049^{**}x$	0,99
	R[1)]	$\hat{y}= -3{,}778+0{,}5925^{**}x-0{,}0007^{**}x^2$	0,96
	AsDispS[2)]	$\hat{y} = -4{,}189+0{,}3075^{**}x$	0,98
	CAsPA[3)]	$\hat{y} = 0{,}001+0{,}0028^{**}x-0{,}00001^{**}x^2$	0,99
	CAsR[3)]	$\hat{y} = -0{,}003+0{,}0005^{**}x-0{,}000002^{**}x^2$	0,85
	CAsT[3)]	$\hat{y}= -0{,}002+0{,}0033^{**}x-0{,}000013^{**}x^2$	0,99
Leucena	FJ	$\hat{y} = -0{,}017+0{,}0032^{**}x$	0,80
	FI	$\hat{y} = 0{,}003+0{,}4719^{**}\sqrt{x}-0{,}0189^{**}x$	0,99
	FB	$\hat{y} = 0{,}123+0{,}1267x^{**}-0{,}0005^{**}x^2$	0,99
	C	$\hat{y} = - 0{,}037+0{,}0192^{**}x-0{,}00007^{**}x^2$	0,98
	R	$\hat{y} = -15{,}696+3{,}4891^{**}x-0{,}0097^{**}x^2$	0,95
	AsDispS	$\hat{y} = -0{,}082+0{,}0745^{**}x+0{,}00046^{**}x^2$	0,99
	CAsPA	$\hat{y} = -0{,}0003+0{,}0149^{**}\sqrt{x}-0{,}0007^{**}x$	0,99
	CAsR	$\hat{y} = -0{,}037+0{,}0121^{**}x-0{,}00004^{**}x^2$	0,96
	CAsT	$\hat{y} = -0{,}034+0{,}0135^{**}x-0{,}000046^{**}x^2$	0,97
Sesbania	FJ	$\hat{y} = -0{,}018+0{,}7565^{**}\sqrt{x}-0{,}0286^{**}x$	0,99
	FI	$\hat{y} = -0{,}043+0{,}1671^{**}x-0{,}000403^{**}x^2$	0,99
	FB	$\hat{y} = -0{,}519+0{,}1804^{**}x-0{,}000142^{*}x^2$	0,99
	C	$\hat{y} = -0{,}042+0{,}0430^{**}x-0{,}000139^{**}x^2$	0,99
	R	$\hat{y} = -1{,}965+213433^{**}\sqrt{x}+2{,}3851^{**}x$	0,99
	AsdispS	$\hat{y} = 0{,}051+0{,}0743^{**}x+0{,}000609^{**}x^2$	0,99
	CAsPA	$\hat{y} = -0{,}010+0{,}00638^{**}x-0{,}000020^{**}x^2$	0,98
	CAsR	$\hat{y} = -0{,}016+0{,}0209^{**}x-0{,}000048^{**}x^2$	0,99
	CAsT	$\hat{y} = -0{,}021+0{,}0273^{**}x-0{,}000068^{**}x^2$	0,99

** e * significativo a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.
1) Teores de arsênio (mg kg^{-1})
2) As disponível Mehlich 3 após a coleta do experimento
3) Conteúdos de As (mg $vaso^{-1}$)

De modo geral foi possível observar que as plantas de leucena e sesbania foram tolerantes, crescendo satisfatoriamente em solos com elevada doses de As (Figura 5). As

plantas de leucena e sesbania apresentam elevado potencial de acumulação, principalmente no sistema radicular, característica que torna essas espécies com potencial para fitoestabilização de arsênio. No entanto, são necessários estudos mais conclusivos considerando-se maior tempo de exposição em condições de campo, ou mesmo o plantio de mudas em substratos contaminados.

Tabela 4. Conteúdo de arsênio na parte aérea (CAsPA), raízes (CAsR), total (CAsT) e arsênio disponível no solo após a coleta das plantas (AsDispS) em plantas de feijão guandu, leucena e sesbania em resposta a diferentes doses de arsênio

ESPÉCIES	DOSES	CAsPA	CAsR	CAsT	As DispS
	mg dm^{-3}	.....	mg $vaso^{-1}$	.....	mg dm^{-3}
Feijão guandu	0	*	*	*	*
	50	0,12	0,01	0,13	5,41
	100	0,17	0,03	0,21	26,83
	200	0,13	0,02	0,15	58,62
	CV (%)	19,10	14,63	17,59	7,68
Leucena	0	*	*	*	*
	50	0,08	0,43	0,51	4,56
	100	0,09	0,88	0,97	12,10
	200	0,07	0,72	0,79	34,39
	CV (%)	5,42	5,06	4,70	4,80
Sesbania	0	*	*	*	*
	50	0,23	0,88	1,12	5,42
	100	0,45	1,63	2,07	13,46
	200	0,47	2,26	2,73	39,26
	CV (%)	4,83	5,10	4,71	4,03

* Concentrações abaixo do limite de detecção pelo método de dosagem (ICP/AES)

Quanto aos teores de As disponível no solo após a coleta das plantas (Mehlich 3), houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) das doses nos teores para todas as espécies estudadas (Tabela 3). Porém, esta variação nos teores pode estar relacionadas a aplicação de fertilizantes fosfatados no solo, e à maior eficiência do sistema radicular, já que o acúmulo de arsênio foi proporcional ao desenvolvimento do sistema radicular das espécies. Característica importante relacionada a maior capacidade de absorção e acúmulo de As entre plantas acumuladoras e não acumuladoras é o volume de sistema radicular produzido.

A espécie hiperacumuladora de arsênio “Chinese brake fern” (*Pteris vitatta*) apresentou volume de sistema radicular quatro vezes superior ao de *Nephrolepis exaltata* L. (não acumuladora de As) e acumulou 29 vezes mais As que essa (Gonzaga et al., 2005). Estudos mostram que a adubação fosfatada pode resultar em aumento na disponibilidade

de aproximadamente 77 % do arsênio (Peryea, 1998), em função do deslocamento desses dos sítios de adsorção pelos ânions fosfatos (Creger & Peryea, 1994).

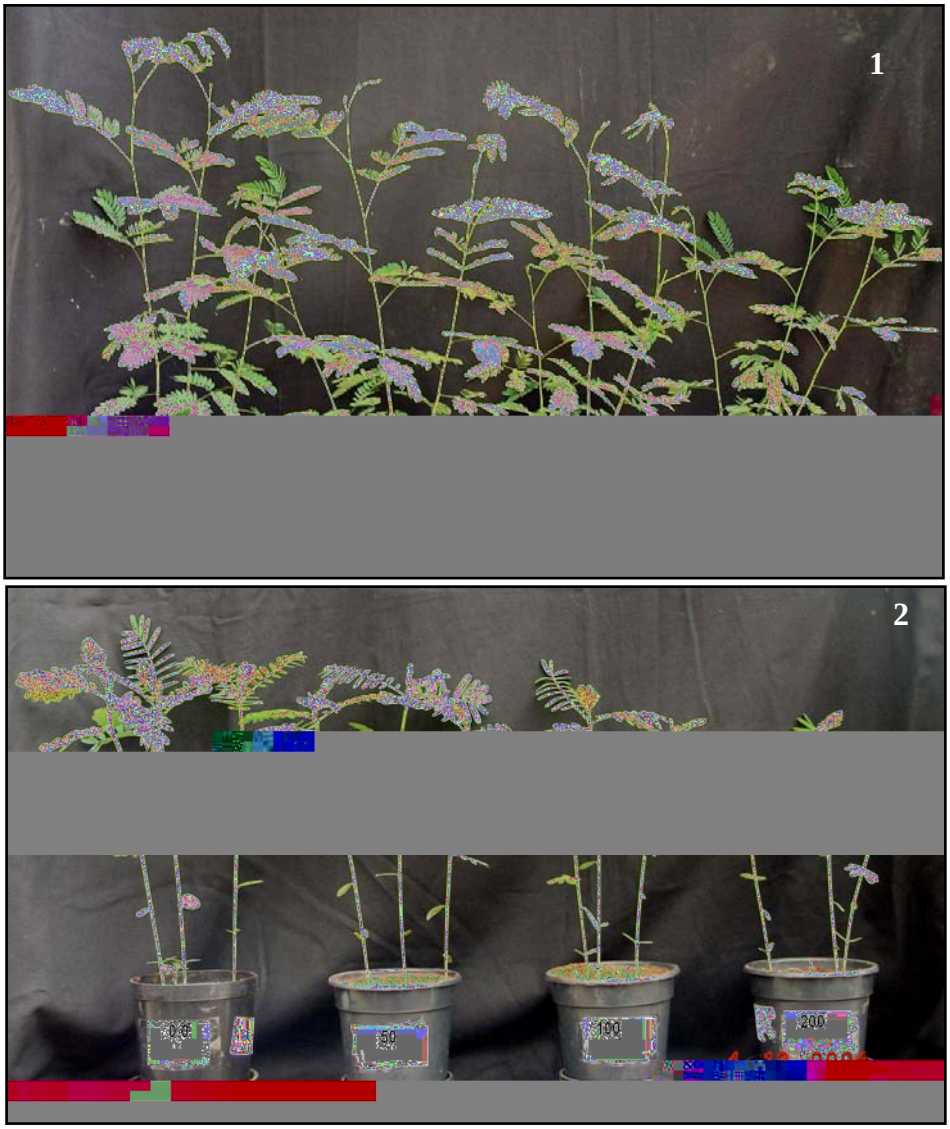


Figura 5. Plantas leucena (1) e sesbania (2) submetidas às doses crescentes de arsênio, aos 70 dias após a semeadura.

Índice de translocação e teores críticos de As no solo

A translocação de As das raízes para a parte aérea nas plantas de feijão guandu foi consideravelmente alta, apresentando efeitos altamente significativos ($p \leq 0,01$), sendo que o maior índice (91,92 %) foi observado na dose de 50 mg dm^{-3}, seguida de 83,82 e 87,05 % para as doses de 100 e 200 mg dm^{-3}, respectivamente (Figura 6).

A aplicação de doses crescentes de arsênio em plantas de leucena e sesbania resultou em diferenças significativas ($p \leq 0,01$) na translocação deste para a parte aérea (Figura 6). Assim, o IT de As em ambas as espécies foi relativamente baixo apresentando

maiores índices nas doses de 50 e 100 mg dm^{-3} com valores de 16,17 e 9,59 %, para leucena e 20,93 e 21,62 % para sesbania, respectivamente. A translocação de As, diante da aplicação de doses crescentes, pode ser estimulada ou inibida, dependendo da espécie vegetal. Neste sentido, o conhecimento da distribuição do arsênio em plantas, permite melhor avaliação sobre o potencial das espécies para programas de fitorremediação e/ou revegetação, bem como, seus riscos ao ambiente, principalmente em relação a espécies vegetal que possam entrar na cadeia trófica.

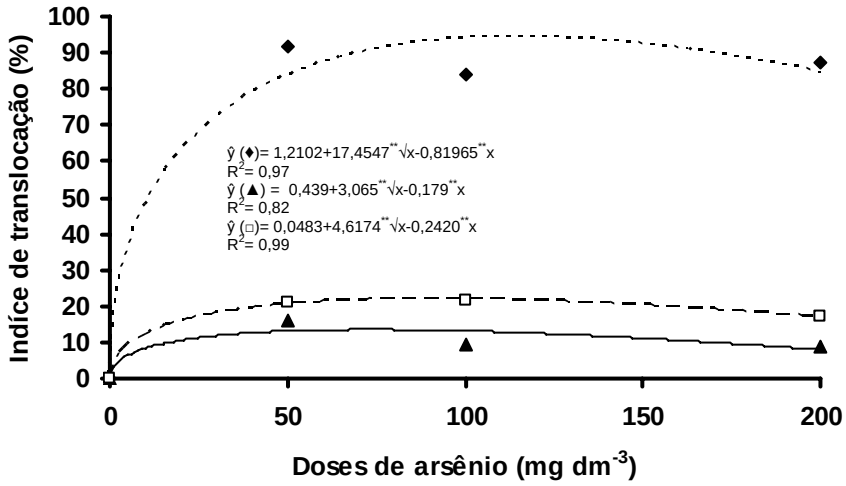


Figura 6. Índice de translocação de arsênio em plantas de feijão guandu (...♦), leucena (__▲) e sesbania (_ _□) em solos contaminado com As. ** efeito significativo a 1 % de probabilidade, pelo teste F.

Para discriminar melhor o comportamento das espécies, estimou-se, por regressões, o teor crítico de arsênio disponível no solo (TC), necessário para reduzir em 50 % a matéria seca da parte aérea e de raízes (Tabela 5). Esse índice mostra a influência que a contaminação exerce sobre as plantas (Soares, 1999). O TC de arsênio para redução de matéria seca em plantas de feijão guandu foi muito baixo tanto para matéria seca de raiz quanto para parte aérea, indicando que essa espécie é sensível aos efeitos de toxicidade do As. Alguns estudos mostram que teores de As solúvel variando de 1 a 10 mg kg^{-1} parecem ser fitotóxicos para grandes culturas como feijão, alfafa e arroz (Bischop & Chisholm, 1962). Estudos têm constatado que um teor disponível de 26,9 mg dm^{-3} já seria suficiente para causar morte de plantas de sorgo (Ribeiro Jr. 2002).

Nas espécies leucena e sesbania, os TC foram relativamente elevados (Tabela 5). A $TC_{50\%\ raiz}$ obtido para sesbania é cerca de 92 vezes superior a requerida pelo feijão guandu. Este resultado reforça essa espécie como tolerante ao arsênio. Essa diferença de

comportamento entre as espécies pode ter base genética ou fisiológica, como a possível existência de fitoquelatinas presente nas raízes, capazes de complexar e transportar o As para o vacúolo, evitando assim, a toxidez das plantas (Ma et al. 2001).

Tabela 5. Teores críticos de arsênio disponível (Mehlich 3) no solo necessário para reduzir em 50 % a produção de matéria seca de raízes e parte aérea de feijão guandu, leucena e sesbania cultivadas em amostras de um LVA de João Pinheiro, MG

TEOR CRÍTICO NO SOLO	Feijão guandu	Leucena	Sesbania
	---------- mg dm^{-3} ----------		
[1)]$TC_{50\% \text{ raiz}}$	3,46	70,20	317,60
$TC_{50\% \text{ parte aérea}}$	2,27	74,92	66,99

[1)] Teor crítico de As no solo para reduzir em 50 % a produção de matéria seca

CONCLUSÕES

As espécies apresentaram respostas diferenciadas em função das doses de As aplicadas ao solo. Leucena e sesbania apresentam elevada tolerância, enquanto o feijão guandu mostrou-se muito sensível à presença de As. Os teores de arsênio nas raízes da sesbania foram bastante elevados, sugerindo um eficiente mecanismo de compartimentalização, a fim de reduzir a translocação do metalóide aos tecidos jovens da parte aérea.

O feijão guandu por ser uma espécie sensível apresenta potencial para ser utilizada como planta bioindicadora de As, enquanto as outras duas espécies mostram bom potencial para programas de fitoestabilização.

REFERÊNCIAS CITADAS

ABICHEQUER, A.D.; BOHNEN, H. Eficiência de absorção, translocação e utilização de fósforo por variedades de trigo. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 22:21-26, 1998.

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V.; V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. Tópicos em ciência do solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. 299-352 p.

ALVAREZ V., H.V. Equilíbrio de formas disponíveis de fósforo e enxofre em dois latossolos de Minas Gerais. Viçosa, MG, 1974. 125p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Curso de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas, Universidade Federal de Viçosa, 1974.

ALVAREZ V., V. H.; Dias, L.E. Ribeiro Jr., E.S.; Souza, R.B.; Fonseca, C.A. Métodos de análises de enxofre em solos e plantas. Editora UFV. Univer. Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2001, 13p.

BAKER, A. J. M.; McGRATH, S. P.; SODOLI, C. M. D.; REEVES, R. D. The possibility of in situ heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metalaccumulating plants. Resources, Conservation and Recycling, Amsterdam, 11:41-49, 1994.

BISHOP, R.F., & CHISHOLM, D. Arsenic accumulation in Annapolis Valley orchard soil. Can. J. Soil Sci. 42:77- 80, 1962.

CREGER, T. L, PERYEA, F. J. Phosphate fertilizer enhances arsenic uptake by apricot liners grown in lead-arsenateenriched soil. Hortic Sci 29: 88-92, 1994.

ELTROP, L.; BROWN, G.; JOACHIM, O.; BRINKMANN, K. Lead tolerance of betula and salix in the mining area of Mechernich/Germany. Plant and Soil, 131:279-285, 1991.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solos. 2 ed. rev. e atual. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997. 212p.

GONZAGA, M.I.S., SANTOS, J.A.G. & MA, L.Q. Arsenic in the rhizosphere of Pteris vittataL. And Nephrolepis exaltata L. Environmental Pollution, 2005,1-7p.

GOYER R.A.. Toxic effects of metals. In: Klaassen CD ed. Cassarett & Doull's Toxicology – The basic Science of Poisons. Mcgraw Hill. New York, NY. 691-736p. 1996.

MA, L.Q, KOMAR, K.M., TU, C., ZHANG, W., CAI, Y., KENNELLEY, E.D. A fern that hyperaccumulates arsenic. Nature, 409:579p. 2001.

MEHARG, A. A.; HARTLEY-WHITAKER, J. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and non-resistant plant species: Tansley Review. New Phytol, 154: 29-43, 2002.

PERYEA, F. J. Phosphate starter fertilizer temporarily enhances soil arsenic uptake by apple trees grown under field conditions. Hortscience, 33: 826-829, 1998.

PICKERING, I. J.; PRINCE, R. C.; GEORGE, M. J.; SMITH, R. D.; GEORGE, G. N.; SALT, D.E. Reduction and coordination of arsenic in Indian mustard. Plant Physiol., 122:1171-1177, 2000.

RIBEIRO, JR, E.S. Adsorção e dessorção de arsênio em solos e substratos de mineração de ouro e práticas de mitigação de drenagem ácida em colunas de lixiviação. Viçosa, MG: UFV, 117p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, 2002.

SALT DE, PRINCE CP, PICKERING IJ, RASKIN I. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. Plant Physiology, 109:1427–1433. 1995.

SNELLER, F.E.C.; VAN HEERWAARDEN, L.M.; KRAAIJEVELD-SMIT, F. J. L.; TEN BOOKUM, W. M.; KOEVOETS, P. L. M.; SCHAT, H.; VERKLEIJ, J. A.C. Toxicity of arsenate in Silene vulgaris, accumulation and degradation of arsenate-induced phytochelatins. New Phytol, 144:223-232, 1999.

SOARES, C. R. F. S. Toxidez de zinco cobre cádmio e chumbo para o eucalipto em solução nutritiva. Lavras, 1999. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, 1999, 132 p.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. Análise de solo, plantas e outros materiais. Porto Alegre : UFRGS, 1995, 174 p.

VISOOTTIVISETHA, P.; FRANCESCONIB, K.; SRIDOKCHANA, W. The potential of Thai indigenous plant species for the phytoremediation of arsenic contaminated land. Environmental Pollution, 118:453-461, 2002.

WAUCHOPE. R. D. Uptake, translocation and phytotoxicity of arsenic in plants. Chapt. 25, In: W.H Lederer and RJ Fensterheim (eds.), Arsenic: Industrial, Biomedical, Environmental Perspectives. New york: Van Nostrand Reinhold Co. (I). 348-375p., 1983.

CAPÍTULO 4

POTENCIAL DE ESPÉCIES DE EUCALIPTUS PARA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO POR ARSÊNIO

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo caracterizar o crescimento e absorção de As por mudas de *Eucaliptus grandis* Hill ex Maiden, *E. cloeziana* F. Muell, *E. urophylla* S.T. Black e *Corymbia citriodora* Hill & Johnson (*Eucalyptus citriodora* Hook) submetidas por 90 dias, a amostras de solo com doses crescentes de arsênio (0, 50, 100, 200 e 400 mg dm^{-3} de As), na forma de arsenato de sódio (Na_2HAsO_4). Após 30 dias de exposição aos tratamentos, *E. cloeziana* exibiu pontuações arroxeadas

ABSTRACT

This study aimed to characterizer the growth and arsenic absorption by seedlings of *Eucaliptus grandis* Hill ex Maiden, *E. cloeziana* F. Muell, *E. urophylla* S.T. Black e *Corymbia citriodora* Hill & Johnson (*Eucalyptus citriodora* Hook) submitted, for 90 days, to soil samples with crescents doses of sodium arsenate (0; 50; 100, 200 and 400 mg dm^{-3} of As), in the form of (Na_2HAsO_4). After 30 days of treatments exposition, *E. cloeziana* showed bottom leaves with purple points, internerval clorose, followed by necrosis. Over there these symptoms, *E. cloeziana* showed death of apical gems and intensive leaves fall at the 400 mg dm^{-3} dose. The increases of soil arsenic concentration reduced significantly roots and shoot biomass of all species, with exception of *C. citriodora*. *E. grandis* showed increase of 20.5 % to root biomass between control plants and submitted to the lower doses. There was no significant effect of treatments on roots/shoot ratio (R/PA) to *E. grandis*, but to *E. cloeziana*, the effect was significant and positive. To all species the higher content of arsenic were observed in the roots systems, with the highest value to *E. cloeziana* (305.72 mg kg^{-1}) at the 400 mg dm^{-3} doses. Plants of *E. grandis* showed the highest accumulation of arsenic. The critical As content in the soil and shoots to reduce 50% of dry biomass were high to all species. However, the observed values to shoot were three times higher than the soil critical content. *E. cloeziana* showed the lowest values of soil and shoot critical As content, indicating that this specie is sensible to As in concentrations very raised.

Key words: phytoremediation, arsenate, Toxicity, *Eucaliptus grandis*, *E. cloeziana E. urophylla*, *Corymbia citriodora*

O destino de metais pesados adicionados ao solo, incluindo sua mobilidade e reações no solo, e sua subseqüente absorção pelas plantas e impacto na vegetação, são cruciais para a saúde humana (Cotrim, 1995). No caso de espécies arbóreas, o conhecimento dos padrões de absorção, translocação e acúmulo de íons metálicos, com estabelecimento dos limites de tolerância, permitem o desenvolvimento de técnicas para a fitorremediação de áreas contaminadas por tais elementos (Kahle, 1993).

Estudos da fitotoxidez de metais pesados no crescimento e absorção mineral de espécies de eucalipto foram recentemente desenvolvidos com Zn, Cu e Cd (Soares et al., 2000; 2001; 2005), havendo carência destes em outros elementos potencialmente tóxicos, como é o caso do As.

Poucos são os estudos relacionados com a influência da presença de As sobre a tolerância, absorção e translocação do As em plantas arbóreas, as quais são amplamente estudadas em ambientes contaminados com outros metais. Dessa forma, devem-se desempenhar esforços no sentido de conhecer as conseqüências da aplicação e da contaminação por As, não só em termos de sobrevivência das plantas, mas quanto aos seus efeitos sobre a translocação deste elemento, fator essencial para a seleção das espécies vegetais com fins de fitorremediação.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento, teores, acúmulo e distribuição de arsênio em diferentes partes das plantas de *Eucaliptus grandis* Hill ex Maiden, *E. cloeziana* F. Muell, *E. urophylla* S.T. Black e *Corymbia citriodora* Hill & Johnson (*Eucalyptus citriodora* Hook), bem como, o potencial dessas para uso em programas de fitorremediação de áreas contaminadas por arsênio.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa – UFV, utilizando plantas de *Eucaliptus grandis*, *E. cloeziana*, *E. urophylla* e *Corymbia citriodora*. As mudas foram produzidas em viveiro do setor de Silvicultura-UFV, usando tubetes com substrato contendo vermiculita + pó de serragem na proporção 3:1 e, quando apresentaram, em média, quatro pares de folhas definitivas (dois meses após a semeadura), foram conduzidas para casa de vegetação, onde permaneceram por um mês para aclimatação.

Amostras subsuperficiais de um Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA) (Tabela 1) coletadas na região de João Pinheiro-MG, foram destorroadas, peneiradas (4 mm) e incubadas por 15 dias (80 % de umidade) com diferentes doses de arsênio nas concentrações de 0; 50; 100; 200 e 400 mg dm^{-3}, na forma de arsenato de sódio (Na_2HAsO_4). Testes preliminares indicaram que a disponibilidade foi de 12,9; 26,8; 58,7 e 128,8 mg dm^{-3}, respectivamente, de As pelo extrator Mehlich-3.

Quanto ao uso do arsenato de sódio como fonte de As, houve preocupação com a entrada de sódio no sistema, confome Capítulo 1.

Tabela 1. Características químicas e físicas da amostra de LVA utilizada na condução do experimento

pH H_20	P-rem	As-rem	P	K	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Al^{3+}	H+Al	M.O
	…. mg L^{-1}..…		……mg dm^{-3}…...		.....$cmol_c dm^{-3}$.....				dag kg^{-1}
5,20	26,29	27,82	1,10	25	0,00	0,00	1,32	4,50	2,01

Areia grossa[6/]	Areia fina[6/]	Silte[6/]	Argila [6/]	Dens. Aparent [7/]	Classe textural	Equiv. Umidad[7/]
.....%.....						kg kg^{-1}
40	17	2	41	1,29	Argilo-arenoso	0,132

P e K disponíveis: Extrator Mehlich I; Ca, Mg e Al trocáveis: Extrator KCl mol/L; CTC a pH 7,0 extraída com acetato de cálcio 1 ml L^{-1}; Análise textural pelo método da pipeta (EMBRAPA, 1997); Eq. Umidade: EMBRAPA (1997); P-rem – Fósforo remanescente e As-Rem - arsênio remanescente do solo, conforme Alvarez et al. (2001) e Ribeiro Jr (2002), respectivamente.

Após o período de incubação, amostras de 1,94 dm^3 de solo foram acondicionadas em vasos plásticos. Aos três meses após a germinação as mudas foram padronizadas quanto à altura e vigor, em seguida retirou-se o excesso do substrato e realizou-se o transplantio colocando uma planta por vaso (Figura 1). As unidades experimentais (vasos) foram dispostas em um delineamento em blocos casualizados com três repetições. Durante o período experimental as temperaturas variaram de 22,4 a 38,3 ^oC e a variação mensal da umidade relativa foi de 70,0 a 38,6 %.

Figura 1. Vista geral do experimento no dia do transplantio das mudas de eucaliptos.

A adubação com macro e micronutrientes foi realizada na forma de soluções, as quais foram parceladas eqüitativamente em três aplicações, sendo a primeira no dia do transplantio, a segunda aos 30 dias e a terceira aos 65 dias após o transplatio. A adubação com macronutrientes constou da aplicação de 100 mg dm^{-3} de N (fosfato de amônio e nitrato de amônio), 150 mg dm^{-3} de P (fosfato de amônio, fosfato de cálcio e fosfato de potássio), 100 mg dm^{-3} de K (fosfato de potássio), 150 mg dm^{-3} de Mg (sulfato de magnésio), 16 mg kg^{-1} de S (sulfato de magnésio). Quanto aos micronutrientes foram aplicadas doses totais equivalentes a 0,81; 3,66, 4,00; 1,33; 0,15 e 1,56 mg dm^{-3} de B, Mn, Zn, Cu, Mo e Fe, respectivamente (Alvarez, 1974).

Ao longo do período experimental as mudas foram irrigadas diariamente conforme a necessidade da cultura. Aos 0, 30, 60 e 90 dias após o transplantio foram determinadas a altura e o diâmetro das plantas. A área foliar foi obtida por meio da utilização de um medidor de áreas foliar LI-COR.

Após 90 dias de exposição ao As, as plantas foram cortadas ao nível do solo e separadas em folhas jovens (FJ), folhas intermediárias (FI), folhas basais (FB), caule (C), ramos (Ra) e raízes (R). Para a separação dos diferentes tipos de folhas, consideraram-se folhas jovens as folhas tenras, não expandidas completamente, mais os brotos; já as folhas basais foram àquelas maduras e em estágio de senescência (amareladas) e folhas intermediárias as demais. As raízes foram lavadas com água de torneira até a retirada completa do solo, e após esse procedimento permaneceu por aproximadamente 1 minuto em solução a 0,1 mol L^{-1} de HCl, seguida de vários enxágüe com água deionizada.

Para determinação do peso de matéria seca, as plantas foram secas em estufa com circulação de ar a 65ºC até peso constante, seguidas de pesagem e moagem, em moinho

tipo Willey equipado com peneira com malha de 0,38 mm. Além do peso de matéria seca da parte aérea (caule + folha+ ramos) e raízes, foi calculada a razão entre a matéria seca de raiz e da parte aérea (R/PA).

Para determinar a concentração de As nas diferentes partes das plantas, amostras de 1 g de material seco e finamente triturado foram submetidas à digestão nítrico-perclórica (Tedesco et al., 1995), em bloco digestor, controlando-se a temperatura: inicialmente 50 ºC, por aproximadamente 30 minutos; 100 ºC, por mais 30 minutos e permaneceu entre 160 a 180 ºC até completar a digestão. A quantificação dos teores de arsênio nos extratos de plantas e As disponível no solo (Mehlich 3) foram realizadas por espectrometria de emissão atômica, com plasma induzido em argônio (ICP/AES), no comprimento de onda de 193 nm. Para fins de avaliação da eficiência do método de determinação de As em material vegetal foi utilizado um padrão GBW07603 de referência de As, composto por ramos e folhas de arbustos cultivadas em áreas de mineração de zinco e chumbo na China, adquirida do Institute of Geophysical and Geochemical Exploration-Langtang-China.

Em função da quantidade acumulada de As nos diferentes compartimentos das plantas, as espécies foram classificadas quanto ao caráter de tolerância, em espécies com potenciais para fitoestabilização (tolerantes e acumuladoras de arsênio nas raízes) e fitoextração (espécies tolerantes e acumuladoras de arsênio na parte aérea). As espécies foram consideradas acumuladoras, quando as concentrações nas raízes e parte aérea foram superiores à concentração do solo (Accioly & Siqueira, 2000). Por meio de análise de regressão, considerando-se a matéria seca da parte aérea produzida em função das doses de As aplicadas, foram estipulados os teores críticos de As na planta (TC) que proporcionaram a redução de 50 % de matéria seca produzida em relação às plantas controle. Substituindo-se os valores de TC na planta na equação de teores de As disponíveis no solo com 15 dias de incubação ($\hat{y} = -3{,}3525+0{,}3252x$ $R^2 = 0{,}99$), foi estimado o teor crítico (TC) de As disponível no solo que proporcionou a redução de 50 % da matéria seca produzida. Por meio do acúmulo de As, calcularam-se os índices de translocação (IT) desse elemento pela razão entre a quantidade acumulada na parte aérea, raízes e total e a quantidade acumulada na planta (Abichequer e Bohnen, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sintomas de fitotoxidez e produção de matéria seca das plantas

Verificou-se que apenas as plantas de *E. cloeziana* exposta a maior dose de As apresentaram lesões foliares, resultante da toxicidade ao As aos 8 dias de exposição, apresentando folhas basais arroxeadas com clorose internerval, seguida de necrose (Figura 2), sintomas típicos de toxidez por As (O'Neil, 1990). Baseada nos sintomas de fitotoxidez constata-se que, dentre as espécies estudadas, o *E. cloeziana* demonstrou ser a menos tolerante.

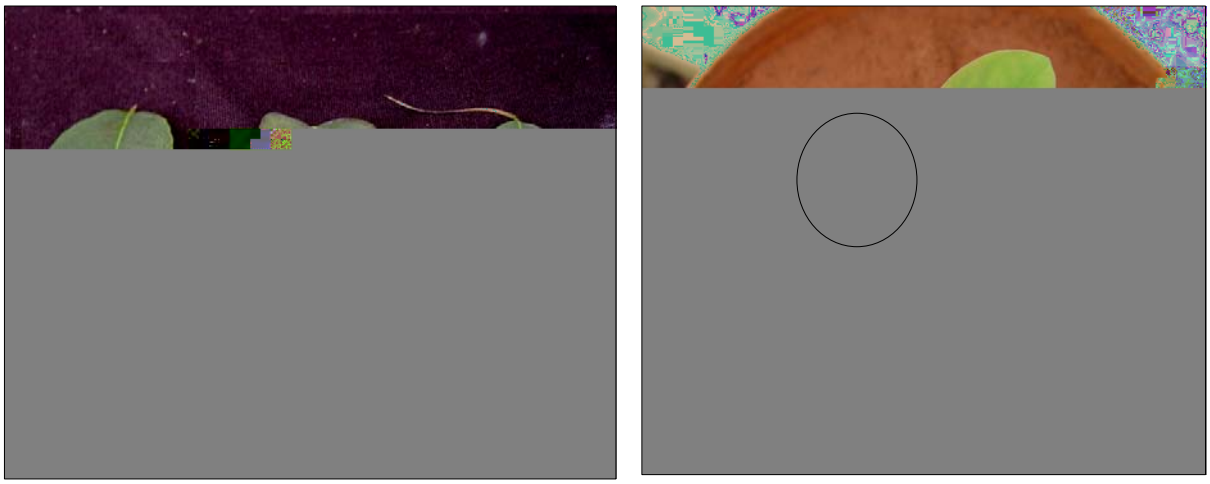


Figura 2. Evolução de sintomas de toxicidade ao As em folhas de *E. cloeziana*.

Contudo, devido ao grande intervalo existente entre as doses fazem-se necessários estudos complementares para determinação da dose máxima de tolerância para esta espécie, que provavelmente, deva estar entre 200 a 400 mg dm^{-3}. As espécies *E. grandis*, *E. urophylla* e *C. citriodora* demonstraram ser tolerantes suportando doses elevadas de As, sem a manifestação de lesões foliares (Figura 3). O que é comprovado pelas maiores doses críticas encontradas ao solo para essas espécies, conforme será discutido adiante.

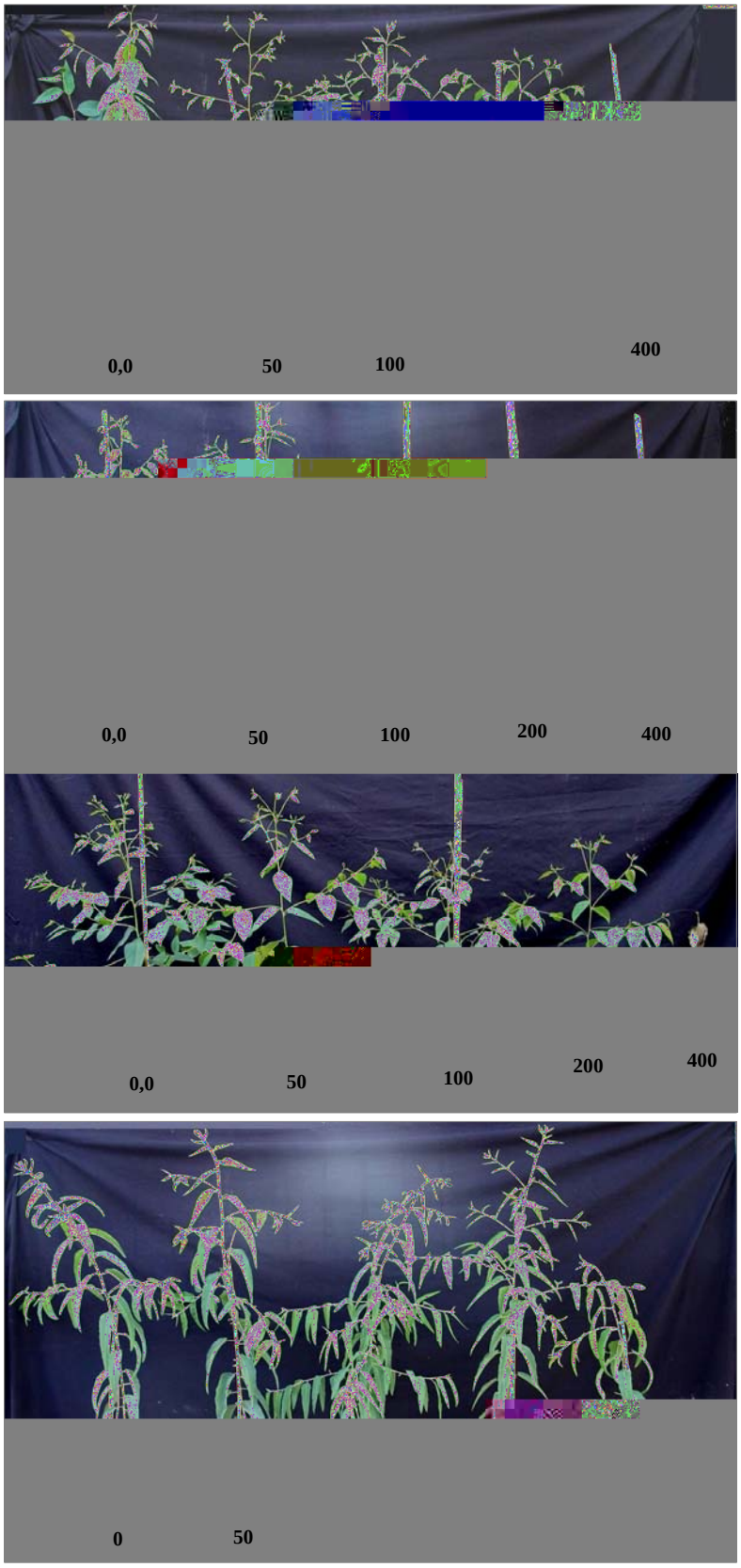
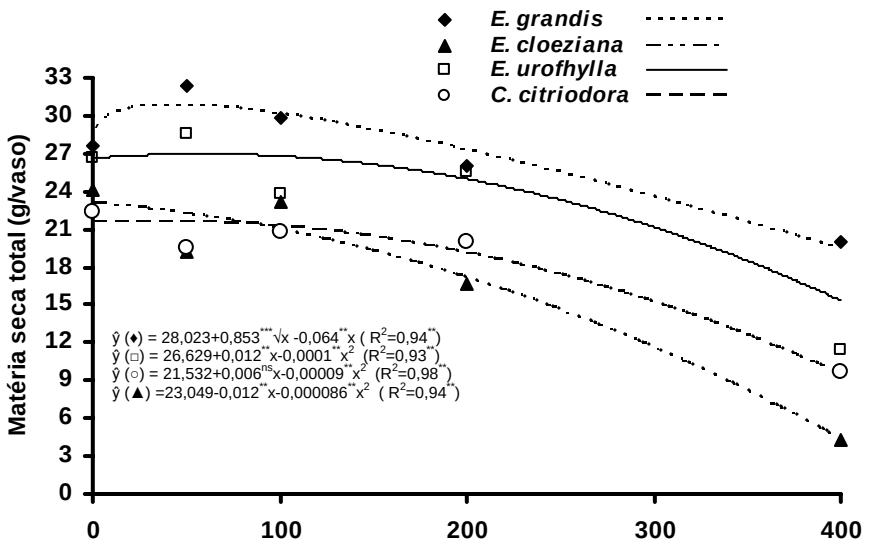


Figura 3. Plantas de *E. grandis* (1), E, cloeziana (2), *E. urophylla* (3) e *C. citriodora* (4) submetidas às doses crescentes de arsênio, aos 90 dias.

A tolerância, definida como a capacidade da planta em conviver com excesso de contaminantes em seus tecidos, é um aspecto fundamental na fitorremediação (Shaw, 1989). A toxicidade causada por As, possivelmente, possa ser explicada pela interferência em vários processos fisiológicos, provocando injúrias nas membranas celulares, pela ligação em grupos sulfidrílicos das proteínas de membrana e pela indução de peroxidação de lipídio (Goyer, 1996). A toxidez por As também pode ser resultante em estresse oxidativo, por meio da geração de espécies reativas de oxigênio, como O_2^-, H_2O_2 e HO. Em condições de toxidez, podem ser ativados alguns mecanismos protetores, como o aumento da atividade de enzimas antioxidantes, entre as quais peroxidase, catalase e superóxido dismutase, que podem aumentar a tolerância das plantas ao estresse (Salisbury & Ross, 1992).

De modo geral, a produção de matéria seca das diferentes espécies estudadas foi influenciada significativamente ($p \leq 0,01$), com exceção da matéria seca radicular para *C. citriodora* que não variou com as doses de As aplicadas (Figura 4). Foi possível constatar ganho na produção de matéria seca, de tal forma que o *E. grandis* apresentou maior produção de matéria seca, com ganho de matéria seca na parte aérea de 21 % e 8 %, nas doses de 50 e 100 mg dm^{-3} e no sistema radicular de 5 % e 6 %, respectivamente. Sendo que nas plantas de *E. urophylla* o ganho foi na ordem de 10 % na dose de 50 mg dm^{-3}, em relação à planta controle. Esses resultados corroboram com os encontrados por Tu et al., (2002), que constataram aumento de até 107 % na produção de matéria seca em plantas de *Pteris vittata* quando submetidas às doses de 50 e 100 mg kg^{-1} após 12 semanas de exposição. Possivelmente o aumento na matéria seca dessas plantas tenha sido proveniente da disponibilidade de fósforo, uma vez que o arsênio pode deslocar o fósforo adsorvido no solo.


E. grandis
E. cloeziana
E. urofhylla
C. citriodora
Matéria seca total (g/vaso)
33
30
27
24
21
18
15
12
9
6
3
0
0
100
200
300
400
ŷ (♦) = 28,023+0,853***√x -0,064**x (R2=0,94**)
ŷ (□) = 26,629+0,012**x-0,0001**x2 (R2=0,93**)
ŷ (○) = 21,532+0,006nsx-0,00009**x2 (R2=0,98**)
ŷ (▲) =23,049-0,012**x-0,000086**x2 (R2=0,94**)

A dose de 400 mg dm^{-3} de As promoveu redução da ordem de 31 %, 84 %, 61 % e 62 %, na produção de matéria seca da parte aérea, respectivamente para *E, grandis*, *E. cloeziana*, *E. urophylla* e *C. citriodora*, quando comparado com a produção de matéria seca da planta controle (Figura 4). As plantas de *E. cloeziana* apresentaram maior redução na matéria seca da parte aérea, principalmente em função da fitotoxicidade apresentada por essa espécie, quando submetida a maior dose de As.

A detecção ou a avaliação de danos biológicos decorrentes da poluição química pode ser feita, mediante alterações nos processos bioquímicos e fisiológicos das plantas, que podem resultar em produção, acumulação e ativação de compostos na forma de enzimas ou metabólitos em resposta ao estresse, favorecendo assim, redução na produção de matéria seca e no crescimento radicular (Pandolfini et al., 1997; Hauschild, 1993).

A produção de raízes variou entre as espécies estudadas, havendo redução significativa ($p \leq 0,01$) para *E. grandis*, *E. cloeziana* e *E. urophylla*, ajustando-se equações do tipo linear e raiz quadrada (Tabela 2). A maior produção de matéria seca foi observada nas plantas de *E. grandis*, seguida de *E. urophylla* com redução de 18 % e 38 %, respectivamente, na dose 400 mg dm^{-3}, quando comparada com a planta controle.

Não houve efeito de doses para a produção de matéria seca nas plantas de *C. citriodora*, quando submetidas a diferentes doses de As, o que pode está relacionado a mecanismos de tolerância da espécie a esse metalóide. A significativa redução observada nas plantas de *E. cloeziana*, estar diretamente ligada ao estresse causado pelo As, fato este também evidenciado na redução de matéria seca da parte aérea, principalmente na doses de 400 mg dm^{-3}, apresentando redução de até 70 % quando comparada à produção de raízes da planta controle (Figura 4).

O impacto que os metais pesados exercem na produção de raízes depende da sensibilidade da planta e da intensidade de contaminação, sendo consideradas espécies tolerantes aquelas que apresentam produção de raízes significativas em solos contaminados (Punz & Sieghardt, 1993). A produção de raízes é uma característica importante quanto à fitoestabilização de áreas contaminadas com metais pesados, pois protege o solo da erosão, reduz a lixiviação, favorece a agregação e a atividade microbiana do solo (Caneiro et al., 2002).

De modo geral, foi possível observar que, entre as espécies estudadas, as plantas de *E. cloeziana* demonstraram ser sensíveis ao As, com reduzida produção de matéria seca, quando submetida, principalmente na maior dose de As. No entanto, estudos adicionais devem ser realizados para determinação dos teores máximos de tolerância. Espécies

sensíveis como *E. cloeziana* poderá ser utilizada como bioindicadora de As no ambiente. Porém, o emprego de plantas bioindicadoras de efeito, portanto, não pretende e nem consegue substituir medições de concentrações ambientais de poluentes através de métodos físico-químicos, mas fornece informações adicionais referentes aos efeitos sobre organismos vivos (Arndt et al. 1995, Klumpp 2001).

Altura, diâmetro de plantas, área foliar e razão R/PA

Todas as espécies estudadas apresentaram decréscimo significativo ($p \leq 0,01$) na altura de plantas, com resposta tipo raiz quadrada e quadrática (Figura 5). A altura de planta variou em todas as espécies e com as doses aplicadas, apresentando redução de 35 %, 44 %, 22 % e 36 %, para *E. grandis*, *E. cloeziana*, *E. urophylla* e *C. citriodora*, respectivamente, na dose de 400 mg dm^{-3} quando comparada com a planta controle. As plantas de *E. urophylla* tiveram a altura menos afetada pela presença do As, o que, provavelmente, se deve ao fato de que este tenha sido pouco absorvido e translocado para parte aérea, sugerindo a existência de um mecanismo efetivo de controle interno, que controla tanto a absorção quanto a translocação do metalóide, para os tecidos da parte aérea.

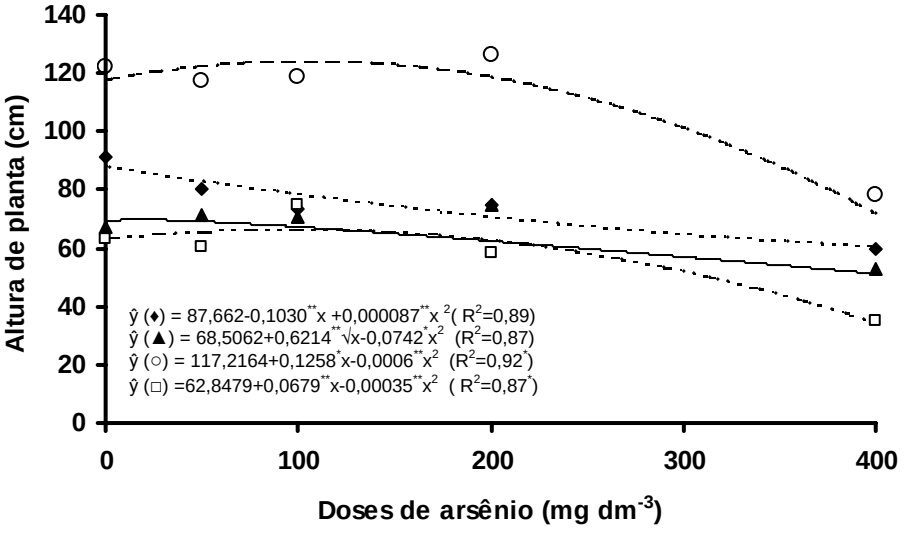


Figura 5. Altura das plantas de *E. grandis* (...♦), *E. cloeziana* (_ _ □), *E. urophylla* (__ ▲) e *C. citriodora* (----○) submetidas a diferentes doses de As no solo. * * e * efeito significativo a 1 % e 5 % de probabilidade, respectivamente pelo teste F.

Embora com efeito significativo de dose, ao longo do período experimental observou-se, elevado aumento na altura das plantas (Tabela 2) com o maior incremento constatado no intervalo entre 30-60 dias após o transplantio nas espécies *E. grandis*, *E. cloeziana* e *C. citriodora*. As plantas de *E. cloeziana*, após os 60 dias de exposição na dose de 400 mg dm^{-3}, tiveram morte da gema apical das plantas, o que caracteriza essa espécie sensível a elevada doses de As. Porém, o *E. urophyla*, apresentou maior incremento entre 60 a 90 dias, chegando a apresentar ganho na altura de até 0,94 cm por dia na doses de 100 mg dm^{-3}. O incremento na altura das plantas de *C. citriodora* tem maior destaque, chegando a um crescimento médio de 1,08 cm por dia na doses de 400 mg dm^{-3}, com 30 a 60 dias de exposição.

De modo geral, durante todo período experimental, as plantas tiveram um incremento total em altura na ordem de 73 %; 96 % e 142 %, respectivamente, para *E. urophylla, E. grandis e C. citriodora* na doses de 400 mg dm^{-3}, quando comparada com a altura inicial (avaliação no dia do transplantio). Esse comportamento evidencia baixa influência do As na altura das plantas, muitas vezes com até ganho no crescimento quando submetidas as doses de As até 200 mg dm^{-3}, como observada nas plantas de *E. cloeziana*, *E. urophylla* e *C. citriodora* aos 60 a 90 dias (Tabela 2) nas doses de 50, 100 e 200 mg dm^{-3}.

O aumento das doses de As no solo também exerceu efeito diferenciado no diâmetro de colo das plantas estudadas (Figura 6). Observou-se que as plantas de *E. grandis* apresentaram maiores valores, com redução de 28 % na doses de 400 mg dm^{-3} em relação à planta controle. Os diâmetros das plantas de *E. cloeziana* e *E. urophylla* apresentaram redução de 15 % e 25 %, respectivamente, na dose de 400 mg dm^{-3}, em relação à planta controle. As plantas de *C. citriodora* não apresentaram efeito de doses sobre o díametro de colo.

Assim como ocorreu com a altura, o diâmetro das plantas também apresentou acentuado acréscimo, durante todo o período experimental para todas as espécies (Tabela 3). No entanto, quanto ao incremento no diâmetro foi constatado que mesmo com a redução do incremento em altura dos 60 a 90 dias, as plantas de todas as espécies continuaram a aumentar o diâmetro. Esse comportamento sugere a influência do As nas células meristemáticas primárias e secundárias ou câmbio, as quais são responsáveis pelo crescimento linear e de circunferência, respectivamente das plantas (Husch et al., 1982).

Tabela 2. Altura e incremento de altura ao longo do período experimental das plantas de *E. grandis*, *E. cloeziana*, *E. urophylla* e *C. citriodora* submetidas a diferentes doses de As no solo.

ESPÉCIES	DOSES	DIAS APÓS O TRANSPLANTIO						
	mg dm^{-3}	Altura de planta				Incremento de altura		
		0	30	60	90	30	60	90
		.....cm						
E.grandis	0	21,57	36,23	70,00	91,02	14,66	33,77	21,01
	50	20,70	33,83	61,50	81,83	13,13	27,67	20,33
	100	21,83	33,13	61,00	73,77	11,30	27,87	12,77
	200	20,77	33,40	58,00	75,00	12,63	24,60	17,00
	400	20,10	29,83	45,83	59,55	9,73	16,00	13,72
	$\overline{X}$	20,99^{ns}	33,28**	59,27**	76,23**			
E. cloeziana	0	11,00	23,27	47,17	62,83	12,27	23,90	15,66
	50	10,58	21,37	42,83	60,60	10,79	21,46	17,77
	100	11,37	19,17	47,00	74,57	7,80	27,83	27,57
	200	11,57	18,47	39,83	58,33	6,90	21,36	18,50
	400	11,37	13,23	34,33	29,37	1,86	21,10	-4,96*
	$\overline{X}$	11,18^{ns}	19,10**	42,23**	57,14**			
E.urophylla	0	20,00	32,73	52,17	67,50	12,73	19,44	15,33
	50	18,23	32,00	45,33	71,57	13,77	13,33	26,24
	100	18,40	29,60	40,67	70,57	11,20	11,07	29,90
	200	18,37	29,50	53,67	74,75	11,13	24,17	21,08
	400	19,33	28,40	44,00	52,83	9,07	15,60	8,83
	$\overline{X}$	18,87^{ns}	30,45*	47,17*	67,44**			
C. citriodora	0	22,43	43,70	91,67	122,33	21,27	47,97	30,66
	50	22,00	41,90	83,50	117,43	19,90	41,60	33,83
	100	21,03	40,07	84,67	118,83	19,04	44,60	34,16
	200	23,83	38,33	80,17	116,40	14,50	41,84	36,23
	400	22,83	31,39	63,67	78,19	8,56	32,28	14,52
	$\overline{X}$	22,42^{ns}	39,08^{ns}	80,74*	110,64**			

* * ,* e ^{ns} efeito significativo a 1 % e 5 % de probabilidade e não significativo, respectivamente pelo teste F.
* morte da gema apical

Houve incremento da razão raiz /parte aérea (R/PA) com o aumento das doses em todas as espécies estudadas, indicando que o efeito do As na produção de massa seca da parte aérea é mais prejudicial nas concentrações mais elevadas (Figura 7). A área foliar total (AFTotal) variou entre as espécies, no entanto, *E. grandis* teve sua área foliar menos influenciada pelas doses, no entanto nas espécies *E. cloesiana* e *C. citriodora* observou-se redução progressiva com a elevação das doses de As (Figura 8). A matéria seca do sistema radicular não é necessariamente um indicativo da área total de absorção, pois modificações na arquitetura do sistema podem ocorrer sem provocar alterações para esta característica (Hodge, 2004).

Tabela 3. Diâmetro e incremento de diâmetro ao longo do período experimental das plantas de *E. grandis*, *E. cloeziana*, *E. urophylla* e *C. citriodora* submetidas a diferentes doses de As no solo. * * ,* e ^{ns} efeito significativo a 1 % e 5 % de probabilidade e não significativo, respectivamente pelo teste F.

ESPÉCIES	DOSES	DIAS APÓS O TRANSPLANTIO						
	mg dm^{-3}	Diâmetro de planta (mm)				Incremento de altura (mm)		
		0	30	60	90	30	60	90
		.....mm.....						
E. grandis	0	1,90	3,79	5,45	9,29	1,89	1,66	3,84
	50	1,98	3,66	5,37	8,63	1,68	1,71	3,26
	100	2,12	3,57	5,20	8,65	1,45	1,63	3,45
	200	1,94	3,09	5,07	6,98	1,15	1,98	1,91
	400	2,06	3,14	4,88	6,99	1,08	1,74	2,11
	$\overline{X}$	2,00^{ns}	3,45**	5,19***	8,11**			
E. cloeziana	0	1,99	3,46	5,02	7,95	1,47	1,56	2,93
	50	1,85	2,59	4,98	7,76	0,74	2,39	2,78
	100	2,22	3,28	5,12	7,28	1,06	1,84	2,16
	200	2,42	3,68	4,38	6,79	1,26	0,70	2,51
	400	2,50	3,89	4,10	5,95	1,39	0,21	1,57
	$\overline{X}$	2,20^{ns}	3,38^{ns}	4,72**	7,15*			
E. urophlylla	0	2,04	4,04	5,87	7,95	2,00	1,83	2,08
	50	1,89	3,61	5,57	7,76	1,72	1,96	2,19
	100	1,93	3,62	4,96	7,28	1,69	1,34	2,32
	200	2,07	3,42	4,87	6,79	1,35	1,45	1,92
	400	2,02	3,66	4,63	5,95	1,64	0,97	1,32
	$\overline{X}$	1,99^{ns}	3,67*	5,18*	7,15**			
C. citriodora	0	2,15	3,38	4,75	5,93	1,23	1,37	1,18
	50	2,25	3,28	4,38	6,16	1,03	1,10	1,78
	100	1,90	3,17	4,72	5,79	1,27	1,55	1,07
	200	2,21	3,33	5,17	6,73	1,12	1,84	1,56
	400	2,37	2,82	4,62	5,44	0,45	1,80	0,82
	$\overline{X}$	2,18^{ns}	3,20^{ns}	4,73^{ns}	6,01^{ns}			

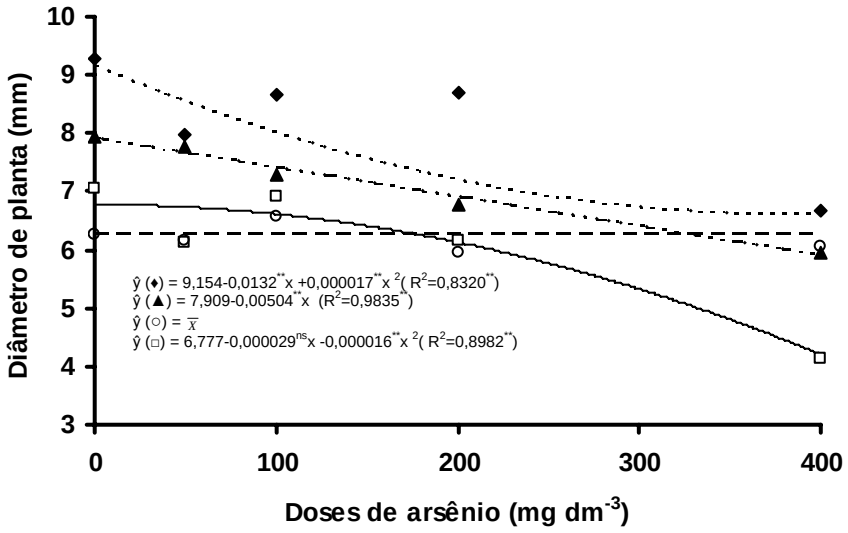


Figura 6. Diâmetro de colo de plantas de *E. grandis* (...♦), *E. cloeziana* (_ _ _□), *E. urophylla* (__ ▲) e *C. citriodora* (----○) submetidas a diferentes doses de As no solo. ** e ^{ns} efeito significativo a 1 % de probabilidade e não significativo, respectivamente pelo teste F.

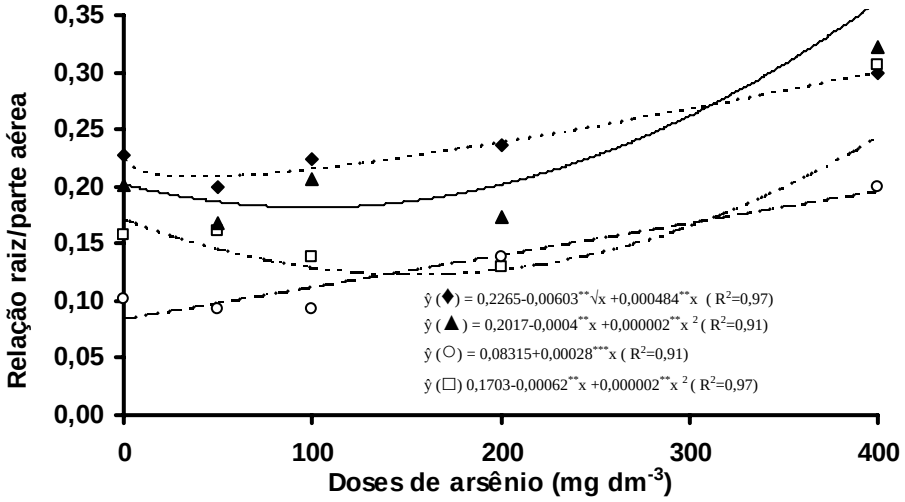


Figura 7. Relação raiz/parte aérea em plantas de *E. grandis* (...♦), *E. cloeziana* (_ _ _□), *E. urophylla* (__ ▲) e *C. citriodora* (----○) submetidas a diferentes doses de As no solo. ** e *** efeito significativo a 1 % e 10 % de probabilidade, respectivamente pelo teste F.

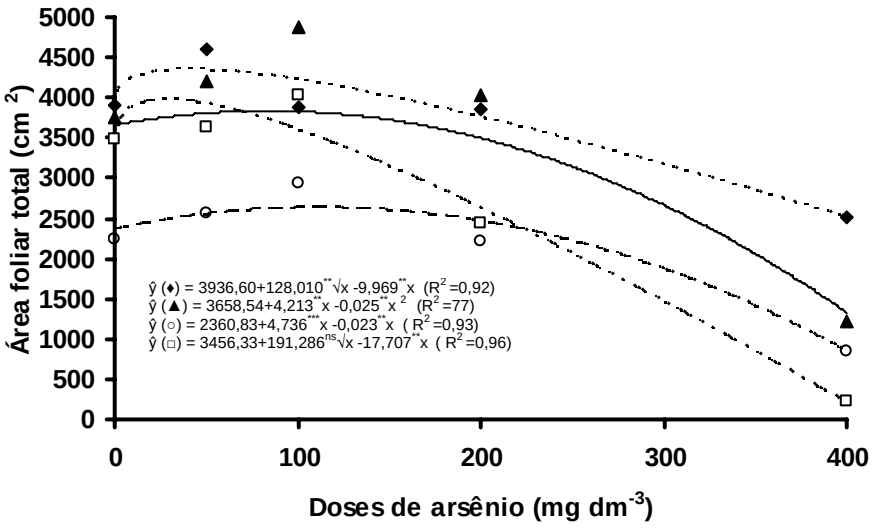


Figura 8. Área foliar total de plantas de *E. grandis* (...♦), *E. cloeziana* (_ _ __□), *E. urophylla* (__ ▲) e *C. citriodora* (----○) submetidas a diferentes doses de As no solo. ** e ^{ns} efeito significativo a 1 % de probabilidade e não significativo, respectivamente pelo teste F.

Teores e conteúdos de arsênio nos diferentes compartimentos das plantas

Observou-se acentuado aumento nos teores de As na matéria seca da parte aérea e das raízes como o aumento das doses de As (Tabela 4). O teor de As nas raízes apresentou efeito diferenciado entre as espécies, sendo seus valores maiores do que aqueles encontrados para a parte aérea. Para os teores de As nos diferentes compartimentos, ajustaram-se os modelos raiz quadrada, quadrático e linear (Tabela 5).

O As é um elemento que é pouco translocado para a parte aérea, com baixo nível de transferência na cadeia trófica (Berton, 2000). No entanto, a distribuição diferenciada de elementos tóxicos nos compartimentos da planta é, de certo modo, relacionada com a absorção e translocação do elemento como observado em plantas de leucena, feijão guandu e sesbania (Capítulo 3) e pode estar diretamente relacionada a mecanismos de tolerância (Accioly & Siqueira, 2000). A distribuição dos metais absorvidos nos diferentes órgãos da planta é também muito diferenciada (Brune et al, 1994). Essa informação é de fundamental importância na seleção de espécies destinadas para fitorremediação.

Os maiores teores foram constatados no sistema radicular das plantas de *E. grandis* (222,37 mg kg^{-1}), *E. cloeziana* (305,72 mg kg^{-1}) e *C. citriodora* (253,86mg kg^{-1}). Apesar dos maiores teores terem sido encontrados no sistema radicular nas plantas de *E. cloeziana*,

a concentração de apenas 5,75 mg kg^{-1} em suas folhas basais foi suficiente para promover o aparecimento de lesões foliares. Concentrações desse elemento entre 0,1 e 5,0 mg kg^{-1} na matéria seca da parte aérea são consideradas tóxicas para plantas (Wauchope, 1983). Para outros autores o limite de toxicidade para as plantas é de apenas 2 mg kg^{-1} (Kabata-Pendias et al., 1985; Pratas, 1996). A toxicidade ao As também é manifestada pelo menor desenvolvimento das raízes com reflexos na absorção de água e nutrientes (Mengel & Kirkby, 1979).

Entre os compartimentos da parte aérea estudados destacam-se os teores de As no caule na dose de 400 mg dm^{-3}, em todas as espécies, com valores bastante elevados, quando se compara com os teores na dose de 200 mg dm^{-3} (Tabela 4), chegando a ser superior na ordem de 870 %, 900 % e 476 %, respectivamente para *E. grandis*, *E. urophylla* e *C. citriodora*. Apesar do elevado teor de As nas raízes, essas espécies apresentaram baixa tranlocação de As para a parte aérea, e essa característica pode explicar a menor sensibilidade ao As.

De modo geral, os teores de As na parte aérea das plantas de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. cloeziana* e *E. urophylla* foram relativamente baixos, o que indica baixa capacidade de translocação do elemento para a parte aérea, com exceção para as plantas de E. grandis e C. citriodora que apresentaram tendência de acumular no caule apresentando teores que chegaram a ser 13 e 12 vezes superiores, respectivamente a concentração de arsênio em plantas normais, (considerando o limite de 5 mg kg^{-1}) que, conforme Wauchope, (1983), algumas plantas podem acumular níveis elevados de metais chegando a 1000 vezes mais que o nível normal, acumulado pela maioria das espécies.

As espécies que apresentaram maiores teores de As no caule apresentam, também, potencial para imobilização do As, no sistema radicular. Provavelmente, estas variações de comportamento entre espécies devam-se ao potencial adaptativo e genético de cada espécie, revelando a grande plasticidade existente entre as espécies do gênero Eucalyptus. As características de rápido crescimento, sistema radicular bastante desenvolvido e facilidade de aclimatação tornam o eucalipto uma espécie com potencial para emprego em programas de recuperação de áreas degradadas pela deposição de As.

Tabela 4. Teores de arsênio em folhas jovens (FJ), intermediárias (FI), basais (FB), ramos (Ra), caule (C) e raízes (R) em plantas em *E. grandis*, *E. cloeziana*, *E. urophylla* e *C. citriodora* em função de diferentes doses de arsênio

ESPÉCIES	DOSES	AsFj	AsFI	AsFB	AsRa	AsC	AsR
	mg dm^{-3}	.....mg kg^{-1}.....					
	0	*	*	*	*	*	*
E.grandis	50	0,55	1,25	1,95	0,59	1,00	21,97
	100	0,99	2,39	1,03	1,34	1,39	99,13
	200	1,23	4,03	11,88	2,42	6,61	159,70
	400	2,69	8,53	11,06	6,73	64,13	222,37
	CV(%)	8,73	8,72	2,77	4,06	4,06	1,38
E. cloeziana	0	*	*	*	*	*	*
	50	0,82	1,78	1,83	1,38	1,07	17,47
	100	1,19	2,44	3,93	1,87	2,64	44,85
	200	2,93	3,30	6,66	3,21	3,62	152,56
	400	2,82	3,01	5,75	0,86	36,20	305,72
	CV(%)	4,62	7,27	5,77	9,27	10,36	2,73
E.urophylla	0	*	*	*	*	*	*
	50	1,72	2,88	4,14	2,22	2,15	19,02
	100	2,10	3,86	7,79	3,03	4,27	64,15
	200	2,61	5,59	12,30	3,29	4,32	79,20
	400	3,13	3,80	5,39	3,84	11,05	87,71
	CV(%)	9,57	16,27	6,63	10,39	10,09	4,94
C. citriodora	0	*	*	*	*	*	*
	50	2,97	3,04	4,46	2,66	2,81	27,99
	100	3,46	5,15	8,87	3,37	4,95	98,05
	200	5,72	5,51	12,30	4,27	10,54	143,83
	400	8,45	12,43	10,84	4,38	60,75	253,86
	CV(%)	8,17	12,79	14,22	9,79	4,22	4,83

* Concentrações abaixo do limite de detecção pelo método de dosagem (ICP/AES)

As doses crescentes de As no solo influenciaram de forma significativa ($p \leq 0,01$) os teores (Tabela 5) e conteúdos (Tabela 6) de As nas diferentes partes das plantas, em todas as espécies estudadas.

O acúmulo total de As nas espécies estudadas em solo contaminado variou de 0,46 a 2,46 mg planta^{-1}, indicando comportamento muito diferenciado entre as espécies em relação ao acúmulo desse elemento (Tabela 6). Plantas de *E. grandis* e *C. citriodora* apresentaram maior quantidade relativa desse elemento na parte aérea, principalmente na maior dose (400 mg dm^{-3}), O que sugere que essas espécies apresentam capacidade de translocação do As, imobilizando principalmente no caule, como discutido anteriormente.

Espécies com essa característica podem facilitar o processo de fitoextração do As evitando sua entrada nos componentes do ecossistema, tendo-se em vista que o caule (a madeira) tem elevado valor econômico e pode ser utilizado pela indústria para diversos

fins. As plantas de *E. cloeziana* e *E. urophylla* os maiores conteúdos na parte aérea foram constatados nas doses de 100 e 200 mg dm^{-3}.

Tabela 5. Equações de regressão para teores[1)] de arsênio em folhas jovens (FJ), intermediárias (FI), basais (FB), ramos (Ra), caule (C) raízes (R), arsênio do solo no final do experimento (AsDisp), conteúdo de arsênio na parte aérea (PA), conteúdo nas raízes (R), conteúdo total na planta (CAsT) em *E. grandis*, *E. cloeziana*, *E. urophylla* e *C. citriodora* em função de diferentes doses de arsênio aplicadas no solo [(x)]

ESPÉCIES	COMPARTIMENTOS	EQUAÇÃO DE REGRESSÃO	R^2
	FJ[1)]	$\hat{y} = 0{,}148+0{,}0063^{**}x$	0,97
E. grandis	FI[1)]	$\hat{y} = 0{,}106+0{,}0289^{**}x$	0,99
	FB[1)]	$\hat{y} = -1{,}137+0{,}08238^{**}x-00013^{**}x^2$	0,99
	Ra[1)]	$\hat{y} = 0{,}093+0{,}0084^{**}x+000020^{**}x^2$	0,99
	C[1)]	$\hat{y} = 2{,}084-0{,}0923^{**}x+0{,}00064^{**}x^2$	0,99
	R[1)]	$\hat{y}= -0{,}548+1{,}0696^{**}x-0{,}00128^{**}x^2$	0,99
	AsDisp[2)]	$\hat{y} = -1{,}817+0{,}08635^{**}x+0{,}000437^{**}x^2$	0,99
	CAsPA[3)]	$\hat{y} = -0{,}060+0{,}00359^{**}x$	0,98
	CAsR[3)]	$\hat{y} = 0{,}005+0{,}0056^{**}x-0{,}000008^{**}x^2$	0,99
	CAsT[3)]	$\hat{y}= 0{,}095+0{,}0060^{**}x$	0,99
E. cloeziana	FJ	$\hat{y} = -0{,}114+0{,}02033^{**}x-0{,}000032^{**}x^2$	0,96
	FI	$\hat{y} = 0{,}206+0{,}0256^{**}x-0{,}000047^{**}x^2$	0,96
	FB	$\hat{y} = -0{,}234+0{,}02183^{**}x-0{,}000092^{**}x^2$	0,99
	Ra	$\hat{y} = -0{,}020+0{,}0284^{**}x -0{,}000065^{**} x^2$	0,98
	C	$\hat{y} = 1{,}474-0{,}04328^{**}x +0{,}00032^{**}x^2$	0,98
	R	$\hat{y} = -10{,}511+0{,}6841^{**}x +0{,}000283^{**}x^2$	0,99
	AsDisp	$\hat{y} = -9{,}494+0{,}2805^{**}x$	0,97
	CAsPA	$\hat{y} = 0{,}007+0{,}0027^{**}x-0{,}000006^{**} x^2$	0,97
	CAsR	$\hat{y} = -0{,}023+0{,}002036^{**}x -0{,}00003^{**} x^2$	0,97
	CAsT	$\hat{y} =-0{,}017+0{,}0047^{**}x -0{,}000009^{**} x^2$	0,99
E. urophylla	FJ	$\hat{y} = 0{,}024+0{,}2667^{**}\sqrt{x} -0{,}0056^{**}x^2$	0,99
	FI	$\hat{y} = 0{,}305+0{,}0458^{**}x-0{,}000093^{**}x^2$	0,95
	FB	$\hat{y} = -0{,}343+0{,}10796^{**}x -0{,}00023^{**}x^2$	0,99
	Ra	$\hat{y} = 0{,}021+0{,}3803^{**}\sqrt{x} -0{,}0095^{**}x$	0,99
	C	$\hat{y} = 0{,}533+0{,}0258^{**}x$	0,94
	R	$\hat{y} = -1{,}446+0{,}6209^{**}x -0{,}00105^{**}x^2$	0,95
	AsDisp	$\hat{y} = -0{,}871+0{,}0659^{**}x+0{,}00046^{*}x^2$	0,99
	CAsPA	$\hat{y} = 0{,}026+0{,}00537^{**}x -0{,}00012^{**} x^2$	0,98
	CAsR	$\hat{y} = -0{,}005+0{,}00266^{**}x -0{,}000005^{**} x^2$	0,93
	CAsT	$\hat{y} = 0{,}021+0{,}00803^{**}x -0{,}000017^{**} x^2$	0,99
C. citriodora	FJ	$\hat{y} = 0{,}486+0{,}0351^{**}x-0{,}000038^{**}x^2$	0,97
	FI	$\hat{y} = 0{,}993+0{,}02822^{**}x$	0,95
	FB	$\hat{y} = 0{,}128+0{,}0991^{**}x-0{,}000181^{**}x^2$	0,99
	Ra	$\hat{y} = -0{,}021+0{,}47068^{**}\sqrt{x} -0{,}0127^{**}x$	0,99
	C	$\hat{y} = 1{,}892-0{,}0364^{**}x-0{,}00046^{**}x^2$	0,99
	R	$\hat{y} = -2{,}085+0{,}8936^{**}x -0{,}00064^{**}x$	0,98
	AsDisp	$\hat{y} = -0{,}267+0{,}07382^{**}x+0{,}00037^{**}x^2$	0,99
	CAsPA	$\hat{y} = 0{,}026+0{,}005118^{**}x-0{,}000008^{**} x^2$	0,99
	CAsR	$\hat{y} = -0{,}009+0{,}00193^{**}x -0{,}000002^{**} x^2$	0,98
	CAsT	$\hat{y} = 0{,}017+0{,}00706^{**}x -0{,}000010^{**} x^2$	0,99

** e * significativo a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.
1) Teores de arsênio (mg kg^{-1})
2) As disponível Mehlich 3 após a coleta do experimento
3) Conteúdos de As (mg $vaso^{-1}$)

Acúmulo de As preferencialmente na parte aérea pode contribuir para imobilização do elemento na vegetação, tornando as espécies promissoras para programas de fitoextração, desde que essas tolerem as condições de contaminação.

Tabela 6. Conteúdo de arsênio na parte aérea (PA), raízes (R), total (T) e arsênio disponível no solo após a coleta das plantas (AsDisp) em plantas de *E. grandis*, *E. cloeziana*, *E. urophylla* e *C. citriodora* em função de diferentes doses de arsênio aplicadas no solo

ESPÉCIE	DOSES	PA	R	T	AsDisp
E. grandis	mg dm^{-3}	.....mg planta^{-1}.....			mg dm^{-3}
	0	*	*	*	*
	50	0,14	0,12	0,39	2,62
	100	0,26	0,54	0,80	8,05
	200	0,55	0,79	1,34	35,73
	400	1,44	1,02	2,46	102,21
	CV (%)	15,48	5,50	5,39	5,43
E. cloeziana	0	*	*	*	*
	50	0.12	0.05	0,17	2.91
	100	0.25	0.13	0,37	12.37
	200	0.29	0.29	0,58	39.74
	400	0.16	0.30	0,46	107.90
	CV(%)	4,65	5,16	3,97	3,04
E. urophylla	0	*	*	*	*
	50	0,32	0,08	0,40	2,10
	100	0,41	0,26	0,67	10,60
	200	0,61	0,30	0,91	31,17
	400	0,23	0,24	0,48	99,04
	CV(%)	11,24	5,33	8,83	5,70
C. citriodora	0	*	*	*	*
	50	0,29	0,05	0,33	2,88
	100	0,48	0,20	0,68	12,62
	200	0,69	0,29	0,98	28,38
	400	0,75	0,47	1,22	87,85
	CV(%)	5,18	9,98	4,63	12,46

* Concentrações abaixo do limite de detecção pelo método de dosagem (ICP/AES)

O *E. grandis* apresentou acúmulo de 1,44 mg planta^{-1} na parte aérea, chegando a atingir um total de 2,46 mg planta^{-1} quando submetida a dose de 400 mg dm^{-3}, com 90 dias de exposição. Visto que as plantas de *E. grandis* tiveram seu crescimento e matéria seca pouco influenciada, esta espécie é promissora em programas de fitorremediação, especificamente fitoextração, podendo ser empregada em áreas com elevadas concentrações de As. Contudo, em relação ao *E. urophylla* e *C. citriodora*, mesmo apresentando redução acentuada nos parâmetro de crescimento, essas espécies também são

promissoras em programas de fitorremediação, precisamente, fitoestabilização, justificada pela ausência de sintomas de toxidez e pela imobilização do As no sistema radicular. No entanto, estudos devem ser realizados para conhecer o comportamento dessas espécies em doses maiores que as utilizadas nesse ensaio, provavelmente o tempo de exposição tenha sido pequeno e que o potencial dessas como fitoextratoras possam ser aprimorado quando exposta por ao As por longo período.

A habilidade das espécies de eucalyptus tolerar elevadas doses de As é um excepcional indicativo do uso dessas espécies em programas de fitorremediação, visto que para seleção de espécies com potencial para descontaminação de solo e água "in situ" é importante levar em consideração o sistema radicular das espécies. Alguns estudos têm sido desenvolvidos com tamarisk (*Tamarix parviflora*) e eucalipto (*Eucalipto camaldulensis*), e foi constatado que as concentrações relativamente altas de arsênio em solo e água não afetaram o crescimento das árvores (Schoebi, 2005).

Os elevados teores de As disponíveis após a coleta das plantas (Tabela 6), encontram-se significativamente superiores ao valor de referência de qualidade para solos do Estado de São Paulo que é de 3,5 mg dm^{-3} de As total (CETESB, 2005), e ao limite de As disponível no solo (12 mg dm^{-3}), no caso dos EUA, para que se iniciem ações de remediação (Chen et al., 2001; Davis et al., 2001).

Índice de translocação e teores críticos de arsênio no solo

De modo geral, as doses de As no solo influenciaram de maneira diferenciada e significativa ($p \leq 0,01$) a translocação de As entre as espécies (Figura 5). Os índices de translocação (IT) calculados para *E. cloeziana*, *E. urophylla* e *C. citriodora* possibilitaram o ajuste de modelos raiz quadrada negativa. Os maiores IT foram constatados na dose de 50 mg dm^{-3} para as três espécies, apresentando valores de 70,79 %, 80,39 % e 86,04 %, respectivamente. A redução do IT com o aumento das doses de As para essas espécies parece ser atribuída aos mecanismos de controle interno da própria espécie, com a finalidade de reduzir e ou evitar o efeito deste na parte aérea.

Nas plantas de *E. grandis* houve aumento no IT, com o aumento das doses, ajustando-se modelo tipo raiz quadrática positiva, alcançando um IT de 58 % na maior dose. Isso indica que essa espécie pode apresentar barreira efetiva de controle no sistema radicular e/ou mecanismo efetivo de controle na translocação do As para a parte aérea sem resultar, em sintomas de toxidez. Este resultado sugere essa espécie como promissora em

programas de fitoextração. Contudo, fazem-se necessários estudos com doses superiores às testadas nesse estudo e com maior tempo de exposição, para compreender melhor o potencial para fitoextração de As por essa espécie.

O comportamento diferencial entre espécies pode ter base genética ou fisiológica, como a possível existência de fitoquelatinas presentes nas raízes, capazes de complexar e transportar o As para o vacúolo evitando assim a toxidez das plantas (Ma et al., 2001).

O maior acúmulo de As na parte aérea está diretamente ligado à elevada produção de matéria seca na parte aérea em relação ao sistema radicular, já que o IT decresceu com o aumento das doses nas espécies *E. cloeziana*, *E. urophylla* e *C. citriodora*. Isso pode indicar baixa capacidade de controle na absorção e/ou maior eficiência no controle da translocação deste metalóide em doses elevadas, evitando que o As chegue aos tecidos metabolicamente mais ativos da parte aérea.

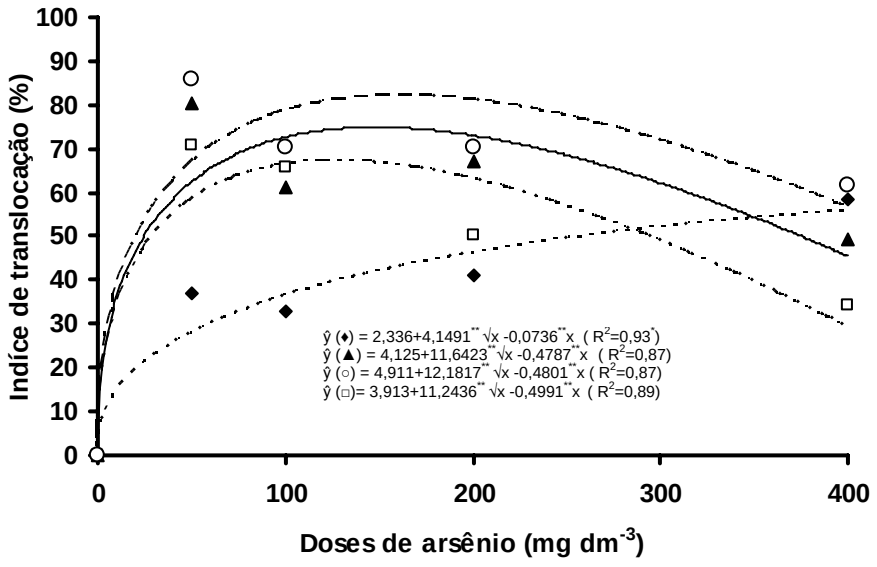


Figura 5. Índice de translocação de arsênio em plantas em *E. grandis*, *E. cloeziana*, *E. urophylla* e *C. citriodora* em função de diferentes doses de arsênio aplicadas no solo. * * e * efeito significativo a 1 % e 5 % de probabilidade, respectivamente pelo teste F.

O teor crítico de As disponível no solo ($TCS_{50\%}$) e teores críticos de As na planta ($TCP_{50\%}$) necessários para reduzir em 50 % a matéria seca da parte aérea, raízes e total (Tabela 5) mostra a influência que a contaminação exerce sobre as plantas (Soares, 1999). A $TCS_{50\%}$ para reduzir a matéria seca da parte aérea diferiu entre espécies, situando-se entre 156,15 e 92,44 mg dm^{-3} de solo. Esses valores encontram-se muito acima da concentração de As em solos não contaminados, que normalmente está abaixo de 10 mg

kg^{-1} (Adriano, 2001), mas, em solos contaminados, podem atingir até 30.000 mg kg^{-1} (Vaughan, 1993).

O E. grandis apresentou maiores $TCS_{50\%}$ em todos os compartimentos, o que caracteriza essa espécie altamente tolerante ao As, requerendo um $TCS_{50\%}$ de 13,01 (parte aérea); 25,63 (raízes) e 14,02 (total) vezes acima do limite de As disponível para iniciar ações de remediação que é 12 mg kg-1 (Chen et al., 2001; Davis et al., 2001). Os valores $TCP_{50\%}$ para o *E. grandis* mostram que a espécie tem elevada capacidade de absorver e translocar o As necessitando de elevados teores na planta para reduzir em 50% a produção de matéria seca, chegando atingir até 956,70 mg kg^{-1} no sistema radicular.

Tabela 5. Teores críticos de arsênio disponível (Mehlich 3) no solo e na planta necessário para reduzir em 50 % a produção de matéria seca de raízes e parte aérea em *E. grandis*, *E. cloeziana*, *E. urophylla* e *C. citriodora* cultivadas em amostras de um LVA de João Pinheiro, MG

TEOR CRÍTICO NO SOLO	***E.grandis***	***E. cloeziana***	***E.uroflyla***	***C. citriodora***
	---------- mg dm^{-3} ----------			
*$TC_{50\%\ parte\ aérea}$	156,15	92,44	118,69	117,55
$TC_{50\%\ raiz}$	307,58	86,74	174,25	___**
$TC_{50\%\ total}$	168,27	91,53	120,26	119,64
TEOR CRÍTICO NA PLANTA	----------mg kg^{-1}----------			
***$TC_{50\%\ parte\ aérea}$	490,72	294,76	375,50	371,99
$TC_{50\%\ raiz}$	956,70	277,23	546,46	___**
$TC_{50\%\ total}$	528,07	291,93	380,35	379,45

*Teor crítico de As no solo para reduzir em 50 % a produção de matéria seca
** Não houve efeito significativo de dose para matéria seca de raízes
***Teor crítico de As na planta para reduzir em 50 % a produção de matéria seca

Os $TCS_{50\%}$ e $TCP_{50\%}$ necessária para reduzir a matéria seca da parte aérea nas plantas de *E. cloeziana* não variou muito entre os compartimentos, apresentando os menores valores quando comparada com as demais espécies. Esse comportamento comprova a sensibilidade dessa espécie aos teores elevados de As disponível no solo. No entanto, o $TCP_{50\%}$ chega a ser 3,11 vezes superior ao $TCS_{50\%}$ para a parte aérea. Mostrando assim, que a tolerância das plantas não é função apenas dos teores críticos de As no solo que, mas, também dos teores críticos na planta. Com isso, é possível observar que o *E. urophylla* é menos sensível que *E. cloeziana*, necessitando de $TCS_{50\%}$ de 174,25 mg dm^{-3} para reduzir a matéria seca radicular, chegando a atingir $TCP_{50\%}$ de 546,46 mg kg^{-1},

justificando assim, a necessidade de elevado no solo e na planta, principalmente nas raízes, para reduzir em 50% a matéria seca radicular.

A menor sensibilidade apresentada por *E. cloeziana* está em conformidade com os resultados das variáveis de crescimento analisadas, uma vez que essa espécie foi muito afetada quando submetida a maior dose de As (400 mg dm^{-3}).

Para o *C. citriodora* não houve efeito de dose para a produção de matéria seca o que impossibilitou calcular o $TCS_{50\%}$ e $TCP_{50\%}$ para raízes. No entanto, essa espécie apresenta elevada tolerância necessitando de $TCS_{50\%}$ total no solo e na planta $TCP_{50\%}$ de 119,64 mg dm^{-3} e 379,45 mg kg^{-1}, respectivamente.

CONCLUSÕES

As espécies *E. grandis, E, urophyla e C. citriodora* apresentaram elevada tolerância ao As, crescendo satisfatoriamente em solo contendo até 400 mg dm^{-3}. As quantidades acumuladas de As no sistema radicular indicam as espécies com potenciais para serem utilizadas na fitoestabilização de As em solos contaminados pelo metalóide.

A maior capacidade de translocação de As das raízes para a parte aérea observada para o *E. grandis* sugere o potencial dessa espécie também para programas de fitoextração, no entanto, para a confirmação desse potencial são necessários estudos em condições de campo por maior período de exposição ao As.

A espécie *E. cloeziana* mostrou-se como a mais sensível ao As aplicado ao solo.

LITERATURA CITADA

ABICHEQUER, A.D.; BOHNEN, H. Eficiência de absorção, translocação e utilização de fósforo por variedades de trigo. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 22:21-26, 1998.

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V.; V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. Tópicos em ciência do solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 299-352 p. 2000.

ADRIANO, D.C. Trace Elements in the Terrestrial Environment. New York: Springer, 2001. 867p.

ALVAREZ V., H.V. Equilíbrio de formas disponíveis de fósforo e enxofre em dois latossolos de Minas Gerais. Viçosa, MG, 1974. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Curso de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas, Universidade Federal de Viçosa, 1974. 125p.

ALVAREZ V., V. H.; Dias, L.E. Ribeiro Jr., E.S.; Souza, R.B.; Fonseca, C.A. Métodos de análises de enxofre em solos e plantas. Editora UFV. Univer. Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 13p. 2001.

ARNDT, U., FLORES, F. & WEINSTEIN, L. Efeitos do flúor sobre as plantas: diagnose de danos na vegetação do Brasil. Editora UFRGS, Porto Alegre. 1995.155p.

BERTON, R. S. Riscos de contaminação do agroecossistema com metais pesados. In: BETTIOL, W. & CAMARGO, O. A. (eds). Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000, 260 p.

BRUNE, A.; URBACH, W.; DIETZ, K.J. Compartmentation and transport of zinc in barley primary leaves as basic mechanisms involved in zinc tolerance. Plant, Cell and Environment, Oxford, 17:153-162, 1994.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados. Pesq. agropec. bras., Brasília, 37:1629-1638, 2002.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Avaliação Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo, CETESB, São Paulo, Brasil, 2005.

CHEN, M.; MA, L.Q.; HOOGEWEG, C.G. & HARRIS, W.G. Arsenic background concentrations in Florida, U.S.A. surface soils: Determination and interpretation. Environ. Forensics, 2:117-126, 2001.

COTRIM, A. R. Metais pesados na agricultura, conseqüências das elevadas concentrações de mercúrio, cádmio e chumbo no solo. Instituto de Química UNICAMP, Campinas, 1995. 48p.

CUNNINGHAM, S. D.; ANDERSON, T. A.; SCHWAB, A. P.; HSU, F. C. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. Advance in Agronomy, New York, 56:55-114, 1996.

DAVIS, A.; SHERWIN, D.; DITMARS, R. & HOENKE, K.A. An analysis of soil arsenic records of decision. Environ. Sci. Technol., 35:2401-2406, 2001.

ELTROP, L.; BROWN, G.; JOACHIM, O.; BRINKMANN, K. Lead tolerance of betula and salix in the mining area of Mechernich/Germany. Plant and Soil, Dordrecht,131:279-285, 1991.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solos. 2 ed. rev. e atual. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997. 212p.

GOYER R.A.. Toxic effects of metals. In: Klaassen CD ed. Cassarett & Doull's Toxicology- The basic Science of Poisons. Mcgraw Hill. New York, NY, 691-736p. 1996.

HAUSCHILD, M.Z. Chromium content of leaves reveals chromium (III): Stress of higher plants before sensitive biomarkers. Science in the Total Environment, Supplement. 1345-1352 p., 1993.

HODGE, A. The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients. New Phytologist, 162:9-24, 2004.

HUSCH, B.; MILLER, C. I.; BEERS, T. W. Forest Mensuration. 3a ed., John Wiley & Sons. New York: 1982, 402p.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. "Trace elements in soils and plants" third edition, CRC Press, Inc., 1985, 315 p.

KAHLE, H. Response of roots of trees to heavy metals. Environmental and Experimental Botany, Great Britain, 33:99-119, 1993.

KLUMPP, A. Utilização de bioindicadores de poluição em condições temperadas e tropicais. Indicadores Ambientais, Conceitos e Aplicações, 77-94 p., 2001.

MA, L. Q.; KOMAR, K. M.; TU, C.; ZHANG, W. H.; CAI, Y.; KENNELLY, E. D. A fern that hyperaccumulates arsenic, a hardy, versatile, fast-growing plant helps to remove arsenic from contaminated soils. Nature 409:579, 2001.

MENGEL, K. & KIRKBY, E.A. Principles of plant nutrition. 2nd. ed. Switzerland, Worblanfen-Bern: International Potash Institute, 1979, 593p.

O'NEIL, P. Arsenic. In: Heavy Metals in soils. Alloway, B.J., (Ed.). John Willey & Sons,New York. 83-99 p.,1990.

PANDOLFINI, T.; GREMIGNI, P.; GABBRIELLI, R. Biomonitoring of soil health by plants. In: PANKHUST, C.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R. (Ed.). Biological indicators of soil health. New York: CAB, 325-348 p., 1997.

PRATAS J. "Aplicações de Prospecção Biogeoquímica – Selecção de espécies bioindicadoras em algumas áreas mineiras de Portugal" , Portugal, 1064p.Tese (Doutor no Departamento de Ciências da Terra), Universidade de Coimbra, 1996,

PUNZ, W. F.; SIEGHARDT, H. The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals. Environmental and Experimental Botany, Elmsford, 44:85-98, 1993.

RIBEIRO JR, E.S. Adsorção e dessorção de arsênio em solos e substratos de mineração de ouro e práticas de mitigação de drenagem ácida em colunas de lixiviação. Viçosa, MG: UFV, 117p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas), Universidade Federal de Viçosa, 2002.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. Plant physiology. 4.ed. Califórnia: Wadsworth Publishing Company, 1992. 682 p.

SCHOEBI K. Plants like to be poisoned. Checkbiotech. Thursday, March 10, 2005 < www.checkbiotech.org> acesso em: *20 Jul, 2006*.

SHAW, A. J. Heavy metal tolerance in plants: Evolutionary aspects. New York, CRC Press, 1989. 355p.

SOARES, C.R.F.S. et al. Crescimento e nutrição mineral de *Eucalyptus maculata* e *Eucalyptus urophylla* em solução nutritiva com concentração crescente de cobre. Revista Brasileira Fisiologia Vegetal, v.12, p.213-225, 2000.

SOARES, C.R.F.S. et al. FITOTOXIDEZ DE CÁDMIO PARA *Eucalyptus maculata* E *E. urophylla* EM SOLUÇÃO NUTRITIVA. Rev. Árvore, 291:75-183, 2005.

SOARES, C.R.F.S. et al. Toxidez de zinco no crescimento e nutrição de *Eucalyptus maculata* e *Eucalyptus urophylla* em solução nutritiva. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 36:339-348, 2001.

SOARES, C. R. F. S. Toxidez de zinco, cobre, cádmio e chumbo para o eucalipto em solução nutritiva, 1999. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999. 132 p.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. Análise de solo, plantas e outros materiais. Porto Alegre : UFRGS, 1995. 174 p.

TU, C., MA, L.Q. & BONDADA B. Arsenic accumulation in the hyperaccumulaChinese brake and its utilization potential for phytoremediation. J. Environ. Qual. 31:1671-1675, 2002.

VAUGHAN, G. T. The environmental chemistry and fate of arsenical pesticides in cattle tick dip sites and banana land plantations. Melboune: CSIRO Division of Coal Industry, Center for Advanced Analytical Chemistry, NSW, 1993.

WAUCHOPE. R. D. Uptake, translocation and phytotoxicity of arsenic in plants. Chapt. 25, In: W.H Lederer and RJ Fensterheim (eds.), Arsenic: Industrial, Biomedical, Environmental Perspectives. New york: Van Nostrand Reinhold Co. (I). 348-375p 1983.

6.0. CONCLUSÕES GERAIS

PLANTAS ACUMULADORAS		
Sensíveis	Tolerantes	
	Fitoestabilização	Fitoextração
Feijão guandu	Mucuna preta	
Feijão de porco	Azevém	*E. grandis*
Aveia forrageira	Amendoim forrageiro	*C. citriodora*
E. cloeziana	Estilosante	Crotalária
	Sesbania	
	Leucena	
	E. urophylla	

- Feijão guandu, feijão de porco e aveia forageira apresentaram sintomas visuais de toxidez por As com teores disponíveis (Mehlich-3) da ordem de 59 mg dm^{-3} enquanto o *E. cloeziana* na ordem de 129 mg dm^{-3}. Nesse sentido, essas espécies são classificadas como plantas indicadoras (de efeitos) a contaminação por arsênio. No entanto, para solos com concentrações inferiores de As disponíveis, essas espécies podem ser consideradas como tolerantes, podendo, assim, serem utilizadas na fitoestabilização de áreas contaminadas.
- As plantas mucuna preta, azevém, amendoim forrageiro, estilozante, sesbania e leucena podem ser consideradas como espécies de maior tolerância ao As. Já, o *E. urophyla* mostrou-se como espécie tolerante a teor disponível de 129 mg dm^{-3}. Essas espécies apresentam elevado potencial para ser utilizado na fitoestabilização de As no ambiente.
- As plantas de *E. grandis*, *C. citriodora* e crotalária são consideradas tolerantes com potencial para fitoextração, devido a tendência de translocar quantidades significativas de As para parte aérea. No entanto, estudos em condições de campo e com maior tempo de exposição ao metalóide são necessários para a obtenção de resultados mais conclusivos.

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo