



JÉSSICA CRISTINA TEODORO

**DETERMINAÇÃO DO VALOR DE PREVENÇÃO
PARA O CHUMBO EM SOLOS: TESTES
FITOTOXICOLÓGICOS**

LAVRAS – MG

2016

JÉSSICA CRISTINA TEODORO

**DETERMINAÇÃO DO VALOR DE PREVENÇÃO PARA O CHUMBO
EM SOLOS: TESTES FITOTOXICOLÓGICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Luiz Roberto Guimarães Guilherme, Ph.D.

LAVRAS – MG

2016

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Teodoro, Jéssica Cristina.

Determinação do valor de prevenção para o chumbo em solos:
testes fitotoxicológicos / Jéssica Cristina Teodoro. – Lavras :
UFLA, 2016.
93 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de
Lavras, 2016.

Orientador(a): Luiz Roberto Guimarães Guilherme.
Bibliografia.

1. Elemento-traço. 2. Fitotoxicidade. 3. Crescimento. 4. Trocas
gasosas. 5. Valores orientadores. I. Universidade Federal de Lavras.
II. Título.

JÉSSICA CRISTINA TEODORO

**DETERMINAÇÃO DO VALOR DE PREVENÇÃO PARA O CHUMBO
EM SOLOS: TESTES FITOTOXICOLÓGICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 17 de fevereiro de 2016.

Dra. Cynthia de Oliveira	UFLA
Dra. Cleide Aparecida de Abreu	IAC
Dr. João José Granate de Sá e Melo Marques	UFLA

Luiz Roberto Guimarães Guilherme, Ph.D.

Orientador

LAVRAS – MG

2016

A Deus por me sustentar a cada dia.
Aos meus pais e ao meu irmão pelo amor, carinho, apoio, compreensão e
constante presença em todos os momentos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me conceder saúde, força, e persistência.

Aos meus pais, grandes exemplos em minha vida, pelo amor incondicional, carinho, dedicação, paciência e por sempre acreditarem em mim. Obrigada meus pais por tantas vezes abdicarem de seus próprios objetivos em prol dos meus!

Ao meu irmão Lucas, pela grande amizade, amor e companheirismo. Quantas foram as horas em que ele me ouviu ao telefone! Obrigada maninho por toda paciência e pela boa vontade em me ajudar sempre.

Ao meu orientador, professor Luiz R. G. Guilherme (profissional dedicado e exemplar) pela atenção, oportunidade, constante incentivo e apoio.

Aos membros da banca Dra. Cynthia de Oliveira, Dra. Cleide A. de Abreu e Dr. João José G. S. M. Marques pela atenção e importantes correções e sugestões para o trabalho.

À Cláudia e ao Douglas, pela constante presença desde o início de minha formação científica e pela disposição em ajudar sempre. Obrigada pela amizade e pelos valiosos conselhos e dicas que me fizeram aprender muito!

À Cynthia pela amizade, apoio e auxílio nas análises. Ao Gabriel, pela amizade e constante preocupação e ajuda para com o trabalho. Aos alunos de iniciação científica, pela grande ajuda na execução das atividades relativas ao trabalho. Agradeço especialmente à Olívia, pelo empenho, companheirismo e amizade (de longa data).

Aos amigos da pós-graduação, especialmente Cecília e Juliene, pelo constante companheirismo em todos os momentos. Vocês fazem parte da minha família! Quanta saudade do nosso trio, queridas amigas!

Aos amigos da salinha de estudos: Cristiano, Geslin, Fábio e Ediu pelo auxílio, amizade e boa convivência.

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de cursar o mestrado. A todos do Setor de Fisiologia Vegetal e do Departamento de Ciência do Solo que contribuíram para a execução das atividades pertinentes ao trabalho, em especial à Geila e ao Pezão.

Ao CNPq, à Fapemig e à Capes pelo apoio financeiro.

Enfim, obrigada a todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão deste trabalho!

“Porque aqui está o que disse o Senhor Deus, o Santo de Israel: É na conversão e na calma que está a vossa salvação; é no repouso e na confiança que reside a vossa força”.

Is 30, 15

RESUMO

Para a avaliação e diagnóstico da qualidade dos solos, os órgãos ambientais utilizam valores orientadores, como o valor de prevenção (VP), o qual orienta sobre o valor limite de adição de elementos ou substâncias químicas ao solo, tal que as principais funções deste sejam mantidas. Estes valores orientadores constam na Resolução CONAMA 420/2009 sendo os mesmos adotados pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB). Tendo em vista as diferenças existentes entre os solos do país, torna-se necessário a validação destes valores visando maior representatividade para cada estado. Até o momento, os valores de prevenção ainda não foram validados para o Estado de Minas Gerais e, de acordo com a supracitada Resolução, estes valores devem ser instituídos com base em ensaios de fitotoxicidade ou em avaliação de risco ecológico. Deste modo, objetivou-se com este trabalho propor um valor de prevenção para o chumbo (Pb), a partir de parâmetros biológicos obtidos em ensaios fitotoxicológicos. O experimento foi realizado em casa de vegetação, segundo recomendações da ISO 11.269-2. As espécies testadas foram milho, rabanete, arroz e feijão, cultivadas em Latossolo (LVAd) e Cambissolo (CXbd) com as seguintes concentrações de Pb (mg kg^{-1} de solo seco): 0, 50, 100, 200, 400, 800, 1600 e 3200, durante 21 dias. Os seguintes parâmetros biológicos foram avaliados: emergência, crescimento, teor de clorofila, trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*. Para cada um desses parâmetros, foram calculados os índices de ecotoxicidade: NOEC (concentração efetiva em que não houve efeitos observáveis), LOEC (concentração efetiva mínima em que houve efeitos observáveis) e EC_{50} (concentração efetiva que reduziu 50% do parâmetro avaliado). A partir dos menores valores de EC_{50} calculados, juntamente com valores de EC_{50} encontrados na literatura, foram derivados valores de HC_5 (concentração perigosa para 5% dos parâmetros avaliados). A cada valor de HC_5 foi adicionado o Valor de Referência de Qualidade (VRQ) para o Pb e, assim, foi obtido o VP. Os valores de prevenção calculados para LVAd, CXbd e ambos os solos foram: 104, 179 e 132 mg kg^{-1} , respectivamente. Todos esses valores estão acima do VP vigente para o Pb (72 mg kg^{-1}) nas legislações brasileiras. O VP calculado para LVAd (104 mg kg^{-1}) é o mais indicado para ser utilizado, pois é preventivo para as duas classes de solo, e embora seja menos restritivo que o VP vigente, apresenta o diferencial de ser condizente com a realidade das condições pedológicas do Estado de Minas Gerais. Os resultados deste trabalho contribuem para a criação de um banco de dados sobre risco ecológico do órgão ambiental estadual, sendo de grande relevância a realização de outros trabalhos, para que esse banco de dados se amplie. Recomenda-se a utilização de maior número de espécies, bem como de parâmetros biológicos avaliados, a fim de se obter um valor o mais representativo possível.

Palavras-chave: Elemento-traço. Fitotoxicidade. Crescimento. Trocas gasosas.
Valores orientadores.

ABSTRACT

Evaluation and diagnosis of soil quality is usually assessed by environmental agencies through the use of soil screening values, e.g., the soil prevention value (PV), a guideline that limits additions of elements or chemicals to the soil, so that its main functions are preserved. These screening values are set in Brazil by CONAMA directive 420/2009 and are the same adopted by the Environmental Company of São Paulo State (CETESB). Due to differences among the country's soils, it is necessary to validate these values seeking greater representativeness for each state. Until now, PVs have not been validated for the state of Minas Gerais and, according to the aforementioned directive, these values should be established based on phytotoxicity tests or ecological risk assessment. Thus, the aim of this work was to propose a prevention value for lead (Pb), from biological parameters obtained in phytotoxicological tests. The experiment was conducted in a greenhouse, following ISO 11269-2 recommendations. The species tested were corn, radish, rice, and beans, grown in a Latosol (LVAd) and a Cambisol (CXbd) with the following Pb concentrations (mg kg^{-1} of dry soil): 0, 50, 100, 200, 400, 800, 1600, and 3200 during 21 days. We evaluated the following biological parameters: emergence, growth, chlorophyll content, gas exchange, and chlorophyll *a* fluorescence. For each of these parameters we calculated the ecotoxicity indices: NOEC (effective concentration that there were no observable effects), LOEC (minimum effective concentration that there were observable effects) and EC_{50} (effective concentration which reduced 50% of the evaluated parameter). From the lower EC_{50} values calculated, along with EC_{50} values taken from the literature, we derived HC_5 values (hazardous concentration to 5% of the evaluated parameters). To each HC_5 value we added the Quality Reference Value (QRV) for Pb, thus obtaining the following PVs (mg kg^{-1}): 104 for the LVAd, 179 for the CXbd and 132 for both soils. All these values are above the current PV established for Pb in Brazilian legislations (72 mg kg^{-1}). We believe that the PV calculated for the LVAd (104 mg kg^{-1}) is the most suitable to be used because of its representativeness for both soil types, and although it is less restrictive than the current PV, it has the distinction of being consistent with the reality of soil conditions of the State of Minas Gerais. The results of this study contribute for setting a database on ecological risk assessment for the state environmental agency, yet it is still of great importance the implementation of additional work in order to improve this database. We recommend using a greater number of species and biological parameters to be evaluated in order to obtain a PV of greater representativeness.

Keywords: Trace element. Phytotoxicity. Growth. Gas exchange. Screening values.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	Elementos-traço em solos	17
2.2	Chumbo em solos	19
2.3	Chumbo em plantas	21
2.4	Valores orientadores	25
2.4.1	Determinação dos Valores de Prevenção	27
2	MATERIAIS E MÉTODOS	31
2.1	Condução do experimento.....	31
2.2	Avaliações dos parâmetros biológicos.....	34
2.2.1	Emergência e crescimento.....	35
2.2.2	Teor de clorofila	35
2.2.3	Trocas gasosas	36
2.2.4	Fluorescência da clorofila <i>a</i>	36
2.3	Determinação de NOEC e LOEC	37
2.4	Determinação de HC ₅ e do valor de prevenção	37
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
3.1	Avaliações dos parâmetros biológicos.....	40
3.2	Determinação de NOEC e LOEC	65
3.3	Determinação de HC ₅ e do Valor de prevenção	68
4	CONCLUSÕES.....	83
	REFERÊNCIAS.....	84

1 INTRODUÇÃO

As atividades antrópicas vêm se intensificando cada vez mais, e com isso maior é a geração de resíduos e, ou, efluentes, que contêm elementos tóxicos, com potencial para contaminar os diversos compartimentos do meio ambiente, principalmente o solo e as águas subterrâneas. Dentre tais elementos, os elementos-traço assumem destaque, pois podem, quando presentes em altas concentrações e em formas disponíveis, acarretar sérias consequências aos ecossistemas, podendo ser absorvidos pelas plantas e, assim, entrar na cadeia trófica (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000).

O CONAMA (CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE) em âmbito nacional, e a FEAM (FUNDAÇÃO ESTADUAL DE MEIO AMBIENTE) em âmbito do Estado de Minas Gerais, são órgãos responsáveis pelo diagnóstico da qualidade dos solos e água subterrânea, bem como pelo gerenciamento das áreas contaminadas por elementos potencialmente tóxicos. Esse gerenciamento é realizado através de análises técnicas utilizando-se de valores orientadores para a tomada de decisões quanto às formas de intervenção mais adequadas para o controle da contaminação em áreas já contaminadas e, ou, suspeitas de contaminação, bem como prevenir a contaminação de novas áreas (MINAS GERAIS, 2008).

Os valores orientadores são definidos como concentrações de substâncias químicas que fornecem orientação sobre a qualidade e as alterações do solo e da água subterrânea (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE- CONAMA, 2009). São comumente utilizados em diversos países, sendo no Brasil categorizados como valor de referência de qualidade (VRQ), valor de prevenção (VP) e valor de investigação (VI), e estão presentes na Resolução CONAMA nº 420, de 28-12-2009.

O VRQ, também conhecido como *background geoquímico* representa a concentração natural do elemento em determinado local. Já o VP orienta sobre o valor limite de adição de elementos ou substâncias químicas ao solo, tal que as principais funções deste sejam mantidas. Finalmente, o VI indica a concentração de determinado elemento ou substância química, a partir da qual há risco para os seres humanos. A determinação do VRQ baseia-se na análise do solo sob condição natural (sem nenhuma ou com a mínima influência antrópica), enquanto que o VP e o VI são determinados a partir da avaliação da análise de risco ecológico e à saúde humana, respectivamente.

O Estado de Minas Gerais, por meio do Programa Solos de Minas, parceria entre a FEAM e instituições de ensino e pesquisa mineiras, já estabeleceu seus VRQs, mas os VPs ainda são os mesmos adotados pelo Estado de São Paulo. Os valores VP e VI poderão ser revistos, com base na mesma metodologia utilizada para a determinação dos valores constantes na Resolução CONAMA 420/2009, e garantindo o mesmo nível de risco. Assim, a FEAM e as instituições parceiras vêm também estabelecendo diretrizes metodológicas para a derivação de VPs para solos tropicais com base em índices de ecotoxicidade. Para isso, são realizados testes ecotoxicológicos, os quais medem os efeitos de diferentes concentrações de um contaminante sobre espécies da fauna edáfica ou sobre plantas (neste caso, testes fitotoxicológicos).

Um contaminante de grande relevância para ser utilizado em estudos de risco é o elemento chumbo (Pb). Este elemento ocupa a segunda posição na lista de substâncias prioritárias da Agency for Toxic Substances and Disease Registry- ATSDR (2015) considerando a combinação da frequência, toxicidade e potencial de exposição humana. Além disso, o Pb apresenta ocorrência na maioria das áreas contaminadas do Estado de Minas Gerais, segundo o último levantamento realizado pelo órgão ambiental do estado (FUNDAÇÃO ESTADUAL DE MEIO AMBIENTE- FEAM, 2015).

Alem disso, o Pb é responsável por desencadear expressivos distúrbios metabólicos nas plantas, como inibição da fotossíntese e respiração, desequilíbrio nutricional e hídrico, estresse oxidativo, alteração da atividade de enzimas, os quais acarretam efeitos visuais, como atraso no crescimento, clorose e escurecimento do sistema radicular (MALAR et al., 2014; POURRUT et al., 2011).

Os VPs existentes na Resolução CONAMA 420/2009, foram estabelecidos com base em resultados de testes ecotoxicológicos internacionais, ou seja, em testes para avaliação da toxicidade de um contaminante à receptores ecológicos não específicos para as condições edafoclimáticas existentes do Brasil. Em função da natureza complexa e variável dos solos brasileiros, que apresentam peculiaridades pedológicas, geológicas, climáticas, hidrológicas e geomorfológicas nos diferentes estados, torna-se necessário a determinação de valores orientadores regionais e específicos.

E ainda, para a determinação dos VPs, faz-se necessário a realização de testes ecotoxicológicos com espécies adaptadas às condições edáficas e climáticas do Brasil, atentando-se para a grande variabilidade de espécies existentes no país, que resultam nas mais variadas respostas aos estresses ambientais. Ou seja, o uso de um solo representativo das condições locais aliado a organismos-teste adaptados às condições tropicais é um dos pontos determinantes para uma análise o mais representativa possível do real risco de determinado elemento tóxico.

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho realizar testes fitotoxicológicos para o Pb e, acrescentar aos resultados obtidos os dados de Alexandrino (2014), para, assim, gerar índices de ecotoxicidade e valores de prevenção mais robustos. Para isso, além dos parâmetros de crescimento avaliados pelo referido autor, avaliou-se também parâmetros de emergência, teor

de clorofila, trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* para as espécies de milho, feijão, rabanete e arroz.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Os elementos-traço, quando em altas concentrações e em formas disponíveis, causam grandes riscos à saúde humana e aos receptores ecológicos. O chumbo (Pb) é um dos elementos-traço mais perigosos, ocupando a segunda posição na lista de substâncias prioritárias da Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR, 2015) considerando a combinação da frequência, toxicidade e potencial de exposição humana

É crescente o registro de áreas contaminadas no Estado de Minas Gerais. No ano de 2007 o Estado apresentou 56 áreas contaminadas, sendo que em 2008 esse número aumentou para 413, em 2014 foram registradas 577, e, em 2015 o valor alcançou 617, o que evidencia expressivo aumento na identificação de áreas contaminadas por diversas substâncias químicas nos últimos oito anos (FEAM, 2015).

O aumento no registro de áreas contaminadas resulta do esforço e ações desenvolvidas pela FEAM, sendo que a cada ano um Inventário de Áreas Contaminadas de Minas Gerais é publicado. De acordo com o Inventário publicado em 2015, o Pb foi o metal encontrado em maior frequência nas áreas contaminadas. É grande o registro, em virtude de ocorrência natural devido a geologia local, de áreas de mineração que contêm o Pb associado a diversos minérios, de associação ao petróleo e derivados e à atividade de reciclagem de baterias e demais materiais que contenham Pb (FEAM, 2015).

O Pb é um elemento que não apresenta função biológica, mas pode ser absorvido e acumulado em tecidos vegetais. Ele altera o funcionamento das células levando a distúrbios metabólicos como estresse oxidativo, desequilíbrio

nutricional e hídrico, alteração da atividade de enzimas, os quais acarretam efeitos visuais, como atraso na germinação, redução de parâmetros de crescimento, clorose e escurecimento do sistema radicular (MALAR et al., 2014). Mas, sua fitotoxicidade varia de acordo com as propriedades físico-químicas do solo, as concentrações em que se encontra, tempo de exposição (SMOLDERS et al., 2015) e, com a espécie vegetal considerada.

Para diagnóstico da qualidade dos solos e gerenciamento de áreas contaminadas, os órgãos ambientais utilizam valores orientadores, classificados como valor de referência de qualidade (VRQ), valor de prevenção (VP) e valor de investigação (VI). Estes valores orientadores constam na Resolução CONAMA 420/2009, sendo os mesmos adotados pelo órgão ambiental do Estado de São Paulo (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO- CETESB). Eles são baseados na análise dos solos sob condição natural (VRQ) e em análise de risco ecológico (VP) ou risco ao ser humano (VI). Por meio de testes fitotoxicológicos, ou seja, exposição de plantas à concentrações de determinado elemento tóxico, é possível obter dados referentes aos parâmetros biológicos afetados. Estes parâmetros podem ser aplicáveis em procedimentos para a determinação de valores preventivos para os solos.

2.1 Elementos-traço em solos

A contaminação dos solos é um problema crescente e preocupante. A intensificação das atividades antrópicas tem aumentado a geração de resíduos e, ou, efluentes compostos por elementos potencialmente tóxicos. Dentre estas substâncias, os elementos-traço têm se tornado um problema mundial, pois a contaminação dos solos por estes elementos afeta a produtividade de culturas, a fertilidade e a biomassa do solo, além de levar à sua bioacumulação na cadeia alimentar (GRATÃO et al., 2005).

O termo elementos-traço refere-se aos metais catiônicos e aniônicos que normalmente estão presentes em baixas concentrações no ambiente, usualmente menos que 1 g kg^{-1} (PIERZYNSKI; SIMS; VANCE, 1994; SPARKS, 1995). Alguns destes elementos, tais como Fe, Zn, Cr, Se e Ni, são essenciais para a nutrição de plantas e animais em baixas concentrações, mas as plantas podem acumulá-los em níveis elevados, o que os torna fitotóxicos. Outros elementos, porém, tais como As, Pb, Cd e Hg, não apresentam nenhuma função biológica, e são tóxicos em baixas concentrações. Estes últimos geram os problemas mais sérios de contaminação e estão nas primeiras colocações na lista de poluentes prioritários (ATSDR, 2015).

Os elementos-traço, uma vez presentes na solução do solo, são passíveis de serem absorvidos pelas plantas, lixiviados e, ou, erodidos, contaminando os corpos d'água (CAO; CHANG; PAGE, 1984; COSTA, 2006). Além do efeito nocivo às plantas, deve-se considerar a biomagnificação destes elementos nas cadeias alimentares, o que pode causar doenças ao homem e aos animais silvestres (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001).

Os elementos-traço podem ser acrescentados ao solo tanto por ações naturais quanto antrópicas. As ações naturais compreendem o intemperismo de rochas e minerais, as emissões vulcânicas e outras. Há locais onde a concentração natural dos elementos-traço excede os limites recomendados para solos devido aos processos naturais de enriquecimento com elementos-traço ou a fatores de formação do solo. Em locais assim, em situações onde esses elementos possam estar presentes em formas muito móveis no solo, podendo vir a ser biodisponíveis, o risco se eleva (GUILHERME et al., 2002). As adições antrópicas abrangem os aterros sanitários, as atividades industriais e de mineração, as aplicações de corretivos, de fertilizantes e de pesticidas, entre outras.

O conteúdo total de elementos-traço em solos tem refletido os processos naturais de intemperismo de solos e a extensão da contaminação de atividades humanas, mas o comportamento de elementos-traço depende de sua forma química. Esta forma é influenciada pelo pH, quantidade presente, solubilidade, origem – se pedogênica ou antropogênica – e sua interação com os colóides do solo. Adicionalmente, a disponibilidade destes elementos-traço pode ser afetada pelas reações mediadas biologicamente e redução/oxidação sequenciais ocorrendo no solo (SLAGLE, 2000).

2.2 Chumbo em solos

O Pb é um contaminante de solos, água e atmosfera, que se destaca entre os elementos-traço como um dos que mais causam riscos à saúde e à vida (HENRY, 2000; POURRUT et al., 2011). Este elemento-traço ocupa o segundo lugar, em uma lista de 275 substâncias orgânicas e inorgânicas prioritárias nos Estados Unidos, baseando-se na combinação de sua frequência, toxicidade e potencial de exposição humana (ATSDR, 2015). Aliás, o Pb é o elemento encontrado em maior frequência nas áreas contaminadas do Estado de Minas Gerais, segundo último Inventário de Áreas Contaminadas (FEAM, 2015).

Assim como ocorre com outros contaminantes, o uso do Pb é indispensável para a fabricação de bens de consumo para a vida humana moderna. Ele é amplamente utilizado no mundo todo em muitos processos industriais, principalmente para a fabricação de baterias chumbo-ácido, além de ser usado em soldas, ligas, cabos, produtos químicos, entre outros (KABATA-PENDIAS, 2011).

Além de locais com teores naturalmente elevados (fontes pedogênicas) de Pb, várias são as fontes antropogênicas, devido à ampla utilização deste elemento-traço, das quais pode-se citar: efluentes do armazenamento de baterias,

deposição de rejeitos industriais, mineração e fundição de minérios de Pb, metalizações e operações de acabamento, fertilizantes, pesticidas, chaminés de fábricas que utilizam Pb, e deposição de lodo de esgoto (PAIVOKE, 2002; SHARMA; DUBEY, 2005). O uso de Pb na gasolina, como um antidetonante aditivo, vem sendo abolido em diversos países, a fim de reduzir a poluição atmosférica (SHARMA; DUBEY, 2005).

O Pb se acumula facilmente em solos e sedimentos. Sua distribuição dentre os limites dos perfis do solo não é uniforme, acumulando-se predominantemente na superfície dos solos devido a sua sorção pela matéria orgânica o que resulta na sua baixa mobilidade. Também pode estar associado com hidróxidos, principalmente Fe e Mn, ou pode estar concentrado em carbonatos de Ca ou em partículas de fosfato. Por conseguinte, a concentração de Pb na solução do solo é relativamente baixa ($<1-60 \mu\text{g L}^{-1}$), podendo ser encontradas as espécies catiônicas: Pb^{2+} e PbOH^+ , e espécies aniônicas: PbCl_3^- , e $\text{Pb}(\text{CO}_3)_2^{2-}$ (KABATA-PENDIAS; SADURSKI, 2004).

A espécie catiônica Pb^{2+} é a mais comum na solução do solo. Esta espécie apresenta características geoquímicas semelhantes às do grupo dos metais alcalinos terrosos divalentes. Assim, pode substituir K, Ba, Sr e ainda o Ca, tanto em minerais como em locais de sorção (KABATA-PENDIAS, 2011).

Como a concentração de Pb na solução do solo é baixa, pouco Pb está disponível para ser absorvido pelas plantas (PUNAMIYA et al., 2010). A fitodisponibilidade de Pb em solos é controlada por muitos fatores: pH, condições redox, capacidade de troca catiônica (CTC), mineralogia do solo, condições biológicas e microbianas, quantidade e natureza dos ligantes orgânicos e inorgânicos presentes, competição entre cátions, e também pelas espécies de plantas envolvidas (POURRUT et al., 2011). A área da superfície da raiz, exsudatos radiculares, e micorrizas também podem afetar a disponibilidade assim como a absorção de Pb (FAHR et al., 2013).

2.3 Chumbo em plantas

Apesar de não ser um elemento essencial, o Pb pode ser facilmente absorvido e acumulado pelas plantas. As raízes são capazes de acumular altas concentrações de Pb e, assim, restringir a translocação para a parte aérea.

Em contato com as raízes, o Pb pode ficar retido na superfície destas, nos pelos radiculares. Se absorvido, segue via transporte apoplástico ou simplástico. Pode ficar retido nas paredes celulares ao ligar-se fortemente a grupos carboxilas da pectina, o que é considerado como a mais importante interação pela qual a célula vegetal pode resistir a toxicidade por Pb (MEYERS et al., 2008). Em outros casos, o Pb pode facilmente atravessar a parede e prosseguir via transporte simplástico. Ou seja, o padrão de distribuição do Pb vai depender se suas concentrações são letais ou não, e ainda se a espécie vegetal apresenta mecanismos de tolerância ou não.

Em baixas concentrações, os íons Pb se movem predominantemente via apoplasto, sendo a translocação para a parte aérea parcialmente limitada, devido à barreira apoplástica exercida pelas estrias de Caspary presentes na endoderme da raiz. Entretanto, em concentrações mais elevadas e letais, quando a estruturação da membrana plasmática é danificada (LEAL-ALVARADO et al., 2016), maior quantidade de Pb entra nas células podendo, assim, alcançar a parte aérea.

A presença de Pb nos tecidos causa uma gama de efeitos adversos no metabolismo das plantas, visto que ele interfere direta ou indiretamente em várias funções morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, e na maioria dos casos, induz a uma variedade de efeitos deletérios (POURRUT et al., 2011). O efeito mais agravante é a desestruturação da membrana plasmática, resultante de mudanças na sua composição proteica e lipídica (LEAL-ALVARADO et al., 2016). Como consequência, a membrana perde a permeabilidade seletiva e, com

isso, ocorre um desequilíbrio na absorção de água e minerais (EKMEKCI et al., 2009; FAHR et al., 2013).

O Pb é responsável por reduzir consideravelmente a atividade de proteases e de α -amilases (MORAES et al., 2014) afetando, assim, a germinação de sementes, o que resulta em reduzidas porcentagens e índices de velocidade de germinação. Além disso, o crescimento de plântulas também é inibido, com consequente redução de matéria seca da parte aérea e da raiz (MALAR et al., 2014).

Sabe-se que o Pb interage com proteínas citoplasmáticas (POURRUT et al., 2011). Estudos revelam possível redução da quantidade de proteínas totais, em plantas cultivadas sob altas concentrações de Pb (GARCIA et al., 2006; MISHRA et al., 2006). Entretanto, em baixas concentrações do elemento ocorre aumento na quantidade total de proteínas (MISHRA et al., 2006), especialmente daquelas envolvidas no equilíbrio redox, importantes no combate ao estresse (GUPTA et al., 2010).

Além disso, o Pb também tem forte influência sobre as enzimas, podendo inibir ou aumentar a atividade enzimática. A inibição ocorre, na maior parte dos casos, pela sua ligação a grupos constituintes das enzimas, os sulfidrila (SH), unidos entre si por ligações dissulfeto, ou ainda a grupos COOH (GUPTA et al., 2010). O Pb pode se ligar tanto aos grupos-SH localizados no centro ativo da enzima e essenciais para a atividade desta, como também aos grupos-SH responsáveis pela estabilização da estrutura terciária da enzima (POURRUT et al., 2011). Por outro lado, o aumento da atividade enzimática pode ocorrer devido a mudanças na síntese das enzimas, imobilização de inibidores enzimáticos, ou ainda pelo excesso de espécies reativas de oxigênio (EROS), no caso específico de enzimas antioxidantes (SHARMA; DUBEY, 2005).

A maioria das enzimas influenciadas pela presença de Pb participa de processos metabólicos fundamentais, como fotossíntese, respiração, sistema

antioxidante e metabolismo do nitrogênio. No último caso, o metabolismo do nitrogênio é comprometido, pois o Pb pode inibir a redutase do nitrato (XIONG; ZHAO; LI, 2006).

A rápida produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), em plantas submetidas ao Pb, leva ao estresse oxidativo (POURRUT et al., 2008), em que todos os tipos de biomoléculas ficam suscetíveis a serem atacados. Diante disso, as enzimas do sistema antioxidante, exceto a catalase, têm sua atividade aumentada. Íons de Pb induzem a peroxidação lipídica, pois as EROS removem hidrogênio de ácidos graxos insaturados e forma radicais e aldeídos reativos, tais como o MDA (malondialdeído), e em decorrência disso, ocorre alteração na bicamada lipídica (MISHRA et al., 2006). O aumento da atividade da dismutase do superóxido (SOD) e da redutase da glutatona (GR) se deve à síntese de novo da enzima.

As taxas fotossintéticas são reduzidas em plantas expostas ao Pb. O fotossistema II (PS II) se mostra mais sensível do que o fotossistema I (PS I). Uma das principais enzimas para a biossíntese de clorofila, delta aminolevulinato desidratase (δ -ALA-D), é inibida (CENKCI et al., 2010) e a clorofilase tem sua atividade aumentada (LIU et al., 2008). Além disso, a síntese de carotenoides e plastoquinona também diminui (CENKCI et al., 2010). As alterações na rota de biossíntese de clorofila, como a redução da atividade da NADP oxidoredutase influenciam a ontogênese dos cloroplastos. Análises ultraestruturais mostram redução na quantidade de pilhas de grana, de estroma bem como ausência de grãos de amido (MORAES et al., 2014). O transporte de elétrons também é afetado, nos fotossistemas e no citocromo b_6/f (BELATIK et al., 2013; QUFEI; FASHUI, 2009).

A fase bioquímica também pode ser afetada pelo Pb, devido a influência do elemento sobre as atividades das enzimas do ciclo de Calvin, ribulose-1,5-bisfostato carboxilase oxigenase (RUBISCO), desidrogenase do gliceraldeído-3-

fosfato e quinase da ribulose-5-fosfato (LIU et al., 2008; MISHRA et al., 2006). O Pb afeta a atividade carboxilase da RUBISCO em plantas C_3 e influencia a abertura/fechamento estomático, reduzindo a concentração de CO_2 (ROMANOWSKA et al., 2002).

A respiração também é afetada pelo Pb (POURRUT et al., 2011). Sob altas concentrações de Pb, o transporte de elétrons na cadeia respiratória é afetado, pois os cátions divalentes (por exemplo, Pb, Zn, Cd, Co e Ni) podem ligar-se às membranas mitocondriais, interrompendo o transporte de elétrons e levando ao desacoplamento da fosforilação oxidativa (ROMANOWSKA et al., 2002).

Todos esses distúrbios metabólicos causados pela presença de Pb em tecidos vegetais resultam em sintomas visíveis, tais como redução de biomassa devido ao crescimento atrofiado da planta, clorose e necrose foliar, e escurecimento do sistema radicular. Mas, as plantas ditas tolerantes possuem estratégias para amenizar a toxicidade do Pb e, assim, preservar sua integridade metabólica. Além da retenção dos íons de Pb em pelos radiculares ou nas paredes celulares, e do aumento da atividade das enzimas antioxidantes, o acúmulo de compostos quelantes é outro importante mecanismo de tolerância. Também é relatado o acúmulo de prolina, aminoácido indicador de estresse ambiental (GOHARI et al., 2012; POURRUT et al., 2011). Além disso, o Pb induz a síntese de fitoquelatinas, polipeptídeos ricos em cisteína de baixo peso molecular, a partir de glutatona reduzida (GRATÃO et al., 2005), que se ligam aos íons deste elemento-traço, e o transportam a compartimentos celulares.

Por fim, conclui-se que o Pb é altamente prejudicial para as plantas. Sua presença em tecidos vegetais altera o funcionamento das células levando a distúrbios metabólicos muitas vezes irreversíveis, com consequente morte celular. Mas, sua fitotoxicidade irá depender de suas concentrações, se letais ou

não, das propriedades físico-químicas do solo, do tempo de exposição da planta e ainda, da tolerância ou suscetibilidade desta.

2.4 Valores orientadores

No processo de avaliação e diagnóstico de solos e águas subterrâneas, o órgão ambiental faz uso de valores orientadores, que podem ser definidos como concentrações limite de substâncias químicas que fornecem orientação sobre a qualidade e as alterações desses recursos ambientais (CONAMA, 2009). Os valores orientadores englobam desde aqueles que exprimem as ocorrências naturais das substâncias nos solos, até aqueles valores relacionados com riscos ecotoxicológicos e vias de exposição de plantas, humanos e animais (FERNANDES, 2011).

A legislação brasileira estabelece três valores orientadores (CONAMA, 2009), assim conceituados:

a) Valor Orientador de Referência de Qualidade (VRQ): também conhecido como *background geoquímico*, é baseado na avaliação dos teores naturais de elementos-traço nos solos, sem a influência de atividade humana. É determinado com base em interpretação estatística de análises físico-químicas de amostras de diversos tipos de solos. Valores iguais ou abaixo do VRQ indicam que não há contaminação. Valores acima de VRQ e abaixo de VP indicam contaminação, mas com baixo risco aos receptores ecológicos e aos seres humanos.

b) Valor de Prevenção (VP): valor intermediário entre o VRQ e o valor de investigação (VI), é o valor limite de elemento-traço no solo, tal que este seja capaz de sustentar as suas funções principais: sustentador da diversidade biológica e dos ciclos biogeoquímicos, meio para a produção de alimentos e matéria prima, regulador da dispersão de substâncias contaminantes no solo

mediante sua atuação como filtro e tampão ambiental, além de meio para a ocupação territorial e para utilização recreacional, dentre outros. Sua determinação é baseada em análise de risco ecológico, considerando-se a menor concentração que cause toxicidade aos receptores ecológicos, para assim se definir uma concentração que seja o mais preventiva possível.

c) Valor de Investigação (VI): Valor acima do qual haverá risco à saúde humana e ao desenvolvimento dos demais organismos vivos. Sua determinação é baseada em análise de risco, considerando a concentração máxima aceitável absorvida pelo organismo receptor, segundo pesquisas desenvolvidas por diversos órgãos, dentre os quais, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA).

São Paulo é o único estado brasileiro que possui os três valores orientadores específicos para solos, estabelecidos pela CETESB (CETESB, 2001). O Brasil adotou na Resolução CONAMA 420/2009, os valores orientadores VP e VI estabelecidos para o Estado de São Paulo, sendo requerido aos demais estados que adotassem esses valores até que fossem estabelecidos seus próprios valores orientadores.

No caso dos VRQs, de acordo com a Resolução CONAMA 420/2009 cada estado deveria determinar seu VRQ no prazo de cinco anos a partir do ano de 2009 (CONAMA, 2009). Esse prazo foi prorrogado pela Resolução nº 460 de 30/12/2013 (CONAMA, 2013), onde consta que cada estado deverá informar trimestralmente ao Ministério do Meio Ambiente e ao CONAMA os resultados das ações adotadas para o cumprimento do disposto anteriormente.

Depreende-se, pois, da necessidade de esforços para se determinarem valores orientadores específicos em que sejam consideradas as peculiaridades de cada um dos estados brasileiros e, assim, seja possível um correto diagnóstico dos solos avaliados. Estudos sobre as concentrações naturais de elementos em solos dos diferentes estados do Brasil, bem como a realização de ensaios

ecotoxicológicos e de vias de exposição de humanos e animais realizados por instituições de ensino e pesquisa locais, aliados aos trabalhos desenvolvidos por órgãos ambientais estaduais é um grande avanço para a determinação de valores orientadores regionais.

No Estado de Minas Gerais, a parceria entre as instituições de ensino e pesquisa Universidades Federais de Viçosa (UFV), de Lavras (UFLA) e de Ouro Preto (UFOP), Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais (CETEC) com a FEAM, por meio do Programa Solos de Minas, teve bons resultados, visto que o estado foi o segundo a estabelecer seus VRQs para solos e águas subterrâneas e, vem trabalhando para a atualização de VPs e VIs. No estado, os valores orientadores são regulamentados pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG n° 02, de 08-09-2010 (MINAS GERAIS, 2010) e pela Deliberação Normativa COPAM-MG n° 166, de 29-06-2011 (MINAS GERAIS, 2011).

2.4.1 Determinação dos Valores de Prevenção

Os valores de prevenção foram propostos para auxiliar no gerenciamento ambiental, pois orientam sobre o valor limite de adição de uma substância tóxica ao solo, tal que este seja capaz de manter suas principais funções, garantindo assim a proteção de receptores ecológicos e da água subterrânea.

Os VPs são determinados a partir de testes ecotoxicológicos, com os quais é possível saber quais concentrações do elemento-traço são nocivas à funcionalidade do solo e aos receptores ecológicos. Assim, são avaliados os efeitos de diferentes concentrações de um elemento-traço sobre os parâmetros biológicos de indivíduos de uma determinada espécie, que podem ser organismos da fauna edáfica ou plantas (testes fitotoxicológicos). Esses testes

podem ser agudos, crônicos, ou ainda subcrônicos, consoante a sua duração e o efeito observado. Os resultados podem ser expressos em uma série de índices de ecotoxicidade, que variam de acordo com a intensidade da concentração e são calculados estatisticamente, alguns destes por equações de regressão.

Dentre os índices de ecotoxicidade, tem-se NOEC (concentração efetiva que não causa efeitos observáveis) e LOEC (concentração efetiva mínima que causa efeitos observáveis). Tem-se ainda o EC_x (concentração de efeito), que corresponde à concentração de um dado elemento que causa x% de redução a uma variável resposta (parâmetro biológico) dos organismos-teste, e o LC_x (concentração letal), que representa a concentração da substância que causa x% de morte dos organismos-teste. O valor do índice é inversamente proporcional à toxicidade do elemento, ou seja, quanto menor for o valor de um índice, mais elevada é a toxicidade do elemento. Os índices mais utilizados são os em que a concentração do elemento afeta 50% dos parâmetros biológicos, ou seja, EC_{50} .

Os valores das concentrações de efeito (EC_x) podem ser agrupados e expressos graficamente em uma curva de distribuição de sensibilidade das espécies (DSE), onde a abscissa (x) é a concentração de um dado elemento, expressa pelo log da concentração de efeito, e a ordenada (y) os efeitos deste elemento sobre todos os parâmetros das espécies avaliadas. A partir de DSE pode-se calcular HC_y , a (concentração de risco), ou seja, a concentração do elemento tóxico perigosa para y % dos parâmetros biológicos avaliados das espécies (também conhecida como a concentração que protege 100 - y% das espécies). O índice mais utilizado é o que protege 95% dos parâmetros biológicos, ou seja, o HC_5 .

Antes do ano de 2005, no Estado de São Paulo, o VP era denominado valor de alerta (VA). Esse valor era determinado de acordo com as médias aritméticas dos VRQ e VI e com base em dados levantados na literatura sobre concentrações máximas permitidas de adição de lodo em solos agrícolas

(INTERNATIONAL COUNCIL ON METALS AND THE ENVIRONMENT - ICME, 1997; KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 1984; MALAVOLTA, 1976, 1994). Baseando-se nessas análises, em 2001 a CETESB estabeleceu os valores de alerta para substâncias inorgânicas em solos do Estado de São Paulo, sendo que para o Pb esse valor era 100 mg kg^{-1} .

No ano de 2005, a CETESB resolveu validar os valores de alerta estabelecidos em 2001. Para isso, realizou testes de fitotoxicidade crônica para o Pb, e cálculos derivativos, de acordo com a metodologia adotada pelo Instituto Nacional de Saúde Pública e Meio Ambiente da Holanda (VERBRUGGEN; POSTHUMUS; WEZEL, 2001).

Nos testes fitotoxicológicos realizados pela CETESB, as espécies vegetais utilizadas foram *Brassica juncea* (mostarda) e *Helianthus annuus* (girassol), cultivadas em vasos contendo solos com diferentes concentrações de Pb (16, 42, 106 e $90.000 \text{ mg kg}^{-1}$). Esses solos foram coletados no entorno de uma área contaminada por Pb advindo da atividade industrial, sob investigação pela CETESB. Os resultados para as duas espécies foram similares, apresentando inibição do crescimento, da produção de biomassa e da maturação sexual. Concentrações acima de 106 mg kg^{-1} causaram grande inibição do desenvolvimento. Estes resultados indicaram que o valor de prevenção para Pb deveria ser inferior a 100 mg kg^{-1} , estabelecido em 2001, e superior a 42 mg kg^{-1} .

Após avaliação do desenvolvimento das espécies nos testes fitotoxicológicos, a CETESB fez uso da metodologia holandesa, Avaliação de Risco Preliminar. Nesta metodologia, fatores preestabelecidos (conhecidos como fatores de segurança) são utilizados para a conversão de dados de toxidez aguda (EC_{50}) para toxidez crônica (NOEC, concentração efetiva que não houve efeitos observáveis) (MORAES, 2012; POSTHUMA et al., 2001; VERBUGGEN et al., 2001). O fator de segurança normalmente é dez (varia de 1 a 1000) e, dividindo-

se o menor valor de EC_{50} por esse fator tem-se o valor de MAP (Máxima Adição Permitida).

O MAP é considerado como a adição máxima de substâncias inorgânicas ao solo, por atividades antropogênicas, que não cause efeitos adversos em 95% (HC_5) das espécies ou dos processos do solo. A CETESB adotou que o VP seria igual à MCP (Máxima Concentração Permitida), a qual foi obtida pelo somatório de MAP com VRQ. Assim, o VP para o Pb foi alterado para 72 mg kg^{-1} ($VRQ = 17 \text{ mg kg}^{-1}$), valor que se encontrava entre a faixa estabelecida a partir das conclusões com os testes fitotoxicológicos anteriormente realizados.

Para testes fitotoxicológicos, o protocolo 208 da Organisation for Economic Co-operation and Development - OECD (2006) prevê a realização de testes de germinação com duração de 14 a 21 dias, após a germinação de 50% das plântulas do grupo controle. É recomendado o uso de pelo menos três espécies vegetais diferentes e sensíveis ao contaminante, e no mínimo cinco concentrações deste último, para que seja possível análise de regressão. Ao fim do teste, são avaliados a emergência e crescimento inicial, sintomas de fitotoxicidade e biomassa. Os resultados são expressos em EC_{50} . Essas recomendações também constam em outras referências internacionais reconhecidas, principalmente na *U.S.E.P.A Test Guidelines e na American Standard for Testing Material (ASTM)*, assim como na normativa ISO 11269-2 (INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION - ISO, 2013).

Como se vê, os testes fitotoxicológicos para elementos-traço têm alta aplicabilidade para a determinação de VP para os solos. Esses testes são utilizados com sucesso em alguns países, principalmente na Holanda. Seguindo o exemplo de São Paulo, Minas Gerais já determinou seus VRQs, e vem trabalhando também para a determinação dos VPs. Alguns trabalhos já foram realizados nas universidades participantes do Programa Solos de Minas, visando

a determinação de VP para Pb, Cd e Cr (ALEXANDRINO, 2014; ALVARENGA, 2014; MARQUES, 2015; SANTOS, 2015).

Alexandrino (2014) realizou testes ecotoxicológicos para o Pb, utilizando solos representativos do Estado de Minas Gerais para avaliar plantas e organismos da fauna edáfica. As espécies avaliadas foram milho (*Zea mays*) e feijão (*Phaseolus aureus*) cultivadas em solos com as seguintes concentrações de Pb em mg kg^{-1} : 0, 50, 100, 200, 400, 800, 1600 e 3200. Unindo os resultados obtidos com as avaliações dos testes com as plantas e com os organismos da fauna edáfica, o VP proposto foi de $85,4 \text{ mg kg}^{-1}$.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Condução do experimento

O experimento foi realizado em casa de vegetação localizada no Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA), seguindo-se as metodologias contidas na ISO 11269-2 (ISO, 2013) e na OECD-208 (OECD, 2006).

Foram utilizadas duas classes de solo representativas do Estado de Minas Gerais:

- a) Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd), textura média, coletado no município de Itumirim, MG; e
- b) Cambissolo Háplico Tb distrófico típico (CXbd), textura média, coletado no campus da Universidade Federal de Lavras - Lavras, MG.

Os solos foram coletados sob vegetação de floresta tropical subperenifólia, em camada de 0 a 20 cm de profundidade. Esses solos foram selecionados por apresentarem baixas concentrações de elementos-traço [abaixo do valor de referência de qualidade (VRQ)], baixo teor de matéria orgânica,

textura média, e pH adequado de modo a reduzir os efeitos de adsorção do chumbo ao solo.

As amostras de solo foram destorroadas, secas ao ar e peneiradas em malhas com cinco e dois milímetros de abertura. De posse da fração de terra fina seca ao ar (TFSA) foi realizada a caracterização físico-química e determinada a concentração total de Pb (Tabela 1).

Para a caracterização física dos solos foi realizada análise granulométrica, seguindo-se a metodologia proposta por Bouyoucos (CAMARGOS et al., 2009). Já a caracterização química dos solos foi realizada conforme metodologia proposta pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 1997). Foram analisados o pH em água (relação 1:2,5), Ca (cálcio), Mg (magnésio), Al (alumínio) – extrator KCl 1 mol L⁻¹; P_{rem} (fósforo remanescente), P (fósforo), K (potássio), e os micronutrientes catiônicos – extrator Mehlich 1; H + Al (acidez potencial) – extrator SMP; SB (soma de bases trocáveis); t (capacidade de troca catiônica efetiva); T (capacidade de troca catiônica a pH 7,0); V (índice de saturação de bases) e m (índice de saturação de alumínio).

A concentração total de Pb foi obtida por digestão, de acordo com o método 3051A da Agência de Proteção Ambiental Norte-Americana (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA, 1999). O controle e a garantia da qualidade dos resultados das análises foram assegurados pelo uso da amostra certificada BCR-142R (Light Sandy Soil), bem como de uma amostra em branco.

Tabela 1 Concentração total de Pb, textura e características químicas de LVAd e CXbd coletados em camada de 0 a 20 cm de profundidade.

Propriedades	LVAd	CXbd
Pb (mg kg ⁻¹)	7,58	16,87
Argila (dag kg ⁻¹)	26	33
Areia (dag kg ⁻¹)	66	19
Silte (dag kg ⁻¹)	8	48
pH (H ₂ O)	4,4	4,6
P melich (mg dm ⁻³)	0,56	0,84
P- rem (mg L ⁻¹)	6,84	4,31
K(mg dm ⁻³)	26	42
Ca (cmol _c dm ⁻³)	0,1	1,6
Mg (cmol _c dm ⁻³)	0,0	0,2
Al (cmol _c dm ⁻³)	0,1	0,1
H+Al (cmol _c dm ⁻³)	4,67	5,34
SB (cmol _c dm ⁻³)	0,17	1,91
MO (dag kg ⁻¹)	0,24	1,87
V (%)	3,44	26,31
t (cmol _c dm ⁻³)	0,27	2,01
T (cmol _c dm ⁻³)	4,84	7,25
m (%)	37,04	4,98
S (mg dm ⁻³)	3,32	6,63
Zn (mg dm ⁻³)	0,58	2,14
B (mg dm ⁻³)	0,26	0,35
Fe (mg dm ⁻³)	15,11	74,72
Mn (mg dm ⁻³)	0,78	83,76
Cu (mg dm ⁻³)	0,53	1,87

Para cada tratamento foram pesados 2 kg de solo, armazenados em sacos plásticos. Realizou-se adubação de vaso de acordo com as recomendações de Malavolta (1997). Posteriormente, a esses solos foram adicionadas diferentes concentrações de acetato de chumbo [$\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$]: 0, 50, 100, 200, 400, 800, 1600, 3200 mg kg^{-1} de solo seco. As soluções de nutrientes e as de acetato de chumbo foram aplicadas aos solos, contidos nos sacos plásticos, com o auxílio de seringas de 20 e 60 ml, respectivamente. O volume de água aplicado como soluções e, ao longo do período experimental para manutenção da umidade, foi calculado para que os solos atingissem 70% da capacidade de campo. Após a adubação e contaminação, os solos foram homogeneizados e mantidos em repouso.

Após 24 horas da aplicação das soluções de acetato de chumbo aos solos, estes foram retirados de cada saco plástico e colocados em potes com capacidade de 500g, totalizando 4 potes (repetições) por tratamento. Em seguida, realizou-se o plantio de 10 sementes por pote. Quatro espécies foram selecionadas a partir das listas com sugestões presentes na ISO 11269-2 e na OECD-208: as monocotiledôneas, *Zea mays* (milho) e *Oryza sativa* (arroz), e as eudicotiledôneas *Phaseolus vulgaris* (feijão) e *Raphanus sativus* (rabanete).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial (8 x 4), ou seja, oito doses de Pb, quatro espécies vegetais, quatro repetições. O experimento teve duração de 21 dias, contabilizados após a germinação de 50% do grupo controle.

2.2 Avaliações dos parâmetros biológicos

Os seguintes parâmetros das espécies vegetais foram avaliados: emergência [porcentagem de emergência e índice de velocidade de emergência (IVE)], crescimento [altura, diâmetro do coleto, número de folhas, matéria seca

da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST)], teor de clorofila, trocas gasosas (taxa fotossintética, taxa transpiratória e condutância estomática) e fluorescência da clorofila *a* [rendimento quântico potencial do PSII e taxa relativa de transporte de elétrons (ETR)].

2.2.1 Emergência e crescimento

Foram realizadas contagens diárias da emergência de plântulas, para cálculo da porcentagem de emergência e do Índice de Velocidade de Emergência (IVE), segundo Maguire (1962).

Ao final de 21 dias realizou-se a avaliação dos seguintes parâmetros de crescimento (considerando-se todas as plantas por repetição e calculada a média) altura da parte aérea e diâmetro do coleto mensurados com régua graduada e paquímetro digital, respectivamente; número de folhas, matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR) e matéria seca total (MST). Para a determinação da matéria seca, a parte aérea e a raiz foram secas a 70°C em estufa de circulação forçada até peso constante.

2.2.2 Teor de clorofila

A estimativa do teor de clorofila foi obtida ao fim do período experimental, com o auxílio de um medidor portátil de clorofila (clorofilômetro), SPAD-502 (Minolta, Japão). Foram realizadas um total de 24 medições por tratamento, ou seja, foram avaliadas 2 folhas (milho e arroz: 3ª folha, da base para o ápice; feijão: uma das folhas primárias; rabanete: 3ª folha disposta na roseta) por repetição (pote) e 3 medições por folha (nas regiões apical, mediana e basal).

2.2.3 Trocas gasosas

As medições de trocas gasosas foram realizadas ao fim do período experimental, em 4 folhas (milho e arroz: 3ª folha, da base para o ápice; feijão: uma das folhas primárias) por tratamento, ou seja, uma planta (uma folha) por repetição (pote), atentando-se para as regiões das folhas que estavam posicionadas ortogonalmente ao sol.

As medições foram realizadas no período entre 9h e 11h, com o auxílio de um analisador de trocas gasosas por gás infravermelho (IRGA- Li-Cor LI-6400XT). A câmera de *led* do equipamento foi programada para uma densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA) de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e quando a área da câmera não foi totalmente preenchida pela folha a ser analisada, o valor da área a ser medida foi alterado. Foram determinados os valores de taxa fotossintética (A - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa transpiratória (E - $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e condutância estomática (g_s - $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

2.2.4 Fluorescência da clorofila *a*

As medições da fluorescência da clorofila *a* foram realizadas ao fim do período experimental, em 4 folhas (milho e arroz: 3ª folha, da base para o ápice; feijão: uma das folhas primárias) por tratamento, ou seja, uma planta (uma folha) por repetição (pote). As medições foram realizadas no período entre 9h e 11h, utilizando-se um fluorômetro portátil MINI-PAM (Heinz Wals GmbH, Alemanha).

Através da curva de resposta ao fluxo de fótons fotossintéticos (FFF), com aplicação de oito pulsos crescentes de intensidade de radiação, foram obtidos os valores de fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m) e fluorescência variável (F_v), estes últimos determinados pela diferença entre F_0 e

F_m . Os valores de F_v e F_m foram utilizados para calcular os valores da taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) (calculados automaticamente pelo equipamento).

Para se obter os valores do rendimento quântico potencial do PSII (F_v/F_m), o tecido foliar foi submetido à condição de escuro por 30 minutos, para que todos os centros de reação adquirissem o estado de abertos (Qa oxidada). A condição de escuro foi promovida pelo uso de presilhas (Leaf Clip DLC-8, Heinz Wals GmbH, Alemanha) presas às folhas selecionadas (Bøllhar-Nordenkampf et al., 1989).

2.3 Determinação de NOEC e LOEC

A partir dos resultados dos parâmetros biológicos avaliados nos testes fitotoxicológicos, foram determinados, pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$), os valores de NOEC (concentração efetiva em que não houve efeitos observados) e LOEC (concentração efetiva mínima em que houve efeitos observados). Considerou-se como NOEC a última concentração de Pb que não acarretou em diferença estatística significativa do parâmetro avaliado com relação ao controle e, LOEC a primeira concentração a acarretar esta diferença estatística.

2.4 Determinação de HC₅ e do valor de prevenção

De posse dos resultados para cada um dos parâmetros biológicos avaliados nos testes fitotoxicológicos, foram determinados os valores de EC₅₀ através de modelos de regressão não lineares que melhor se ajustaram pelo software STATISTICA, versão 7.

Os valores de HC₅ foram calculados a partir das curvas de distribuição da sensibilidade de espécies (DSE) construídas no software ETX 2.0

(VLAARDINGEN et al., 2004). Para a construção das curvas foram utilizados os menores valores de EC_{50} encontrados neste estudo, juntamente com os apresentados na Tabela 2. Foram calculados três valores de HC_5 (um para cada classe de solo, e um para ambas) e cada um foi somado ao VRQ para o Pb ($19,5 \text{ mg kg}^{-1}$), para a determinação dos valores de prevenção.

Adicionalmente, o VP foi calculado também pela metodologia de Avaliação de Risco Preliminar (VERBUGGEN et al., 2001). Neste caso, o menor valor de EC_{50} calculado foi dividido por um fator de segurança, igual a dez, sendo o resultado o valor de MAP (Máxima Adição Permitida). Por fim, MAP foi somado ao VRQ para o Pb ($19,5 \text{ mg kg}^{-1}$), resultando no valor de MCP (Máxima Concentração Permitida), equivalente de VP.

Tabela 2 Valores de EC₅₀ calculados a partir de parâmetros de *Zea mays*, *Phaseolus aureus*, *Eisenia andrei* e de *Folsomia cândida*, expostos aos solos LVAd e CXbd com doses crescentes de Pb.

Parâmetros	Espécies	CXbd EC ₅₀ (mg kg ⁻¹)	Modelo estatístico	R ²	LVAd EC ₅₀ (mg kg ⁻¹)	Modelo estatístico	R ²
Massa seca da parte aérea	Milho	397,3 (165,8 – 628,7)	Logistic	0,89	973 (569,2 – 1376,9)	Exponencial	0,92
	Feijão	511 (263,2 – 758,8)	Logistic	0,92	357,4 (160,2 – 554,7)	Logistic	0,91
Altura	Milho	-	-	-	-	-	-
	Feijão	3192,9 (2359,1 – 4026,8)	Exponencial	0,60	2197 (1565 – 2830)	Gompertz	0,75
Reprodução	<i>Eisenia andrei</i>	113,9 (71,7 – 156,0)	Logistic	0,94	90,4 (30,4 – 150,4)	Logistic	0,98
	<i>Folsomia cândida</i>	1224,4 (87,6 – 2536,4)	Exponencial	0,74	966,6 (807 – 1010,7)	Gompertz	0,90
Sobrevivência	<i>Eisenia andrei</i>	1120,3 (714,8 – 1525,8)	Logistic	0,87	1630,2 (656,8 – 2603,5)	Logistic	0,89

- Não foram significativos a 5% de probabilidade para regressões não lineares.

Os valores entre parênteses representam o limite inferior e superior da estimativa.

EC₅₀: concentração efetiva que causou redução em 50% do parâmetro biológico avaliado;

Fonte: Alexandrino (2014).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliações dos parâmetros biológicos

Os valores dos parâmetros relacionados à emergência de plântulas variaram de acordo com a classe de solo e as espécies vegetais utilizadas nos testes. As espécies cultivadas em LVAd foram mais sensíveis (Figura 1A), sendo que não houve emergência de plântulas de rabanete e feijão na maior concentração de Pb (3200 mg kg^{-1}). Como pode ser observado na Figura 2A, para o Índice de velocidade de emergência (IVE) do feijão, houve diferença significativa com relação ao controle já a partir da primeira concentração de Pb (50 mg kg^{-1}). O IVE do rabanete, na concentração de 1600 mg kg^{-1} , foi reduzido em 97,05% quando comparado ao controle.

Por outro lado, todas as espécies cultivadas no CXbd apresentaram emergência em todos os tratamentos (Figura 1B), sendo os efeitos menos expressivos e, de maior ocorrência, nas concentrações mais altas, com exceção do arroz, cujos efeitos foram mais expressivos do que quando a espécie foi cultivada em LVAd.

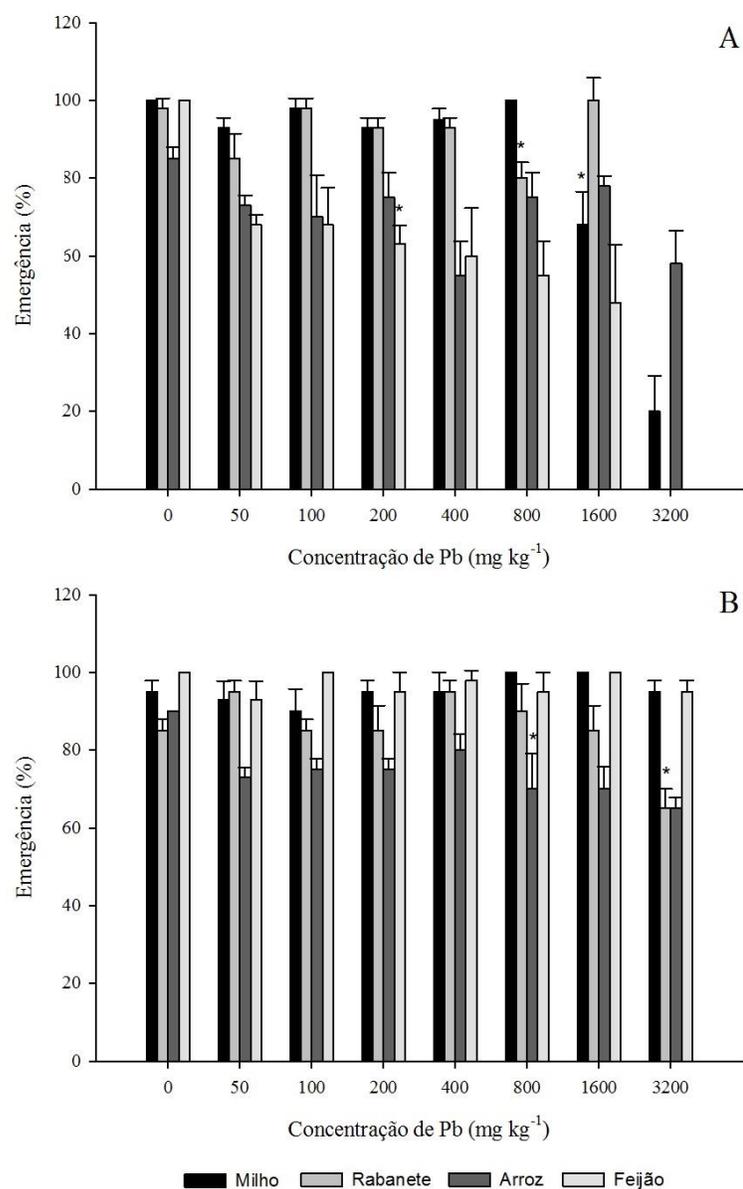


Figura 1 Porcentagem de emergência de plantas de milho, rabanete, arroz e feijão cultivadas em (A) LVAd e (B) CXbd com doses crescentes de Pb.

As barras representam o erro padrão da média (n=4). * representa a primeira concentração a apresentar diferença significativa em relação ao controle (LOEC), pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$).

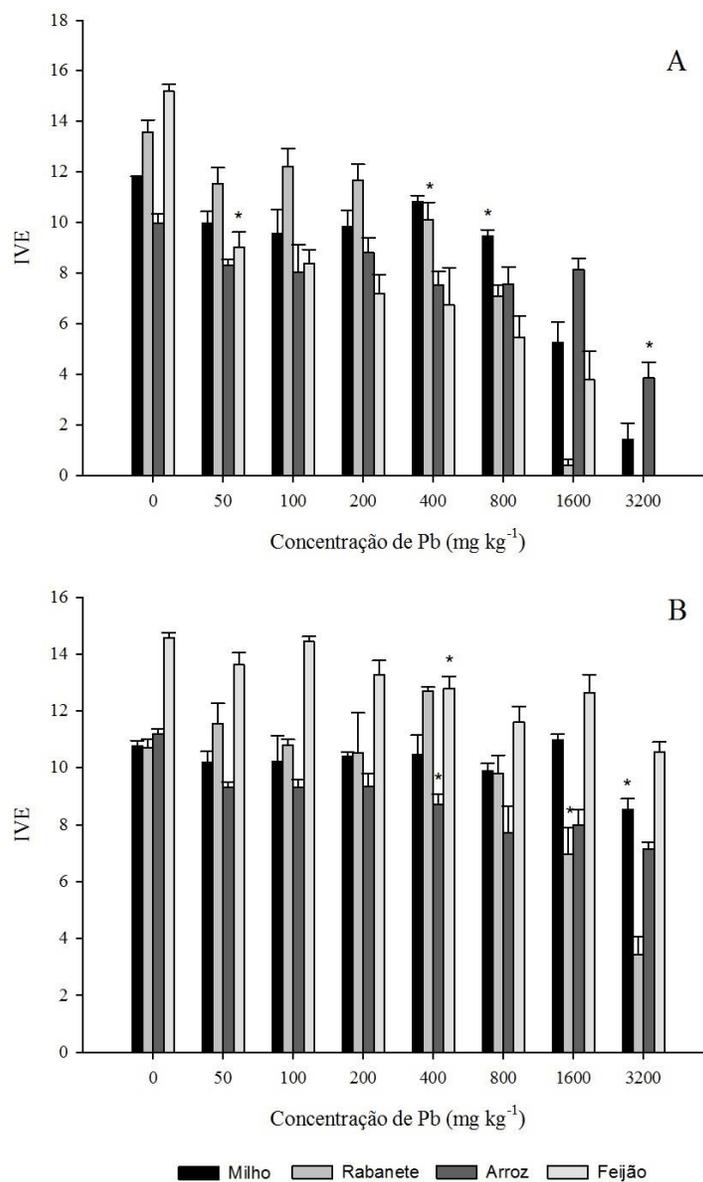


Figura 2 Índice de velocidade de emergência (IVE) de plantas de milho, rabanete, arroz e feijão cultivadas em (A) LVAd e (B) CXbd com doses crescentes de Pb.

As barras representam o erro padrão da média (n=4). * representa a primeira concentração a apresentar diferença significativa em relação ao controle (LOEC), pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$).

A redução da porcentagem de emergência das plântulas é, em parte, consequência dos efeitos do Pb na germinação das sementes. O Pb pode ter inibido a atividade da α amilase, enzima hidrolítica responsável pela quebra do amido (SENGAR et al., 2009). Isso ocorre, pois os íons Pb^{2+} podem interagir com o mesmo sítio de ligação do Ca^{2+} , sendo este o responsável pela manutenção da estrutura da enzima (ELARBI et al., 2009; SHARMA, DUBEY, 2005). Redução da atividade de α amilase foi relatada por Moraes (2011), em estudo dos efeitos de acetato de chumbo sobre o tomateiro. Além disso, os íons de Pb ao serem absorvidos, podem se acumular nas regiões meristemáticas de raízes e do hipocótilo e, assim, também afetar a emergência bem como o crescimento inicial das plântulas.

Embora as quatro espécies testadas sejam consideradas sensíveis a elementos-traço, observou-se que houve diferenças no grau de sensibilidade. Em LAVd (Figuras 1A e 2A) o feijão foi a espécie que apresentou os maiores efeitos nos parâmetros de emergência, ao passo que em arroz esses parâmetros não foram afetados. O inverso foi observado em CXbd (Figuras 1B e 2B), em que a porcentagem de emergência do arroz foi mais sensível que a de feijão. O tamanho da semente e a estrutura do seu tegumento influenciam na absorção de água do solo (WIERZBICKA; OBIDZIŃSKA, 1998) e, assim do Pb fitodisponível, o que pode explicar variações na germinação e, por conseguinte, na emergência entre as espécies, sendo então a semente de feijão mais propensa a absorver os íons de Pb.

O comportamento variado de acordo com a classe de solo pode ser justificado pelas propriedades intrínsecas de cada classe. A velocidade de emergência de plântulas depende, em parte, das propriedades físicas do solo. Em solos com alto teor de areia, tais como o LVAd utilizado, as sementes podem romper a barreira física do solo com mais facilidade (BOCCHESI et al., 2008), ao passo que a compactação de solos que apresentam maior teor de argila é uma

resistência ao processo. Isso poderia explicar a maior suscetibilidade da emergência do arroz quando cultivado em CXbd.

No entanto, possuir maior proporção de areia, um substrato inerte com alta porosidade, significa apresentar baixa retenção de água, e com isso a embebição das sementes pode ser reduzida devido à drenagem rápida da água (BOCCHESI et al., 2008). Porém, nas condições experimentais deste trabalho não ocorreu drenagem da água, sendo os efeitos observados em LVAd justificados principalmente pela maior fitodisponibilidade de Pb possibilitada pelas propriedades físico-químicas dessa classe de solo, tais como baixo teor de argila, pH ácido (4,8), menor valor de CTC e baixo conteúdo de matéria orgânica (0,24%). Assim, sementes em solos com maiores teores de areia estão expostas a maiores concentrações de Pb fitodisponível, o qual se absorvido, desencadeia distúrbios no processo de germinação que refletem em parâmetros relacionados a emergência, bem como aos relacionados ao crescimento, como ocorreu com o feijão.

Os resultados dos parâmetros de crescimento também variaram conforme a espécie e a classe de solo testados. Em LVAd, como não houve germinação de rabanete e feijão no último tratamento (3200 mg kg^{-1}), a última concentração considerada foi 1600 mg kg^{-1} . Embora estas espécies tenham sido sensíveis no último tratamento, ao se considerar as demais concentrações para o parâmetro altura, o milho e o arroz foram as espécies mais sensíveis (Figura 3A), apresentando redução significativa a partir das concentrações 100 e 400 mg kg^{-1} , respectivamente.

Em CXbd, as reduções na altura das plantas (Figura 3B) não foram tão expressivas quanto às encontradas para as plantas do LVAd, principalmente quando se considera a concentração mais alta (3200 mg kg^{-1}). Nesta concentração, as reduções comparadas ao controle foram de 25,71%, 35,90%, 41,55% e 59,38% para milho, feijão, arroz e rabanete, respectivamente.

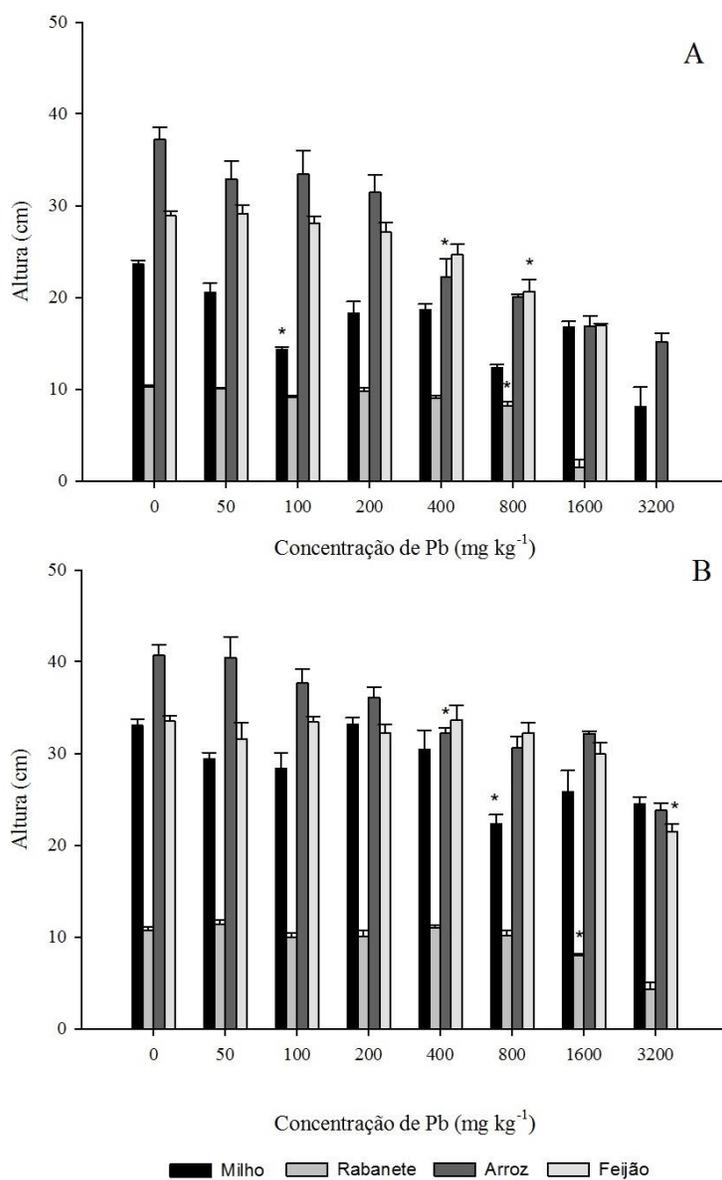


Figura 3 Altura da parte aérea de plantas de milho, rabanete, arroz e feijão cultivadas em (A) LVAd e (B) CXbd com doses crescentes de Pb. As barras representam o erro padrão da média (n=4). * representa a primeira concentração a apresentar diferença significativa em relação ao controle (LOEC), pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$).

O parâmetro matéria seca demonstrou ser muito responsivo ao aumento da concentração de Pb. Em LVAd, milho, feijão e rabanete apresentaram redução significativa da matéria seca da parte aérea a partir de 50, 200 e 400 mg kg⁻¹, respectivamente (Figura 4A). Para milho e arroz cultivados na concentração de 3200 mg kg⁻¹ e, para plantas de rabanete no tratamento com 1600 mg kg⁻¹, as reduções foram superiores a 90% em relação aos controles. As plantas cultivadas em CXbd também apresentaram redução significativa da matéria seca da parte aérea (MSPA) (Figura 4B), mas a partir das maiores concentrações, com exceção do arroz que foi mais afetado neste solo do que em LVAd.

Quanto à matéria seca de raiz (MSR), avaliou-se apenas em milho e feijão, pois as raízes de rabanete e arroz se apresentaram muito finas e de difícil manejo, sendo pouco o material coletado, o que impossibilitou a correta comparação entre o controle e os demais tratamentos. Em LVAd houve redução significativa de matéria seca de raiz de plantas de feijão a partir da concentração de 200 mg kg⁻¹ (Figura 5A), e, em CXbd (Figura 5B), o milho foi a espécie mais sensível a esse tratamento. Ao se considerar a matéria seca total (MST), o comportamento foi o mesmo que os anteriores, sendo o feijão mais sensível em LVAd (Figura 6A) e o milho, em CXbd (Figura 6B).

O diâmetro de coleto (Figura 7) e número de folhas (Figura 8) foram parâmetros pouco responsivos ao Pb. Todas as espécies, cultivadas nos dois solos, apresentaram decréscimo significativo no número de folhas a partir dos últimos tratamentos. Para o diâmetro de coleto ocorreu o mesmo, com exceção de feijão (em CXbd) e arroz (em LVAd), que foram sensíveis às concentrações de 200 e 400 mg kg⁻¹, respectivamente.

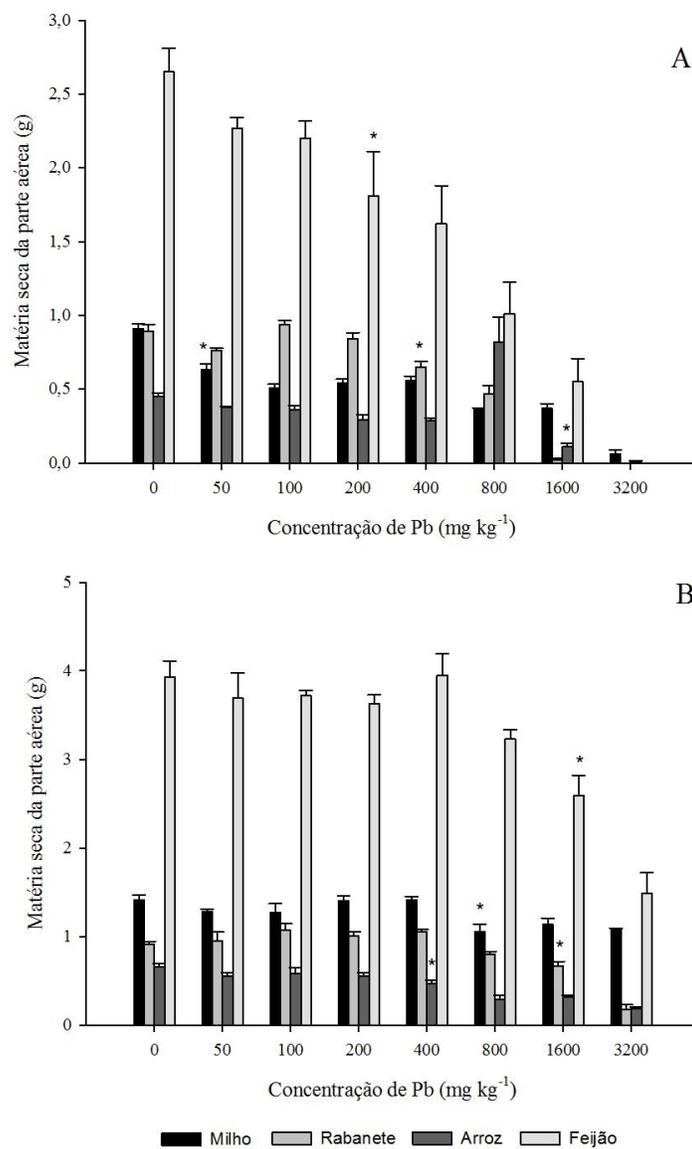


Figura 4 Matéria seca da parte aérea de plantas de milho, rabanete, arroz e feijão cultivadas em (A) LVAd e (B) CXbd com doses crescentes de Pb. As barras representam o erro padrão da média (n=4). * representa a primeira concentração a apresentar diferença significativa em relação ao controle (LOEC), pelo teste de Dunnet (p<0,05).

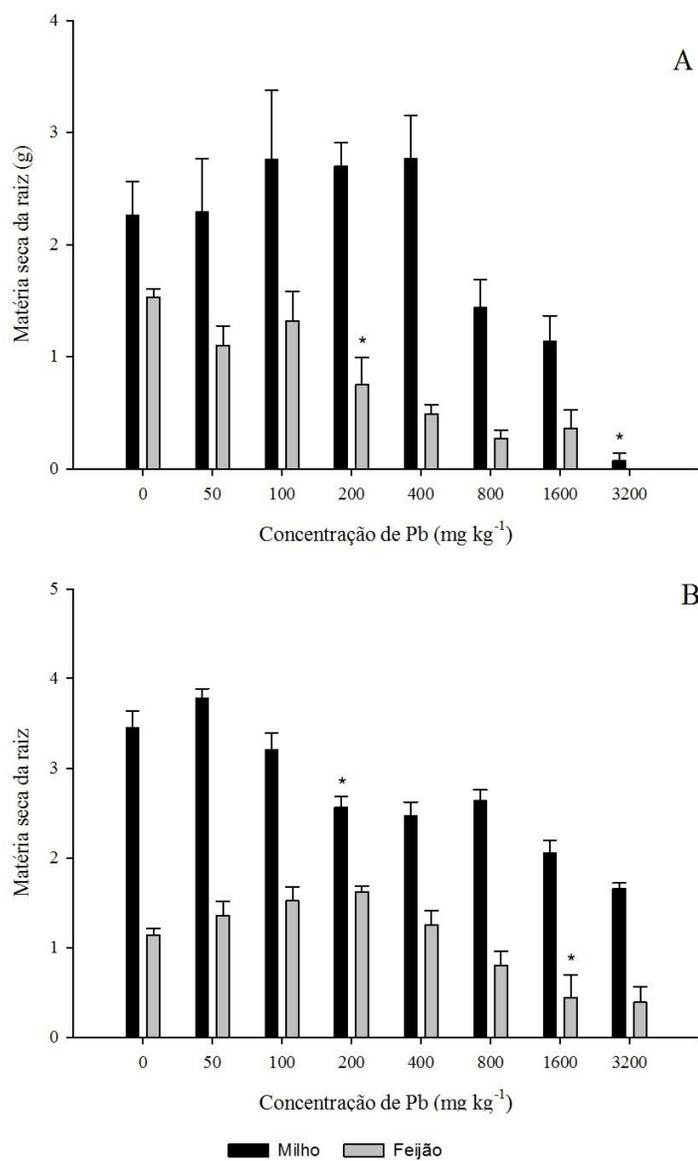


Figura 5 Matéria seca da raiz de plantas de milho e feijão cultivadas em (A) LVAd e (B) CXbd com doses crescentes de Pb. As barras representam o erro padrão da média (n=4). * representa a primeira concentração a apresentar diferença significativa em relação ao controle (LOEC), pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$).

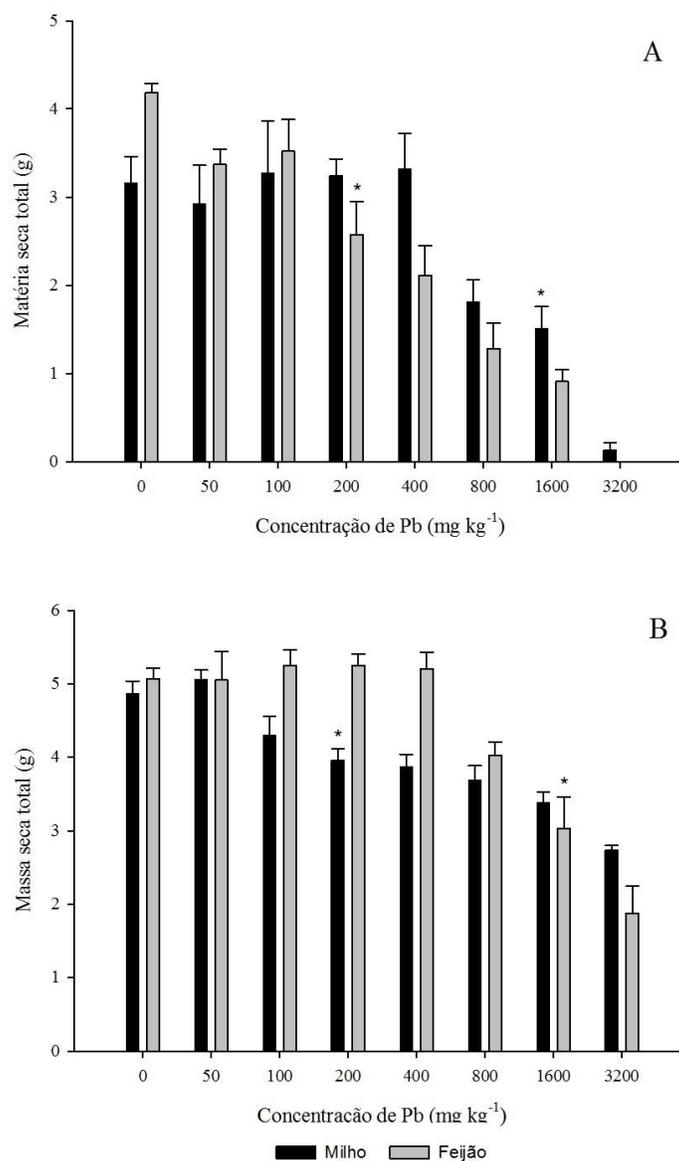


Figura 6 Matéria seca total de plantas de milho e feijão cultivadas em (A) LVAd e (B) CXbd com doses crescentes de Pb.

As barras representam o erro padrão da média (n=4). * representa a primeira concentração a apresentar diferença significativa em relação ao controle (LOEC), pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$).

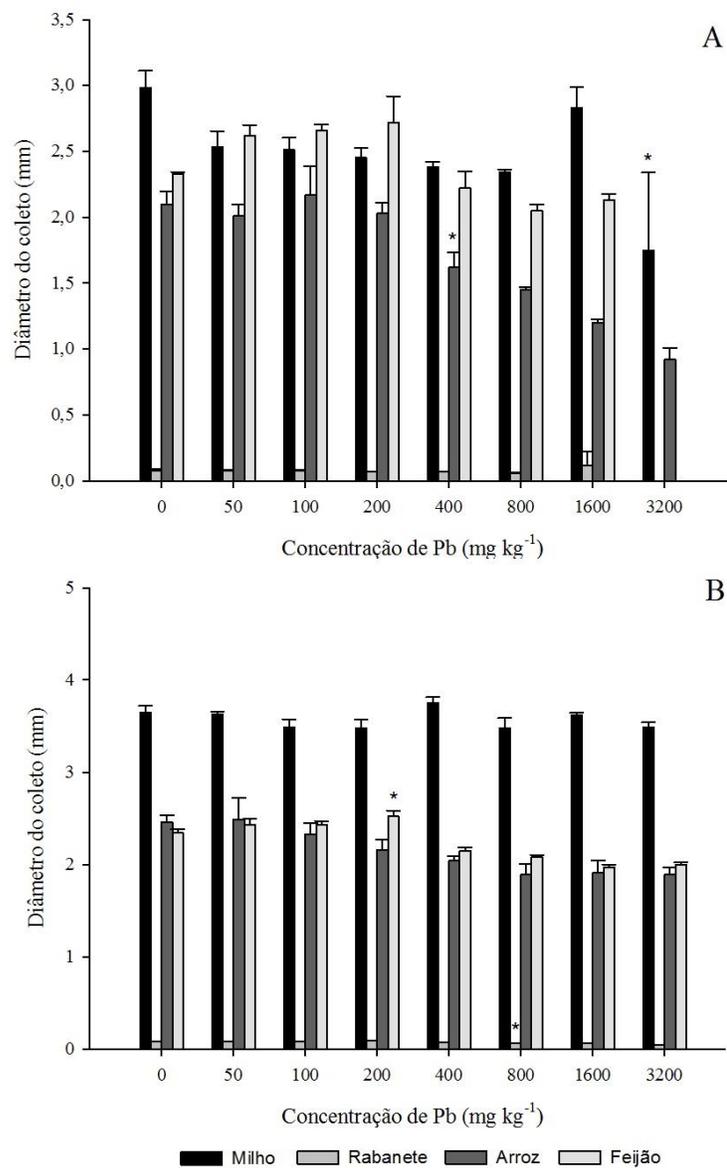


Figura 7 Diâmetro de coleto de plantas de milho, rabanete, arroz e feijão cultivadas em (A) LVAd e (B) CXbd com doses crescentes de Pb. As barras representam o erro padrão da média (n=4). * representa a primeira concentração a apresentar diferença significativa em relação ao controle (LOEC), pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$).

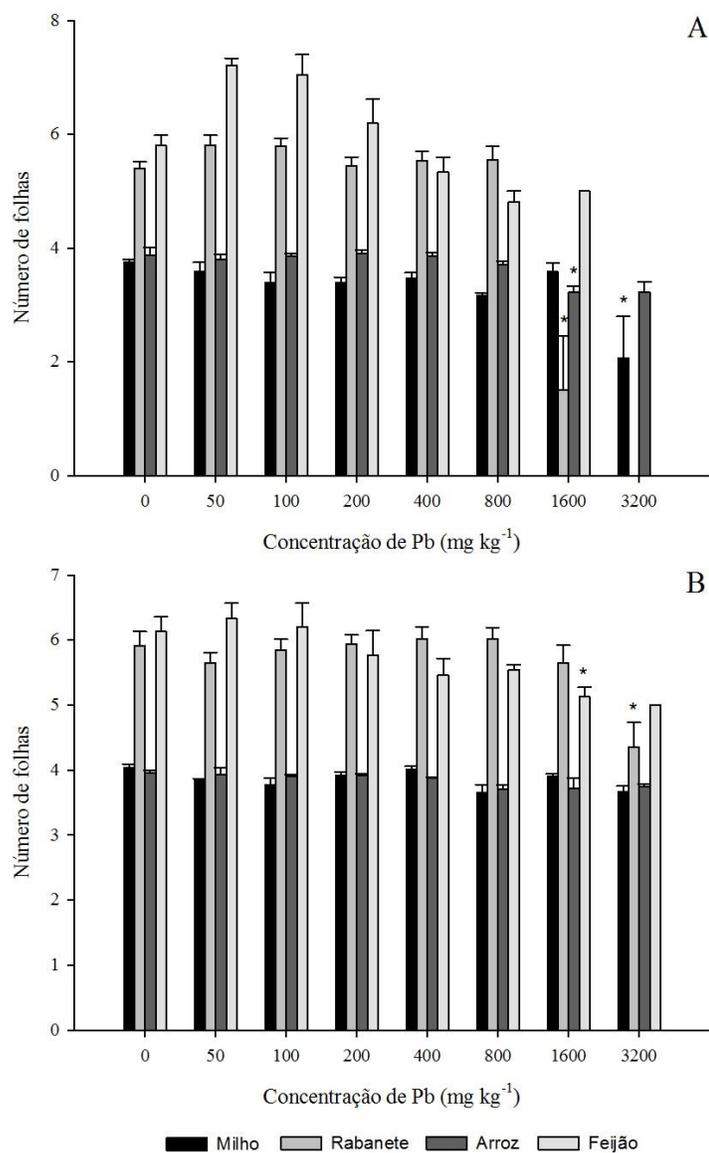


Figura 8 Número de folhas de plantas de milho, rabanete, arroz e feijão cultivadas em (A) LVAd e (B) CXbd com doses crescentes de Pb. As barras representam o erro padrão da média (n=4). * representa a primeira concentração a apresentar diferença significativa em relação ao controle (LOEC), pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$).

Não foi possível realizar medições do teor de clorofila, trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* em folhas de rabanete e milho cultivados em LVAd e tratados com 1600 e 3200 mg kg⁻¹, respectivamente, devido ao crescimento reduzido das folhas. Para o teor de clorofila, o arroz foi a espécie mais sensível em ambos os solos, com redução significativa a partir de 100 e 400 mg kg⁻¹ quando cultivado em CXbd e LVAd, respectivamente (Figura 9).

Os parâmetros de trocas gasosas foram avaliados em milho, arroz e feijão, sendo pouco responsivos ao Pb (Figuras 10, 11 e 12). Para as plantas cultivadas em LVAd, não houve diferença significativa para nenhum destes parâmetros, mas para as plantas do CXbd houve diferenças, ainda que a partir da concentração de 1600 mg kg⁻¹.

Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* foram avaliados em milho, arroz e feijão. O rendimento quântico potencial do PSII não foi responsivo para nenhuma das espécies em ambos os solos, não havendo diferença significativa entre os tratamentos e os controles (Figura 13).

A taxa de transporte de elétrons (ETR) em plantas cultivadas em LVAd não diferiu significativamente dos controles (Figura 14A). Já no CXbd, o arroz apresentou redução na última concentração (3200 mg kg⁻¹) e o feijão a partir do tratamento com 400 mg kg⁻¹ (Figura 14B).

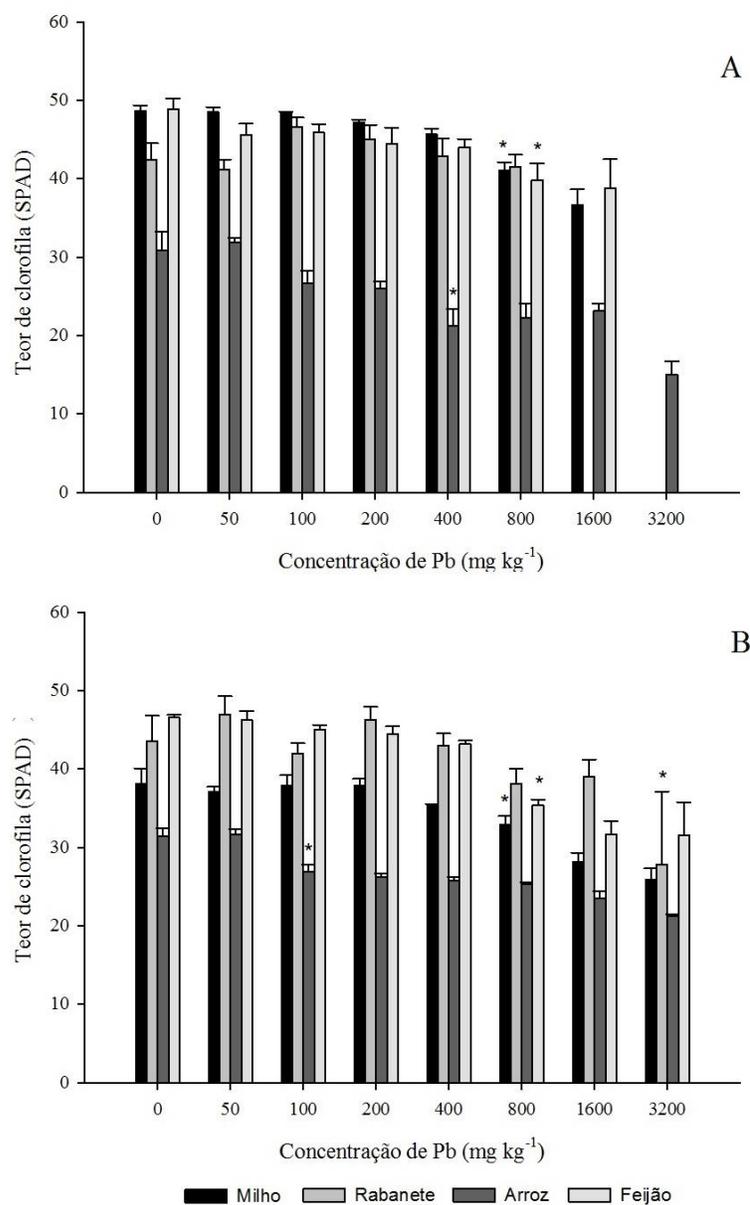


Figura 9 Teor de clorofila (SPAD) de plantas de milho, rabanete, arroz e feijão cultivadas em (A) LVAd e (B) CXbd com doses crescentes de Pb. As barras representam o erro padrão da média (n=4). * representa a primeira concentração a apresentar diferença significativa em relação ao controle (LOEC), pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$).

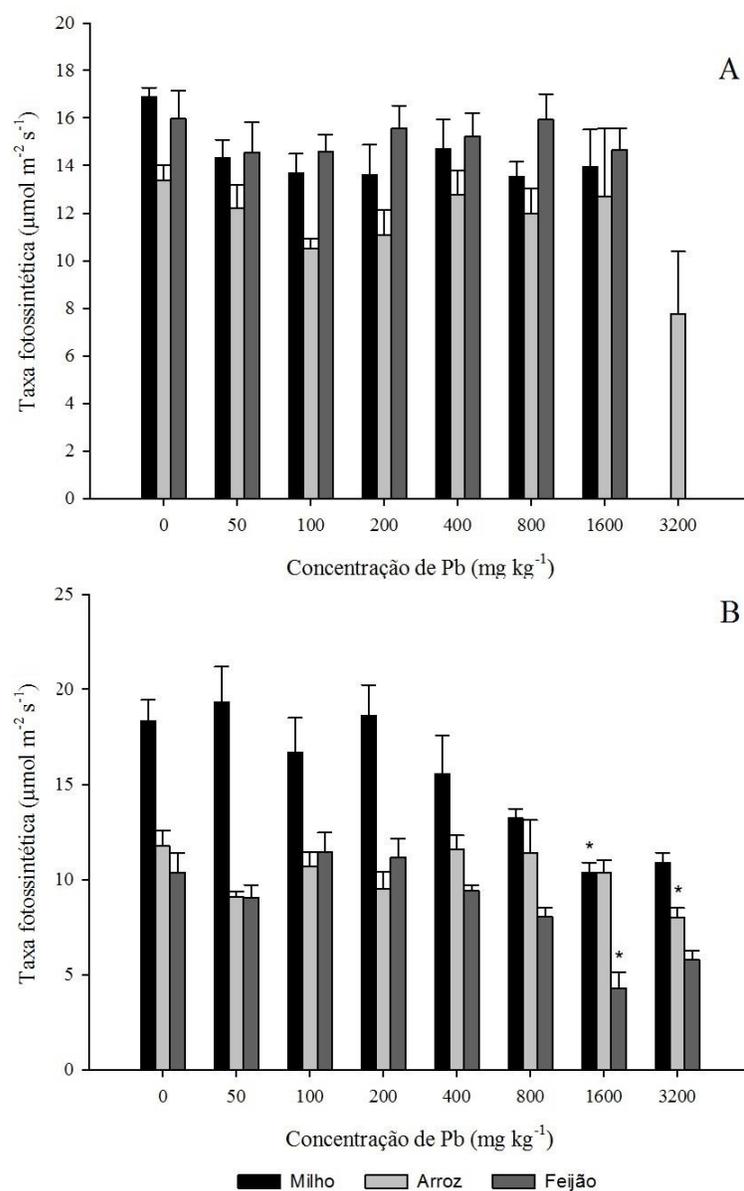


Figura 10 Taxa fotossintética de plantas de milho, arroz e feijão cultivadas em (A) LVAd e (B) CXbd com doses crescentes de Pb. As barras representam o erro padrão da média (n=4). * representa a primeira concentração a apresentar diferença significativa em relação ao controle (LOEC), pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$).

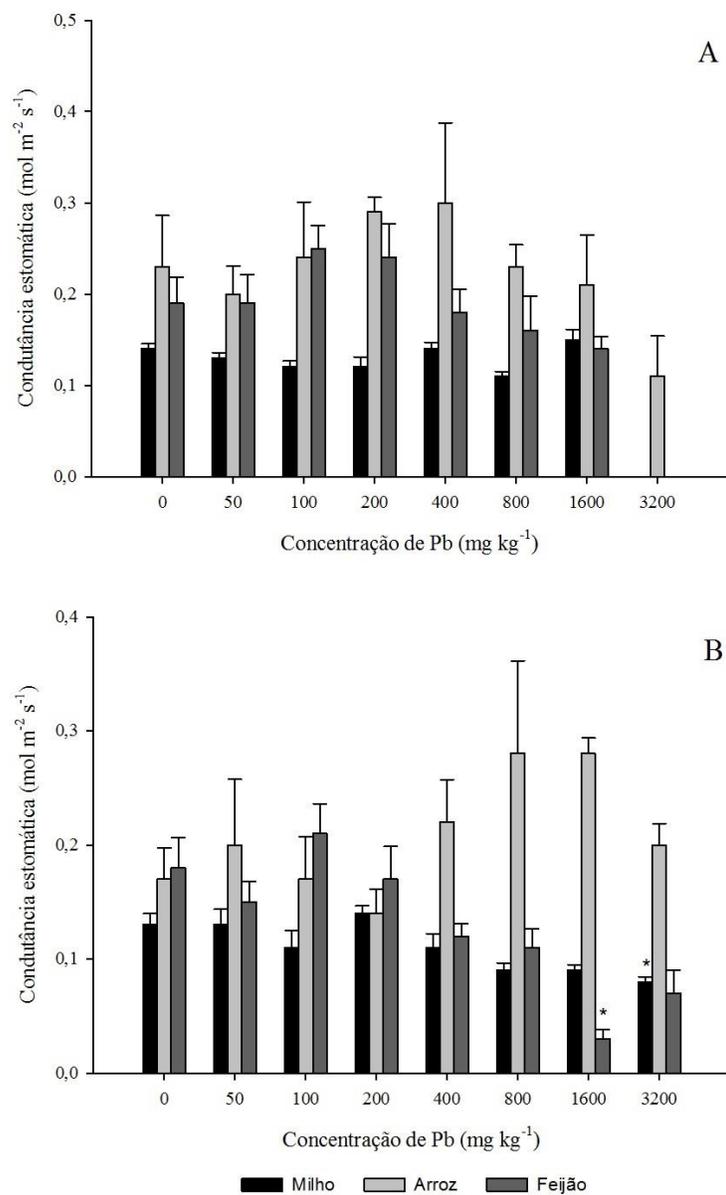


Figura 11 Condutância estomática de plantas de milho, arroz e feijão cultivadas em (A) LVAd e (B) CXbd com doses crescentes de Pb. As barras representam o erro padrão da média (n=4). * representa a primeira concentração a apresentar diferença significativa em relação ao controle (LOEC), pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$).

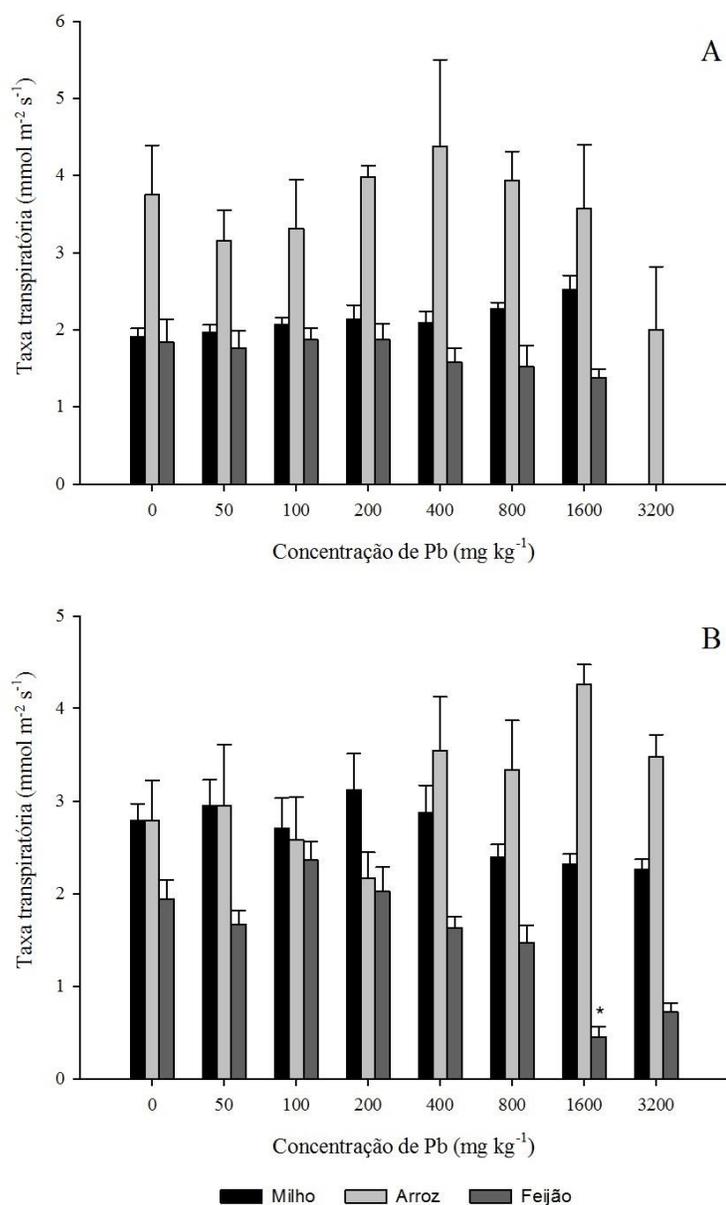


Figura 12 Taxa transpiratória de plantas de milho, arroz e feijão cultivadas em (A) LVAd e (B) CXbd com doses crescentes de Pb. As barras representam o erro padrão da média (n=4). * representa a primeira concentração a apresentar diferença significativa em relação ao controle (LOEC), pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$).

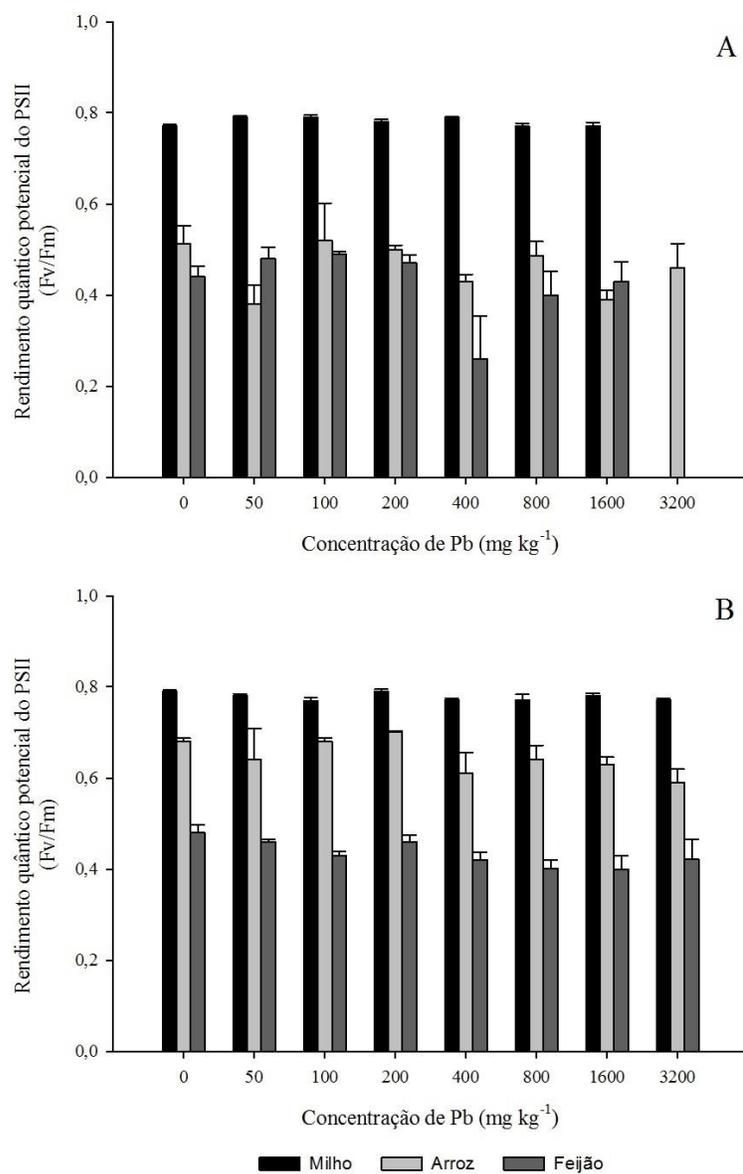


Figura 13 Rendimento quântico potencial do fotossistema II (PSII) de plantas de milho, arroz e feijão cultivadas em (A) LVAd e (B) CXbd com doses crescentes de Pb.

As barras representam o erro padrão da média (n=4). * representa a primeira concentração a apresentar diferença significativa em relação ao controle (LOEC), pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$).

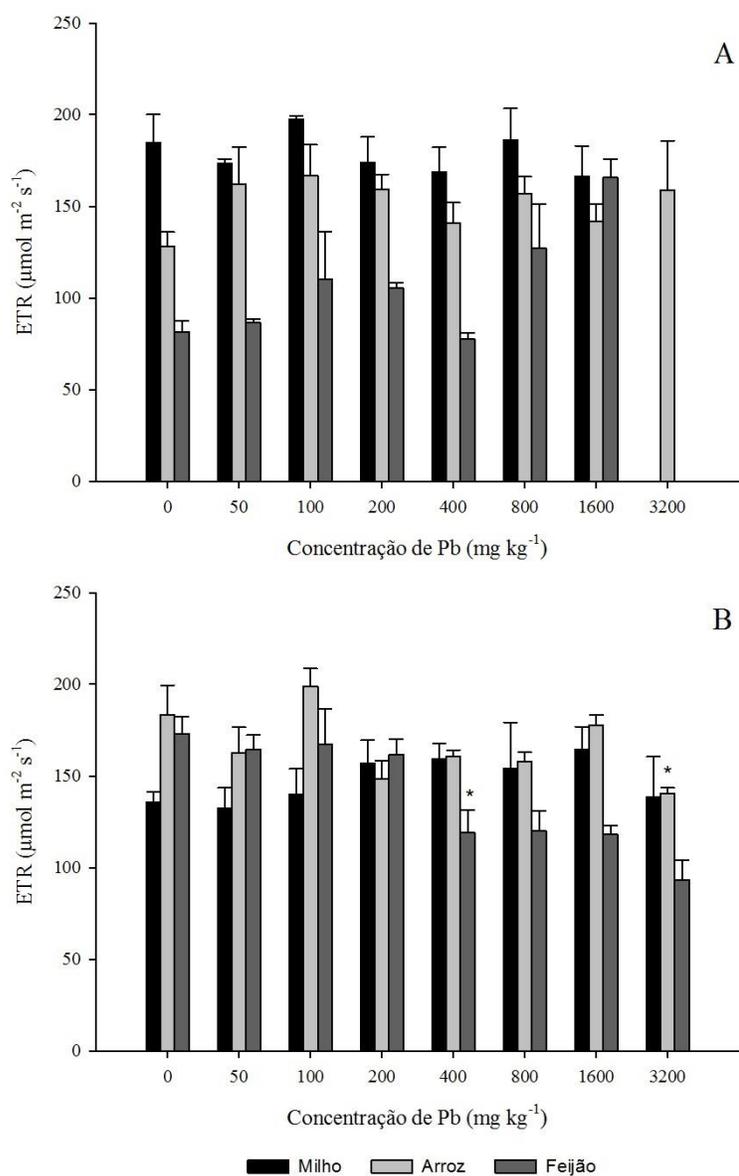


Figura 14 Taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) de plantas de milho, arroz e feijão cultivadas em (A) LVAd e (B) CXbd com doses crescentes de Pb.

As barras representam o erro padrão da média (n=4). * representa a primeira concentração a apresentar diferença significativa em relação ao controle (LOEC), pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$).

Esperava-se que, em função das propriedades físico-químicas do LVAd, responsáveis pela maior fitodisponibilidade do Pb, todos os parâmetros avaliados, principalmente os mais sensíveis, para plantas cultivadas neste solo fossem inferiores aos das plantas cultivadas em CXbd. No entanto, os parâmetros fisiológicos relacionados às trocas gasosas e à fluorescência da clorofila *a* para as plantas cultivadas em LVAd não diferiram significativamente dos controles (Figuras 10A, 11A, 12A, 13A e 14A). Possivelmente, algum outro fator atuou sobre as plantas cultivadas em LVAd, exigindo-se que se mantivessem as taxas fotossintéticas, ainda que sob a condição de estresse causado pelo Pb.

A redução das taxas fotossintéticas observada em plantas de milho, arroz e feijão cultivadas em CXbd (Figura 10B), pode ter ocorrido devido ao efeito do Pb sobre a enzima ácido δ -aminolevulínico desidratase (ALA-D), principal enzima da rota de biossíntese de clorofila, ou ainda, por este elemento promover a síntese de clorofilases (GUPTA et al., 2009). Conforme pode ser observado na Figura 9B, houve redução do teor de clorofila para as espécies supracitadas.

O rendimento quântico potencial do PSII não foi afetado em nenhuma das espécies em ambos os solos (Figura 13). Isso indica que, o aparato fotossintético manteve-se íntegro, sendo eficaz na captação do fluxo de fótons. Conclui-se assim que, esse parâmetro não foi uma das causas da redução das taxas fotossintéticas. Isso está de acordo com Leal-Alvarado et al. (2016), que concluiu que o rendimento potencial do PSII foi pouco afetado pelas concentrações de Pb.

A fosforilação de proteínas do PSII regula o ciclo de reparo da fotoinibição, pelo controle da degradação proteolítica da proteína fotodanificada D1 na membrana do tilacoide (TAIZ; ZEIGER, 2013). O Pb pode afetar a fosforilação da proteína D1. Como as espécies estudadas não apresentaram diferenças significativas, com relação aos controles, do rendimento quântico

potencial do PSII, pode ser que tenha ocorrido um aumento da fosforilação de proteínas centrais do PSII, como relatado por Kuang, Lu e Zhang (2013) para o milho. Os autores explicam que esta seria uma resposta adaptativa da planta quando submetida ao Pb, o que pode ser requerido para manter a fotossíntese sob o estresse causado pelo metal pesado. Assim, isso pode ser uma explicação do por que as plantas cultivadas no LVAd mantiveram suas taxas fotossintéticas mesmo sob o estresse causado por Pb.

Embora não se tenha observado efeitos sobre o rendimento quântico potencial do PSII, as plantas de feijão e arroz apresentaram reduções significativas, comparadas ao controle, de suas taxas relativas de transporte de elétrons (ETR) (Figura 14B). Distúrbios na cadeia de transporte de elétrons podem ocorrer, pois os cátions Pb^{2+} podem ligar-se à membrana dos tilacoides, em regiões próximas à plastocianina, e interromper o fluxo de elétrons (BELATIK et al., 2013). Isso pode ser mais uma das explicações para a redução das taxas fotossintéticas, já que distúrbios no fluxo de elétrons da cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese podem resultar em menor geração de poder redutor (NADPH), e de ATP, os quais são necessários durante a fase bioquímica.

A fase bioquímica da fotossíntese também pode ter sido influenciada pela redução significativa da condutância estomática (Figura 11B), e, assim, menor entrada de CO_2 . No caso do arroz em que não houve redução da condutância estomática, mas houve redução da taxa fotossintética na última concentração, esta redução pode ter ocorrido devido a algum dano estrutural da enzima ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase, ou ainda pela competição entre O_2 e CO_2 pelo sítio ativo da enzima (fotorrespiração).

A condutância estomática reduz como consequência da influência do Pb no mecanismo de abertura e fechamento estomático, pois este elemento-traço aumenta a concentração do fitormônio ABA nas raízes e parte aérea, o que

desencadeia o fechamento das células-guarda dos estômatos (ROELFSEMA; HEDRICH, 2005). Com a redução da condutância estomática, o processo de transpiração também é afetado. Além disso, as reduções do número e da expansão das folhas também podem explicar as reduções das taxas transpiratórias (Figura 12B), devido ao menor número de estômatos por unidade de área foliar (POURRUT et al., 2011).

As taxas fotossintéticas de plantas de metabolismo C_4 são superiores às das plantas C_3 , já que praticamente não ocorre fotorrespiração. De modo geral, o milho (C_4), apresentou taxas fotossintéticas superiores às demais espécies, quando cultivado em CXbd. Ainda que a condutância estomática do milho tenha sido menor do que a de arroz e a de feijão, suas taxas fotossintéticas foram superiores, o que pode ser explicado pelo mecanismo de concentração de CO_2 (menor ponto de compensação por CO_2) que as plantas C_4 apresentam.

Os efeitos do Pb sobre a bioquímica e fisiologia das plantas são em parte, consequências da entrada deste elemento-traço nas células vegetais. Essa entrada pode ocorrer devido à competição de íons de Pb com os nutrientes minerais, pelo mesmo canal de absorção na membrana plasmática. Como consequência da interferência do Pb na absorção dos nutrientes minerais, reações bioquímicas, bem como processos fisiológicos são alterados, já que muitos destes nutrientes são importantes cofatores de enzimas (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}), bem como estão envolvidos em reações redox (Fe^{2+} , Zn^{2+}) (TAIZ; ZEIGER, 2013). Aliás, o Pb interfere na absorção do nitrogênio, importante constituinte de biomoléculas, por inibir, na raiz e na parte aérea, a atividade da enzima redutase do nitrato (GOPAL; RIZVI, 2008; SHARMA; DUBEY, 2005).

Com a deficiência de nutrientes, e consequentes alterações na bioquímica e fisiologia, o crescimento da planta é comprometido e a fitotoxicidade do Pb resulta em sintomas visuais, como redução da altura (Figura 3), redução de matéria seca (Figuras 4, 5 e 6), redução de número de folhas

(Figura 8) e redução do diâmetro do coleto (Figura 7). Em estudo com plantas de tomate, cultivadas em concentrações de 300, 600 e 1800 ppm de nitrato de chumbo, Opeolu et al. (2010) também observou reduções da altura, da matéria seca e do número de folha, a partir da primeira concentração. Aliás, o Pb pode interferir no status hídrico da planta, o que acarreta sérios distúrbios no crescimento inicial, já que processos como expansão celular dependem da turgescência celular. Assim, sob baixo status hídrico, a expansão foliar é comprometida bem como o diâmetro do coleto (Figura 7).

A redução das taxas fotossintéticas é uma das causas da redução da produção de matéria seca (SHI; CAI, 2009), já que neste caso, o carbono fixado é prontamente utilizado na respiração e, portanto não é alocado. Mas, as plantas cultivadas em LVA_d apresentaram reduções significativas, com relação aos controles, de matéria seca, sem, no entanto, terem ocorrido efeitos sobre as taxas fotossintéticas. Com destaque para o milho, que apresentou redução da matéria seca da parte aérea a partir da segunda concentração de Pb testada (50 mg kg^{-1}) (Figura 4A) e feijão, cuja redução de matéria seca da raiz ocorreu a partir da concentração de 200 mg kg^{-1} (Figura 5A). Possivelmente, as taxas fotossintéticas foram mantidas sem haver investimento em matéria seca, para que os carboidratos remanescentes a respiração, fossem utilizados para recompor estruturas danificadas pelo estresse causado pelo Pb.

Quanto às raízes, o Pb provavelmente interferiu no desenvolvimento inicial destas, o que resultou nas diferenças de matéria seca (Figura 5). Por serem os primeiros órgãos em contato com o solo, são também os primeiros suscetíveis a danos. Os íons de Pb^{2+} , por se assemelharem aos nutrientes minerais catiônicos, competem com estes pelos canais de membrana e, assim podem ser absorvidos via apoplasto. Aliás, a presença de Pb pode desencadear alta produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) nas células, o que pode

resultar em graves danos à membrana plasmática, em virtude da peroxidação lipídica da bicamada.

Ao entrarem nas células, via apoplasto, os íons de Pb causam sérios danos ao desenvolvimento do sistema radicular, como a redução do crescimento (por inibir a divisão celular na zona de crescimento, ponta da raiz) e a inibição de raízes laterais (FAHR et al., 2013). Assim, o crescimento da planta como um todo pode ser afetado indiretamente pelo Pb, pois raízes subdesenvolvidas não são capazes de explorar eficientemente o solo, o que resulta em baixo suprimento de água e nutrientes. Malar et al. (2014) observaram que maiores reduções de matéria seca ocorreram em raízes do que na parte aérea, o que também foi observado no presente estudo para as plantas de milho e feijão (Figuras 4 e 5). A maior parte do Pb absorvido pelas raízes é acumulado nestas (KUMAR et al., 1995), sendo baixos os níveis de translocação para a parte aérea, embora estes níveis possam variar de acordo com as propriedades dos solos, nutrientes disponíveis, bem como se a espécie considerada é ou não hiperacumuladora de Pb.

Além dos sintomas visuais da fitotoxicidade do Pb abordados anteriormente, as plantas também apresentaram clorose internerval, marginal e generalizada, necrose marginal, murchamento das folhas e nanismo (apenas em plantas cultivadas em LVAd), com redução drástica do comprimento do caule e do tamanho foliar. Na Figura 15 são mostrados alguns desses sintomas para feijão e milho, que foram as espécies que apresentaram sintomas visuais com maior frequência, principalmente quando cultivadas em CXbd.

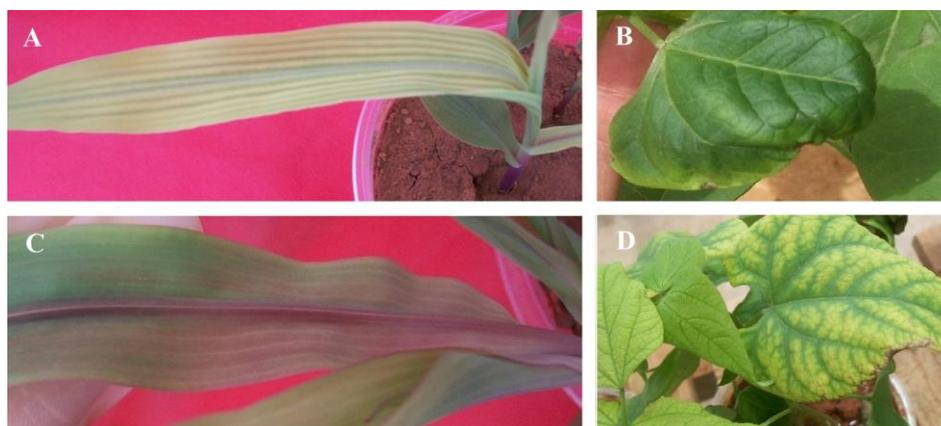


Figura 15 Sintomas visuais da fitotoxicidade do Pb em plantas de milho e de feijão cultivadas em LVAd e CXbd com doses crescentes do elemento-traço. Observa-se clorose internerval em milho (A) e feijão (D), encarquilhamento da folha de feijão (B), necrose marginal em folhas de feijão (D) e coloração arroxeada da face abaxial de folha de milho (C), visualizada apenas nesta espécie.

A clorose internerval (Figura 15A e D) pode ser explicada pelos efeitos do Pb na absorção de nutrientes, tais como o Mg^{2+} , pois neste caso, o cátion Pb^{2+} altera a estabilidade das clorofilas ao substituir o Mg^{2+} . A clorose evoluiu para necrose marginal (Figura 15D), provavelmente em decorrência da deficiência em K, resultante da competição de íons de Pb^{2+} com íons de K^+ , pelo mesmo canal de entrada na membrana plasmática (SHARMA; DUBEY, 2005). A clorose generalizada é resultante da redução geral na concentração de nitrogênio inorgânico, que pode ter ocorrido pela redução da atividade da redutase do nitrato (SENGAR et al., 2009).

O encarquilhamento pode ter ocorrido devido a substituição de íons de Ca, presentes na parede celular, por íons de Pb, já que estes tem alta afinidade por pectina (BRUNET et al., 2008). Assim, devido a essa alteração na constituição da parede celular, ocorrem enrugamentos como os verificados na Figura 15B. Aliás, a deficiência em Zn também pode resultar em folhas

encarquilhadas, o que pode ocorrer devido à perda da capacidade de produzir quantidades suficientes de ácido indolacético (AIA) (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A coloração arroxeadada da face abaxial das folhas de milho (Figura 15D), pode ser resultado do acúmulo de antocianina, sintetizada a partir de carbonos não utilizados no metabolismo do nitrogênio, já que a redutase do nitrato é afetada na presença de Pb. Islam et al. (2007) também cita a ocorrência dessa coloração. Malar et al. (2014) também observou sintomas de clorose, murcha, além de queda de folhas em mudas de plantas expostas ao chumbo.

3.2 Determinação de NOEC e LOEC

De posse dos resultados dos parâmetros biológicos avaliados, foram calculados os valores dos índices de ecotoxicidade NOEC e LOEC (Tabela 3). Os valores variaram de acordo com a espécie, bem como o solo em que foram cultivadas. Para o rendimento quântico potencial do PSII não houve diferenças significativas entre o controle e os demais tratamentos, para nenhuma das espécies cultivadas nos dois solos. Isso também foi observado para taxa fotossintética, taxa transpiratória, condutância estomática e taxa de transporte de elétrons em plantas cultivadas em LVAd.

Por outro lado, com exceção do rendimento quântico potencial do PSII, todos os demais parâmetros das plantas cultivadas em CXbd apresentaram diferenças significativas com relação aos controles, ou seja, houve efeito observável sobre algum destes parâmetros, ao menos em uma espécie. De modo geral, observa-se na Tabela 3 que os parâmetros mais sensíveis para LVAd foram índice de velocidade de emergência (IVE), matéria seca da parte aérea (MSPA) e altura. Já em CXbd, estes parâmetros também apresentaram baixos valores de LOEC (400 mg kg^{-1}), mas para teor de clorofila e para diâmetro de coleto, foram encontrados valores de 100 e 200 mg kg^{-1} , respectivamente.

Em LVAd, para os parâmetros de emergência, o feijão foi a espécie que apresentou menor LOEC (50 mg kg^{-1}). Quanto à altura e à MSPA, o milho foi a espécie mais sensível, e o feijão apresentou menor LOEC (200 mg kg^{-1}) para matéria seca de raiz (MSR) e total (MST). No CXbd, o arroz apresentou o menor LOEC para IVE (400 mg kg^{-1}), para MSPA (400 mg kg^{-1}) e para teor de clorofila (100 mg kg^{-1}). A taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) em feijão apresentou LOEC de 400 mg kg^{-1} . Por outro lado, os parâmetros de trocas gasosas foram sensíveis a concentrações a partir de 1600 mg kg^{-1} .

Tabela 3 Índices NOEC (concentração que não causou efeitos observáveis) e LOEC (concentração mínima que causou efeitos observáveis) para plantas de milho, rabanete, arroz e feijão cultivadas em LVAd e CXbd contendo Pb.

Solo	Espécie	Í	%E	IVE	Al	DC	N°F	SPA	SR	ST	SPAD	A	E	gs	ETR
LVAd	Milho	N	800	400	50	1600	1600	0	1600	800	400	*	*	*	*
		L	1600	800	100	3200	3200	50	3200	1600	800	*	*	*	*
	Rabanete	N	400	200	400	*	800	200	-	-	-	-	-	-	-
		L	800	400	800	*	1600	400	-	-	*	*	*	*	*
	Arroz	N	*	1600	200	200	800	800	*	*	*	*	*	*	*
		L	*	3200	400	400	1600	1600	-	-	400	*	*	*	*
	Feijão	N	100	0	400	*	*	100	100	100	400	*	*	*	*
		L	200	50	800	*	*	200	200	200	800	*	*	*	*
CXbd	Milho	N	*	1600	400	*	*	400	100	100	400	800	*	1600	*
		L	*	3200	800	*	*	800	200	200	800	1600	*	3200	*
	Rabanete	N	1600	800	800	400	1600	800	-	-	1600	-	-	-	-
		L	3200	1600	1600	800	3200	1600	-	-	3200	-	-	-	-
	Arroz	N	400	200	400	*	*	200	*	*	50	1600	*	*	1600
		L	800	400	800	*	*	400	-	-	100	3200	*	*	3200
	Feijão	N	*	200	1600	100	800	800	800	800	400	800	800	800	200
		L	*	400	3200	200	1600	1600	1600	1600	800	1600	1600	1600	400

*Não houve diferenças significativas pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade; - Parâmetro não avaliado.

I: índice; N: NOEC; L: LOEC; %E: porcentagem de emergência; IVE: Índice de Velocidade de Emergência; Al: altura; DC: diâmetro do coleto; N°F: número de folhas; SPA, SR e ST: Matéria seca da parte aérea, da raiz e total, respectivamente; SPAD: teor de clorofila; A: taxa fotossintética; E: taxa transpiratória; gs: condutância estomática; ETR: taxa relativa de transporte de elétrons.

3.3 Determinação de HC₅ e do Valor de prevenção

Os valores de EC₅₀ calculados estão na Tabela 4. De um total de 90 parâmetros (considerando todas as espécies, cultivadas nos dois solos), 35 foram estatisticamente significativos, ou seja, foi possível obter 35 valores de EC₅₀. Constatou-se assim, como em outros trabalhos (ALEXANDRINO, 2014; ALVARENGA, 2014; SANTOS, 2015), a relevância em se ter uma gama de parâmetros biológicos, já que o índice de aproveitamento destes é baixo.

Para CXbd os valores de EC₅₀ variaram de 1082 a 3101 mg kg⁻¹ e, para LVAd de 164,6 a 2192,6 mg kg⁻¹. A maioria dos valores encontrados para CXbd não foi significativa e, para LVAd não houve EC₅₀ significativo para os parâmetros relativos às trocas gasosas e à fluorescência da clorofila *a*. Aliás, os valores de EC₅₀ calculados para condutância estomática, rendimento quântico potencial do PSII, e taxa relativa de transporte de elétrons não foram estatisticamente significativos para nenhum dos solos. Em testes fitotoxicológicos para o Cd, o EC₅₀ para o rendimento quântico potencial do PSII também não apresentou significância (ALVARENGA, 2014). O menor valor de EC₅₀ para cada espécie, em ambos os solos, foi obtido principalmente a partir dos resultados de matéria seca e de IVE.

Os parâmetros relativos às trocas gasosas e à fluorescência da clorofila *a* não foram eficientes para a obtenção de valores de EC₅₀ viáveis. Como dito anteriormente, para LVAd nenhum desses parâmetros foi significativo e, embora para CXbd tenham sido, os valores de EC₅₀ calculados foram altos, alguns superiores à maior concentração testada (3200 mg kg⁻¹). Por outro lado, parâmetros convencionalmente utilizados para avaliar fitotoxicidade, principalmente matéria seca, foram mais sensíveis, pois para estes parâmetros foi possível considerar os valores de EC₅₀ para LVAd, os quais foram mais

restritivos e contribuíram para que os valores de prevenção fossem mais preventivos.

A avaliação de parâmetros fisiológicos é complexa, visto o comportamento variável que muitos apresentam em decorrência da influência de fatores externos, bem como intrínsecos à própria planta. Com isso, os resultados podem não atingir significância estatística, o que impede a obtenção de valores de EC_{50} aceitáveis, dificultando a aplicação destes parâmetros em estudos ecotoxicológicos. Soma-se a isto, a influência do tempo de exposição. Dados de ensaios crônicos (maior tempo de exposição) são mais indicados para derivação de valores relacionados à qualidade ambiental (POSTHUMA et al., 2001). Torna-se necessário então, optar por parâmetros fisiológicos que apresentem maior correlação com o aumento das concentrações do contaminante e, assim, menor seja a influência de outros fatores. Neste contexto, o IVE é um promissor parâmetro fisiológico a ser utilizado. Utilizar maior número de espécies bem como de solos, também se torna de grande valia, pois sendo maior a quantidade de dados, maiores serão as possibilidades de se obter valores de EC_{50} significativos.

Tabela 4 Valores de EC_{50} calculados a partir de parâmetros de milho, rabanete, arroz e feijão cultivados em CXbd e LVAd com doses crescentes de Pb.

Parâmetros	Espécies	CXbd EC_{50} (mg kg ⁻¹)	Modelo estatístico	R ²	LVAd EC_{50} (mg kg ⁻¹)	Modelo estatístico	R ²
% Emergência	Milho	-	-	-	2109,2 (1855,8 - 2362,5)	Logistic	0,94
	Rabanete	-	-	-	1101,2 (985,3 - 1217,2)	Logistic	0,98
	Feijão	-	-	-	1739,1 (1305,7 - 2172,5)	Linear	0,77
	Arroz	-	-	-	-	-	-
Índice de Velocidade de Emergência (IVE)	Milho	-	-	-	1637,8 (1387,2 - 1888,3)	Logistic	0,93
	Rabanete	2096,3 (1640,6 - 2552,1)	Logistic	0,87	857,4 (736,7 - 978,1)	Gompertz	0,96
	Feijão	-	-	-	164,6* (55,3 - 273,9)	Logistic	0,91
	Arroz	-	-	-	-	-	-

“Tabela 4, continua”

Parâmetros	Espécies	CXbd EC ₅₀ (mg kg ⁻¹)	Modelo estatístico	R ²	LVA EC ₅₀ (mg kg ⁻¹)	Modelo estatístico	R ²
Altura	Milho	-	-	-	1869,6 (378,0 - 3361,3)	Gompertz	0,77
	Rabanete	2834,4 (2370,3 - 3298,4)	Gompertz	0,85	1214,5 (1079,2 - 1349,7)	Gompertz	0,97
	Feijão	-	-	-	1605,3 (1399,6 - 1810,9)	Gompertz	0,96
	Arroz	-	-	-	938,1 (512,4 - 1363,7)	Exponencial	0,92
Diâmetro do coleto	Milho	-	-	-	-	-	-
	Rabanete	3052,7 (2191,1 - 3914,3)	Gompertz	0,87	1014,5 (852,9 - 1176,1)	Logistic	0,94
	Feijão	-	-	-	2192,6 (1730,1 - 2655,0)	Gompertz	0,94
	Arroz	-	-	-	2104,6 (1404,4 - 2804,8)	Gompertz	0,89

“Tabela 4, continua”

Parâmetros	Espécies	CXbd EC ₅₀ (mg kg ⁻¹)	Modelo estatístico	R ²	LVAd EC ₅₀ (mg kg ⁻¹)	Modelo estatístico	R ²
Número de folhas	Milho	-	-	-	-	-	-
	Rabanete	-	-	-	1468,3 (1009,3 - 1927,3)	Gompertz	0,95
	Feijão	-	-	-	2097,3 (1707,2 - 2487,3)	Gompertz	0,92
	Arroz	-	-	-	-	-	-
Matéria seca da parte aérea (MSPA)	Milho	-	-	-	391,5* (147,9 - 635,2)	Logistic	0,90
	Rabanete	2032,9* (1689,8 - 2376,0)	Gompertz	0,91	788,1* (675,4 - 900,9)	Gompertz	0,97
	Feijão	2515,4 (2069,7 - 2961,2)	Gompertz	0,90	535,4 (327,8 - 743,0)	Logistic	0,92
	Arroz	1082,2* (526,1 - 1638,2)	Logistic	0,87	278,8* (161,8 - 395,6)	Logistic	0,93

“Tabela 4, continua”

Parâmetros	Espécies	CXbd EC ₅₀ (mg kg ⁻¹)	Modelo estatístico	R ²	LVAd EC ₅₀ (mg kg ⁻¹)	Modelo estatístico	R ²
Matéria seca da raiz (MSR)	Milho	2445,7* (1226,2 - 3665,2)	Gompertz	0,85	1212,3 (661,3 - 1763,4)	Hormesis	0,80
	Feijão	1515,4* (831,1 - 2199,7)	Gompertz	0,79	238,8 (98,9 - 378,80)	Logistic	0,86
Teor de clorofila (SPAD)	Milho	-	-	-	2048,7 (1879,7 - 2217,8)	Gompertz	0,98
	Rabanete	-	-	-	1067,1 (680,5 - 1453,6)	Exponencial	0,90
	Feijão	-	-	-	2178,3 (1760,5 - 2596,2)	Gompertz	0,96
	Arroz	-	-	-	-	-	-

“Tabela 4, conclusão”

Parâmetros	Espécies	CXbd EC ₅₀ (mg kg ⁻¹)	Modelo estatístico	R ²	LVAd EC ₅₀ (mg kg ⁻¹)	Modelo estatístico	R ²
	Milho	3101,3 (1098,7 - 5103,9)	Gompertz	0,74	-	-	-
Taxa fotossintética	Feijão	2202,5 (1064,1 - 3340,8)	Logistic	0,75	-	-	-
	Arroz	-	-	-	-	-	-
Taxa transpiratória	Milho	-	-	-	-	-	-
	Feijão	1217,5 (685,3 - 1749,7)	Logistic	0,80	-	-	-
	Arroz	-	-	-	-	-	-

- Não apresentaram distribuição normal.

* Menor valor de EC₅₀ calculado para a espécie.

Os valores entre parênteses representam o limite inferior e superior da estimativa.

EC₅₀: concentração efetiva que causou redução em 50% do parâmetro biológico avaliado;

Condutância estomática, rendimento quântico potencial do PSII e taxa relativa de transporte de eletrons não apresentaram distribuição normal para nenhuma das espécies nos dois solos.

Os valores de EC_{50} (quando apresentaram distribuição log-normal) foram utilizados para a construção das curvas de distribuição da sensibilidade de espécies (DSE). A partir de cada curva foi calculada a concentração de Pb perigosa para 5% de todos os parâmetros biológicos avaliados (HC_5). Buscou-se derivar valores de HC_5 para LVAd e CXbd, a partir de todos os valores de EC_{50} encontrados para os parâmetros em cada classe de solo, e em ambas. No entanto, para CXbd foi derivado um valor de HC_5 muito alto (1158 mg kg^{-1}), e os dados para LVAd não apresentaram distribuição log-normal, o que impossibilitou aceitar o valor do HC_5 derivado.

Por outro lado, quando se consideraram apenas os menores valores de EC_{50} para cada espécie (Tabela 4), combinados aos valores obtidos por Alexandrino (2014) (Tabela 2), foi possível gerar três curvas de DSE (Figuras 16, 17 e 18). Assim, foram derivados valores de HC_5 para cada solo, bem como para os dois solos juntos (Tabela 5).

Os valores de HC_5 diferiram entre si, sendo que para LVAd, a concentração perigosa para 5% dos parâmetros avaliados (HC_5) foi $84,48 \text{ mg kg}^{-1}$ (Tabela 5). Já para CXbd, o valor do HC_5 calculado foi $159,64 \text{ mg kg}^{-1}$. Na Tabela 5, encontram-se também os valores de prevenção (VP), calculados pela soma de HC_5 com o VRQ estabelecido para o Pb ($19,5 \text{ mg kg}^{-1}$) no Estado de Minas Gerais (MINAS GERAIS, 2011).

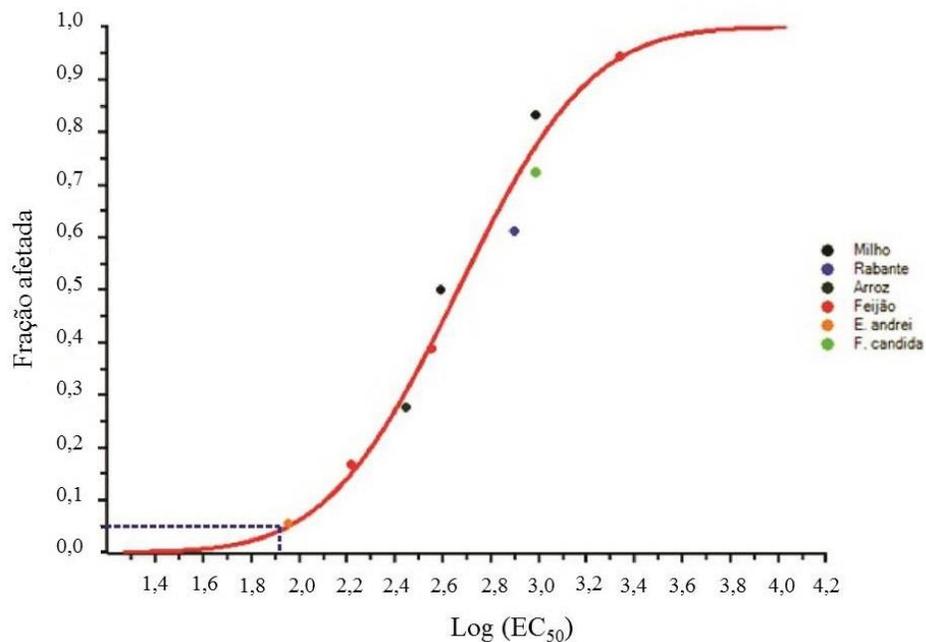


Figura 16 Distribuição da sensibilidade de espécies para o Pb, construída a partir da junção dos menores valores de EC_{50} calculados para cada espécie cultivada em LVAd da Tabela 4, com os valores de EC_{50} calculados para as espécies cultivadas em LVAd da Tabela 2. O tracejado representa o HC_5 : concentração perigosa (eixo $x = \log 84,48$) para 5% (eixo $y = 0,05$) dos parâmetros biológicos avaliados.
 EC_{50} : concentração efetiva que causou redução em 50% do parâmetro biológico avaliado.

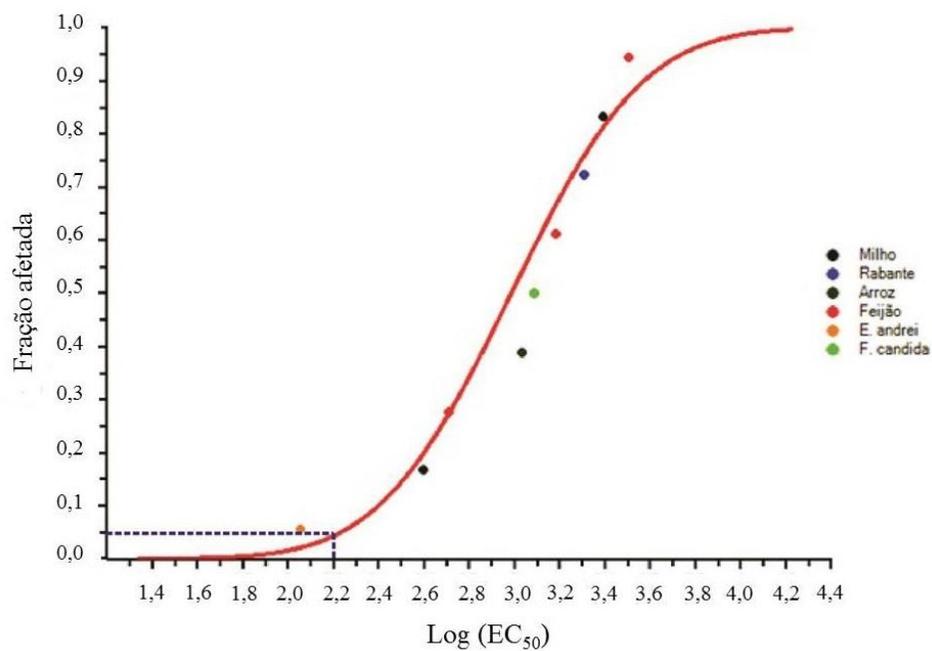


Figura 17 Distribuição da sensibilidade de espécies para o Pb, construída a partir da junção dos menores valores de EC_{50} calculados para cada espécie cultivada em CXbd da Tabela 4, com os valores de EC_{50} calculados para as espécies cultivadas em CXbd da Tabela 2. O tracejado representa o HC_5 : concentração perigosa (eixo $x = \log 159,64$) para 5% (eixo $y = 0,05$) dos parâmetros biológicos avaliados.
 EC_{50} : concentração efetiva que causou redução em 50% do parâmetro biológico avaliado.

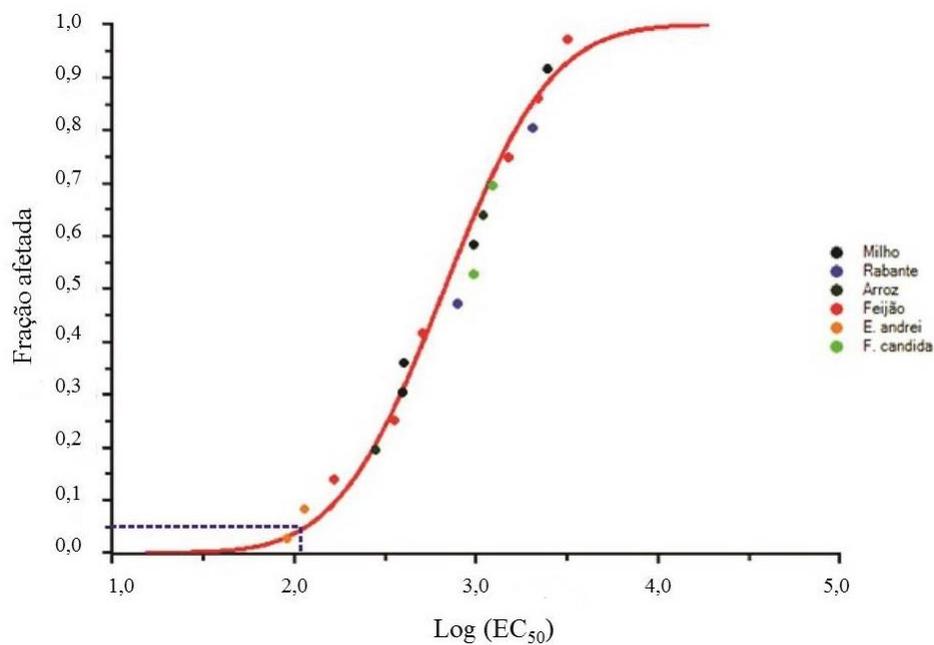


Figura 18 Distribuição da sensibilidade de espécies para o Pb, construída a partir da junção dos menores valores de EC_{50} calculados para cada espécie cultivada em LVAd e em CXbd da Tabela 4, com os valores de EC_{50} calculados para as espécies cultivadas em LVAd e em CXbd da Tabela 2. O tracejado representa o HC_5 : concentração perigosa (eixo $x = \log 112,48$) para 5% (eixo $y = 0,05$) dos parâmetros biológicos avaliados.

EC_{50} : concentração efetiva que causou redução em 50% do parâmetro biológico avaliado.

Tabela 5 Valores de HC_5 calculados a partir de diferentes combinações de EC_{50} e, valores de VP para o chumbo, resultantes da soma de cada HC_5 com o VRQ.

Conjunto de EC_{50}	LL HC_5	HC_5	UL HC_5	VP ($HC_5 + VRQ$)
	-----mg kg ⁻¹ -----			
LVAd* + LVAd ¹⁴	22,72	84,48	172,58	103,98
CXbd* + CXbd ¹⁴	39,63	159,64	340,63	179,14
(LVAd* + LVAd ¹⁴) + (CXbd* + CXbd ¹⁴)	49,13	112,48	195,83	131,98

EC_{50} : concentração efetiva que causou redução em 50% do parâmetro biológico avaliado; LL HC_5 : menor estimativa para HC_5 ; HC_5 : concentração perigosa para 5% dos parâmetros biológicos avaliados; UL HC_5 : maior estimativa para HC_5 ; VP: valor de prevenção; VRQ: valor de referência de qualidade (= 19,5 mg kg⁻¹); LVAd* e CXbd*: menores valores de EC_{50} para cada espécie do LVAd e do CXbd da Tabela 4, respectivamente; LVAd¹⁴ e CXbd¹⁴: valores de EC_{50} para as espécies do LVAd e do CXbd da Tabela 2, respectivamente.

Diferenças entre valores de HC_5 se justificam pelas propriedades físico-químicas de cada classe de solo, as quais são responsáveis pela fração disponível do elemento-traço avaliado. O LVAd, por apresentar pH ácido, menor teor de argila, menor valor de CTC efetiva e menor proporção de matéria orgânica, possibilitou maior disponibilidade do Pb e, assim, a concentração perigosa para 5% dos parâmetros avaliados (HC_5) foi menor. Já em CXbd, as condições são favoráveis para que o elemento-traço fique adsorvido e, ou, complexado, sendo assim, a concentração necessária para a redução de 50% dos parâmetros (EC_{50}) foi maior e, com isso, o valor de HC_5 também foi maior.

Segundo consta na Resolução CONAMA 420/2009, o VP para o Pb é 72 mg kg⁻¹. Todos os três valores de prevenção calculados (Tabela 5) estão acima desse valor. Os valores de prevenção obtidos por Alexandrino (2014) também foram superiores ao VP atual. Além disso, trabalhos com o Cd (ALVARENGA, 2014) e com o Cr (SANTOS, 2015), em condições semelhantes às do presente

estudo, também encontraram valores de prevenção superiores aos vigentes, o que comprova a necessidade em se validar para cada Estado os valores adotados na referida Resolução.

Diante das diferenças entre os valores de prevenção calculados para LVAd e CXbd, o mais adequado seria estabelecer um VP para cada classe de solo. No entanto, isso pode se tornar impraticável como procedimentos de fiscalização realizados pelo órgão ambiental. Assim, a determinação de um VP calculado a partir dos dados das duas classes de solo, parece ser uma alternativa mais plausível. Mas neste caso, é indicado que o VP para o LVAd seja próximo ao calculado para ambos os solos, como relatado por Alvarenga (2014) e Santos (2015). Em casos como o presente estudo, em que o VP para LVAd ($103,98 \text{ mg kg}^{-1}$) for inferior ao VP calculado para ambos os solos ($131,98$), é recomendável utilizar o VP mais restritivo, ou seja, o VP calculado para LVAd, já que esse valor também é preventivo para o CXbd.

Embora o VP calculado para o LVAd ($103,98 \text{ mg kg}^{-1}$) seja menos restritivo se comparado ao VP atual (72 mg kg^{-1}), deve-se ressaltar que ele é resultado de dados obtidos em ensaios ecotoxicológicos em que se utilizaram plantas e organismos da fauna edáfica adaptados às condições tropicais, bem como classes de solos representativas do Estado de Minas Gerais. Aliás, ainda que o VP = $103,98 \text{ mg kg}^{-1}$ seja menos restritivo que o VP obtido por Alexandrino (2014), que foi $85,4 \text{ mg kg}^{-1}$, ele apresenta o diferencial de ser oriundo de índices de ecotoxicidade mais robustos, pela inclusão aos dados do referido autor, de parâmetros de crescimento de outras duas espécies vegetais, bem como de parâmetros fisiológicos.

Existem outras metodologias para a determinação de VP, além da utilizada no presente estudo ($VP = HC_5 + VRQ$). Assim, demonstrou-se também quais seriam os valores de prevenção calculados pela metodologia de Avaliação de Risco Preliminar (VERBUGGEN et al., 2001), sempre com o intuito de se

obter um VP o mais preventivo possível, mas que simultaneamente estivesse de acordo com as condições dos testes e com dados disponíveis na literatura e na legislação.

Como o menor valor de EC_{50} calculado foi $164,6 \text{ mg kg}^{-1}$, para o IVE do feijão cultivado em LVAd (Tabela 4), ao aplicar-se a metodologia de Avaliação de Risco Preliminar, o valor de MAP encontrado foi $16,46 \text{ mg kg}^{-1}$, o qual somado ao Valor de Referência de Qualidade ($VRQ = 19,5 \text{ mg kg}^{-1}$) resultou em $VP=MCP= 35,96 \text{ mg kg}^{-1}$. Para a visualização de quais seriam os valores de VP para cada espécie vegetal em cada classe de solo (Tabela 6), realizou-se o cálculo destes a partir do menor valor de EC_{50} para cada espécie (Tabela 4).

Tabela 6 Valores de prevenção calculados a partir do menor valor de EC_{50} encontrado para milho, rabanete, arroz e feijão cultivados em LVAd e em CXbd.

Solo	Espécie	EC_{50}	MCP (VP) = MAP + VRQ	
			MAP	----- mg kg^{-1} -----
LVAd	Milho	391,6	39,1	58,6
	Rabanete	788,2	78,8	98,3
	Arroz	278,8	27,8	47,3
	Feijão	164,6	16,46	35,96
CXbd	Milho	2445,7	244,5	264
	Rabanete	2032,9	203,2	222,7
	Arroz	1082,2	108,2	127,7
	Feijão	1515,4	151,5	171

EC_{50} : concentração efetiva que causou redução em 50% do parâmetro biológico avaliado; MAP: Máxima Adição Permitida; VP: Valor de prevenção; MCP: Máxima Concentração Permitida; VRQ: Valor de Referência de Qualidade ($= 19,5 \text{ mg kg}^{-1}$).

Observa-se na Tabela 6, que mesmo ao se calcular valores de prevenção para cada uma das espécies, os valores para LVAd ainda foram os mais restritivos. O VP geral calculado ($35,96 \text{ mg kg}^{-1}$) foi muito restritivo, inferior ao VP (72 mg kg^{-1}) adotado na Resolução CONAMA 420/2009. Neste caso, este valor não é indicado como possível VP para o Pb. O VP calculado para o rabanete ($98,3 \text{ mg kg}^{-1}$) em LVAd, seria uma opção mais condizente, por ser um valor próximo ao VP calculado pela metodologia anterior ($103,98 \text{ mg kg}^{-1}$), sendo neste caso, necessário admitir os efeitos sobre os parâmetros mais sensíveis das outras três espécies.

Em virtude da grande variabilidade dos resultados de fitotoxicidade encontrados no presente estudo, propõe-se como valor de prevenção para o Pb o valor de $103,98 \text{ mg kg}^{-1}$.

É válido ressaltar que mais estudos são necessários, seja para a validação dos valores de prevenção adotados na Resolução CONAMA 420/2009, ou para a determinação de valores mais confiáveis e condizentes com as condições pedológicas do Estado de Minas Gerais. É importante utilizar o maior número possível de espécies, bem como de solos e parâmetros biológicos avaliados. Neste contexto, quanto maior o número de testes ecotoxicológicos visando determinar VPs forem realizados, sob condições experimentais semelhantes, índices de ecotoxicidade mais robustos poderão ser gerados pela junção dos dados obtidos, como a realizada no presente estudo. No entanto, torna-se necessária uma padronização metodológica para a realização destes testes aplicados aos estudos de VPs, para que a junção dos dados seja válida.

De posse de índices de ecotoxicidade mais robustos, os valores de prevenção serão cada vez mais representativos, e o banco de dados sobre ecotoxicidade e risco ecológico poderá ser ampliado. Este banco servirá como subsídio à FEAM para a definição do VP para o Pb, a ser adotado pela legislação do Estado de Minas Gerais.

4 CONCLUSÕES

Os resultados dos parâmetros biológicos avaliados variaram de acordo com a espécie, bem como com a classe de solo em que esta foi cultivada, o que reflete os variados valores de NOEC e LOEC calculados. Os parâmetros para LVAd foram mais sensíveis do que os de CXbd, com exceção dos relacionados às trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*, cujos resultados não apresentaram diferenças significativas com relação aos controles.

Em LVAd, o feijão foi a espécie que apresentou menores valores de LOEC para os parâmetros de emergência bem como para matéria seca total. Já em CXbd, o arroz foi a espécie com menores valores de LOEC para o índice de velocidade de emergência, matéria seca da parte aérea e teor de clorofila.

Os parâmetros matéria seca e índice de velocidade de emergência foram os mais sensíveis, sendo que o EC_{50} calculado para IVE do feijão foi $164,6 \text{ mg kg}^{-1}$, o que contribuiu para que o VP fosse mais restritivo. Os parâmetros condutância estomática, rendimento quântico potencial do PSII e taxa relativa de transporte de elétrons não se ajustaram aos requisitos estatísticos exigidos para os cálculos de EC_{50} .

Propõe-se como VP para o Pb o valor de 104 mg kg^{-1} . Embora esse valor seja menos restritivo se comparado ao VP vigente na Resolução CONAMA 420/2009 (72 mg kg^{-1}), deve-se enfatizar que ele é resultado de dados obtidos em testes ecotoxicológicos com organismos adaptados às condições tropicais, bem como com classes de solos representativas do Estado de Minas Gerais. Ou seja, este estudo apresenta o diferencial de contribuir com um VP mais representativo, oriundo de índices de ecotoxicidade mais robustos, em decorrência da junção dos dados obtidos, aos disponíveis na literatura.

REFERÊNCIAS

- 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. p. 299-352.
- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). **The Priority List of Hazardous Substances. 2015**. Disponível em: < <http://www.atsdr.cdc.gov/SPL/index.html>>. Acesso em: 07 out. 2015.
- ALEXANDRINO, R. C. S. **Determinação do valor de prevenção para solos contaminados por chumbo no Estado de Minas Gerais**. 2014. 147 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.
- ALVARENGA, I. F. S. **Fisiologia e ecotoxicologia de espécies vegetais para a determinação do valor de prevenção de cádmio em solos**. 2014. 181 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.
- ASSCHE, F.; CLIJSTERS, H. Effects of metals on enzyme activity in plants. **Plant Cell Environmental**, v. 13, n. 3, p. 195-206, 1990.
- BELATIK, A.; HOTCHANDANI, S.; TAJMIR-RIahi, H.; CARPENTIER, R. Alteration of the structure and function of photosystem I by Pb²⁺. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 123, p. 41-47, 2013.
- BOCCHESI, R. A et al. Efeito de diferentes tipos de substratos na germinação de sementes de *Tabebuia heptaphylla*, em casa telada. **Cerne**, Lavras, MG, v. 14, n. 1, p. 62-67, 2008.

BOLHÀR- NORDENKAMPF et al. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. **Functional Ecology**, v. 3, p. 497-514, 1989.

BRUNET, J.; REPELLIN, A.; VARRAULT, G.; TERRY, N.; ZUILY-FODIL, Y. Lead accumulation in the roots of grass pea (*Lathyrus sativus* L.): a novel plant for phytoremediation systems. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, n. 11, p. 859-864, 2008.

CAMARGOS, O. A. et al. **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agronômico de Campinas**. Campinas: Instituto Agronômico, 2009. 77 p. (Boletim Técnico, 106).

CAO, H.; CHANG, A. C.; PAGE, A. L. Heavy metal contents of sludge-treated soils as determined by three extraction procedures. **Journal of Environmental Quality**, v. 13, n. 4, p. 632 - 634, 1984.

CENKCI, S. et al. Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa* L. **Environmental Experimental Botany**, v. 67, n. 3, p. 467-473, 2010.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 2001. 101 p. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em: 07 out. 2015.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução nº 420**, de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Publicada no Diário Oficial da União, Brasília, n. 249, p. 81-84, 30 dez. 2009. Alterada pela Resolução CONAMA nº 460/2013. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res09/res42009.pdf>>. Acesso em: 07 out. 2015.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução nº 460**, de 30 de dezembro de 2013. Altera a Resolução CONAMA nº 420, de 28 de dezembro de 2009, que dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e dá outras providências. Brasília, 2013. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=702>>. Acesso em: 07 out. 2015.

COSTA, E. T. S. **Subproduto da indústria de alumínio na remediação de áreas contaminadas com cádmio e chumbo**. 2006. 112 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

EKMEKCI, Y.; TANYOLAC, D.; AYHAN, B. A crop tolerating oxidative stress induced by excess Pb: maize. **Acta Physiology Plant**, v. 31, p. 319-330, 2009.

ELARBI, M.B.; KHEMIRI, H.; JRIDI, T.; HAMIDA, J.B. Purification and characterization of α -amylase from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) germinating seeds. **Comptes Rendus Biologies**, v. 332, p. 426-432, 2009.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Levantamento e Conservação do Solo. **Manual de métodos de análises de solo**. Rio de Janeiro, 1997. 212 p.

FAHR, M. et al. Effect of lead on root growth. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1-7, 2013.

FERNANDES, P. R. M. **Determinação de valores orientadores de investigação para elementos-traço em solos do Estado de Minas Gerais**. 2011. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE MEIO AMBIENTE. **Inventário de áreas suspeitas de contaminação e contaminadas do Estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte, 2015. Disponível em:

<http://www.feam.br/images/stories/declaracoes_ambientais/GESTAO_AREAS_CONTAMINADAS/Invent%C3%A1rio_AC_2015.pdf>. Acesso em: 07 out. 2015.

GARCIA, J. S.; GRATÃO, P. L.; AZEVEDO, R. A.; ARRUDA, M. A. Z. Metal contamination effects on sunflower (*Helianthus annuus* L.) growth and protein expression in leaves during development. **Journal of agricultural and food chemistry**. v. 54, n. 22, p. 8623-8630, 2006.

GOHARI, M.; HABIB-ZADEH, A. R.; KHAYAT, M. (2012). Assessing the intensity of tolerance to lead and its effect on amount of protein and proline in root and aerial parts of two varieties of rape seed (*Brassica napus* L.). **Journal of Basic and Applied Scientific Research**, v. 2, p. 935-938, 2012.

GOPAL, R.; RIZVI, A. H. Excess lead alters growth, metabolism and translocation of certain nutrients in radish. **Chemosphere**. v. 70, n. 9, p. 1539-1544, 2008.

GRATÃO, P. L.; POLLE, A.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Making the Life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, v. 32, p. 481-494, 2005.

GUILHERME, L.R.G. et al. **Elementos-traço em solos, sedimentos e águas. In: Sociedade Brasileira de Recuperação de Áreas.** (Org.). Palestras do V Simpósio Nacional sobre Recuperação de Áreas Degradadas. Lavras, 2002, v. 2, p. 30-55.

GUPTA, D. et al. Antioxidant defense mechanism in hydroponically grown *Zea mays* seedlings under moderate lead stress. **Journal Hazardous Materials**. v. 172, p. 479-484, 2009.

GUPTA, D. et al. The detoxification of lead in *Sedum alfredii* H. is not related to phytochelatins but the glutathione. **Journal Hazardous Materials**, v. 177, n. 1-3, p. 437-444, 2010.

HENRY, J. R. An overview of the phytoremediation of lead and mercury. **National Network of Environmental Management Studies (NNEMS)**, prepared for U.S. Environmental Protection Agency. Washington, D. C. 51 p., 2000.

INTERNATIONAL COUNCIL ON METALS AND THE ENVIRONMENT. **Hazard classifications of metals in abundance toxicity classification**. Ottawa, 1997. 38 p.

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. **ISO 11.269-2**: determination of the effects of pollutants on soil flora, part 2: effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants. Geneve: ISO, 2013. 28 p.

ISLAM, E. et al. Effect of Pb toxicity on root morphology, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. **Journal Hazardous Materials**. v. 147, n. 3, p. 806-816, 2007.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. Boca Raton: CRC, 1984. 315 p.

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

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2011. 467 p.

KABATA-PENDIAS A., SADURSKI W. Trace elements and compounds in soil. In: MERIAN, E.; ANKE, M.; IHNAT, M.; STOEPPPLER, M. **Elements and Their Compounds in the Environment**, 2 Eds., Weinheim: Wiley-VCH, 2004. p. 79-99.

KUANG, T.; LU, C.; ZHANG, L. **Photosynthesis Research for Food, Fuel and Future**: 15th International Conference on Photosynthesis. Berlin: Springer-Verlag, 2013. 845 p.

KUMAR, P.; DUSHENKOV, V.; MOTTO, H.; RASKIN, I. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. **Environmental Science and Technology**. v. 29, p. 1232-1238, 1995.

LEAL-ALVARADO, D. A. et al. Lead accumulation reduces photosynthesis in the lead hyper-accumulator *Salvinia minima* Baker by affecting the cell membrane and inducing stomatal closure. **Aquatic Toxicology**, v. 171, p. 37-47, 2016.

LIU, D.; LI, T.; JIN, X.; YANG, X.; ISLAM, E.; MAHMOOD, Q. Lead induced changes in the growth and antioxidant metabolism of the lead accumulating and non-accumulating ecotypes of *Sedum alfredii*. **Journal Integrative Plant Biology**, v. 50, n. 2, p.129-140, 2008.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**. Madison, v. 2, n. 1., p. 176-177, jan. 1962.

MALAR, S. et al. Effect of lead on phytotoxicity, growth, biochemical alterations and its role on genomic template stability in *Sesbania grandiflora*: A potential plant for phytoremediation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 108, p. 249-257, 2014.

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental**: micronutrientes e metais pesados, mitos, mistificação e fatos. São Paulo: Produquímica, 1994. 153 p.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola**: nutrição de plantas e fertilidade do solo. São Paulo: Agronômica Ceres, 1976. 528 p.

MARQUES, E. A. **Determinação do valor de prevenção para cromo em solos do estado de Minas Gerais**. 2015. 96 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologias e Inovações Ambientais) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

MARSCHNER, P.; GODBOLD, D.L.; JENTSCHKE, G. Dynamics of lead accumulation in mycorrhizal and non-mycorrhizal Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) **Plant and Soil**, v.178, p. 239-245, 1996.

MEYERS, D. E. R.; AUCHTERLONIE, G. J.; WEBB, R. I.; WOOD, B. Uptake and localization of lead in the root system of *Brassica juncea*. **Environmental Pollution**, v. 153, n. 2, p. 323-332, 2008.

MINAS GERAIS. Conselho Estadual de Política Ambiental. **Deliberação Normativa COPAM nº 116**, de 27 de junho de 2008. Dispõe sobre a declaração de informações relativas à identificação de áreas suspeitas de contaminação e contaminadas por substâncias químicas no Estado de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2008. Disponível em: <<http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=7974>>. Acesso em: 07 out. 2015.

MINAS GERAIS. Conselho Estadual de Política Ambiental; Conselho Estadual de Recursos Hídricos. **Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERHMG nº 02**, de 08 de setembro de 2010. Institui o Programa Estadual de Gestão de Áreas Contaminadas, que estabelece as diretrizes e procedimentos para a proteção da qualidade do solo e gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por substâncias químicas. Belo Horizonte, 2010. Disponível em: <<http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=14670>>. Acesso em: 07 out. 2015.

MINAS GERAIS. Conselho Estadual de Política Ambiental. **Deliberação Normativa COPAM nº 166**, de 29 de junho de 2011. Altera o Anexo I da Deliberação Normativa Conjunta COPAM CERH nº 2 de 6 de setembro de 2010, estabelecendo os Valores de Referência de Qualidade dos Solos. Belo Horizonte, 2011. Disponível em: <<http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=18414>>. Acesso em: 07 out. 2015.

MISHRA, S. et al. Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation. **Chemosphere**, v. 65, n. 6, p. 1027-1039, 2006.

MORAES, C. L. **Alterações bioquímicas, fisiológicas e ultraestruturais em sementes e plantas de tomate expostas ao chumbo.** 2011. 70 p. Tese (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

MORAES, C. L. et al. Alterações fisiológicas e ultraestruturais de plântulas de tomate induzidas por chumbo. **Iheringia**, Porto Alegre, v. 69, n. 2, p. 313-322, 2014.

MORAES, M. L. B. **Ecotoxicidade de arsênio em solos e sua relação com o valor de prevenção.** 2012. 52 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.

OPEOLU, B. O.; ADENUGA, O. O.; NDAKIDEMI, P. A.; OLUJIMI, O. O. Assessment of phyto-toxicity potential of lead on tomato (*Lycopersicon esculentum* L) planted on contaminated soils. **International Journal of Physical Sciences**. v. 5, p. 68-73, 2010.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Guidelines for testing of chemicals n° 208:** terrestrial plant test: seedling emergence and seedling growth test. Paris: OECD, 2006. Disponível em: <<http://www.oecd.org/dataoecd/11/31/33653757.pdf>>. Acesso em: 17 jul. 2015.

PAIVOKA A. E. A. Soil lead alters phytase activity and mineral nutrient balance of *Pisum sativum*. **Environmental Experimental Botany**, v. 48, p. 61-73, 2002. POSTHUMA, L.; SUTER II, G.W.; TRAAS, T. P. **Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology**. CRC Press, 2001. 616 p.

POURRUT, B. et al. Lead Uptake, Toxicity, and Detoxication in Plants. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, Springer Verlag (Germany), v. 213, p. 113-136, 2011.

POURRUT, B. et al. Potential role of NADPH-oxidase in early steps of lead-induced oxidative burst in *Vicia faba* roots. **Journal Plant Physiology**, v. 165, n.6, p.571-579, 2008.

PUNAMIYA, P. Symbiotic role of glomus mosseae in phytoextraction of lead in vetiver grass [*Chrysopogon zizanioides* (L.)]. **Journal Hazardous Materials**, v. 177, n.1-3, p. 465-474, 2010.

QUFEI, L.; FASHUI, H. Effects of Pb^{2+} on the Structure and Function of Photosystem II of *Spirodela polyrrhiza*. **Biological Trace Element Research**, v. 129, n. 1, p. 251–260, 2009.

ROELFSEMA, M. R. G.; HEDRICH, R. In the light of stomatal opening: new insights into ‘the Watergate’. **New Phytologist**, v. 167, n. 3, p. 665-691, 2005.

ROMANOWSKA, E.; IGAMBERDIEV, A. U.; PARYS, E.; GARDESTRÖM, P. Stimulation of respiration by Pb^{2+} in detached leaves and mitochondria of C_3 and C_4 plants. **Physiologia Plantarum**, v. 116, n. 2, p. 48-154, 2002.

SANTOS, J. L. **Valores de prevenção para fitotoxidez por cromo em solos de Minas Gerais**. 2015. 97 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

SENGAR, R. S. et al. Lead stress effects on physiobiochemical activities of higher plants. **Review Environmental Contamination Toxicology**, v. 196, p. 1-21, 2009.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Lead toxicity in plants. **Journal of Plant Physiology**, New Delhi, v. 17, n. 1, p. 35-52, 2005.

SHI, G.; CAI, QINGSHENG. Leaf plasticity in peanut (*Arachis hypogaea* L.) in response to heavy metal stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 67, p. 112-117, 2009.

SLAGLE, A. **Background concentrations of trace elements in three West Virginia soils: MLRA-126**. 2000. 174 p. Dissertação (Mestrado) - University Morgantown, West Virginia, 2000.

SMOLDERS, E et al. Toxicity in lead salt spiked soils to plants, invertebrates and microbial processes: Unraveling effects of acidification, salt stress and ageing reactions. **Science of the Total Environment**, v. 536, p. 223-231, 2015.

SPARKS, D. L. **Environmental soil chemistry**. San Diego: Academic Press, 1995. 267 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY.
Microwave assisted acid digestion of sediments sludges, soils, and oils: EPA SW 846 3051A. Washington, 1999. 24 p.

VERBRUGGEN, E. M. J.; POSTHUMUS, R.; VAN WEZEL, A. P. R.
Ecotoxicological serious risk concentrations for soil, sediment and (ground) water: updated proposals for first series of compounds. Neatherlands: RIVM, April 2001. 263 p. (RIVM report 711701 020) 2001.

VLAARDINGER, P. VAN et al. **ETX 2.0**: a program to calculate hazardous concentration and fraction effected, based on normally distributed toxicity data: RIVM Report n° 601501028/2004. Bilthoven: RIVM. 2004. 68 p.

WIERZBICKA, M.; OBIDZIŃSKA, J. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. **Plant Science**, v. 137, n. 2, p.155-171, 1998.

XIONG, Z.; ZHAO, F.; LI, M. Lead toxicity in *Brassica pekinensis* Rupr.: effect on nitrate assimilation and growth. **Environmental Toxicology**, v. 21, n. 2, p. 147-153, 2006.