

**FITORREMEDIÇÃO DE ARSÊNIO:
DISPONIBILIDADE DO METALÓIDE NO SOLO E
SEU ACÚMULO EM GIRASSOL E MAMONA**

ÉVIO EDUARDO CHAVES DE MELO

2009

ÉVIO EDUARDO CHAVES DE MELO

**FITORREMEDIAÇÃO DE ARSÊNIO: DISPONIBILIDADE DO
METALÓIDE NO SOLO E SEU ACÚMULO EM GIRASSOL E
MAMONA**

Tese apresentada à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Ciência do
Solo, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientador
Prof. Luiz Roberto Guimarães Guilherme

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Melo, Évio Eduardo Chaves de.

Fitorremediação de arsênio: disponibilidade do metalóide no solo e seu acúmulo em girassol e mamona / Évio Eduardo Chaves de Melo. – Lavras : UFLA, 2009.

82 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Luiz Roberto Guimarães Guilherme.

Bibliografia.

1. Remediação do solo. 2. Contaminação do solo. 3. Plantas oleaginosas. 4. Extratores químicos. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.41

ÉVIO EDUARDO CHAVES DE MELO

**FITORREMEDIAÇÃO DE ARSÊNIO: DISPONIBILIDADE DO
METALÓIDE NO SOLO E SEU ACÚMULO EM GIRASSOL E
MAMONA**

Tese apresentada à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Ciência do
Solo, para obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 03 de março de 2009.

Pesq. Giuliano Marchi	EMBRAPA CERRADO
Prof. Antônio Chalfun Júnior	DBI-UFLA
Prof. Valdemar Faquin	DCS-UFLA
Pesq. Cláudio Roberto F. S. Soares	DCS-UFLA

Prof. Luiz Roberto Guimarães Guilherme
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

“Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas
Que já tem a forma do nosso corpo
E esquecer os nossos caminhos
Que nos levam sempre aos mesmos lugares

É o tempo da travessia
E se não ousarmos fazê-la
Teremos ficado
Para sempre
À margem de nós mesmos ”

Fernando Pessoa

Aos meus pais, Edemilson e Fátima;
A minha avó, Wandira;
Aos meus irmãos, Júnior e Tatiana
Pelo amor e incentivo
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que é a fonte de vida e sabedoria, por iluminar e guiar por todos os meus caminhos.

À Universidade Federal de Lavras, ao Departamento de Ciência do Solo e ao CNPq, pela oportunidade de realização do curso e pela concessão da bolsa de estudo.

Aos meus pais e irmãos, pelo amor e apoio incondicional.

A minha família, especialmente minha avó Wandira e tia Mimila, pela fé que depositaram em meu futuro.

Ao Professor Luiz Roberto Guimarães Guilherme, pela amizade, orientação, paciência e ensinamentos transmitidos durante o curso.

Aos membros da banca examinadora, Giuliano Marchi, Antônio Chalfun Júnior, Valdemar Faquin e Cláudio Roberto F. S. Soares, pelas sugestões e críticas apresentadas à tese.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, pelos conhecimentos, conselhos e orientações durante o Doutorado.

Ao Professor Clístenes Williams Araújo do Nascimento, pela confiança e pelos conhecimentos transmitidos com respeito e dedicação desde a época de bolsista de Iniciação Científica na UFRPE.

Aos meus grandes amigos e irmãos Bruno Dias e Euzelina Inácio, pela amizade, companheirismo e alegrias aos inesquecíveis anos de curso.

Ao grande amigo Amilton Gusmão, pela amizade e apoio em todos os momentos.

Aos meus amigos Enio, Gláucia, Krisley, Letúzia, Waldete, Cleilton, Vitória, Ana Luiza, Amanda, Adriana e Eduardo, pelos ótimos momentos proporcionados.

Aos meus demais colegas da UFLA que me apoiaram durante todo o curso.

Ao Henrique e ao Leandro, pelo apoio na condução e análises dos experimentos.

Aos funcionários do DCS, especialmente Daniela, Roberto, João Gualberto, Emerson e Ilton, pela convivência e colaborações na realização deste trabalho.

Finalmente a todos que contribuíram, de forma direta e indireta, para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	i
GENERAL ABSTRACT	iii
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	6
CAPÍTULO 1: Accumulation of arsenic and nutrients by castor bean plants grown on an As-enriched nutrient solution	9
1 Abstract	10
2 Introduction	11
3 Materials and Methods	13
4 Results and Discussion	15
5 Conclusions	22
6 References	23
CAPÍTULO 2: Disponibilidade e acúmulo de arsênio em plantas oleaginosas cultivadas em solos contaminados	28
1 Resumo	29
2 Abstract	30
3 Introdução	31
4 Material e Métodos	34
5 Resultados e Discussão	40
6 Conclusão	52
7 Referências Bibliográficas	53
CAPÍTULO 3: Efeito do fósforo na disponibilidade e acúmulo de arsênio em girassol cultivado em solos contaminados	57
1 Resumo	58
2 Abstract	59
3 Introdução	60
4 Material e Métodos	63
5 Resultados e Discussão	67
6 Conclusão	78
7 Referências Bibliográficas	79

RESUMO GERAL

MELO, Évio Eduardo Chaves de. **Fitorremediação de arsênio**: disponibilidade do metalóide no solo e seu acúmulo em girassol e mamona. 2009. 82p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG¹

O crescente acúmulo de arsênio (As) em corpos d'água e solos tem causado grande preocupação com a exposição humana e animal a este metalóide no ambiente. Assim sendo, estudos para determinação da biodisponibilidade de As em diferentes extratores, bem como a avaliação do efeito do fósforo (P) na disponibilidade deste metalóide, aliados a trabalhos que comparem o desempenho de plantas na produção de biomassa e na remoção de As em água e solos contaminados tornam-se necessários não somente para avaliar do risco de ingresso do As na cadeia alimentar, mas também para auxiliar na elaboração de estratégias de remediação em áreas contaminadas. Dentre as alternativas que podem ser empregadas para remediação de áreas contaminadas, destaca-se a fitoextração, caracterizada pela concentração dos contaminantes na parte aérea e remoção destes da área contaminada. Neste sentido, os objetivos deste trabalho foram: (1) quantificar a produção de biomassa e o acúmulo de As em plantas de mamona (*Ricinus communis* cv. Guarany) cultivadas em solução nutritiva, visando avaliar seu potencial fitoextrator e, ou, sua tolerância a esse elemento; (2) estudar a tolerância do girassol (*Helianthus annuus*) e da mamona em dois solos contaminados com As; comparar a remoção de As pelas espécies; e determinar a biodisponibilidade de As em diferentes extratores (água tridestilada, sulfato de amônio, fosfato de amônio, oxalato de amônio + ácido oxálico, ácidos orgânicos, Mehlich-1 e USEPA 3051A); (3) avaliar o efeito do fósforo na disponibilidade de arsênio para o girassol cultivado em dois solos contaminados, além de comparar a produção de biomassa e acúmulo de As nessa espécie vegetal crescendo nestas condições. O estudo foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras no período de agosto de 2007 a junho de 2008. As plantas foram cultivadas em vasos com solução de Hoagland & Arnon com doses crescentes de As (0, 10, 50, 100, 250, 500 e 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$), como também, cultivadas em dois solos, com diferentes texturas e teores de matéria orgânica: Neossolo Quartzarênico (RQ) e Latossolo Vermelho distrófico (LVd), enriquecidos com $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ nas doses de 0, 35 e 150 mg de As dm^{-3} de solo, de acordo com

¹Comitê Orientador: Luiz Roberto Guimarães Guilherme – UFLA (Orientador) e Clístenes Williams Araújo do Nascimento – UFRPE (Co-orientador)

os valores orientados de intervenção da CETESB para exposição agrícola e industrial. Após 35 dias, as raízes e a parte aérea das plantas foram coletadas e obtidas as massas da matéria seca e a concentração de As da parte aérea e da raiz, além do conteúdo desse elemento na parte aérea, com vistas a avaliar a remoção do metalóide pelas plantas. A disponibilidade de As foi avaliada pelos diferentes extratores. Conforme os resultados, o aumento na concentração de As na solução nutritiva ocasiona redução na produção de matéria seca de raízes e parte aérea da mamona, mas não causa sintomas severos de toxidez na planta. As concentrações de As são maiores nas raízes quando comparadas com as da parte aérea. A adição de As na solução nutritiva não compromete o acúmulo de nutrientes. As plantas de mamona e girassol não apresentam características próprias de plantas fitoextratoras, mas apresentam potencial de uso na fitoestabilização de áreas contaminadas com arsênio. Devido aos valores variáveis dos coeficientes de correlação entre os extratores testados e as variáveis matéria seca, teor e acúmulo na parte aérea do girassol e da mamona, não foi possível selecionar um extrator adequado para predizer a real disponibilidade de As nos solos estudados. O aumento da dose de P promoveu menor adsorção de As e, por consequência, maior solubilidade do metalóide no solo. A adição da razão molar P/As de 3,23 e 13,76 no Latossolo e Neossolo, respectivamente, potencializou a remoção de As pelo girassol nos solos contaminados, indicando que a aplicação de P pode ser utilizada para maximizar a eficiência da espécie na remediação de solos contaminados com As.

GENERAL ABSTRACT

MELO, Évio Eduardo Chaves de. **Arsenic phytoremediation: metalloid forms in soils and its accumulation in plants.** 2009. 82p. Thesis (Ph.D. in Soil Science) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG ²

The increasing accumulation of arsenic (As) in soils and water bodies has caused increasing concern about human and animal exposure to this metalloid in the environment. As a result, studies assessing the bioavailability of arsenic by different soil extractants and the effect of phosphorus (P) upon this metalloid's availability, combined with research comparing plant performance in terms of biomass production and As removal from contaminated soil and water are necessary not only to assess the risk of As entry into the food chain, but also to help with the development of remediation strategies for contaminated areas. Phytoextraction is among the alternatives that can be used for remediation of contaminated areas, and is characterized by the concentration of a contaminant in plant shoots, followed by its removal from the contaminated area. The objectives of this work were: (1) to quantify the production of biomass and accumulation of As in castor bean plants grown in nutrient solution aiming to evaluate the plant's phytoextracting potential as well its tolerance to this metalloid; (2) to assess the tolerance of sunflower and castor bean plants in two soils contaminated with As, to compare the removal of As by these species and to determine As bioavailability as estimated by different soil extractants (tridistilled water, ammonium sulfate, ammonium phosphate, ammonium oxalate + oxalic acid, organic acids mixture, Mehlich-1 and USEPA 3051A; and, (3) to evaluate the effect of phosphorus upon arsenic availability to sunflower (*Helianthus annuus*) grown in two As-contaminated soils, comparing their biomass production and As accumulation capacities. Greenhouse experiments were conducted with plants grown in pots containing a nutrient solution amended with increasing doses of As (0, 10, 50, 100, 250, 500 and 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$), as well as in two soils with different clay and organic matter content, amended with 0, 35, and 150 mg As dm^{-3} soil. Shoot and roots dry matter production as well as arsenic and nutrient tissue concentrations and contents were measured at the end of the experiments (35 days). Arsenic availability to plants was also evaluated by different soil extractants. The results showed that increasing As concentration in the nutrient solution causes a reduction in dry matter production

²Guidance committee: Luiz Roberto Guimarães Guilherme – UFLA (Advisor) and Clístenes Williams Araújo do Nascimento – UFRPE (Co-advisor)

of castor bean roots and shoots, but does not cause severe phytotoxicity symptoms. Arsenic concentrations were higher in roots compared to shoots. The addition of As in the nutrient solution does not affect the accumulation of nutrients. Castor bean and sunflower plants do not show characteristics of phytoextracting plants, but could be used for phytostabilization of As-contaminated areas. We could not recommend any of the tested extractants due to poor correlations found between soil As with either As concentration/content in plants or dry matter production. Increasing P doses decreased As adsorption and, consequently, a higher solubility of the metalloid in the soil. The addition of a molar P/As ratio of 3.23 in a Typic Oxisol and 13.76 in an Entisol caused an increase on As removal by sunflower grown in As-contaminated soils, indicating that the application of P could be used to maximize the efficiency of this species for remediation of As-contaminated areas.

INTRODUÇÃO GERAL

O domínio das técnicas agrícolas e industriais proporcionou ao homem uma melhor qualidade de vida e aumentou sua dependência tecnológica, gerando diversos impactos ambientais. Esses impactos podem ser imediatos, devido à liberação de uma grande quantidade de poluentes no ambiente, com uma recuperação lenta e gradual, ou cumulativa, provocada pelo depósito de tais poluentes, durante anos ou décadas

Embora sejam utilizados como sinônimos, os termos poluentes e contaminantes não têm o mesmo significado. O termo poluente pode ser definido como uma substância química ou material fora do seu local de origem, em concentração acima do normal, que causa efeitos adversos em um organismo qualquer, diferindo do termo contaminante, pelo fato deste último não implicar, necessariamente, na existência de efeitos adversos (Pierzynski et al., 1994).

Entre as fontes de contaminação destacam-se aquelas que contêm elementos denominados de metais pesados. Os metais pesados podem ser definidos como um grupo de metais, semimetais e não-metais que possuem densidade atômica maior que 5 g cm^{-3} (Alloway, 1990) e que estão associados à poluição ambiental e toxicidade aos seres vivos. Entre os metais pesados mais estudados, encontram-se elementos não essenciais aos vegetais, como o As, bem como os micronutrientes (Cu, Mn e Zn), que são requeridos em ampla variedade de processos fisiológicos, mas que, no entanto, podem ser tóxicos em concentrações elevadas.

O arsênio (As) é um semimetal, cuja densidade corresponde a $5,72 \text{ g cm}^{-3}$, de ocorrência natural na crosta terrestre, presente em rochas magmáticas em concentrações que variam de $0,5\text{--}2,6 \text{ mg kg}^{-1}$ e em sedimentares de $1,0\text{--}13 \text{ mg kg}^{-1}$ (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Quanto à origem, pode ser litogênico, quando provenientes de fontes geológicas, como resíduos de rocha

liberados pelo intemperismo, ou antropogênicos, quando adicionados ao solo pela atividade humana, via mineração e aplicação de defensivos agrícolas e fertilizantes (Sakuma et al., 2003).

O impacto dos metais pesados na qualidade no solo depende, principalmente, da quantidade e das formas químicas em que se encontram: solúvel, trocável, ocluso ou fixado aos minerais, precipitados com outros compostos, na biomassa e complexado na matéria orgânica (McBride, 1994).

Em muitos países, os métodos padrões para avaliação de solos poluídos por metais pesados são baseados na concentração total do elemento obtida usando digestão com ácidos fortes. Entretanto, a mobilidade no solo e a toxidez para a biosfera estão mais relacionadas ao As adsorvido aos diferentes constituintes do solo do que ao teor total (Cai et al., 2002). A extração química permite a especiação e a determinação de quais frações do solo sorvem o elemento (Marín et al., 2001), além de fornecer indícios da disponibilidade do elemento estudado.

A quantificação da biodisponibilidade das formas lábeis de As no solo garante a determinação do risco potencial da entrada do arsênio na cadeia alimentar via solo contaminado. Um dos principais alvos da extração sequencial e simples é prever a disponibilidade do elemento estudado.

A contaminação do solo por metais pesados pode acarretar sérias consequências sobre os componentes funcionais dos ecossistemas. Através da absorção destes pelas plantas, os metais podem entrar na cadeia trófica, contaminando o homem e animais (Accioly & Siqueira, 2000). Com vista a reduzir os impactos ambientais gerados pela contaminação do solo, cursos de água e lençol freático, muitas tecnologias aplicáveis à remediação de solos contaminados por metais pesados estão sendo estudadas.

Algumas tecnologias de remediação de solos poluídos por metais utilizam escavação e aterramento do solo, evitando perda de solo por erosão e lixiviação (Garbisu & Alkorta, 2001). No entanto, essas técnicas geram resíduos que requerem tratamento, tornando o processo dispendioso, apesar de eficaz (Khan et al., 2000). Outra técnica é a imobilização de metais pesados, que se refere à adição de amenizantes químicos, visando imobilizar ou tornar os contaminantes menos disponíveis no solo, sejam para absorção por plantas ou lixiviação para o lençol freático (Soares et al., 2002; Galindo et al, 2005).

Um método ainda em desenvolvimento é a fitorremediação, no qual plantas são utilizadas para remover, conter, transferir, estabilizar ou tornar inofensivos os metais tóxicos (Raskin & Ensley, 2000). Este método é apropriado, quando soluções com baixos custos são essenciais ou quando é permitido um processo lento de remediação de áreas com baixa concentração de metais pesados (Nedelkoska & Doran, 2000).

Dentre as vantagens da fitorremediação, incluem-se a mínima destruição e desestabilização da área, baixo impacto ambiental, aliada à estética favorável (Nedelkoska & Doran, 2000). Além disso, é uma alternativa limpa, de baixo custo, fornece contenção dos lixiviados, manutenção e melhoria da estrutura física, da fertilidade e da biodiversidade do solo, e absorve metais do solo, cuja extração é dispendiosa, utilizando-se outra tecnologia (Khan et al., 2000).

Entre as técnicas de fitorremediação, a fitoextração consiste no uso de plantas para extrair e transportar contaminantes do solo para a parte aérea (Marchiol et al, 2004). O contaminante deve estar em uma forma acessível para a absorção pelas raízes. Sua translocação da raiz para a parte aérea facilita a retirada do contaminante, quando a parte aérea é colhida. A taxa de remoção é dependente da biomassa coletada no final do ciclo, do número de cortes por ano e de sua concentração na biomassa colhida (Accioly & Siqueira, 2000).

São consideradas plantas hiperacumuladoras de As, aquelas capazes de acumular naturalmente mais de 1000 mg kg⁻¹ de As na matéria seca, quando crescem em solos ricos neste elemento (Gonzaga et al., 2006). Ma et al. (2001) descobriram a primeira hiperacumuladora de arsênio, a espécie de samambaia *Pteris vittata* L. Essa planta acumula mais de 22630 mg kg⁻¹ de As na biomassa seca (Ma et al., 2001; Zang et al., 2002), sendo que, 85 a 100% do As é acumulado na parte aérea (rizomas, folhas jovens e velhas). Francesconi et al. (2002) identificaram na Tailândia outra espécie de samambaia hiperacumuladora, a *Pityrogramma calomelanos*. Essa samambaia apresentou na massa seca de suas folhas 8350 mg kg⁻¹ de As.

Zhao et al. (2002) descobriram que as espécies *Pteris cretica* L. variedades Albo-lineata e Winsettii, *Pteris longifolia* L. e *Pteris umbrosa* R. Br. também hiperacumulam arsênio nas folhas. Segundo os autores, a concentração de As nas folhas aumentou linearmente com o aumento da concentração de arsênio no solo e alcançou 6200–7600 mg kg⁻¹ de matéria seca quando a concentração de As no solo era 500 mg kg⁻¹.

Segundo Jiang et al. (2003), a fitoextração pode ser conduzida de duas formas principais: a primeira, utilizando espécies de plantas hiperacumuladoras devido à alta capacidade de acumulação de metais, porém com baixa produção de biomassa (fitoextração natural); a segunda ocorre através do uso de plantas de alta produção que podem absorver quantidade relativamente alta de metais, quando a mobilidade de metais no solo é elevada devido à aplicação de agentes químicos (fitoextração quimicamente induzida).

Além da grande preocupação com contaminação de solos e águas, a queima de combustíveis fósseis é a maior fonte de emissão dos gases do efeito estufa. Uma das alternativas para reduzir as ações adversas do aquecimento global e conseqüentemente das mudanças climáticas, é a substituição de combustíveis fósseis pelos renováveis derivados principalmente da biomassa

vegetal. A utilização de plantas oleaginosas como matéria-prima para a produção de biocombustíveis e, seus resultados, demonstram atratividade dessas plantas para este fim, visto sua rusticidade, baixa demanda por gastos com manejo e ser uma alternativa de inclusão social para a agricultura familiar.

O cultivo de oleaginosas tem sido cada vez mais difundido em todo o mundo. O Brasil é um país privilegiado pela diversidade de climas e solos, e de plantas oleaginosas, nativas ou exóticas, cujos frutos e/ou sementes produzem óleo empregado na fabricação de biodiesel, podendo se tornar um grande produtor de óleos vegetais para atender aos mercados, interno e externo.

Muitos estudos vêm sendo desenvolvidos, e seus resultados têm demonstrado que a fitoextração é uma técnica recente e promissora para recuperar locais contaminados por metais pesados. Logo, a identificação de espécies de oleaginosas que possuam as características de hiperacumulação e grande produção de biomassa e a elucidação do relacionamento entre o As e os nutrientes, aliadas a estudos do comportamento químico do elemento nos solos e de extratores que viabilizem a determinação da biodisponibilidade, forneceriam ferramentas eficientes de remediação de solos contaminados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ALLOWAY, B.J. The origins of heavy metals in soils. In: _____. **Heavy metals in soils**. New York: J.Wiley & Sons, 1990. p.29-39.

CAI, Y.; CABRERA, J.C.; GEORGIADIS, M.; JAYACHANDRAN, K. Assessment of arsenic mobility in soils of some golf courses in south Florida. **The Science of the Total Environment**, Oxford, v.291, p.123-134, 2002.

FRANCESCONI, K.; VISOOTTIVISETH, P.; SRIDOKCHAN, W.; GOESSLER, W. Arsenic species in an arsenic hyperaccumulating fern, *Pityrogramma calomelanos*: a potential phytoremediator of arsenic-contaminated soils. **The Science of the Total Environment**, Oxford, v.284, p.27-35, 2002.

GALINDO, I.C.L.; BEZERRA, S.A.; NASCIMENTO, C.W.A.; ACCIOLY, A.M.A. Fertilizantes fosfatados e orgânicos e seus efeitos na imobilização de chumbo em solo contaminado. **Caatinga**, Mossoró, v.18, p.58-65, 2005.

GARBISU, C.; ALKORTA, I. Phytoextraction: a cost effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. **Bioresource Technology**, Essex, v.77, p.229-236, 2001.

GONZAGA, M.I.S.; SANTOS, J.A.G.; MA, L.Q. Arsenic phytoextraction and hyperaccumulation by fern species. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.63, p.90-101, 2006.

JIANG, X.J.; LUO, Y.M.; ZHAO, Q.G.; BAKER, A.J.M.; CHRISTIE, P.; WONG, M.H. Soil Cd availability to Indian mustard and environmental risk following EDTA addition to Cd-contaminated soil. **Chemosphere**, Oxford, v.50, p.813-818, 2003.

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

KHAN, A.G.; KUEK, C.; CHAUDHRY, T.M.; KHOO, C.S.; HAYES, N.J. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. **Chemosphere**, Oxford, v.41, p.197-207, 2000.

MA, L. A fern that hyperaccumulates arsenic. **Nature**, London, v.411, p.579, 2001.

MARÍN, A.; LÓPEZ-GONZÁLVEZ, A.; BARBAS, C. Development and validation of extraction methods for determination of zinc and arsenic speciation in soils using focused ultrasound Application to heavy metal study in mud and soils. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.442, p.305-318, 2001.

MARCHIOL, L.; ASSOLARI, S.; SACCO, P.; ZERBI, G. Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. **International Journal of Environment Pollution**, Geneva, v.132, p.21-27, 2004.

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

NEDELKOSKA, T.V.; DORAN, P.M. Characteristics of heavy metal uptake by plant species with potential for phytoremediation and phytomining. **Minerals Engineering**, Oxford, v.13, p. 549-561, 2000.

PIERZYNSKI, G.M.; SIMS, J.T.; VANCE, G.F. **Soils and environmental quality**. Boca Raton: Lewis, 1994. 313p.

RASKIN, I.; ENSLEY, B. Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment. **Plant Science**, Shannon, v.160, p.1073-1075, 2000.

SAKUMA, A.M.; CAPITANI, E.M. de; TIGLEA, P. Arsênio. In: AZEVEDO, F.A.; CHASIN, A.A.M. (Ed.). **Metais: gerenciamento da toxicidade**. São Paulo: Atheneu, 2003. p.203-238.

SOARES, C.R.T.S.; ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Diagnóstico e reabilitação de área degradada pela contaminação por metais pesados. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE RECUPERAÇÃO DE AREAS DEGRADADAS, 5., 2002, Belo Horizonte, MG. **Anais...** Lavras: DCF/UFLA/SOBRAGE, 2002. p.56-82.

ZHANG, W.; CAI, Y.; MA, L. Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulating plant. **The Science of the Total Environment**, v.300, p.167-177, 2002.

ZHAO, E.J.; DUNHAM, S.J.; McGRATH, S.P. Arsenic hyperaccumulation by different fern species. **New Phytologist**, Cambridge, v.156, p.27-31, 2002.

CAPÍTULO 1

ACCUMULATION OF ARSENIC AND NUTRIENTS BY CASTOR BEAN PLANTS GROWN ON AN AS-ENRICHED NUTRIENT SOLUTION

1 ABSTRACT

This paper was submitted to Journal of Hazardous Materials, and was accepted online on 17-FEB-2009. Reference: HAZMAT9557 PII: S0304389409002556 DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.02.048

Phytoextraction is a remediation technique that consists in using plants to remove contaminants from soils and water. This study evaluated arsenic (As) accumulation in Castor bean (*Ricinus communis* cv. Guarany) grown in nutrient solution in order to assess its phytoextraction ability. Castor bean plants were grown under greenhouse conditions in pots containing a nutrient solution amended with increasing doses of As (0, 10, 50, 100, 250, 500 and 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$) in a completely randomized design with four replications. Shoot and roots dry matter production as well as arsenic and nutrient tissue concentrations were measured at the end of the experiment. The results showed that increasing As concentration in nutrient solution caused a decrease in shoot and root biomass but did not result in severe toxicity symptoms in castor bean growing under a range of As concentration from 0 to 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$. The As doses tested did not affect the accumulation of nutrients by castor bean. Although castor bean did not pose characteristics of a plant suitable for commercial phytoextraction, it could be useful for revegetation of As-contaminated areas while providing an additional income by oil production.

Keywords: phytoremediation, contamination, metalloid, As

2 INTRODUCTION

Arsenic (As) is a naturally-occurring trace element that is distributed thoroughly in the terrestrial crust and is found in over 245 minerals (Mandal & Suzuki, 2002). Arsenic in soils can originate from natural (e.g., rock weathering and volcanic activity), as well as anthropogenic sources (e.g., pesticides, herbicides, fertilizers, mining, fossil fuel burning) (Gonzaga et al., 2006). Soil pollution with arsenic can cause loss of the vegetation covering and contamination of water bodies, besides contributing to the entrance of As into the food chain (Tu & Ma, 2002).

Due to its toxicity as well as the possibility of exposure - mainly to humans - arsenic is considered a key priority pollutant worldwide (ATSDR, 2007). Acceptable concentrations of arsenic in drinking water vary between 10 and 50 μg of As L^{-1} (WHO, 2001; USEPA, 2002). However, values about 10 times higher have been reported in surface waters close to mining areas in Brazil (Matschullat et al., 2000) and in several studies conducted in Southern Asia (Smith et al., 2000) as well, where health problems arising from As water contamination are noteworthy. Likewise water contamination, soil pollution with trace elements might also pose an ecological and/or human health risk. In addition, it may decrease agricultural productivity and affect ecosystems sustainability. Owing to their intrinsic toxicity and high persistence, these elements are an environmental problem requiring urgent and affordable solutions.

Conventional remediation technologies are sometimes cost prohibitive and frequently harmful to soil properties (Raskin et al., 1997). On the other hand, phytoremediation is a promising technology for soil remediation due to its

relatively low cost, which makes it a viable alternative for countries where funds for environmental restoration are scarce (Nascimento & Xing, 2006).

The success of the phytoextraction approach depends on both the biomass production and the ability of plants to accumulate the pollutant in the shoots in concentrations that are sufficiently high to reduce the concentration in the media to acceptable levels (Melo et al., 2006). Thus, an appropriate selection of plant species possessing such a phytoextraction potential requires a better understanding of the behavior of such species when submitted to increasing doses of the target pollutant. Hydroponic systems are particularly suitable for assessing plants phytoextraction potential, because they eliminate the interaction between the target pollutant and the media (Huang et al., 2004; Baldwin & Butcher, 2007).

Castor bean (*Ricinus communis* cv. Guarany) is a specie belonging to the *Euphorbiaceae* family. It has been shown to possess potential for phytoremediation of heavy metals (Giordani et al., 2005; Gupta & Sinha, 2007; Mahmud et al., 2008) due to its fast growth and high biomass. These traits make castor bean widely adapted to several soil types and climatic conditions. Moreover, this plant species has been recently appointed as a good alternative for biodiesel production in Brazil (Oliveira et al., 2008). The phytoextraction potential of As by castor bean aiming to its use in soil remediation can be improved through a better understanding of the tolerance to the element. Such knowledge can lead to strategies to be used on engineering the species for high As accumulation. Otherwise, studies concerning the castor plant development under As-stress conditions are relevant to create an additional option for soil revegetation of As-impacted areas.

This study evaluated the As accumulation and tolerance by castor bean (*Ricinus communis* cv. Guarany) grown in nutrient solution as well as its potential for As phytoextraction.

3 MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted in greenhouse at the Soil Science Department of the Federal University of Lavras (Brazil) from August to December, 2007. Castor bean seedlings (*Ricinus communis* cv. Guarany) were produced in a vermiculite substratum, irrigated with 0.1 mmol L⁻¹ calcium sulfate (CaSO₄·2H₂O). Castor bean seeds were obtained from the Plant Science Department at Federal University of Lavras, Brazil.

Seedlings were transplanted 23 days after sowing into 30-L trays containing a Hoagland & Arnon (1950) solution at 20% of its original ionic strength. Plants were kept in this solution for a 10-day adaptation period, under constant aeration and pH adjusted close to 5.5 by addition of either 0.1 mol L⁻¹ NaOH or HCl solutions. Seedlings were then transferred to 1.75-L pots containing a solution with 50% of the Hoagland & Arnon original ionic strength. Arsenic was added to each pot 3 days after transplanting. The nutrient solution was renewed whenever the electrolytic conductivity dropped from approximately 1.2 to 0.4 dS m⁻¹.

Arsenic was supplied as Na₂HAsO₄·7H₂O (analytical-reagent grade) at 7 concentrations (0, 10, 50, 100, 250, 500, and 5000 µg L⁻¹ of As), in four replicates disposed in a completely randomized experimental design, totaling 28 pots. Such doses were used to represent the range of As concentrations likely to be found in drinking water standards up to As contaminated areas.

After 30 days of exposure to As, castor bean plants were harvested and separated into shoots and roots. Both roots and shoots were washed and oven-dried at 60°C. Root and shoot weights were recorded and then the plant material was digested following the USEPA 3051A. The arsenic concentration was determined by graphite furnace atomic absorption spectroscopy. NIST standard reference materials (SRM 1573a Tomato Leaves, SRM 1547 Peach Leaves)

were used to check the accuracy of As determination, which was found satisfactory, i.e., less than 10% of variation. The plant nutrient concentrations were determined as follows: P and S by inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy; K by photometry; Ca, Mg, Cu, Mn, Fe, and Zn by flame atomic absorption spectroscopy. Total N was determined using the Kjeldahl method (EMBRAPA, 1999). Arsenic speciation in nutrient solution was assessed using Visual Minteq version 2.53 (Gustaffson, 2007) aiming to verify the main forms of As at each solution concentration. Results of such a speciation at the highest As concentration (5000 $\mu\text{g L}^{-1}$) revealed that 93.41% of the As occurred as H_2AsO_4^- , 6.55% as HAsO_4^{2-} , and 0.04% as H_3AsO_4 . Thus evidencing that 100% of the element remained dissolved in solution, i.e., promptly available for plant uptake.

The phytoextraction ability of castor bean plants was assessed using both the translocation factor (TF) and the bioaccumulation factor (BF) as follows:

$$\text{TF} = [\text{As}]_{\text{shoot}} / [\text{As}]_{\text{root}}$$

$$\text{BF} = [\text{As}]_{\text{shoot}} / [\text{As}]_{\text{solution}}$$

where $[\text{As}]_{\text{shoot}}$ and $[\text{As}]_{\text{root}}$ stand for the concentration of the element in the shoot and root, respectively (mg kg^{-1}), while $[\text{As}]_{\text{solution}}$ is the element concentration in the nutrient solution (mg L^{-1}) (Wei & Chen, 2006; Srivastana et al., 2006; Wei et al., 2006; Jankong et al., 2007; Wang et al., 2007).

The results were submitted to an ANOVA with data transformed to a logarithmic scale in order to reduce the inequality of As concentration intervals used in the nutrient solution, thus contributing for a better graphic representation of the data. Regression equations were chosen based on R^2 obtained with the Sigma Plot software (version 10.0). Pearson correlation coefficients were also used to determine significant relationships between the concentration of As and each nutrient (N, P, K, S, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, and Zn) in roots and shoots.

4 RESULTS AND DISCUSSION

Except for the highest As concentration (5000 $\mu\text{g L}^{-1}$), the addition of arsenic had little effect on the root (RDM) and shoot dry matter (SDM) of the castor bean plants (Table1). Data from SDM demonstrated a 35% decrease in production for the highest dose when compared with the control. Even though we could not find statistical difference for data from RDM, increasing the As dose to 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ caused a 23% decrease in RDM production.

TABLE 1 Root (RDM) and shoot dry matter (SDM) production of castor bean plants exposed to increasing concentrations of arsenic in nutrient solution. Standard errors are shown in parenthesis.

TREATMENT As ($\mu\text{g L}^{-1}$)	DRY MATTER (g)	
	SHOOTS	ROOTS
0	20.59a (1.92)	9.44a (1.06)
10	21.51a (2.27)	9.49a (1.37)
50	19.91a (1.34)	9.39a (0.33)
100	19.39a (0.99)	9.29a (1.29)
250	20.06a (0.88)	9.08a (0.93)
500	20.21a (0.67)	9.69a (0.62)
5000	13.37b (1.28)	7.27b (0.38)

Means followed by the same letters are not significantly different by Scott-Knott Test at $p < 0.05$.

Arsenic concentration in SDM was smaller than in RDM, $[\text{As}]_{\text{shoot}} < [\text{As}]_{\text{root}}$, and both increased exponentially with increasing As concentration in the nutrient solution (Figure 1). The estimated value of $[\text{As}]_{\text{root}}$ at the highest As solution concentration (5000 $\mu\text{g L}^{-1}$) was 468.40 mg kg^{-1} , whereas that of $[\text{As}]_{\text{shoot}}$ was 44.6 mg kg^{-1} . Toxicity symptoms such as dark brown-colored leaves and necrosis in tips and leaves margins, followed by the death of the plant

(Tu & Ma, 2002), were not observed in this study. It is worthy to point out that only from As concentration close to 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ roots start to transfer substantial amounts of As to shoots (Figure 1). Taking in account that castor bean plants did not display any toxic symptoms, it is likely that its potential to accumulate As in shoots could be higher than found here.

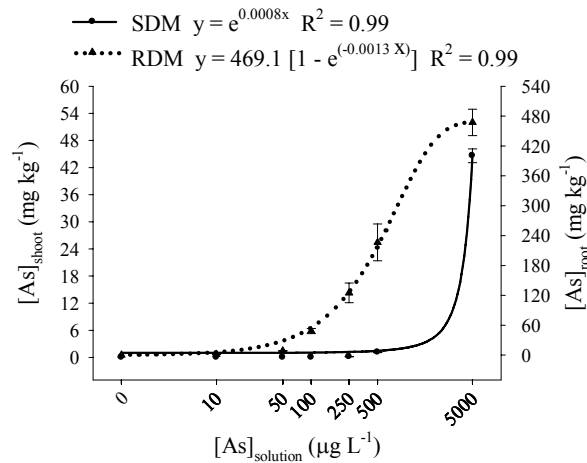


FIGURE 1 Arsenic concentration in the shoots - $[\text{As}]_{\text{shoot}}$ - and in the roots - $[\text{As}]_{\text{root}}$ - of castor bean plants exposed to increasing concentrations of arsenic in nutrient solutions (As concentration in solution presented in log scale for simplicity. Bars represent the standard error of the mean).

Anderson & Walsh (2007) reported that *Thelypteris palustris* is not a good species for remediating As-contaminated soil and water due to the appearance of toxicity symptoms – necrosis in fronds containing 48.3 mg kg^{-1} - in plants exposed to $500 \mu\text{g As L}^{-1}$. Based on our results, castor bean could grow well in As-contaminated areas since it accumulates up to 43.5 mg kg^{-1} in shoots

when exposed to As concentrations 10-fold higher in solution (5000 $\mu\text{g As L}^{-1}$) than the used for *Thelypteris palustris*, with no toxicity symptoms.

Rahman et al. (2007) studied the phosphate-arsenate interactions in nutrient solutions and reported a 3.18-fold decrease in As concentration in shoots of *Spirodela polyrhiza* L. exposed to 300 $\mu\text{g As L}^{-1}$ when the phosphate concentration in solution was increased from 0.02 to 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The P concentration in solution for the present work was 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Therefore the P:As ratio varying from 0.75 to 7.5 enhanced the As concentration in shoots from 0.94 mg L^{-1} to 43.5 mg L^{-1} , respectively. These data are not in line with the results by Tu & Ma (2003) who argues that the P:As ratio in solution (mol L^{-1}) should be 1:2 aiming at effective removal of As by plants.

Several works have recently reported a high capacity of As accumulation ($[\text{As}]_{\text{shoot}} > 1000 \text{ mg kg}^{-1}$) by a brake fern (*Pteris vittata* L.) grown either in polluted soils or under greenhouse conditions where As has been added to the soil (Chen et al., 2002; Tu et al., 2002; Tu & Ma, 2002; Tu & Ma, 2005; Srivastava et al., 2006). In a recent experiment with sunflower (*Helianthus annuus*) exposed to 30 mg As L^{-1} in nutrient solution, January et al. (2007) observed As concentrations in the root, stem, and leaves of 1520, 520, and 1040 mg kg^{-1} , respectively. However, the sunflower biomass was as low as 2.13 g per pot.

In order to be regarded as As hyperaccumulator, a species must pose the ability to uptake and transfer effectively the metalloid into the shoots. Yet, there is no scientific consensus over the $[\text{As}]_{\text{shoot}}$ value that a hyperaccumulator plant should meet, which could be considered either 100 mg kg^{-1} (Turgut et al., 2005) or 1000 mg kg^{-1} (Gonzaga et al., 2006). Moreover, one should evaluate also the translocation (TF) and bioaccumulation (BF) factors, as proposed by several works (Wei & Chen, 2006; Srivastana et al., 2006; Wei et al., 2006; Jankong et al., 2007; Wang et al., 2007). The TF measures the plant efficiency to transport

an element from roots to shoots, while the BF measures the plant effectiveness to accumulate the element comparatively to its concentration in the media. If both factors are higher than the unit (1) the species present hyperaccumulation. However, the effective removal of metals from soils is a combination of sufficiently high metal concentration in shoots and high biomass instead of only one of such factors (Nascimento & Xing, 2006; Melo et al., 2006).

The translocation and bioaccumulation factors (Table 2) increased as a function of As concentration in the nutrient solution. The estimated values for the highest As solution concentration (5000 $\mu\text{g L}^{-1}$) were TF = 0.096 and BF = 8.920. Translocation factor is far below the reference value (1.0) for hyperaccumulation. This might explain why we could not see toxicity symptoms in the shoots of castor bean plants. According to Schmöger et al. (2000), the low capacity of transporting As to the shoots seems to be important mechanisms to minimize As phytotoxicity.

TABLE 2 Translocation and bioaccumulation factors for arsenic in castor bean plants exposed to increasing concentrations of arsenic in nutrient solutions (Mean standard errors in parenthesis)

TREATMENT As ($\mu\text{g L}^{-1}$)	FACTOR	
	TRANSLOCATION	BIOACCUMULATION
250	0.001b (0.000)	0.584c (0.098)
500	0.005b (0.001)	2.178b (0.036)
5000	0.096a (0.008)	8.920a (0.307)

Means followed by the same letters are not significantly different by Scott-Knott Test at $p < 0.05$.

The ability of specific plants to survive in polluted soils has been related to a variety of mechanisms of metal tolerance or detoxification, which includes chelation, compartmentalization, biotransformation and cellular repair (Salt et

al., 1998). There has been evidence that the ease of reducing arsenate to arsenite is a strategy that hyperaccumulator plants use to accumulate large amounts of As without developing toxicity symptoms (Zhang et al., 2002; Tu et al., 2003). Although arsenite is more phytotoxic than arsenate, once reduced arsenite becomes less toxic within the plant due to the formation of arsenite-thiol complexes (-SH) and As-phytochelatins (Pickering et al., 2000; Mecharg, 2002).

Arsenic uptake by plants is dependent on environmental factors such as soil type, nutrient supply and pH. Thus, a better understanding of the relationships between As uptake and plant nutrition is essential for developing an efficient strategy for plant growth in phytoremediation programs (Tu & Ma, 2003). Increasing As concentrations in the nutrient solution did not affect nutrient accumulation by the castor bean plant (Table 3), since there were not nutrient deficiency symptoms. This implies that nutritional deficiency was not a drawback for As uptake.

TABLE 3 Macronutrient, micronutrient and arsenic concentrations in castor bean plants exposed to arsenic in nutrient solution

DOSE	N	P	K	S	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn	As
As	SHOOTS										
$\mu\text{g L}^{-1}$	----- g kg ⁻¹ -----						----- mg kg ⁻¹ -----				
0	22.30	3.33	3.32	1.16	10.51	3.24	5.20	47.31	26.13	4.62	0.00
10	22.73	3.47	4.16	1.70	13.43	3.72	7.65	47.61	27.52	4.83	0.00
50	23.07	4.47	4.39	1.88	14.11	4.11	10.30	52.91	30.20	5.19	0.00
100	23.43	5.17	4.56	2.43	13.12	4.35	11.98	65.17	31.02	5.22	0.00
250	23.47	3.77	4.69	5.13	12.26	4.09	10.52	49.88	32.16	5.49	0.15
500	23.49	3.75	4.70	3.09	12.25	4.07	7.33	45.54	32.53	5.60	1.09
5000	23.51	4.63	5.02	3.04	12.22	4.02	2.37	32.42	53.39	5.78	44.60
	ROOTS										
	----- g kg ⁻¹ -----						----- mg kg ⁻¹ -----				
0	20.89	2.39	9.88	1.08	10.15	1.76	4.35	266.06	54.81	5.90	0.00
10	21.10	2.45	8.99	1.12	10.20	1.92	4.51	269.64	59.19	5.31	1.54
50	21.33	2.57	8.92	1.18	10.90	1.96	5.01	275.18	59.44	6.02	8.62
100	21.35	2.83	8.69	1.23	11.14	2.00	6.23	277.80	63.39	6.38	48.54
250	21.38	3.27	8.86	1.43	13.34	1.92	8.45	316.05	63.57	6.50	124.85
500	23.67	3.46	8.92	1.15	13.53	1.89	10.02	344.18	64.32	7.82	226.37
5000	30.63	6.33	9.38	1.07	13.69	1.85	11.68	301.91	54.62	8.30	467.38

The increase of As concentrations in the plant tissue was positively correlated with N, P, Ca, Cu, and Zn concentration in RDM and with P, Mn, and Zn concentration in SDM of the castor bean plant. Inverse correlation was observed for Mn in RDM and with Cu and Fe in SDM (Table 4).

TABLE 4 Pearson correlations between As and nutrient concentrations (N, P, K, S, Ca, and Mg in g kg⁻¹; Cu, Fe, Mn, and Zn in mg kg⁻¹) in root and shoot dry matter of castor bean plants exposed to increasing concentrations of arsenic in nutrient solutions

Nutrient	Arsenic	
	Root	Shoot
N	0.98 ^{***}	0.41 ^{NS}
P	0.98 ^{***}	0.31 [*]
K	0.28 ^{NS}	0.31 ^{NS}
S	-0.36 ^{NS}	0.20 ^{NS}
Ca	0.48 ^{**}	-0.14 ^{NS}
Mg	-0.27 ^{NS}	0.13 ^{NS}
Cu	0.75 [*]	-0.72 [*]
Fe	0.23 ^{NS}	-0.75 [*]
Mn	-0.45 ^{**}	0.98 ^{**}
Zn	0.76 [*]	0.47 ^{**}

Significant at the ^{*}P < 0.05 level, ^{**}P < 0.01 level and ^{***}P < 0.001 and ^{NS} non-significant difference.

These results corroborate those reported by Carbonell-Barrachina et al. (1997) who found increasing concentrations of N, P, and Ca in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) submitted to increasing doses of As. Carbonell et al. (1998) showed that As caused a reduction of macronutrients (K, Ca, and Mg) and micronutrients concentration (B, Cu, Mn, and Zn) in tomato plants (*Lycopersicum esculentum* Mill). Increasing nutrient concentrations in As-stressed plants may be related to a "concentration effect", since shoots and roots biomass decreases for high doses of As in solution.

5 CONCLUSIONS

Castor bean can be regarded as a species moderately tolerant to arsenic. Therefore, this species could be used successfully for revegetation of As-contaminated areas. The potential use of castor bean seeds for biodiesel production might be preceded by a much detailed work to be conducted until the stage of fruit production. However, taking into consideration the very low root-to-shoot translocation observed in this present study, one might expect also a small translocation to fruits. Such oil production could reduce the costs associated with revegetation which make the process sustainable on an economic and environmental perspective.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to CNPq and FAPEMIG for the scholarships provided.

6 REFERENCES

ANDERSON, L.; WALSH, M.M. Arsenic uptake by common marsh fern *Thelypteris palustris* and its potential for phytoremediation. **Science Total Environment**, v.379, p.263-265, 2007.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE CONTROL. **CERCLA Priority List of Hazardous Substances**. 2007. Available from: <<http://www.atsdr.cdc.gov/cercla/2005>>. Accessed December 19, 2007.

BALDWIN, P.R.; BUTCHER, D.J. Phytoremediation of arsenic by two hyperaccumulators in a hidroponic environment. **Microchemical Journal**, v.85, p.297-300, 2007.

CARBONELL-BARRACHINA, A.A.; BURLÓ-CARBONELL, F.; MATAIX-BENEYTO, J. Effect of sodium arsenite and sodium chloride on bean plant nutrition (macronutrients). **Journal Plant Nutrition**, v.20, p.1617-1633, 1997.

CARBONELL, A.A.; AARABI, M.A.; DELAUNE, R.D.; GAMBRELL, R.P.; PATRICK Jr., W.H. Arsenic in wetland vegetation: availability, phytotoxicity, uptake and effects on plant growth and nutrition. **The Science of the Total Environment**, v.217, p.189-199, 1998.

CHEN, T.B.; WEI, C.Y.; HUANG, Z.C.; HUANG, Q.F.; LU, Q.G. Arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and its arsenic accumulation. **Chinese Science Bulletin**, v.47, p.902-905, 2002.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura e Abastecimento, 1999. 370 p.

GIORDANI, C.; CECCHI, S.; ZANCHI, C. Phytoremediation of soil polluted by nickel using agricultural crops. **Environmental Management**, v.36, p.675-681, 2005.

GONZAGA, M.I.S.; SANTOS, J.A.G.; MA, L.Q. Arsenic phytoextraction and hyperaccumulation by fern species. **Scientia Agrícola**, v.63, p.90-101, 2006.

- GUPTA, A. K.; SINHA, S. Phytoextraction capacity of the plants growing on tannery sludge dumping sites. **Bioresource Technology**, v.98, p.1788–1794, 2007.
- GUSTAFFSON, J.P. **Visual Minteq**, ver.2.53, KTH. Stockolm, Sweden: Department of Land and Water Resorces Engeenering. 2007. Available from: <<http://www.lwr.kth.se/English/OurSoftware/vminteq/>>. Accessed December 19, 2007.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. Berkeley, **California Agricultural Experiment Station**, 1950. 32p. (Boletim 347).
- HUANG, J.W.; POYNTON, C.Y.; KOCHIAN, L.V.; ELLESS, M.P. Phytofiltration of arsenic from drinking water using arsenic-hyperaccumulating ferns. **Environmental Science & Technology**, v.38, p.3412-3417, 2004.
- JANKONG, P.; VISOOTTIVISETH, P.; KHOKIATTIWONG, S. Enhanced phytoremediation of arsenic contaminated land. **Chemosphere**, v.68, p.1906-1912, 2007.
- JANUARY, M.C.; CUTRIGHT, T.J.; KEULEN, H.V.; WEI, R. 2007. Hydroponic phytoremediation of Cd, Cr, Ni, As, and Fe: Can *Helianthys annuus* hyperaccumulate multiple heavy metals? **Chemosphere** (2007), doi: 10.1016/j.chemosphere. 2007.06.066
- MAHMUD, R.; INOUE, N.; KASAJIMA, S.; SHAHEEN, R. Assessment of potential indigenous plant species for the phytoremediation of arsenic-contaminated areas of Bangladesh. **International Journal Phytoremediation**, v.10, p.119-132, 2008.
- MANDAL, B.K.; SUZUKI, K.T. Arsenic around the world: a review. **Talanta**, v.58, p.201-235, 2002.
- MATSCHULLAT, J.; BORBA, R.P.; DESCHAMPS, E.; FIGUEIREDO, B.R.; GABRIO, T.; SCHWENK, M. Human and environmental contamination in the Iron Quadrangle, Brazil. **Applied Geochemistry**, v.15, p.193-202, 2000.
- MECHARG, A.A. Arsenic and old plants. **New Phytologist**, v.156, p.1-8, 2002.

- MELO, E.E.C.; NASCIMENTO, C.W.A.; SANTOS, A.C.Q. Solubilidade, fracionamento e fitoextração de metais pesados após aplicação de agentes quelantes. **Revista Brasileira de Ciência de Solo**, v.30, p.1051-1060, 2006.
- NASCIMENTO, C.W.A.; XING, B. Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. **Scientia Agrícola**, v.63 p.299-311, 2006.
- OLIVEIRA, L.B.; ARAUJO, M.S.M.; ROSA, L.P.; BARATA, M.; LA ROVERE, E.L. Analysis of the sustainability of using wastes in the Brazilian power industry. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.12, p.883–890, 2008.
- PICKERING, I.J.; PRINCE, R.C.; GEORGE, M.J.; SMITH, R.D.; GEORGE, G.N.; SALT, D.E. Reduction and coordination of arsenic in Indian mustard. **Plant Physiology**, v.122, p.1171-1177, 2000.
- RAHMAN, M.A.; HASEGAWA, H.; UEDA, K.; MAKI, T.; OKUMURA, C.; RAHMAN, M.M. Arsenic accumulation in duckweed (*Spirodela polyrhiza* L.): A good option for phytoremediation. **Chemosphere**, v.69, p.493-499, 2007.
- RASKIN, I.; SMITH, R.D.; SALT, D.E. Phytoremediation of Metals: Using Plants to Remove Pollutants from the Environment. **Current Opinion in Biology**, v.8, p.221-226, 1997.
- SALT, D.E.; SMITH, R.D.; RASKIN, I. Phytoremediation. **Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. v. 49, p.643-668, 1998.
- SCHMÖGER, M.E.V.; OVEN, M.; GRILL, E. Detoxification of arsenic by phytochelatins in plants. **Plant Physiology**, v.122, p.793-802, 2000.
- SMITH, A. H.; LINGAS, E. O.; RAHMAN, M. Contamination of drinking water by arsenic in Bangladesh: a public health emergency. **Bulletin of the World Health Organization**. v.9, p.1093-1103, 2000.
- SRIVASTAVA, M.; MA, L.Q.; SANTOS, J.A.G. Three new arsenic hyperaccumulating ferns. **The Science of the Total Environment**, v.364, p.24-31, 2000.
- TU, C.; MA, L.Q. Effects of arsenic concentrations and forms on arsenic uptake by the hyperaccumulator ladder brake. **Journal of Environmental Quality**, v.31, p.641-647, 2002.

TU, C.; MA, L.Q.; BONDADA, B. Arsenic accumulation in the hyperaccumulator Chinese Brake (*Pteris vittata* L.) and its utilization potential for phytoremediation. **Journal of Environmental Quality**, v.31, p.1671-1675, 2002.

TU, C.; MA, L.Q. Interactive effects of pH, arsenic and phosphorus on uptake of As and P and growth of the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. under hydroponic conditions. **Environmental and Experimental Botany**. 50:243-251, 2003.

TU, C.; MA, L.Q.; ZHANG, W.; CAI, Y.; HARRIS, W. Arsenic species and leachability in the fronds of the hyperaccumulator Chinese Brake (*Pteris vittata* L.). **Environmental Pollution**, v.124, p.223-230, 2003.

TU, C.; MA, L.Q. Effects of As hyperaccumulation on nutrient content and distribution in fronds of the hyperaccumulator Chinese brake. **Environmental Pollution**, v.135, p.333-340, 2005.

TURGUT, C.; PEPE, M.K.; CUTRIGHT, T.J. The effect of EDTA on *Helianthus annuus* uptake, selectivity, and translocation of heavy metals when grown in Ohio. **Chemosphere**, v.58, p.1087-1095, 2005.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY.
Complying with the revised drinking water standard for arsenic: small entity compliance guide United States Environmental Protection Agency, Office of Ground Water and Drinking Water. 2002. Available from: <http://www.epa.gov/safewater/arsenic/pdfs/ars_final_app_f.pdf>. Accessed December 19, 2007.

WANG, H.B.; WONG, M.H.; LAN, C.Y.; BAKER, A.J.M.; QIN, Y.R.; SHU, W.S.; CHEN, G.Z.; YE, Z.H. Uptake and accumulation of arsenic by 11 *Pteris* taxa from southern China. **Environmental Pollution**, v.145, p.225-233, 2007.

WEI, C.Y.; SUN, X.; WANG, C.; WANG, W.Y. Factors influencing arsenic accumulation by *Pteris vittata*: A comparative field study at two sites. **Environmental Pollution**, v.141, p.488-493, 2006.

WEI, C.Y.; CHEN, T.B. Arsenic accumulation by two brake ferns growing on an arsenic mine and their potential in phytoremediation. **Chemosphere**, v.63, p.1048-1053, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **United Nations synthesis report on arsenic in drinking water**, Geneve. 2001. Available from: <http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/arsenic3/en/>. Accessed December 19, 2007.

ZHANG, W.; CAI, Y.; TU, C.; MA, L.Q. Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulating plant. **The Science of the Total Environment**. v.300, p.167-177, 2002.

CAPÍTULO 2

DISPONIBILIDADE E ACÚMULO DE ARSÊNIO EM PLANTAS OLEAGINOSAS CULTIVADAS EM SOLOS ENRIQUECIDOS COM AS

1 RESUMO

O arsênio (As) ocorre na crosta terrestre em diversas formas químicas, resultantes de fontes naturais e antropogênicas. Os Compostos inorgânicos de As podem provocar sérios danos à biosfera. A extração química de As no solo pode inferir sobre a disponibilidade do elemento e a possibilidade de sua entrada na cadeia alimentar. A fitoextração tem sido proposta como uma tecnologia de remediação de solos contaminados com arsênio. Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi determinar a biodisponibilidade de arsênio em diferentes extratores e comparar o desempenho da mamona e girassol na remoção de As de dois solos contaminados. O Neossolo Quartzarênico (RQ) e o Latossolo Vermelho distrófico foram contaminados com $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ nas doses de 35 e 150 mg de As dm^{-3} de solo. A disponibilidade de As foi avaliada pelos extratores: água tridestilada, sulfato de amônio, fosfato de amônio, oxalato de amônio + ácido oxálico, ácidos orgânicos, Mehlich-1 e USEPA 3051A. Após 35 dias, as raízes e a parte aérea das plantas foram coletadas e obtidas as massas da matéria seca e a concentração de As da parte aérea e da raiz, além do conteúdo desse elemento na parte aérea, com vistas a avaliar a remoção do metalóide pelas plantas. A adição de As nos solos não provocou sintomas severos de toxidez nas plantas, embora no RQ, observou-se redução na produção da matéria seca da parte aérea e da raiz no valor de 150 mg dm^{-3} , nas duas espécies. A mamona apresentou menor sensibilidade ao As que o girassol, mas nenhuma espécie avaliada apresentou características de hiperacumulação. Por outro lado, essas espécies podem ser utilizadas para revegetação de áreas contaminadas com teores de As equivalente ao valor de intervenção para exposição agrícola (35 mg dm^{-3}) e industrial (150 mg dm^{-3}), conforme sugerido pela CETESB. Devido a variação dos valores dos coeficientes de correlação entre os extratores testados e às variáveis matéria seca, teor e acúmulo na parte aérea do girassol e da mamona, não foi possível selecionar um extrator adequado para prever a real disponibilidade de As nos solos estudados.

2 ABSTRACT

Arsenic (As) occurs in the earth's crust in various chemical forms as a result of both natural and anthropogenic sources. Inorganic compounds of As can cause serious damage to living organisms. Soil chemical extractions may help understanding arsenic availability as well as the possibility of As entry's into the food chain. Phytoextraction has been proposed as a technology for remediation of As-contaminated soils. The purpose of this study was to determine the bioavailability of arsenic in different extractants and to compare the performance of castor bean and sunflower for the removal of this metalloid from two contaminated soils. The soils were contaminated with $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ adding 35 and 150 mg As dm^{-3} soil. Arsenic availability was evaluated with the following extractants: tridistilled water, ammonium sulfate, ammonium phosphate, ammonium oxalate + oxalic acid, organic acids mixture, Mehlich-1, and USEPA 3051A. After 35 days, the roots and shoots of plants were collected for measuring dry matter production as well as As concentration. Arsenic content was also measured in the shoots in order to evaluate the plants potential for As removal. The addition of As in the soils did not cause severe symptoms of toxicity in plants, although the dose 150 mg As dm^{-3} soil led to a reduction in shoot and root dry matter production in both species. Castor bean showed to be less sensitive to As than sunflower, but none of the species showed characteristics of hyperaccumulating plants. Nevertheless, these species can be used for revegetation of areas contaminated with As up to safe limit of 150 mg As dm^{-3} soil, as proposed by CETESB for industrial areas in São Paulo State, Brazil. We could not recommend any of the tested extractants due to poor correlations found between soil As with either As concentration/content in plants or dry matter production.

3 INTRODUÇÃO

O arsênio (As) é um metalóide amplamente distribuído na atmosfera e na crosta terrestre (Habuda-Stanic et al., 2008), sendo considerado como a substância mais perigosa à saúde humana pela ATSDR (2007). Em solos não contaminados, a concentração de As pode variar entre 1 e 20 mg kg⁻¹ (Wenzel et al., 2002). Concentrações mais elevadas podem indicar uso excessivo de compostos agrofloretais como pesticidas, fertilizantes, inseticidas, desfolhantes e preservativos da madeira (Gonzaga et al., 2008; Lee et al., 2008).

A atividade de mineração é um dos principais meios pelo quais os metais e metalóides entram no ambiente. Essa atividade, em áreas que contêm minerais sulfetados, como arsenopirita (FeSAs), tem contribuído para a dispersão de As, causando perda da vegetação e contaminação de mananciais hídricos e solos agrícolas, colocando em risco toda biota localizada ao redor das mineradoras (Silva et al., 2004).

O arsênio pode existir em quatro estados de oxidação: arsina (-3), elementar (0), arsenito (+3) e arsenato (+5). Em condições óxicas (Eh > 200 mV; pH 5-8), o arsênio é encontrado na forma As⁵⁺, enquanto que o As³⁺ se encontra em condições anóxicas (Smith et al., 1998). O comportamento do arsenato no solo assemelha-se ao do fosfato, embora tenha uma maior tendência para formar ligação iônica, em vez de covalente, em razão do seu maior caráter metálico (Baird, 2002). A disponibilidade de As em solos é controlada pelo processo de sorção (adsorção/dessorção) com os óxidos de ferro, alumínio e manganês, matéria orgânica e os minerais de argila (Wang & Mulligan, 2006).

A forma química e o estado de oxidação do arsênio no solo são fatores determinantes para o processo de remediação. A simples determinação da concentração total de As no solo ou rejeito é uma informação limitada,

especialmente sobre o seu comportamento no ambiente e danos que pode causar à saúde (Barra et al., 2000). Por esse motivo, as extrações químicas para avaliação de biodisponibilidade são fundamentais para avaliar o comportamento do As no solo. Wenzel et al. (2001) desenvolveram e testaram um procedimento de extração de As combinando reagentes extratores comumente utilizados para extração de elementos-traço, Se e P. O resultado do teste demonstrou que extratores usados para P e elementos-traço, incluindo NH_4NO_3 , NaOAc , NH_2OH , EDTA, NH_4OH e NH_4F , têm baixa eficiência de extração de As, ou não são específicos para frações do solo alvo da extração. Os extratores que mais extraíram As, em ordem crescente, foram: (1) $0,05 \text{ mol L}^{-1} (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; (2) $0,05 \text{ mol L}^{-1} \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; (3) $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ oxalato de amônio ; (4) $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ oxalato de amônio + ácido ascórbico e (5) digestão em microondas com $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$.

Diversos esforços têm sido propostos para reduzir a concentração de contaminantes no solo. As tecnologias convencionais de descontaminação são, algumas vezes, muito caras para serem usadas na recuperação de áreas poluídas. Entre as técnicas de remediação, a fitoextração tem sido sugerida como uma alternativa eficiente e barata que utiliza plantas para extrair e translocar contaminantes do solo para parte aérea (Nascimento & Xing, 2006).

Para o sucesso da fitoextração, a seleção de espécies de plantas que possuam potencial de remover teores disponíveis de elementos-traço em áreas contaminadas requer o entendimento do comportamento destas espécies nestas áreas. A mamona (*Ricinus communis*) e o girassol (*Helianthus annuus*) são plantas rústicas, com alto grau de regeneração e produção de biomassa, cultiváveis em condições pouco favoráveis. Adaptam-se bem a diversos tipos de solos e de climas e o tamanho dessas plantas e a flexibilidade dos seus ramos facilitam a colheita. Assim, é possível vislumbrar um cenário otimista, através das enormes possibilidades de produzir e comercializar plantas oleaginosas cultivadas em solos contaminados, ou seja, produzir matéria prima para a

produção de biocombustível e, ao mesmo tempo em que se reduz a contaminação do solo, o que tornaria todo o processo produtivo mais sustentável do ponto de vista econômico e sócio-ambiental.

O objetivo do presente trabalho foi o de estudar a tolerância do girassol e da mamona em dois solos enriquecidos com As; comparar a remoção de As pelas espécies; e determinar a biodisponibilidade de As em diferentes extratores (água tridestilada, sulfato de amônio, fosfato de amônio, oxalato de amônio + ácido oxálico, ácidos orgânicos, Mehlich-1 e USEPA 3051A).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização experimental

O estudo foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras no período de fevereiro a junho de 2008. Foram utilizados dois solos (Tabela 1), com diferentes texturas e teores de matéria orgânica: Neossolo Quartzarênico (RQ) e Latossolo Vermelho distrófico (LVd), coletados no município de Itutinga-MG e Lavras-MG, respectivamente. Estes solos provieram de áreas reconhecidamente não sujeitas à contaminação intencional com As (as únicas fontes possíveis são deposição atmosférica e adição de insumos que, porventura, contenham As). Resultados da caracterização física, química e mineralógica desses solos encontram-se na tabela 1.

TABELA 1 Atributos químicos, físicos e mineralógicos dos solos utilizados para o cultivo das espécies

Solo	pH	CTC	MO	Arg	Ar	Sil	Ct	Gb	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃
		mmol _c kg ⁻¹		----- g kg ⁻¹ -----							
LVd	4,4	60	46	720	180	100	190	484	159	270	125
RQ	4,6	43	14	60	920	20	681	156	30,6	35,8	11

Atributos químicos: pH - pH em água (relação 1:2,5) e CTC (capacidade de troca de cátions) - método de saturação (EMBRAPA, 1999); MO (matéria orgânica) - MO = % C x 1,723 (Raij et al., 1987); Atributos físicos: Arg (argila), Ar (areia) e Sil (silte) - método da pipeta (Day, 1965); Atributos mineralógicos: Ct (caulinita), Gb (gibbsita) - Análise Termo-Diferencial (ATD); SiO₂, Al₂O₃ e Fe₂O₃ - ataque sulfúrico (EMBRAPA, 1999).

Os solos secos ao ar, destorroados e homogeneizados foram passados em peneira de 4 mm de abertura de malha. A acidez foi corrigida para pH na faixa de 6,5 – 7,0 utilizando-se hidróxido de cálcio e magnésio (na proporção molar de 3:1), em quantidades previamente definidas em ensaio de incubação. O aumento do pH reduz a adsorção de As, principalmente em solos com altos teores de óxidos. Para simular a contaminação com As, foram acrescentadas em sacos plásticos, contendo 1 dm³ de solo, soluções preparadas com Na₂HAsO₄.7H₂O, de modo a elevar a dose de As no solo para 35 e 150 mg dm⁻³. Amostras dos solos não contaminados foram consideradas testemunhas. As doses foram escolhidas levando-se em consideração os valores orientadores de intervenção da CETESB (2001) para exposição agrícola e industrial, respectivamente. Após a adição das soluções, as amostras dos solos permaneceram incubadas durante 30 dias, com umidade mantida em 60% da capacidade de campo.

4.2 Condução do experimento em casa de vegetação

Após o período de incubação, foram realizadas adubações com doses de nutrientes aplicados, em mg dm⁻³, da seguinte forma: 300 de nitrogênio, 200 de fósforo, 300 de potássio, 75 de cálcio, 30 de magnésio, 50 de enxofre, 0,5 de boro, 1,5 de cobre, 5 de ferro, 10 de manganês e 0,1 de molibdênio. Com exceção do nitrogênio e do potássio, que foram parcelados em três aplicações, os outros nutrientes foram aplicados em única vez, utilizando as seguintes fontes: fosfato de amônio monobásico, nitrato de potássio, nitrato de cálcio tetra hidratado, sulfato de magnésio, sulfato ferroso amoniacal, sulfato de amônio, nitrato de amônio, ácido bórico, cloreto de manganês, molibdato de sódio, sulfato de zinco e sulfato de cobre. Os solos foram transferidos para vasos com capacidade de 1 dm³ nos quais foram semeados girassol (*Helianthus annuus*) e mamona (*Ricinus communis* cv. guarany), deixando-se, após o

desbaste, uma planta por vaso, a qual foi cultivada por 35 dias. Durante o ensaio, as amostras foram mantidas com 60% da capacidade de retenção de água, mediante pesagem e irrigação diárias com água deionizada para complementação do volume perdida por evapotranspiração.

4.3 Coleta das plantas e análise de arsênio

Após 35 dias de cultivo, as raízes e a parte aérea das plantas foram coletadas. As raízes foram lavadas abundantemente, em água de torneira, em solução 0,1 mol L⁻¹ de HCl e depois, em água destilada. Em seguida, juntamente com a parte aérea, foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 70°C até atingir o peso constante. Foram obtidas as massas da matéria seca da parte aérea e da raiz, as quais, em seguida, foram trituradas em moinho tipo Wiley. Para comparar a tolerância das espécies, foi calculada a redução relativa da biomassa das espécies, pela seguinte fórmula:

$$\text{Redução} = \frac{(\text{Testemunha} - \text{Tratamento})}{\text{Testemunha}} \times 100$$

Para a determinação de As, efetuou-se a digestão pelo protocolo do método USEPA 3051A (1995), que utilizando 0,5 g de material em 10 mL de HNO₃ concentrado em forno de microondas com tubos de Teflon® PTFE à pressão de 0,76 MPa por dez minutos. A temperatura alcançada à pressão de 0,76 MPa é de aproximadamente 175°C. Após a digestão, o extrato foi filtrado e seu volume completado até 20 mL com água destilada. Cada bateria de análise continha duas amostra de materiais de referência do NIST de pêssego (SRM 1547) e tomate (SRM 1573) com teor de As conhecido e uma amostra em branco para fins de controle de qualidade, cujo valor de recuperação foi de 111% e 106%, respectivamente Obtendo-se extratos para quantificação dos teores do

metalóide por espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite, em equipamento Perkin Elmer AAnalyst 800.

De posse da matéria seca e da concentração de As na parte aérea e na raiz, foi estimado ainda, o fator translocação (FT) e a remoção desse elemento da seguinte maneira:

$$FT = \frac{\text{concentração do elemento na parte aérea}}{\text{concentração do elemento na raiz}}$$

Remoção = PA x MS, onde:

PA = Concentração na parte aérea (mg kg⁻¹)

MS = Produção de matéria seca (g vaso⁻¹)

4.4 Avaliação do arsênio no solo

As amostras dos solos foram secas, homogeneizadas e passadas em peneira de 2 mm de abertura de malha. Para extração simples do As dos solos incubados, foram utilizados os seguintes métodos:

Elemento Solúvel – Dois gramas de TFSA e 20 mL de água tridestilada foram agitados por duas horas, em um tubo de centrífuga, com capacidade para 50 mL. Em seguida, a amostra foi centrifugada, o sobrenadante filtrado e armazenado em pote plástico estéril (Tu & Ma, 2003);

Sulfato de amônio – Um grama de TFSA e 25 mL de (NH₄)₂SO₄ 0,05 mol L⁻¹ foram agitados por duas horas, em tubo de centrífuga. Em seguida, a amostra foi centrifugada, o sobrenadante filtrado e armazenado em pote plástico estéril (Wenzel et al., 2002);

Fosfato de amônio – Um grama de TFSA e 25 mL de (NH₄)₂HPO₄ 0,05 mol L⁻¹ foram adicionados a um tubo de centrífuga e agitados por seis horas. Em

seguida, a amostra foi centrifugada, o sobrenadante filtrado e armazenado em pote plástico estéril (Wenzel et al., 2002);

Oxalato de amônio + ácido oxálico – Um grama de TFSA e 20 mL de $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ + de $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, com pH 3,25 ajustado com solução de hidróxido de amônio, foram adicionados ao tubo de centrífuga e agitados por quatro horas no escuro. Em seguida, a amostra foi centrifugada, o sobrenadante filtrado e armazenado em pote plástico estéril (Wenzel et al., 2002);

Ácidos orgânicos – Um grama de TFSA e 25 mL de um coquetel contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de cada ácido cítrico, oxálico e acético foram adicionados ao tubo de centrífuga e agitados por 24 horas. Em seguida, a amostra foi centrifugada, o sobrenadante filtrado e armazenado em pote plástico estéril. A composição da solução extratora baseou-se em teores de ácidos orgânicos encontrados na rizosfera de diferentes espécies vegetais cultivadas na presença de lodo de esgoto (Pires, 2004);

Mehlich-1 – Dois gramas de TFSA e 20 mL de H_2SO_4 $0,0125 \text{ mol L}^{-1}$ + HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ foram adicionados ao tubo de centrífuga e agitados por 10 minutos e deixados em repouso por 24 horas. Em seguida, a amostra foi centrifugada, o sobrenadante filtrado e armazenado em pote plástico estéril;

Método 3051 da USEPA – Um grama de TFSA e 10 mL de HNO_3 concentrado foram adicionados a tubo de teflon PTFE em forno de microondas e realizada a digestão à pressão de $0,76 \text{ MPa}$ por 10 minutos. Em seguida, a amostra foi filtrada e 10 mL de água destilada adicionada ao tubo, e armazenado em pote plástico estéril.

De posse dos extratos, os teores de As foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite, em equipamento Perkin Elmer AAnalyst 800.

4.5 Delineamento experimental e análises estatísticas

O ensaio foi montado em delineamento blocos casualizados, esquema fatorial 2 x 3, utilizando-se duas espécies vegetais e três doses de arsênio, com 4 repetições, cultivadas em dois solos distintos, totalizando 24 parcelas para cada solo. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, teste de média (Scott Knott a 5%) e correlações de Pearson entre a concentração de As na parte aérea das espécies e as quantidades extraídas desse elemento pelos extratores, utilizando-se o software SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas) da Universidade Federal de Viçosa.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Produção de matéria seca

A adição de 150 mg dm⁻³ de As ao Neossolo Quartzarênico (RQ) reduziu significativamente a produção da matéria seca da parte aérea e da raiz das duas espécies (Tabela 2), comparativamente àquela obtida no solo sem contaminação. Nesta dose, o metalóide provocou redução relativa de 71,1 e 46,3% no desenvolvimento radicular, e de 78,6 e 45,4% na parte aérea das plantas de girassol e mamona, respectivamente, indicando maior sensibilidade do girassol ao excesso de As neste solo.

TABELA 2 Matéria seca da raiz e parte aérea (PA) do girassol e da mamona cultivados em solos enriquecidos com As

Arsênio	Girassol		Mamona	
	PA	Raiz	PA	Raiz
mg dm ⁻³	----- g vaso ⁻¹ -----			
	Neossolo			
0	6,58 Aa	1,49 Ab	5,93 Bb	2,12 Ba
35	4,74 Bb	1,32 Ab	6,62 Aa	2,45 Aa
150	1,41 Cb	0,43 Bb	3,24 Ca	1,14 Ca
	Latossolo			
0	5,17 Ba	1,61 Ba	4,04 Bb	1,72 Ba
35	5,78 Aa	1,44 Bb	4,44 Ab	2,31 Aa
150	5,45 Ba	2,20 Aa	4,72 Ab	1,96 Aa

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas na mesma coluna comparando doses dentro de cada solo e minúsculas na linha comparando partes da planta entre as espécies, não diferem estatisticamente (Teste Scott-Knott, P<0,05).

Estudo conduzido por Tu e Ma (2002), avaliando a produção de matéria seca da *Pteris vittata* em solo arenoso contaminado com arsênio, revelou que, na

dose de 500 mg kg^{-1} , ocorreu uma redução na biomassa da parte aérea em 64%, devido ao aumento da disponibilidade do elemento.

No Latossolo Vermelho distrófico (LVd), o efeito do As não interferiu na redução de matéria seca de parte aérea e de raiz, em ambas as espécies, devido à maior capacidade de adsorção do metalóide neste solo. Segundo McBride (1994), a adsorção química do arsenato se dá principalmente em óxidos de Fe e Al, aluminossilicatos amorfos e, em pequena quantidade, em argilossilicatos e substâncias orgânicas, razão pela qual, em geral, a mobilidade e a biodisponibilidade do As são maiores em solos arenosos do que em solos argilosos.

Outro fator também pode ter favorecido a não redução, ou mesmo o aumento da produção da matéria seca das espécies em alguns tratamentos com arsênio. Segundo Carbonell et al. (1998) e Burló et al. (1999), em baixos níveis, o arsênio aumenta a absorção de fósforo pela planta. Isso pode ocorrer devido às alterações fisiológicas induzidas pelo metalóide em plantas deficientes em P, porque o arsênio pode ser substituído pelo fósforo na planta. Além disso, o arsenato pode ter deslocado parte do fósforo adsorvido no solo argiloso, aumentando a disponibilidade deste nutriente na solução do solo e, assim, causando um pequeno aumento na produção.

Apesar da redução da produção de matéria seca no Neossolo, sintomas de toxidez comumente associados a As, tais como folhas com coloração marrom escuro, necrose nas pontas e margens das folhas, seguido da morte das plantas (Tu & Ma, 2002), não foram observados durante o crescimento das plantas (Figuras 1 e 2).

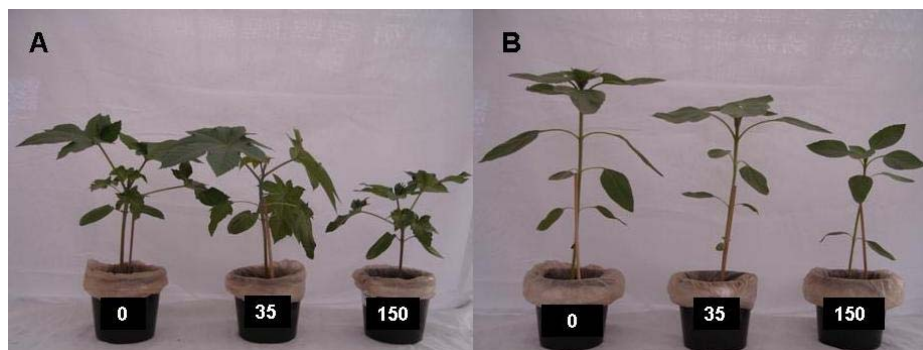


FIGURA 1 Plantas de Mamona (A) e Girassol (B) em Neossolo Quartzarênico enriquecido com As. Foto obtida no 35º dia de cultivo (os valores em cada vaso representam a dose de As adicionada, em mg dm^{-3}).

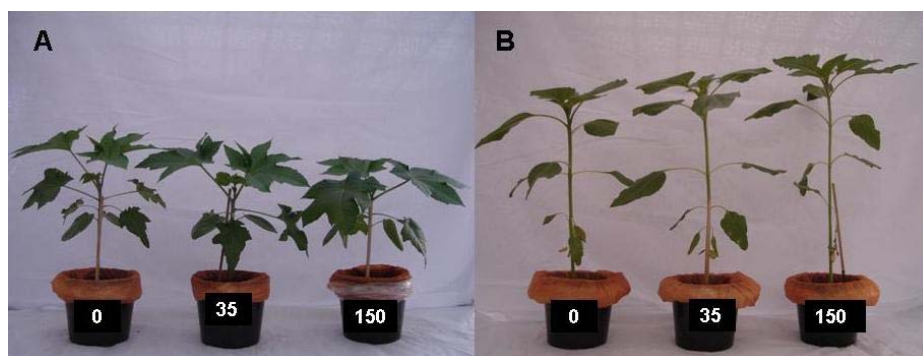


FIGURA 2 Plantas de Mamona (A) e Girassol (B) em Latossolo Vermelho distrófico enriquecido com As. Foto obtida no 35º dia de cultivo (os valores em cada vaso representam a dose de As adicionada, em mg dm^{-3}).

A baixa translocação do As da raiz para a parte aérea, bem como alterações no metabolismo interno da planta que incluem produção de quelatos, compartimentalização, biotransformação e reparo celular (Gonzaga et al., 2006),

pode estar relacionada a mecanismos de tolerância ao metalóide e, ou, de redução da fitotoxicidez.

Há evidências que a redução do arsenato para arsenito dentro da planta, através de enzimas de arsenato redutase, seja uma estratégia das hiperacumuladoras para acumular altas concentrações de As sem desenvolver sintomas de toxidez (Zhang et al., 2002; Tu et al., 2003, Liu et al., 2008). Apesar da alta toxidez do arsenito, uma vez reduzido, ocorre um seqüestro vacuolar do As^{3+} através de complexos arsenito-tiol (-SH) (Pickering et al., 2000) e, ou, de fitoquelatina-As (Mecharg, 2002).

5.2 Concentração de As na planta e remoção do metalóide do solo

Para ambos os solos, a adição de arsênio aumentou significativamente o teor do elemento na parte aérea das espécies (Tabela 3), com exceção da mamona no Neossolo. No entanto, apenas a adição de 150 mg dm^{-3} de As foi acompanhado pelo aumento significativamente do teor do metalóide na raiz das espécies. Os teores de As nas plantas se relacionam negativamente com os teores de argila, Fe_2O_3 e Al_2O_3 presentes nos solos utilizados (Tabela 1), ou seja, quanto maior esses teores, menor a concentração de As na planta.

No Latossolo, com o aumento das doses de 35 para 150 mg dm^{-3} , foi observado um incremento da concentração de As na parte aérea em ambas as espécies, sendo 85,31% no girassol e 79,69% na mamona (Tabela 3). No Neossolo, o incremento da concentração de As na parte aérea do girassol correspondeu a 32,31%, diferentemente do observado para a mamona, na qual onde ocorreu redução de 26,03% na concentração do metalóide. Liu et al. (2008), trabalhando com espécie não hiperacumuladora de As, também verificaram redução de 38% da concentração de As na parte aérea da *Pteris semipinnata* com o aumento das doses de 100 para 200 mg kg^{-1} .

TABELA 3 Concentração de arsênio (mg kg^{-1}) na parte aérea (PA) e raiz do girassol e da mamona cultivados em solos enriquecido com As

Arsênio	Girassol		Mamona	
	PA	Raiz	PA	Raiz
mg dm^{-3}	----- mg kg^{-1} -----			
Neossolo				
0	<LD Ca	1,15 Ca	<LD Ca	0,69 Ba
35	2,66 Ba	8,69 Ba	2,42 Aa	4,26 Bb
150	3,93 Aa	44,68 Aa	1,79 Bb	39,55 Ab
Latossolo				
0	<LD Ca	2,30 Ba	<LD Ca	2,39 Ba
35	0,21 Ba	2,88 Ba	0,26 Ba	3,29 Ba
150	1,43 Aa	21,33 Aa	1,28 Ab	19,70 Ab

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas na mesma coluna comparando doses dentro de cada solo e minúsculas na linha comparando partes da planta entre as espécies, não diferem estatisticamente (Teste Scott-Knott, $P < 0,05$). Limite de detecção (LD) = $0,07 \text{ mg kg}^{-1}$.

O fator translocação (FT) mede a eficiência da planta em transportar um elemento da raiz para a parte aérea (tabela 4). No Neossolo, o FT diminuiu com o aumento da dose de As para as duas espécies. Considerando a menor dose do metalóide (35 mg dm^{-3}), o FT do girassol e da mamona foram 0,31 e 0,57, respectivamente, sendo inferiores ao valor de referência. Quando o fator de translocação é superior a 1, confirma a característica de hiperacumulação da planta (Jankong et al., 2007). No Latossolo, o aumento da dose de As não interferiu na translocação do metalóide para a parte aérea em ambas as espécies. Esse fato provavelmente explica a não ocorrência de sintomas de toxidez nas plantas.

Segundo Wang et al. (2002), a transferência de As do solo para a planta é baixa para a maioria das espécies. Isto pode ser devido a diversos fatores:

baixa disponibilidade no solo, restrição da absorção pelas raízes, limite de translocação da raiz para parte aérea e fitotoxidez. Tal afirmação corrobora os resultados obtidos, uma vez que a translocação de As da raiz para a parte aérea das espécies foi bastante restrita.

TABELA 4 Fator translocação do girassol e da mamona cultivados em solos enriquecidos com As

Arsênio mg dm ⁻³	Fator de translocação	
	Girassol	Mamona
Neossolo		
0	<LD Ca	<LD Ca
35	0,31Ab	0,57 Aa
150	0,09 Ba	0,05 Ba
Latossolo		
0	<LD Cb	<LD Cb
35	0,07 Aa	0,08 Aa
150	0,07 Aa	0,06 Aa

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas na mesma coluna comparando doses dentro de cada solo e minúsculas na linha comparando partes da planta entre as espécies, não diferem estatisticamente (Teste Scott-Knott, P<0,05)

O sucesso da remoção de metais e metalóides deve ser visto como uma combinação de dois fatores: concentrações dos contaminantes suficientemente altas na parte aérea e alta produção de biomassa (Nascimento et al., 2006). Portanto, a eficiência de cada espécie em retirar As do solo pode ser avaliada pela remoção líquida do metalóide (Figura 3).

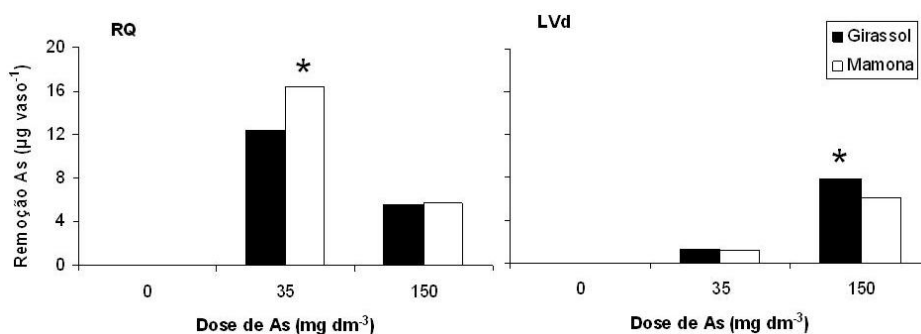


FIGURA 3 Remoção de As pela parte aérea do girassol e mamona ($\mu\text{g vaso}^{-1}$) em Neossolo Quartzarênico (RQ) e Latossolo Vermelho distrófico (LVd). (Teste Scott-Knott, $P < 0,05$).

No Neossolo, o girassol apresentou uma melhor eficiência em concentrar As na parte aérea (Tabela 3), apesar de na dose 35 mg dm^{-3} , os resultados mostraram que a maior produção de biomassa pela mamona compensou a baixa concentração do elemento na parte aérea desta espécie, resultando em maior remoção do metalóide do solo comparativamente ao girassol (Figura 3). Na dose de 150 mg dm^{-3} , não houve diferença significativa na remoção de As pelas espécies devido, provavelmente, à toxidez de As e a conseqüente forte redução na produção de matéria seca.

Na remoção de As pelas plantas no Latossolo contendo 35 mg dm^{-3} , não foi verificada diferença significativa entre as espécies. Esta dose, aparentemente, não foi alta o suficiente neste solo para superar a capacidade de adsorção de As. No entanto, na dose de 150 mg dm^{-3} , o girassol foi significativamente mais eficiente na remoção deste metalóide do solo quando comparado à mamona.

De acordo com Fitz e Wenzel (2002), plantas tolerantes tendem a restringir a transferência de As do solo para a planta e da raiz para a parte aérea,

enquanto que as hiperacumuladoras absorvem e translocam ativamente o contaminante.

Com base nos resultados apresentados, pode-se verificar que a mamona apresentou menor sensibilidade ao As que o girassol, mas nenhuma das espécies estudadas apresentou características de hiperacumulação, devido à remoção de As e às concentrações do contaminante na parte aérea terem sido menores que as reconhecidas para hiperacumuladoras (Srivastava et al., 2006; Gonzaga et al., 2006). Isto indica que as espécies podem ser utilizadas na revegetação de áreas contaminadas com As, com solos e teores semelhantes aos estudados.

Ressalta-se que o aproveitamento dos produtos do girassol cultivado nestas condições deverá ser precedido de estudos mais detalhados, tendo em vista sua possível utilização na produção de óleo, ração animal, além de ser amplamente utilizado na alimentação humana. Assim, é conveniente avaliar o risco de ingresso do As na cadeia alimentar, além de conhecer a possibilidade de contaminação secundária durante o transporte, a estocagem e a disposição final.

Para a mamona, por outro lado, o seu principal produto derivado é o óleo de mamona ou de rícino, extraído pela prensagem das sementes, que contém 90% de ácido graxo ricinoléico, o qual confere ao óleo características singulares, possibilitando ampla utilização industrial, como fabricação de tinta, verniz, plástico, e como base para produção do biodiesel. Desta forma, é relativamente baixo o risco de exposição a arsênio via ingestão de produtos da mamoneira.

5.3 Extratores de As dos solos

Considerando a possibilidade de encontrar extratores que determinem o teor de As biodisponível, os dois solos foram estudados com diferentes extratores (Figura 4).

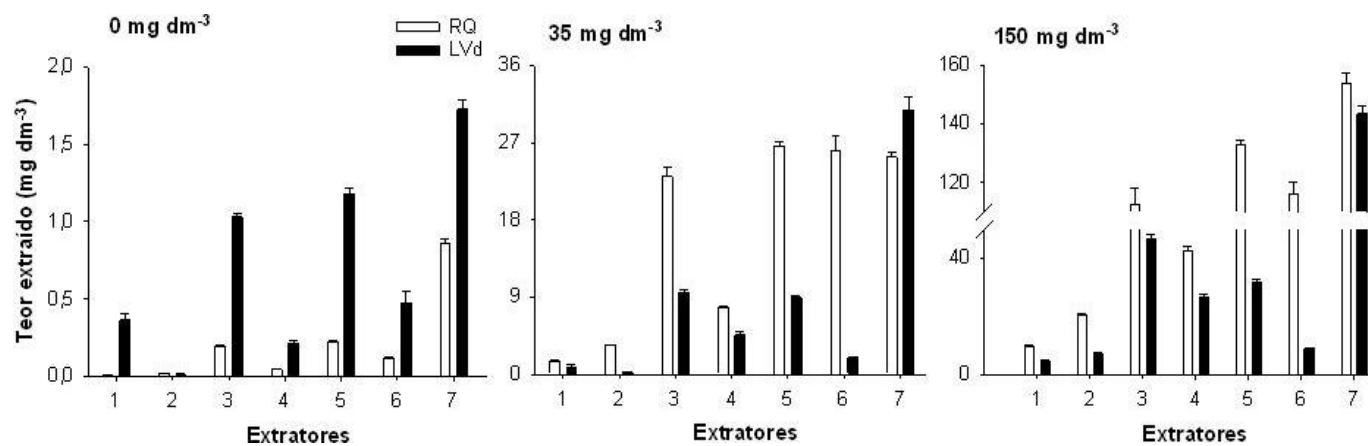


FIGURA 4 Teores médios de As nos solos Neossolo quartzarênico (RQ) e Latossolo Vermelho distrófico (LVd) extraídos por diferentes extratores. (1) Água tridestilada; (2) (NH₄)₂SO₄; (3) (NH₄)₂C₂O₄ + H₂C₂O₄.H₂O; (4) (NH₄)₂HPO₄; (5) ácidos orgânicos; (6) Mehlich-1; (7) USEPA 3051.

O Neossolo e o Latossolo apresentaram teores naturais de As total (0,86 e 1,73 mg kg⁻¹, respectivamente) dentro dos valores mínimos apresentado por Wenzel et al. (2002), considerando como concentração normal de As em solo variando de 1 a 20 mg kg⁻¹. Vale salientar que o método USEPA 3051A não extrai o As ocluído em silicatos. Segundo Campos et al. (2003), o método dissolve preferencialmente as frações finas e não possui a habilidade de dissolver silicatos.

As concentrações de arsênio recuperadas pelos diferentes extratores variaram conforme os solos e as doses de As aplicadas (Figura 4). O teor de As extraído do Neossolo e do Latossolo com água tridestilada variou de <LD a 9,89 mg dm⁻³ no Neossolo e entre 0,36 a 4,57 mg dm⁻³ no Latossolo. Este resultado é um forte indicativo de que a estipulação de uma concentração máxima de As em solos não deve ser universal, pois os solos com diferentes teores de argila, Fe₂O₃ e Al₂O₃ liberaram quantidades diferentes de As.

Em média, os teores de As liberado no Neossolo, independentemente das doses do metalóide, apresentaram a seguinte ordem de extração: ácidos orgânicos > Mehlich-1 = (NH₄)₂C₂O₄ + H₂C₂O₄.H₂O > (NH₄)₂HPO₄ > (NH₄)₂SO₄ > água tridestilada. No entanto, no Latossolo não ocorreu a mesma ordem de extração: (NH₄)₂C₂O₄ + H₂C₂O₄.H₂O = ácidos orgânicos > (NH₄)₂HPO₄ = Mehlich-1 > (NH₄)₂SO₄ = água tridestilada. Os maiores teores de As extraídos do Neossolo comparativamente ao Latossolo são decorrentes, provavelmente, das diferenças em capacidade tampão entre os solos.

Para avaliar a disponibilidade de metais pesados e metalóides, têm sido utilizados diferentes métodos de extrações simples. No entanto, como a quantidade do elemento varia com o extrator, essas extrações têm apresentado graus variados de sucesso, para diagnose de deficiência ou toxidez dos elementos para as plantas (Nascimento et al., 2002; Araújo & Nascimento, 2005).

Estudos de correlação linear de Pearson entre os teores de As obtidos por extratores químicos dos solos e a produção de matéria seca, o teor e o acúmulo na parte aérea do girassol e da mamona foram realizados para a identificação do extrator que melhor simule o teor biodisponível (Tabela 5).

Os coeficientes de correlação entre os teores de As extraídos dos solos e a matéria seca da parte aérea das espécies foram negativamente significativos, permitindo dizer que o aumento da extração de As foi inversamente proporcional a produção de biomassa do girassol e da mamona.

Já as correlações entre a concentração de As nas plantas e o extraído pelos extratores foram altamente significativas, indicando semelhança dos métodos químicos em quantificar o As disponível para as plantas em solos enriquecidos com esse elemento.

TABELA 5 Coeficientes de correlação de Pearson (n=48) entre os teores de As (mg dm^{-3}) obtidos por extratores químicos e às variáveis matéria seca (g vaso^{-1}), teor (mg kg^{-1}) e acúmulo ($\mu\text{g vaso}^{-1}$) na parte aérea do girassol e da mamona cultivados em solos com doses de As

	Girassol			Mamona		
	MS	Teor	Acúmulo	MS	Teor	Acúmulo
Solúvel	-0,88***	0,79***	0,30*	-0,57***	0,53**	0,21 ^{NS}
(NH₄)₂SO₄	-0,90***	0,84***	0,33*	-0,52***	0,55**	0,24 ^{NS}
(NH₄)₂C₂O₄	-0,87***	0,85***	0,37**	-0,53***	0,57**	0,26 ^{NS}
(NH₄)₂HPO₄	-0,80***	0,78***	0,38**	-0,54***	0,57**	0,24 ^{NS}
ÁC. ORG.	-0,94***	0,85***	0,31*	-0,53***	0,56**	0,24 ^{NS}
MEHLICH	-0,95***	0,85***	0,29*	-0,48***	0,56**	0,27 ^{NS}
EPA 3051	-0,64***	0,66***	0,38*	-0,49***	0,48**	0,20 ^{NS}

*P < 0,10; **P < 0,05; ***P < 0,001; ^{NS} – não significativo

Baixas correlações significativas foram observadas entre o acúmulo de As no girassol e os teores do metalóide extraído. No entanto, o acúmulo de As na mamona não se correlacionou significativamente com o teor de As extraído pelos diferentes extratores, indicando que os resultados obtidos com uma espécie nem sempre podem ser extrapolados para outras de maneira indiscriminada.

Segundo Cantarutti et al. (2007), na avaliação de um elemento disponível no solo, o teor na planta não é uma variável recomendada para estabelecer correlação com o teor no solo, por ser uma medida sujeita a superestimação (efeito concentração) ou subestimação (efeito de diluição) na planta. Rosolem et al. (1992) comentam que um bom extrator, confiável para análises de rotina, deveria apresentar coeficientes de correlação altos em todas as situações estudadas (desde matéria seca até acúmulo). Assim, esse fato pode ser uma das razões da dificuldade em selecionar um extrator disponível adequado para solos estudados.

6 CONCLUSÃO

A adição de As nos solos não provocou sintomas severos de toxidez nas plantas. No entanto, no valor de intervenção industrial (150 mg dm^{-3}), foi observado redução na produção da matéria seca da parte aérea e da raiz nas duas espécies no Neossolo Quartzarênico (RQ).

A mamona apresentou menor sensibilidade ao As que o girassol, mas nenhuma espécie estudada apresentou características de hiperacumulação. No entanto, essas espécies podem ser utilizadas para revegetação de áreas contaminadas com teores de As equivalentes ao valor de intervenção para exposição agrícola (35 mg dm^{-3}) e industrial (150 mg dm^{-3}) conforme sugerido pela CETESB.

Devido a variação dos valores dos coeficientes de correlação entre os extratores testados e às variáveis matéria seca, teor e acúmulo na parte aérea do girassol e da mamona, não foi possível selecionar um extrator adequado para prever a real disponibilidade de As nos solos estudados.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE CONTROL.
CERCLA priority list of hazardous substances. 2007. Disponível em:
<<http://www.atsdr.cdc.gov/cercla/07list.html>>. Acesso em: 16 fev 2009.
- ARAÚJO, J.C.T.; NASCIMENTO, C.W.A. Fracionamento e disponibilidade de zinco por diferentes extratores em solos incubados com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, p.977-985, 2005.
- BAIRD, C. **Química ambiental**. 2.ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 621p.
- BARRA, C.M.; SANTELLI, R.E.; ABRÃO, J.J.; GUARDIA, M.L. Especificação de arsênio: uma revisão. **Química Nova**, São Paulo, v.23, p.58-70, 2000.
- BURLÓ, F.; GUIJARRO, I.; CARBONELL-BARRACHINA, A.A.; VLAERO, D.; MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, F. Arsenic species: effects on and accumulation by tomato plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.1247-1253. 1999.
- CAMPOS, M.L.; PIERANGELI, M.A.; GUILHERME, L.R.G.; MARQUES, J.J.G.S.E.M.; CURTI, N. Baseline concentration of heavy metals in Brazilian Latosols. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.34, p.547-557, 2003.
- CANTARUTTI, R.B.; BARROS, N.F.; MARTINEZ, H.E.P.; NOVAIS, R.F. Avaliação da fertilidade do solo e recomendação de fertilizantes. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 769-850.
- CARBONELL, A.A.; AARABI, M.A.; DELAUNE, R.D.; GAMBRELL, R.P.; PATRICK JUNIOR, W.H. Arsenic in wetland vegetation: availability, phytotoxicity, uptake and effects on plant growth and nutrition. **The Science of the Total Environment**, v.217, p.189-199, 1998.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL.
Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo. São Paulo, 2001. 245p.

DAY, P.R. Particle fractionation and particle-size analysis. In: BLACK, C.A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy, 1965. Part.1, p.545-566.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura e Abastecimento, 1999. 370 p.

FITZ, W.J.; WENZEL, W.W. Arsenic transformations in soil-rhizosphere-plant system: fundamentals and potential application to phytoremediation. **Journal of Biotechnology**, v.99, p.259-278, 2002.

GONZAGA, M.I.S.; SANTOS, J.A.G.; MA, L.Q. Phytoextraction by arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. from six arsenic-contaminated soils: Repeated harvests and arsenic redistribution. **Environmental Pollution**, v.154, p.212-218, 2008.

HABUDA-STANIC, M.; KALAJDZIC, B.; KULES, M.; VELIC, N. Arsenite and arsenate sorption by hydrous ferric oxide/polymeric material. **Desalination**, v.229, p.1-9, 2008.

JANKONG, P.; VISOOTTIVISETH, P.; KHOKIATTIWONG, S. Enhanced phytoremediation of arsenic contaminated land. **Chemosphere**, v.68, p.1906-1912, 2007.

LEE, J.S.; LEE, S.W.; CHON, H.T.; KIM, K.W. Evaluation of human exposure to arsenic due to rice ingestion in the vicinity of abandoned Myungbong Au-Ag mine site, Korea. **Journal of Geochemical Exploration**, v.96, p.231-235, 2008.

LIU, Y.; WANG, H.B.; WONG, M.H.; YE, Z.H. The role of arsenate reductase and superoxide dismutase in As accumulation in four *Pteris* species. **Environment International**, 2008. Doi: 101016/j.envint.2008.07.012. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/envint>. Acesso em: 10 jan. 2009.

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

MECHARG, A.A. Arsenic and old plants. **New Phytologist**, Cambridge, v.156, p.1-8, 2002.

NASCIMENTO, C.W.A.; FONTES, R.L.F.; NEVES, J.C.L.; MELÍCIO, A.C.F.C. Fracionamento, dessorção e extração química de zinco em Latossolos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.26, p.599-606, 2002.

NASCIMENTO, C.W.A.; XING, B. Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.63, p.299-311, 2006.

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

PIRES, A.M.M.; MATTIAZZO, M.E.; BERTON, R.S. Ácidos orgânicos como extratores de metais pesados fitodisponíveis em solos tratados com lodo de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, p.671-676, 2004.

RAIJ, B.van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FERREIRA, H.E.; LOPES, A.S.; BATAGLIA, O.C. **Análise química do solo para fins de fertilidade**. Campinas, Fundação Cargill, 1987. 170p.

ROSOLEM, C.A.; BESSA, M.A.; AMARAL, P.G. do; PEREIRA, H.F.M. Manganês no solo, sua avaliação e toxidez de manganês em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2 , p. 277-285, 1992.

SILVA, S.R.; PROCÓPIO, S.O.; QUEIROZ, T.F.N.; DIAS, L.E. Caracterização de rejeito de mineração de ouro para avaliação de solubilização de metais pesados e arsênio e revegetação local. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.28, p.189-197, 2004.

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

SRIVASTAVA, M.; MA, L.Q.; SANTOS, J.A.G. Three new arsenic hyperaccumulating ferns. **Science of the Total Environment**, v.364, p.24-31, 2006.

TU, C.; MA, L.Q. Effects of arsenic concentrations and forms on arsenic uptake by the hyperaccumulator ladder brake. **Journal Environmental Quality**, v.31, p.641-647, 2002.

TU, C.; MA, L.Q. Interactive effects of pH, arsenic and phosphorus on uptake of As and P and growth of the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. under hydroponic conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v.50, p.243-251, 2003.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Test methods for evaluating soil waste, physical/chemical methods SW-846**. 3.ed. Washington, DC, 1995. Disponível em: <<http://www.epa.gov/SW-846/3051a.pdf>> Acesso em: 1 ago. 2008

WANG, J.; ZHAO, F.J.; MEHARG, A.A.; RAAB, A.; FELDMANN, J.; McGRATH S.P. Mechanisms of arsenic hyperaccumulation in *Pteris vittata*. Uptake kinetics, interactions with phosphate and arsenic speciation. **Plant Physiology**, v.130, p.1552-1561, 2002.

WANG, S.; MULLIGAN, C.N. Natural attenuation processes for remediation of arsenic contaminated soils and groundwater. **Journal of Hazardous Materials**, v.138, p.459-470, 2006.

WENZEL, W.W.; BRANDSTETTER, A.; WUTTE, H.; LOMBI, E.; PROHASKA, T.; STINGEDER, G.; ADRIANO, D.C. Arsenic in field-collected soil solution and extracts of contaminated soils and its implication to soil standards. **Journal Plant Nutrition Soil Science**, v.165, p.221-228, 2002.

WENZEL, W.W.; KIRCHBAUMER, N.; PROHASKA, T.; STINGEDER, G.; LOMBI, E.; ADRIANO, D.C. Arsenic fractionation in soils using an improved sequential extraction procedure. **Analytica Chimica Acta**, v.436, p.309-323, 2001.

CAPÍTULO 3

EFEITO DO FÓSFORO NA DISPONIBILIDADE E ACÚMULO DE
ARSÊNIO EM GIRASSOL CULTIVADO EM SOLOS ENRIQUECIDOS

1 RESUMO

Diversas atividades antropogênicas têm contribuído para o aumento dos teores de elementos tóxicos no solo, ocasionando alterações consideráveis nas características e funcionalidade dos ecossistemas. Por esta razão, é crescente a necessidade de recuperar ambientes degradados por contaminantes. Dentre as alternativas que podem ser empregadas para remediação de solos contaminados, destaca-se a fitoextração, caracterizada pela concentração dos contaminantes na parte aérea e remoção desta da área contaminada. A absorção de As por algumas espécies vegetais depende de alguns fatores ambientais como tipo de solo, suprimento nutricional e pH. Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do fósforo na disponibilidade de arsênio em dois solos enriquecidos, além de comparar a produção de biomassa e acúmulo de As em girassol (*Helianthus annuus*). O Neossolo Quartzarênico (RQ) e o Latossolo Vermelho distrófico (LVd) foram contaminados com $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ nas doses de 35 e 150 mg de As dm^{-3} . Após 35 dias, as raízes e a parte aérea das plantas foram coletadas e obtidas as massas da matéria seca e a concentração de As nos tecidos, além da remoção líquida desse elemento. O aumento da dose de P promoveu menor adsorção de As e, por consequência, maior solubilidade do metalóide em ambos os solos. A adição de As nos solos não provocou sintomas visuais de toxidez no girassol, apesar da redução da produção da parte aérea no Neossolo. A adição da razão molar P/As de 3,23 e 13,76 no Latossolo e Neossolo, respectivamente, favoreceu a remoção de As pelo girassol nos solos contaminados, indicando que a aplicação de P pode ser utilizada para maximizar a eficiência da espécie na remediação de solos enriquecidos com As.

2 ABSTRACT

Various anthropogenic activities have contributed to increasing levels of toxic elements in soil environments, causing considerable changes in ecosystem's features and functionality. This has led to an increasing need for restoration of such degraded environments. Phytoextraction is among the alternatives that can be used for remediation of contaminated areas, and is characterized by the concentration of a contaminant in plant shoots, followed by its removal from the contaminated area. The plant uptake of As depends on some environmental factors as soil type, pH, and nutrient supply. This study aimed to evaluate the effect of phosphorus on the availability of arsenic in two contaminated soils, and to compare the biomass production and accumulation of As in sunflower (*Helianthus annuus*). The soils were contaminated with $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ adding 35 and 150 mg As dm^{-3} soil. After 35 days, plant roots and shoots were collected for measuring dry matter production as well as arsenic concentration. Arsenic content was also measured in the shoots in order to evaluate the plant's potential for As removal. Increasing P doses decreased As adsorption and, consequently, caused a higher solubility of the metalloid in the soil. The addition of As in the soil caused no visual symptoms of toxicity in sunflower, while reducing the shoot dry matter production in the Entisol. The addition of a molar P/As ratio of 3.23 in the Oxisol and 13.76 in the Entisol caused an increase on As removal by sunflower grown in As-contaminated soils, indicating that the application of P should be used to maximize the efficiency of this species for remediation of As-contaminated areas.

3 INTRODUÇÃO

O aumento nos teores de arsênio (As) nos solos tem ocorrido principalmente como consequência das atividades humanas, com destaque para o uso continuado de compostos na agricultura, como pesticidas, herbicidas, fertilizantes e desfolhantes, além de atividades de mineração e queima de combustíveis fósseis (Habuda-Stanic et al., 2008; Lee et al., 2008).

O As é um semimetal (metalóide) encontrado no grupo 15 (5A) da classificação periódica dos elementos, juntamente com o nitrogênio, fósforo, antimônio e bismuto. Todos têm configuração eletrônica da camada de valência s^2p^3 . O As interfere no metabolismo vegetal e inibi o crescimento de plantas, porque o arsenato impede a fosforilação na mitocôndria e o arsenito inativa as muitas enzimas que reagem com as proteínas dos grupos sulfidril. Além disso, relata-se, ainda, que o As pode também influenciar a captação e distribuição de nutrientes para as plantas através da competição direta com os nutrientes e, ou, da alteração dos processos metabólicos (Meharg & Hartley-Whitaker, 2002). O As no solo comporta-se semelhantemente ao fósforo, embora tenha maior tendência para formar ligação iônica, em vez de covalente, em razão do seu maior caráter metálico (Baird, 2002).

O fósforo (P) é um elemento essencial que participa de vários processos metabólicos em plantas, como transferência de energia, síntese de ácidos nucléicos, glicose, respiração, síntese e estabilidade de membrana, ativação e desativação de enzimas, reações redox, metabolismo de carboidratos e fixação de N_2 (Vance et al., 2003).

Vários são os atributos do solo que podem influenciar a adsorção do As e do P, sendo os principais: o tipo e teor de argila, de colóides amorfos e de matéria orgânica (Novais & Smyth, 1999; Wang & Mulligan, 2006). Esses elementos competem pelos mesmos sítios de sorção nas partículas do solo

(Adriano, 2001; Smith et al., 2002). Gao & Mucci (2001) observaram que o aumento do arsenato em solução resulta no aumento da concorrência entre fosfato e arsenato nos sítios de sorção e uma posterior queda no valor do fosfato adsorvido.

Diversos procedimentos têm sido propostos para reduzir a concentração de metais e metalóides no solo. As tecnologias convencionais de descontaminação são algumas vezes muito caras para serem usadas na recuperação de áreas contaminadas. Além disso, são frequentemente prejudiciais para as propriedades do solo. Entre as técnicas de remediação, a fitorremediação pode ser definida como utilização de plantas que removem poluentes do ambiente ou os transformam em formas menos tóxicas (Raskin et al., 1997). Esta técnica tem despertado grande interesse por ser mais segura ambientalmente e potencialmente de menor custo quando comparada com as técnicas de remediação tradicionais (Glick, 2003; Pulford & Watson, 2003). Entre as técnicas de fitorremediação, a fitoextração utiliza plantas para extrair contaminantes do solo pelas raízes e concentrá-los na parte aérea (Nascimento & Xing, 2006).

O sucesso da fitoextração de As pode ser determinado pela combinação da identificação de plantas com alta eficiência em acumular As e do conhecimento dos fatores que regulam o desenvolvimento dessas plantas, visando maximizar a remoção do elemento dos solos contaminados. A absorção de As depende de alguns fatores ambientais como tipo de solo, suprimento nutricional e pH (Tu, S. & Ma, 2003). Além desses, foi relatado que fertilizantes fosfatados, microrganismos da rizosfera, exsudados radiculares e agentes quelantes podem induzir a absorção e acumulação de contaminantes pela planta devido aos seus efeitos no aumento da disponibilidade dos poluentes (Chen & Cutright, 2002; Cao et al., 2003).

Portanto, o conhecimento das interações entre As e P é muito útil para o desenvolvimento de uma eficiente técnica fitoextratora em solos contaminados com As. Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do fósforo na disponibilidade de arsênio para o girassol (*Helianthus annuus*) cultivado em dois solos enriquecidos, além de comparar a produção de biomassa e acúmulo de As nessa espécie vegetal crescendo nestas condições.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização experimental

O estudo foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras no período de fevereiro a junho de 2008. Foram utilizados dois solos (Tabela 1), com diferentes texturas e teores de matéria orgânica: Neossolo Quartzarênico (RQ) e Latossolo Vermelho distrófico (LVd), coletados no município de Itutinga-MG e Lavras-MG, respectivamente. Estes solos provieram de áreas reconhecidamente não sujeitas à contaminação intencional com As (as únicas fontes possíveis são deposição atmosférica e adição de insumos que, porventura, contenham As). Resultados da caracterização física, química e mineralógica desses solos encontram-se na tabela 1.

TABELA 1 Atributos químicos, físicos e mineralógicos dos solos utilizados para o cultivo das espécies.

Solo	pH	P	As	MO	Arg	Are	Silt	Ct	Gb	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃
		---- mg dm ⁻³ ----			----- g kg ⁻¹ -----							
LVd	4,4	1,7	1,7	46	720	180	100	190	484	159	270	125
RQ	4,6	2,8	0,8	14	60	920	20	681	156	30,6	35,8	11

Atributos químicos: pH - pH em água (relação 1:2,5) e P (fósforo) – extrator Mehlich-1 (EMBRAPA, 1999); As (arsênio) – USEPA 3051A (1995); MO (matéria orgânica) – MO = % C x 1,723 (Rajj et al., 1987); Atributos físicos: Arg (argila), Ar (areia) e Sil (silte) - método da pipeta (Day, 1965); Atributos mineralógicos: Ct (caulinita), Gb (gibbsita) – Análise Termo-Diferencial (ATD); SiO₂, Al₂O₃ e Fe₂O₃ – ataque sulfúrico (EMBRAPA, 1999).

Os solos secos ao ar, destorroados e homogeneizados, foram passados em peneira de 4 mm de abertura de malha. A acidez foi corrigida para pH na faixa de 6,5 – 7,0, utilizando-se hidróxido de cálcio e magnésio (na proporção

molar de 3:1), em quantidades previamente definidas em ensaio de incubação. O aumento do pH reduz a adsorção de As, principalmente em solos com altos teores de óxidos. Para simular a contaminação com As, foram acrescentadas em sacos plásticos, contendo 1 dm³ de solo, soluções preparadas com Na₂HAsO₄·7H₂O, de modo a elevar a dose de As no solo para 35 e 150 mg dm⁻³. Amostras dos solos não contaminados foram consideradas testemunhas. As doses foram escolhidas levando-se em consideração os valores orientadores de intervenção da CETESB (2001) para exposição agrícola e industrial, respectivamente. Os solos foram separados em dois blocos: no primeiro foi adicionado 100 mg dm⁻³ de fósforo e no segundo, 200 mg dm⁻³ do elemento, utilizando-se fosfato de amônio monobásico e fosfato de cálcio. Após a adição das soluções com As, as amostras dos solos permaneceram incubadas durante 30 dias, com umidade mantida em 60% da capacidade de campo.

4.2 Condução do experimento em casa de vegetação

Após o período de incubação, foram realizadas adubações com doses de nutrientes aplicados, em mg dm⁻³, da seguinte forma: 300 de nitrogênio, 300 de potássio, 75 de cálcio, 30 de magnésio, 50 de enxofre, 0,5 de boro, 1,5 de cobre, 5 de ferro, 10 de manganês e 0,1 de molibdênio. Com exceção do nitrogênio e do potássio, que foram parcelados em três aplicações, os outros nutrientes foram aplicados em única vez, utilizando as seguintes fontes: nitrato de potássio, nitrato de cálcio tetrahidratado, sulfato de magnésio, sulfato ferroso amoniacal, sulfato de amônio, nitrato de amônio, ácido bórico, cloreto de manganês, molibdato de sódio, sulfato de zinco e sulfato de cobre. Os solos foram transferidos para vasos com capacidade de 1 dm³ nos quais foi semeado girassol (*Helianthus annuus*), deixando-se, após o desbaste, uma planta por vaso, a qual foi cultivada por 35 dias. Durante o ensaio, as amostras foram mantidas com 60% da capacidade de retenção de água, mediante pesagem e irrigação diárias

com água deionizada para complementação do volume perdido por evapotranspiração.

4.3 Coleta das plantas e análise de arsênio

Após 35 dias de cultivo, as raízes e a parte aérea das plantas foram coletadas. As raízes foram lavadas abundantemente, em água de torneira, em solução de 0,1 mol L⁻¹ HCl e depois, passadas em água destilada. Em seguida, juntamente com a parte aérea, foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 70° C até atingir o peso constante. Foram obtidas as massas da matéria seca da parte aérea e da raiz, as quais, em seguida, foram trituradas em moinho tipo Wiley. Para comparar a tolerância das espécies, foi calculada a redução relativa da biomassa da espécie, pela seguinte fórmula:

$$\text{Redução} = \frac{(\text{Testemunha} - \text{Tratamento})}{\text{Testemunha}} \times 100$$

Para a determinação de As, efetuou-se a digestão pelo protocolo do método USEPA 3051A (1995), que utilizando 0,5 g de material em 10 mL de HNO₃ concentrado em forno de microondas com tubos de Teflon® PTFE à pressão de 0,76 MPa por dez minutos. A temperatura alcançada à pressão de 0,76 MPa é de aproximadamente 175°C. Após a digestão, o extrato foi filtrado e seu volume completado até 20 mL com água destilada. Cada bateria de análise continha duas amostra de materiais de referência do NIST de pêssego (SRM 1547) e tomate (SRM 1573) com teor de As conhecido e uma amostra em branco para fins de controle de qualidade, cujo valor de recuperação foi de 111% e 106%, respectivamente. Obtendo-se extratos para quantificação dos teores do metalóide por espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite, em equipamento Perkin Elmer AAnalyst 800.

De posse da matéria seca e da concentração de As na parte aérea e na raiz, foi estimada a remoção desse elemento da seguinte maneira:

$$\text{Remoção} = \text{PA} \times \text{MS}$$

$$\text{PA} = \text{Concentração na parte aérea (mg kg}^{-1}\text{)}$$

$$\text{MS} = \text{Produção de matéria seca (g vaso}^{-1}\text{)}$$

4.4 Extração de arsênio e fósforo solúveis dos solos

As amostras dos solos foram secas, homogeneizadas e passadas em peneira de 2 mm de abertura de malha. Para extração do As e P dos solos incubados, foi utilizado o seguinte método:

Elemento Solúvel – Dois gramas de TFSA e 20 mL de água tridestilada foram agitados por duas horas, em um tubo de centrífuga, com capacidade para 50 mL. Em seguida, a amostra foi centrifugada, o sobrenadante filtrado e armazenado em pote plástico (Tu, C. & Ma, 2003).

De posse dos extratos, os teores de P foram determinados por indução de plasma acoplado a espectrometria de emissão óptica (ICP-OES) e os de As, por espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite, em equipamento Perkin Elmer AAnalyst 800.

4.5 Delineamento experimental e análises estatísticas

O ensaio foi montado em delineamento blocos casualizados, esquema fatorial 3 x 2, utilizando-se três doses de arsênio e duas doses de fósforo, com 4 repetições, em dois solos distintos, totalizando 24 parcelas para cada solo. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de média (Scott Knott a 5%), utilizando o software SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas) da Universidade Federal de Viçosa.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Solubilidade de arsênio e fósforo nos solos

As concentrações de As solúveis (Tabela 2), independentemente dos solos testados, foram maiores nos tratamentos com 200 mg dm⁻³ de P, com exceção dos solos não enriquecidos. Resultados semelhantes foram observados por Tu, C. & Ma (2003), que relataram o aumento significativo da fração solúvel do As somente na maior dose de P (100 mg kg⁻¹), quando comparada às doses de 50 mg kg⁻¹ e 25 mg kg⁻¹. Vale salientar ainda que, os solos utilizados por tais autores são de regiões temperadas, em que predominam argilominerais do tipo 2:1 (vermiculitas, esmectitas, entre outros) e apresentam baixa capacidade de troca de ânions (CTA).

TABELA 2 Concentração de As solúvel em solos contaminados submetidos a doses de fósforo

Arsênio mg dm ⁻³	Fósforo	
	100	200
	----- mg dm ⁻³ -----	
	Neossolo	
0	<LD Ca	<LD Ca
35	1,06 Bb	1,54 Ba
150	7,96 Ab	9,89 Aa
	Latossolo	
0	0,38 Ba	0,36 Ca
35	0,54 Bb	0,87 Ba
150	2,80 Ab	4,57 Aa

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas na mesma coluna comparando doses de As e minúsculas na linha comparando doses de P dentro de cada solo, não diferem estatisticamente (Teste Scott-Knott, P<0,05). Limite de detecção (LD) = 0,07 mg kg⁻¹.

Verifica-se que a aplicação de doses crescentes de As favoreceu o aumento da fração solúvel do metalóide nos solos, exceto no Latossolo, com menor teor de fósforo. Neste caso, a concentração de P não parece ter sido suficiente para suplantar a capacidade adsortiva competitiva do solo para As. Quando a dose de P foi aumentada para 200 mg dm⁻³, parece haver uma adsorção preferencial de P com concomitante dessorção de As.

As concentrações médias de fósforo solúvel foram maiores nos tratamentos com maior dose do elemento, com exceção para os tratamentos com solo sem contaminação no Neossolo e com 150 mg dm⁻³ de As no Latossolo (Tabela 3). A adição crescente da dose de As no Latossolo, independentemente da dose de fósforo, teve forte influência no aumento da concentração de P solúvel (Tabela 3). Resultados semelhantes foram observados por Gao & Mucci (2001), que relataram uma redução da adsorção do fósforo de 57 a 48% e de 57 a 42% após a adição de 0,65 e 1,65 mg dm⁻³ de arsênio, respectivamente.

TABELA 3 Concentração de P solúvel em solos contaminados submetidos a doses de arsênio

Arsênio mg dm ⁻³	Fósforo	
	100	200
	mg dm ⁻³	
	Neossolo	
0	3,02 Ba	3,98 Ba
35	4,18 Bb	7,71 Aa
150	6,87 Ab	9,07 Aa
	Latossolo	
0	3,83 Cb	5,09 Ca
35	6,17 Bb	8,51 Ba
150	14,29 Aa	15,90 Aa

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas na mesma coluna comparando doses de As e minúsculas na linha comparando doses de P dentro de cada solo, não diferem estatisticamente (Teste Scott-Knott, P<0,05).

A avaliação da disponibilidade do fósforo nos solos mostrou que 1,99 a 6,87% e 3,83 a 14,29% do fósforo aplicado, no Neossolo e no Latossolo, respectivamente, foi solúvel em água (Tabela 4). A disponibilidade do arsênio no Neossolo e no Latossolo variou de 3,03 a 6,60% e 1,66 a 3,05%, respectivamente. Isso indica que o As foi adsorvido preferencialmente no Latossolo em relação ao P, possivelmente, na forma de complexos de esfera interna (quimiossorvidos), o que demonstra a maior afinidade do metalóide pelos sítios de adsorção específicos deste solo, ficando o fósforo livre na solução do solo. Esta afirmação é apoiada pelo aumento da razão molar do P/As solúveis em água de 8,44 a 27,78 no Latossolo em comparação com o Neossolo (2,09 a 12,19). Em ambos os solos, a razão molar P/As adicionado foi de 1,62 a 13,76.

Isso pode ser explicado pela composição mineralógica do Latossolo ser constituída de quantidades significativas de óxidos, principalmente de ferro e alumínio (Tabela 1), que apresentam altos valores de PCZ (7,8 – 9,5) e, assim, a carga líquida superficial das partículas é positiva, atraindo, portanto, mais As. Já no Neossolo, constituído principalmente por caulinita (PCZ = 4,6), a correção da acidez na faixa de 6,5 – 7,0 provocou o predomínio de cargas elétricas negativas nas superfícies das partículas do solo. Segundo Hiemstra & Van Riemsdijk (1999), a adsorção de ânions aumenta em função da redução da interação repulsiva entre as cargas negativas da superfície do colóide e as cargas negativas do íon.

TABELA 4 Porcentagens das concentrações de P e As solúveis (%) em relação aos totais adicionados e a razão molar do P/As nos solos

		Percentual solúvel (%)		Razão molar P/As	
		P	As	Solúvel em água	Total adicionado
Neossolo					
As0	P100	3,02	-----	-----	-----
As35	P100	4,18	3,03	9,59	6,89
As150	P100	6,87	5,31	2,09	1,62
As0	P200	1,99	-----	-----	-----
As35	P200	3,86	4,40	12,19	13,76
As150	P200	4,54	6,60	2,22	3,23
Latossolo					
As0	P100	3,83	-----	-----	-----
As35	P100	6,17	1,66	27,78	6,89
As150	P100	14,29	1,87	12,40	1,62
As0	P200	4,03	-----	-----	-----
As35	P200	4,26	2,49	23,74	13,76
As150	P200	7,95	3,05	8,44	3,23

É fato conhecido que frações As e P solúveis no solo são facilmente disponíveis para a absorção vegetal, e as mudanças dessas frações são importantes para a compreensão dos efeitos interativos entre o arsenato e o fosfato na planta (Tu, C. & Ma 2003). Assim, de acordo com os resultados, verifica-se que o aumento da dose de P promoveu menor adsorção de As e, por consequência, maior solubilidade do metalóide em ambos os solos.

5.2 Produção de matéria seca

A produção de matéria seca da parte aérea do girassol, no Neossolo, foi influenciada significativamente pela adição das doses de As ao solo (Tabela 5). No entanto, a biomassa radicular foi significativamente menor apenas na maior dose de As (150 mg kg⁻¹). Nesta dose, observou-se redução relativa de 78,57 e 85,33% da matéria seca da parte aérea no alto e no baixo teor de P,

respectivamente, com relação à testemunha. A redução no crescimento e desenvolvimento vegetal causada pela toxidez de As deve-se à maior disponibilidade do metalóide variando de 1,06 a 9,89 mg dm⁻³ (Tabela 2). Tal fato está relacionado aos menores teores de argila, Fe₂O₃ e Al₂O₃ presentes neste solo (Tabela 1).

Para o Latossolo, em ambos os teores de fósforo, o aumento das doses de As não ocasionou redução na matéria seca da parte aérea (Tabela 5). Entretanto, a elevação do teor de P influenciou significativamente a produção de matéria seca da parte aérea do girassol. Verifica-se ainda que, nos tratamentos com 100 mg kg⁻¹ de P, a produção de matéria seca da parte aérea aumentou até 42,60% com relação à testemunha, quando adicionado até 150 mg dm⁻³ de As. Este aumento pode estar associado à alta razão molar P/As solúvel nesses tratamentos variando de 12,40 a 27,78 em comparação aos tratamentos com 200 mg dm⁻³ de P (Tabela 4). Isto demonstra que, o efeito da baixa disponibilidade do P, principalmente em solos tropicais, constitui-se em um problema para a nutrição das plantas.

A não interferência do As na redução da matéria seca da parte aérea e da raiz esteve associada a teores de As disponível nos solos entre 0,36 e 4,57 mg kg⁻¹ (Tabela 2). Segundo Smith et al. (1999), o arsenato sofre adsorção em óxidos de Fe e Al, aluminossilicatos não cristalinos e, em menor extensão, em argilossilicatos. Além disso, em baixas concentrações, o arsênio aumenta a absorção de nutrientes pela planta (Carbonell-Barrachina, 1997; Carbonell et al., 1998; Burló et al., 1999).

TABELA 5 Matéria seca da raiz e parte aérea (g vaso⁻¹) em girassol em solos enriquecidos com As

Arsênio	Fósforo (mg dm ⁻³)			
	100		200	
mg dm ⁻³	PA	Raiz	PA	Raiz
	----- g vaso ⁻¹ -----			
	Neossolo			
0	5,18 Ab	1,27 Aa	6,58 Aa	1,49 Aa
35	4,45 Ba	1,09 Aa	4,74 Ba	1,32 Aa
150	0,76 Ca	0,21 Ba	1,41Ca	0,43 Ba
	Latossolo			
0	2,25 Bb	0,54 Bb	5,17 Aa	1,61 Aa
35	3,78 Ab	0,70 Ab	5,78 Aa	1,44 Aa
150	3,92 Ab	0,77 Aa	5,45 Aa	0,43 Bb

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas na mesma coluna comparando doses de As e minúsculas na linha comparando doses de P dentro de cada solo, não diferem estatisticamente (Teste Scott-Knott, P<0,05).

Apesar da redução da produção de matéria seca da parte aérea no Neossolo, sintomas severos de toxidez, comumente associados a As, tais como folhas com coloração marrom escuro, necrose nas pontas e margens das folhas, seguido da morte das plantas (Tu & Ma, 2002; Wang et al., 2002), não foram observados durante o crescimento das plantas (Figuras 1 e 2).

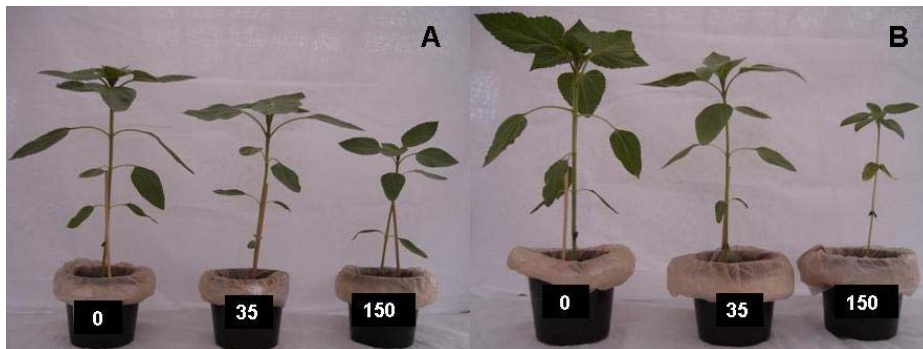


FIGURA 1 Plantas de girassol com 100 mg P dm⁻³ (A) e 200 mg P dm⁻³ (B) em Neossolo Quartzarênico enriquecido com As. Foto obtida no 35° dia de cultivo (os valores em cada vaso representam a dose de As adicionada, em mg dm⁻³).

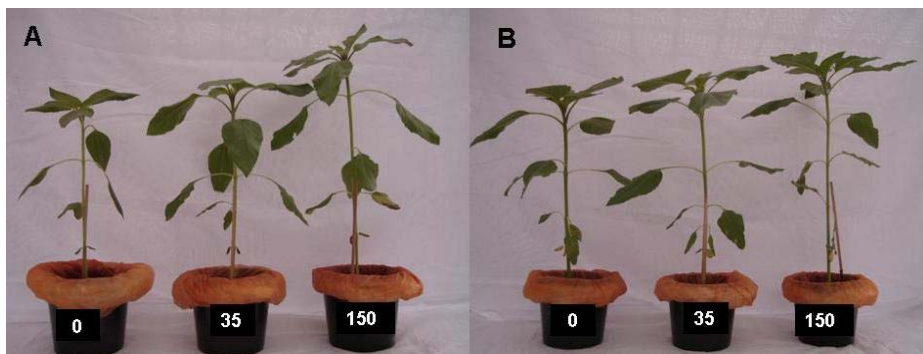


FIGURA 2 Plantas de girassol com 100 mg P dm⁻³ (A) e 200 mg P dm⁻³ (B) em Latossolo Vermelho distrófico enriquecido com As. Foto obtida no 35° dia de cultivo (os valores em cada vaso representam a dose de As adicionada, em mg dm⁻³).

A limitação da translocação de arsênio das raízes para a parte aérea pode ser um mecanismo eficaz de tolerância ao metalóide na planta (Meharg & Macnair, 1991; Meharg & Hartley-Whitaker, 2002). O substancial acúmulo de

arsênio nas raízes pode ser fitotóxico, porque o arsenato, um análogo do fosfato, acarreta distúrbios do metabolismo da planta, interferindo na síntese do ATP através da formação instável do ADP-As (Meharg, 1994). Tal autor relata ainda que, o aumento da concentração do P no citoplasma também pode promover uma competição mais eficaz do fosfato com o arsenato, favorecendo a redução da toxidez causada pelo metalóide.

No entanto, Fitz & Wenzel (2002) informaram que os efeitos do fósforo sobre a absorção e de toxidez do arsênio em plantas é imprevisível, pois esses efeitos dependem da espécie vegetal, da especiação química do As, da produção de biomassa e das condições experimentais.

5.3 Concentração de As na planta e remoção de As do solo

Em ambos os solos, a adição de As aumentou significativamente a concentração do metalóide na parte aérea da espécie quando comparado com o controle (Tabela 6). A concentração de As na parte aérea foi menor que na raiz em todos os tratamentos. Resultados diferentes foram observados por Jankong et al. (2007), que relataram alta concentração de As na parte aérea da *Pityrogramma calomelanos* em relação a raiz, em todos os tratamentos com dose crescente de P (0 e 100 mg kg⁻¹).

No Neossolo, com o aumento das doses de 35 para 150 mg dm⁻³, foi observado um incremento da concentração de As na parte aérea em ambas as espécies, sendo este aumento equivalente a 67,67% no baixo teor de P e a 49,11% no alto teor. No Latossolo, o incremento de As na parte aérea correspondeu a 85,15 e 85,31% no baixo e alto teor de P, respectivamente.

A concentração de As nas plantas está inversamente relacionada com os teores de argila, Fe₂O₃ e Al₂O₃ presentes nos solos utilizados (Tabela 1), ou seja, quanto maior esses teores, menor a concentração de As na planta. Por isso, as plantas cultivadas no RQ apresentaram maiores concentrações do elemento e as

cultivadas no LVd, as menores concentrações. Além disso, a semelhança química (e.g., valores aproximadamente iguais de pKa) entre o As e P favorece similar capacidade de competição pelo sítios de adsorção dos colóides do solo e absorção pelas raízes das plantas, principalmente, quando adicionados simultaneamente.

TABELA 6 Concentração de As na parte aérea e raiz do girassol submetido a doses de fósforo

Arsênio	Fósforo (mg dm^{-3})			
	100		200	
mg dm^{-3}	PA	Raiz	PA	Raiz
	----- mg kg^{-1} -----			
	Neossolo			
0	<LD Ca	1,36 Ba	<LD Ca	1,25 Ca
35	1,18 Bb	4,15 Bb	2,00 Ba	7,69 Ba
150	3,65 Aa	65,64 Aa	3,93 Aa	44,68 Ab
	Latossolo			
0	<LD Ca	1,69 Ba	<LD Ca	2,30 Ba
35	0,15 Ba	3,46 Ba	0,21Ba	3,22 Ba
150	1,01 Ab	31,54 Aa	1,43 Aa	21,33 Ab

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas na mesma coluna comparando doses de As e minúsculas na linha comparando doses de P dentro de cada solo, não diferem estatisticamente (Teste Scott-Knott, $P < 0,05$). Limite de detecção (LD) = $0,07 \text{ mg kg}^{-1}$.

A quantidade de As removido do solo pela biomassa aérea pode ser utilizada para avaliar a eficiência de uma planta em programas de fitoextração. O aumento do teor de P de 100 para 200 mg dm^{-3} favoreceu significativamente a remoção de As nos solos (Figura 3). Observa-se que, no Latossolo ocorreu um aumento de 52,84 e 48,72% na remoção de As do solo nas doses 35 e 150 mg dm^{-3} deste metalóide, respectivamente. No Neossolo, a adição de doses

crescente de P, ocasionou um acréscimo de 44,49 e 49,01% no conteúdo de As na parte aérea do girassol cultivado nos solos nas doses 35 e 150 mg dm⁻³ deste metalóide, respectivamente.

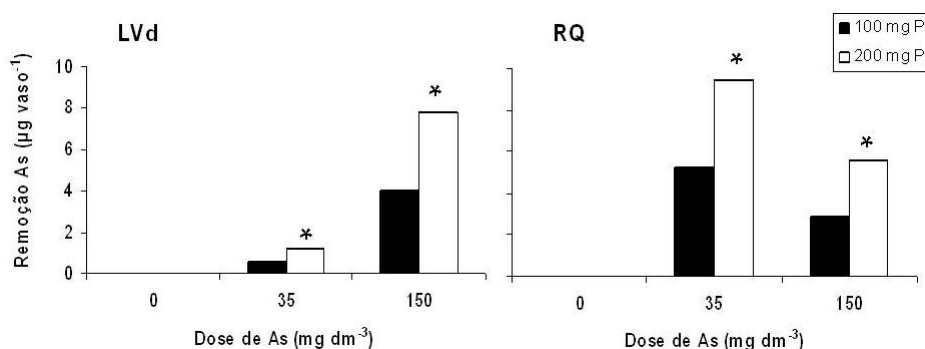


FIGURA 3 Remoção de As pela parte aérea do girassol ($\mu\text{g vaso}^{-1}$) em Neossolo Quartzarênico (RQ) e Latossolo Vermelho distrófico (LVd). (Teste Scott-Knott, $P < 0,05$).

Verifica-se ainda uma variação na eficiência da espécie em remover As de acordo com a classe de solo. No Latossolo, o girassol apresentou uma melhor eficiência, aproximadamente 85%, em remover o metalóide na dose de 150 mg dm⁻³.

No Neossolo, na dose de 35 mg dm⁻³ de As, a espécie apresentou uma maior eficiência na remoção desse elemento, em média 43,40%, comparativamente à dose de 150 mg kg⁻¹. Esta inversão de eficiência está relacionada à maior produção de biomassa, na dose de 35 mg dm⁻³, que compensou a baixa concentração do metalóide na parte aérea nesta dose, resultando em maior remoção do As com relação a dose de 150 mg dm⁻³ no (Tabelas 5 e 6).

Com base nos resultados apresentados, pode-se verificar que a razão molar P/As de 3,23 e 13,76 adicionada ao Latossolo e Neossolo, respectivamente, favoreceu a remoção de As pelo girassol nos solos enriquecidos, indicando que a aplicação de P pode ser utilizada para maximizar a eficiência da espécie na remediação de solos contaminados com As.

Ressalta-se que o uso prático de fertilizantes fosfatados para o melhoramento da remoção de As do solo como estratégias de fitoextração deverá ser precedido de uma avaliação cuidadosa do local específico, com a finalidade de evitar risco de contaminação ambiental secundária com As, como a contaminação do lençol freático e camadas subsuperficiais.

6 CONCLUSÃO

O aumento da dose de P promoveu menor adsorção de As e, por consequência, maior solubilidade do metalóide em ambos os solos.

A adição de As nos solos não provocou sintomas visuais de toxidez no girassol, apesar da redução da produção da parte aérea no Neossolo.

A adição da razão molar P/As de 3,23 e 13,76 no Latossolo e Neossolo, respectivamente, favoreceu a remoção de As pelo girassol nos solos enriquecidos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADRIANO, D.C. **Trace elements in terrestrial environments:** biogeochemistry, bioavailability and risks of metals. 2.ed. New York: Springer-Verlag, 2001. 867p.
- BAIRD, C. **Química ambiental**. 2.ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 621p.
- BURLÓ, F.; GUIJARRO, I.; CARBONELL-BARRACHINA, A.A.; VLAERO, D.; MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, F. Arsenic species: effects on and accumulation by tomato plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.47, p.1247-1253, 1999.
- CAO, X.; MA, L.Q.; SHIRALIPOUR, A. Effects of compost and phosphate amendments on arsenic mobility in soils and arsenic uptake by the hyperaccumulator, *Pteris vittata* L. **International Journal of Environment Pollution**, Geneva, v.126, p.157-167, 2003.
- CARBONELL-BARRACHINA, A.A.; AARABI, M.A.; DELAUNE, R.D.; GAMBRELL, R.P.; PATRICK JUNIOR, W.H. Arsenic in wetland vegetation: availability, phytotoxicity, uptake and effects on plant growth and nutrition. **The Science of the Total Environment**, v.217, p.189-199, 1998.
- CARBONELL-BARRACHINA, A.A.; BURLÓ-CARBONELL, F.; MATAIX-BENEYTO, J. Effect of sodium arsenite and sodium chloride on bean plant nutrition (macronutrients). **Journal Plant Nutrion**, v.20, p.1617-1633, 1997.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo**. São Paulo, 2001. 245p.
- CHEN, H.; CUTRIGHT, T. The interactive effects of chelator, fertilizer, and rhizobacteria for enhancing phytoremediation of heavy metal contaminated soil. **Journal Soil Sediment**, Boca Raton, v.2, p.203-210, 2002.
- DAY, P.R. Particle fractionation and particle-size analysis. In: BLACK, C.A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy, 1965. Part 1, p.545-566.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura e Abastecimento, 1999. 370 p.

FITZ, W.J.; WENZEL, W.W. Arsenic transformations in soil-rhizosphere-plant system: fundamentals and potential application to phytoremediation. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v.99, p.259-278, 2002.

GAO, Y.; MUCCI, A. Acid base reactions, phosphate and arsenate complexation, and their competitive adsorption at the surface of goethite in 0,7 M NaCl solution. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, London, v.65, p.2361-2378, 2001.

GLICK, B.R. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. **Biotechnology Advances**, New York, v.21, p.383-393, 2003.

HABUDA-STANIC, M.; KALAJDZIC, B.; KULES, M.; VELIC, N. Arsenite and arsenate sorption by hydrous ferric oxide/polymeric material. **Desalination**, Amsterdam, v.229, p.1-9, 2008.

HIEMSTRA, T.; RIEMSDIJK, W.H. van. Surface structural ion adsorption modeling of competitive binding of oxyanions by metal (hydr)oxides. **Journal Colloid International Science**, v.210, p.182-193, 1999.

JANKONG, P.; VISOOTTIVISETH, P.; KHOKIATTIWONG, S. Enhanced phytoremediation of arsenic contaminated land. **Chemosphere**, Oxford, v.68, p.1906-1912, 2007.

LEE, J.S.; LEE, S.W.; CHON, H.T.; KIM, K.W. Evaluation of human exposure to arsenic due to rice ingestion in the vicinity of abandoned Myungbong Au-Ag mine site, Korea. **Journal of Geochemical Exploration**, Amsterdam, v.96, p.231-235, 2008.

MEHARG, A.A. Integrated tolerance mechanisms: constitutive and adaptive plant responses to elevated metal concentrations in the environment. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.17, p.989-993, 1994.

MEHARG, A.A.; HARTLEY-WHITAKER, J. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. **New Phytologist**, Cambridge, v.154, p.29-43, 2002.

MEHARG, A.A.; MACNAIR, M.R. Uptake, accumulation and translocation of arsenate in arsenate-tolerant and non-tolerant *Holcus lanatus* L. **New Phytologist**, Cambridge, v.117, p.225-231, 1991.

NASCIMENTO, C.W.A.; XING, B. Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.63, p.299-311, 2006.

NOVAIS, R.F.; SMYTH, T.J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 399p.

PULFORD, I.D.; WATSON, C. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by tree-a review. **Environment International**, New York, v.29, p.529-540, 2003.

RASKIN, I.; SMITH, R.D.; SALT, D.E. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. **Current Opinion in Cell Biology**, London, v.8, p.221-226, 1997.

RAIJ, B.van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FERREIRA, H.E.; LOPES, A.S.; BATAGLIA, O.C. **Análise química do solo para fins de fertilidade**. Campinas, Fundação Cargill, 1987. 170p.

SMITH, E.; NAIDU, R.; ALSTON, A.M. Chemistry of arsenic in soils: I., sorption of arsenate and arsenite by four Australian soils. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.28, p.1719-1726, 1999.

SMITH, E.; NAIDU, R.; ALSTON, A.M. Chemistry of inorganic arsenic in soils: II., effect of phosphorus, sodium, and calcium on arsenic sorption. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.31, p.557-563, 2002.

TU, C.; MA, L.Q. Effects of arsenic concentrations and forms on arsenic uptake by the hyperaccumulator ladder brake. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.31, p.641-647, 2002.

TU, C.; MA, L.Q. Effects of arsenate and phosphate on their accumulation by an arsenic-hyperaccumulator *Pteris vittata* L. **Plant and Soil**, The Hague, v.249, p.373-382, 2003.

TU, S.; MA, L.Q. Interactive effects of pH, arsenic and phosphorus on uptake of As and P and growth of the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. under hydroponic conditions. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v.50, p.243-251, 2003.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Test methods for evaluating soil waste, physical/chemical methods SW-846**. 3.ed. Washington, DC, 1995. Disponível em: <<http://www.epa.gov/SW-846/3051a.pdf>> Acesso em: 1 ago. 2008

VANCE, C.P.; UHDE-STONE, C.; ALLEN, D.L. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. **New Phytologist**, Cambridge, v.157, p.423-447, 2003.

WANG, J.; ZHAO, F.J.; MEHARG, A.A.; RAAB, A.; FELDMANN, J.; McGRATH, S.P. Mechanisms of arsenic hyperaccumulation in *Pteris vittata*: uptake kinetics, interactions with phosphate and arsenic speciation. **Plant Physiology**, Washington, v.130, p.1552-1561, 2002.

WANG, S.; MULLIGAN, C.N. Natural attenuation processes for remediation of arsenic contaminated soils and groundwater. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v.138, p.459-470, 2006.