

SEÇÃO IX - POLUIÇÃO DO SOLO E QUALIDADE AMBIENTAL

POTENCIAL DE QUATRO ESPÉCIES HERBÁCEAS FORRAGEIRAS PARA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO POR ARSÊNIO⁽¹⁾

Roseli Freire de Melo⁽²⁾, Luiz Eduardo Dias⁽³⁾, Jaime Wilson Vargas
de Mello⁽³⁾ & Juraci Alves de Oliveira⁽⁴⁾

RESUMO

A fitorremediação de solos e substratos contaminados por elementos tóxicos tem despertado crescente interesse entre pesquisadores e técnicos. Particularmente em relação ao As, o obstáculo ao emprego desta técnica é o pequeno número de espécies identificadas capazes de acumular este elemento. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de plantas de estilossante (*Stylosanthes humilis* HBK), amendoim (*Arachis pintoii* Krapov. & Gregory), aveia (*Avena strigosa* Schreb) e azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) como espécies fitorremediadoras de áreas contaminadas por As. Amostras de Latossolo Vermelho-Amarelo foram incubadas por 15 dias com diferentes doses de As: 0; 50; 100; e 200 mg dm⁻³. Em seguida, realizaram-se a semeadura das quatro espécies e as respectivas adubações. Aos 65 dias após a semeadura, as plantas foram avaliadas quanto à altura, à matéria seca da parte aérea e raízes. Determinaram-se os teores de As nas folhas jovens, intermediárias e basais, no caule e nas raízes, bem como o conteúdo e o índice de translocação (IT) de As. Por meio de análises de regressão, foram estimados os teores críticos (TC) de As disponíveis no solo, que proporcionaram redução de 50 % da matéria seca. As espécies estudadas apresentaram comportamento diferenciado quanto à tolerância ao As, com destaque para azevém, amendoim e estilossante, que não apresentaram lesões foliares decorrentes de fitotoxidez por esse elemento. Os TC para as plantas de aveia e azevém foram significativamente superiores aos observados para as demais espécies, caracterizando-as como espécies tolerantes ao As. As plantas de

⁽¹⁾ Extraído da Tese de Doutorado apresentada, pelo primeiro autor, ao programa de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas da Universidade Federal de Viçosa – UFV. Pesquisa conduzida com recursos do CNPq, CT-Mineral e da Rio Paracatu Mineração. Recebido para publicação em dezembro de 2006 e aprovado em janeiro de 2009.

⁽²⁾ Pós-Doutoranda (PDJ-CNPq), Departamento de Solos, Universidade Federal de Viçosa – UFV. CEP 36570-000 Viçosa (MG). E-mail: roselifreire@bol.com.br

⁽³⁾ Professor do Departamento de Solos, UFV. Bolsista do CNPq. E-mails: ledias@ufv.br; jwvmello@ufv.br

⁽⁴⁾ Professor do Departamento de Biologia Geral, UFV. E-mail: jalves@ufv.br

amendoim e estilozante apresentaram maior capacidade de absorção e maior IT de As para a parte aérea. As plantas de amendoim apresentaram maiores teores nas folhas basais e raízes, mostrando potencial para serem utilizadas em programas de fitorremediação. As plantas de azevém, amendoim e estilozante podem ser utilizadas na fitoestabilização e, ou, na revegetação de áreas contaminadas por As, uma vez que apresentaram tolerância a esse elemento. Por se tratar de espécies forrageiras, quando utilizadas para esses fins, cuidados especiais são necessários, como o isolamento da área, para evitar a entrada do elemento na cadeia trófica.

Termos de indexação: arsenato, *Stylosanthes humilis*, *Arachis pintoi*, *Avena sativa*, *Lolium multiflorum*.

SUMMARY: *POTENTIAL OF FOUR HERBACEOUS FORAGE SPECIES FOR PHYTOREMEDIATION OF A SOIL CONTAMINATED WITH ARSENIC*

*The decontamination of soils and substrates contaminated with arsenic through phytoremediation techniques has attracted increasing interest of researchers and specialists of environmental sciences. This study aimed to evaluate the potential of the species townsville stylo (*Stylosanthes humilis* HBK), forage peanut (*Arachis pintoi* Krapov. & Gregory), oat (*Avena strigosa* Schreb), and ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) for phytoremediation of arsenic-contaminated soils. Samples of a Red Yellow Latosol (*Oxisol*) were incubated with different doses of arsenic (0; 50; 100 and 200 mg dm⁻³). After this incubation period, the four species were sown and, after germination, soil samples were fertilized accordingly. Sixty five days after sowing, plants were evaluated for height and biomass weight of roots and shoots. Arsenic content in young, intermediate, and old leaves, stem and roots and the As-translocation index (IT) were determined. By regression analysis we estimated the critical contents for available arsenic (TC) in soil which reduced the biomass production by 50 %. The species differed in As-tolerance; no morphologic symptoms of As toxicity were observed for ryegrass, forage peanut and townsville stylo. The TC values for oat and ryegrass were high. In forage peanut and townsville stylo plants the absorption and shoot translocation of arsenic were higher, but the potential of forage peanut for phytoremediation programs is greater. Ryegrass, peanut and stylo plants can be used in phytostabilization and / or the revegetation of As-contaminated areas. When forage species are used with phytoremediation purposes, special care is needed, such as the isolation of the area, to avoid the entry of the element into the food chain.*

Index terms: arsenate, *Stylosanthes humilis*, *Arachis pintoi*, *Avena sativa*, *Lolium multiflorum*.

INTRODUÇÃO

A destruição da cobertura vegetal em áreas contaminadas por elementos tóxicos agrava a degradação do solo, promovendo erosão hídrica e eólica e a lixiviação dos contaminantes para o lençol freático, desencadeando progressivo grau de contaminação de outras áreas. A recuperação desses ambientes exige estudos de diversas naturezas sobre solo, vegetação e água (Cunningham et al., 1996) e, em se tratando de revegetação, a identificação de espécies tolerantes ou com capacidade de acumular os contaminantes mostra-se fundamental para o sucesso do processo.

O As é um elemento-traço altamente tóxico para os seres vivos. Em solos não contaminados, podem ser encontrados teores inferiores a 10 mg kg⁻¹ (Adriano, 2001). Em áreas contaminadas, seu teor

pode chegar a valores três mil vezes superiores a esse (Vaughan, 1993). A fitorremediação tem sido considerada uma técnica emergente e de baixo custo para a "limpeza" de áreas contaminadas por elementos tóxicos (Accioly & Siqueira, 2000). No entanto, ainda é restrito o número de espécies com capacidade para acumular As.

Teores elevados de As no solo podem ser resultantes de ações antropogênicas, por meio do uso de pesticidas (herbicidas e fungicidas), fertilizantes, mineração de Au, Pb, Cu e Ni, e combustão de carvão (Smith et al., 1998; Baird, 2002).

Substratos contaminados por As são encontrados em áreas de mineração de Au, Cu, U, por exemplo associados a sulfetos metálicos como a arsenopirita (AsFeS) (Benzaazoua et al., 2004). No Brasil, uma das áreas mais problemáticas quanto à presença de

As em substratos, e conseqüentemente em águas de consumo humano, é a região do Quadrilátero Ferrífero no Estado de Minas Gerais. Os locais de maior impacto são áreas próximas a minas de Au, como nos municípios de Nova Lima, Ouro Preto, Raposos, Mariana, Santa Bárbara (Deschamps et al., 2003, Borba et al., 2004) e João Pinheiro (Ribeiro Jr., 2002).

A revegetação desses substratos é dificultada pela falta de informações sobre espécies tolerantes, ou mesmo fitorremediadoras de As. Nesse sentido, a seleção de espécies tolerantes ao As para revegetação de solos e substratos contaminados tem papel fundamental no processo inicial de recuperação ambiental.

O conhecimento dos padrões de absorção, de translocação e de acúmulo de íons como o As; dos limites de tolerância e dos sintomas de fitotoxidez das espécies com potencial para a fitorremediação torna-se de grande importância acadêmica e tecnológica (Huang & Cunningham, 1996). Nesse âmbito, técnicas de aplicação *in situ* com o uso de plantas na imobilização e, ou, estabilização de elementos-traço no solo possuem custo-benefício mais atraente do que outras técnicas de remediação físico-química *ex situ* (Glass, 1997; Susarla et al., 2002).

O acúmulo de As nos tecidos vegetais varia com sua disponibilidade no meio e com o metabolismo da planta, o qual está diretamente relacionado a mecanismos de tolerância (Marin et al., 1993). Em plantas, a toxicidade por As pode ser evidente sob diversas maneiras, tais como murchamento das folhas, crescimento lento das raízes e parte aérea, folhas com necrose, cor arroxeada, e finalmente morte da planta (Woolson et al., 1971; Adriano, 1986).

Um dos objetivos iniciais do uso de plantas forrageiras em áreas degradadas é a cobertura do solo a fim de reduzir os processos erosivos e aumentar a entrada de nutrientes no sistema, principalmente o N, por leguminosas forrageiras. Assim, uma característica importante a ser considerada é a habilidade dessas plantas em cobrir o solo rapidamente e melhorar sua fertilidade (Barradas et al., 2001), bem como sua eficiência em ciclar seus nutrientes. Porém alguns cuidados devem ser tomados quando se trata de espécies forrageiras, pois elas podem apresentar potencial para acumular os metais e entrar na cadeia trófica, por isso é importante o isolamento da área.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de quatro espécies herbáceas forrageiras para serem utilizadas como espécies fitorremediadoras de um solo contaminado por As.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Solos, na Universidade Federal de Viçosa. Amostras subsuperficiais de Latossolo

Vermelho-Amarelo (20–40 cm) provenientes do município de João Pinheiro-MG (Quadro 1) foram destorroadas, peneiradas ($\varnothing < 4$ mm) e incubadas por 15 dias com As nas doses de 0; 50; 100; e 200 mg dm⁻³, na forma de Na₂HAsO₄. As doses de As foram calculadas por meio de curvas de incubação, com base no valor de As e P remanescentes. Os baixos valores de P-rem e As-rem refletem a alta capacidade de adsorção de As pelo solo (Quadro 1), que resultaram em teores disponíveis de 0,0; 12,8; 26,8; e 58,7 mg dm⁻³, de As pelo extrator Mehlich-3, para as doses aplicadas. Para o controle do método das análises de As foi utilizada uma amostra-padrão de referência GBW07603, composta por ramos e folhas de arbustos cultivadas em áreas de mineração de Zn e Pb na China, fornecida pelo *Institute of Geophysical and Geochemical Exploration-Langtang-China*.

As doses de Na foram, respectivamente, de 15,4; 30,8; 61,6 mg dm⁻³ para as doses de 50, 100 e 200 mg dm⁻³ de As. Em teste com feijão-de-porco, não foram detectados efeitos de toxicidade nas plantas com as doses equivalentes de Na na forma de NaCl. Nesse teste, realizado com o mesmo solo, a condutividade elétrica no solo (relação solo-água de 1:1, conforme Camargo et al., 1986) variou de 116 a 314 $\mu\text{S cm}^{-1}$.

Após o período de incubação, amostras de 1,39 dm³ de solo (equivalente a 1,8 kg de solo) foram acondicionadas em vasos plásticos onde foram plantadas (sementes pré-germinadas) as espécies de estilossante (*Stylosanthes humilis* HBK), amendoim forrageiro (*Arachis pintoi* Krapov. & Gregory), azevém (*Lolium multiflorum* L.) e aveia-forrageira (*Avena sativa* L.). Oito dias após a emergência, realizou-se o desbaste mantendo-se três plantas por vaso, para amendoim e estilossante, e 20 plantas por vaso, para azevém e aveia. A fim de garantir o adequado suprimento de N às plantas e por não ser o objetivo deste trabalho avaliar a fixação simbiótica de N₂, optou-se pela não-inoculação das sementes com bactérias fixadoras de N₂.

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

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

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

Quadro 1. Características químicas e físicas da amostra do solo utilizado no experimento

Características químicas									
pH H ₂ O	P-rem	As-rem	P ⁽¹⁾	K ⁽¹⁾	Ca ²⁺ (2)	Mg ²⁺ (2)	Al ³⁺ (3)	H + Al ⁽³⁾	MO
	— mg L ⁻¹ —		— mg dm ⁻³ —		cmol _c dm ⁻³				dag kg ⁻¹
5,2	26,29	27,82	1,10	25	0,00	0,00	1,32	4,50	2,01

Características físicas							
Areia grossa ⁽⁴⁾	Areia fina ⁽⁴⁾	Silte ⁽⁴⁾	Argila ⁽⁴⁾	Dens. Aparente ⁽⁴⁾	Classe textural	Equiv. Umidade ⁽⁵⁾	
g kg ⁻¹				kg kg ⁻¹			
400	170	20	410	1,29	Argilo arenoso	0,13	

⁽¹⁾ Extrator Mehlich-1 (Mehlich, 1978, 1984). ⁽²⁾ Extrator KCl 1 mol L⁻¹. ⁽³⁾ Acidez potencial em pH 7,0 extraída com acetato de cálcio 1 mol L⁻¹. ⁽⁴⁾ Método da pipeta (Embrapa, 1997). ⁽⁵⁾ Embrapa (1997). LVA: Latossolo Vermelho-Amarelo; P-rem: fósforo remanescente e As-Rem: arsênio remanescente do solo, conforme Alvarez V. et al. (2001) e Ribeiro Jr. (2002), respectivamente.

Aos 65 dias após a semeadura, foram determinados a altura e o diâmetro das plantas. A seguir, as plantas foram cortadas ao nível do solo. Os tecidos vegetais foram separados em folhas jovens (FJ), folhas intermediárias (FI), folhas basais (FB), caule (C) e raízes (R). Como folhas jovens foram consideradas as folhas tenras, não expandidas completamente, e os brotos. As folhas maduras e em estágio de senescência (amareladas) foram consideradas basais, e as demais como folhas intermediárias. As raízes das plantas foram lavadas com água de torneira até a retirada completa do solo e, posteriormente, permaneceram por aproximadamente 1 min em solução de HCl 0,1 mol L⁻¹ para remoção do As aderido superficialmente às raízes (Tu & Ma, 2003). Em seguida, as raízes foram lavadas várias vezes com água deionizada. Para a determinação do peso da matéria seca, as diferentes partes da planta foram secas em estufas de circulação forçada de ar, a 60–70 °C, até peso constante (aproximadamente 72 h).

Para determinar o teor de As nas diferentes partes das plantas, amostras de 1,00 g de material seco e finamente triturado foram submetidas à digestão nítrico-perclórica 3:1 (Tedesco et al., 1995). As amostras foram levadas para bloco digestor controlando a temperatura: inicialmente de 50 °C, por aproximadamente 30 min; 100 °C, por mais 30 min, e finalmente entre 160 e 180 °C até completar a digestão. A determinação dos teores de As nos extratos das plantas e As disponível no solo (Mehlich-3) foi realizada por espectrometria de emissão atômica, com plasma induzido em argônio (ICP/AES).

Em função da quantidade acumulada de As nos seus diferentes compartimentos, e dos sintomas de toxicidade apresentados pelas espécies, as plantas foram classificadas quanto ao caráter de tolerância e potencialidade para fitorremediação ao As. Por meio da análise de regressão, considerando-se a matéria seca da parte aérea produzida em função das doses de

As aplicadas, foram estipuladas as doses de As que proporcionaram a redução de 50 % da matéria seca da testemunha. As equações de regressão para os teores de As disponíveis no solo, em função das doses de As aplicadas, permitiram estimar o teor de As disponível (teor crítico) no solo que proporcionou a redução de 50 % da matéria seca produzida.

Os conteúdos de As nas raízes e na parte aérea e o total foram calculados com base nos teores e nas produções de matéria seca. A partir desses valores, calculou-se o índice de translocação (IT) do As, de acordo com a seguinte equação (Abichequer & Bohnen, 1998):

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

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sintomas de toxidez, produção de matéria seca e altura de plantas

A partir da primeira semana de exposição ao As, as plantas de aveia submetidas à dose de 200 mg dm⁻³ apresentaram redução no crescimento e lesões nas folhas basais, resultantes da toxidez por As (Figura 1), sintomas descritos por diversos autores (Ma et al., 2001; Shaibur et al., 2008). Apesar desses sintomas, essas plantas toleraram o estresse causado pelo As durante todo o período experimental. Houve redução significativa na produção de matéria seca e no crescimento, sem, contudo, ocorrer morte das plantas. Ribeiro Jr. (2002) observou a morte de plantas de sorgo em solos com um teor de As disponível de 26,9 mg dm⁻³. Nas plantas de aveia, teor disponível a partir de 13,4 mg dm⁻³ provocou queda na produção de matéria seca. Entretanto, neste estudo, o teor de 58,7 mg dm⁻³ de As disponível (dose de 200 mg dm⁻³) ainda não foi suficiente para provocar a morte das plantas.

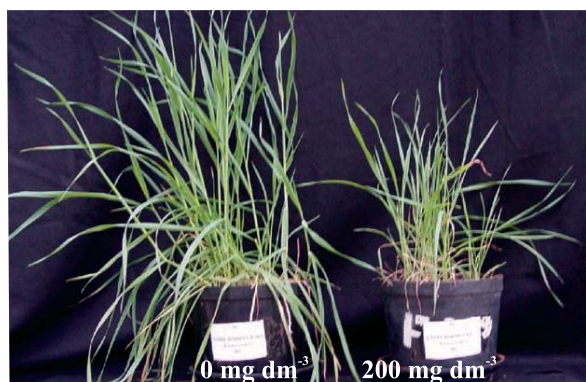


Figura 1. Redução no crescimento e sintomas visuais de toxidez por arsênio em folhas de aveia submetidas às doses de 0 mg dm⁻³ de As (controle) e 200 mg dm⁻³ aos 65 dias após a semeadura.

As plantas de aveia, amendoim e estilosante tiveram a matéria seca severamente alterada, sendo mais evidente nas plantas da última espécie esse retardamento no crescimento das plantas pode ser devido à toxicidade causada pelo As, porém as plantas de amendoim e estilosante não apresentaram lesões foliares, quando submetidas à dose de 200 mg dm⁻³. As plantas de azevém apresentaram maior tolerância ao As,

sendo menos influenciada que as demais, com reduções da produção de matéria seca na ordem de 17 % e 38 % para parte aérea e de 13 % e 15 % para o sistema radicular, nas doses de 100 e 200 mg dm⁻³, respectivamente, em relação às plantas-controle. Na dose de 100 mg dm⁻³ de As, as plantas de aveia, amendoim e estilosante apresentaram alguma tolerância com decréscimos na produção de matéria seca de 10, 42 e 51 %, respectivamente. A redução de matéria seca foi resultante dos efeitos das doses no crescimento das plantas, as quais apresentaram efeito significativo sobre a altura de plantas (p ≤ 0,01). A análise de regressão resultou no ajuste de modelos de resposta raiz quadrada, quadrático e linear, indicando redução da altura das plantas com o aumento das doses de As (Figura 3). Entre as espécies estudadas, a aveia teve a altura mais afetada, com redução de até 45 %, seguida de estilosante (33 %), azevém (29 %) e amendoim (25 %) em relação às plantas do tratamento controle.

As plantas de estilosante e amendoim apresentaram certa tolerância, pois, mesmo com redução na altura (Figura 3) e na matéria seca da parte aérea e raízes, não apresentaram lesões foliares durante o período experimental. Deve-se levar em consideração que, ao final do experimento (65 dias), as plantas estavam emitindo botões florais, indicando que possivelmente completariam o ciclo reprodutivo.

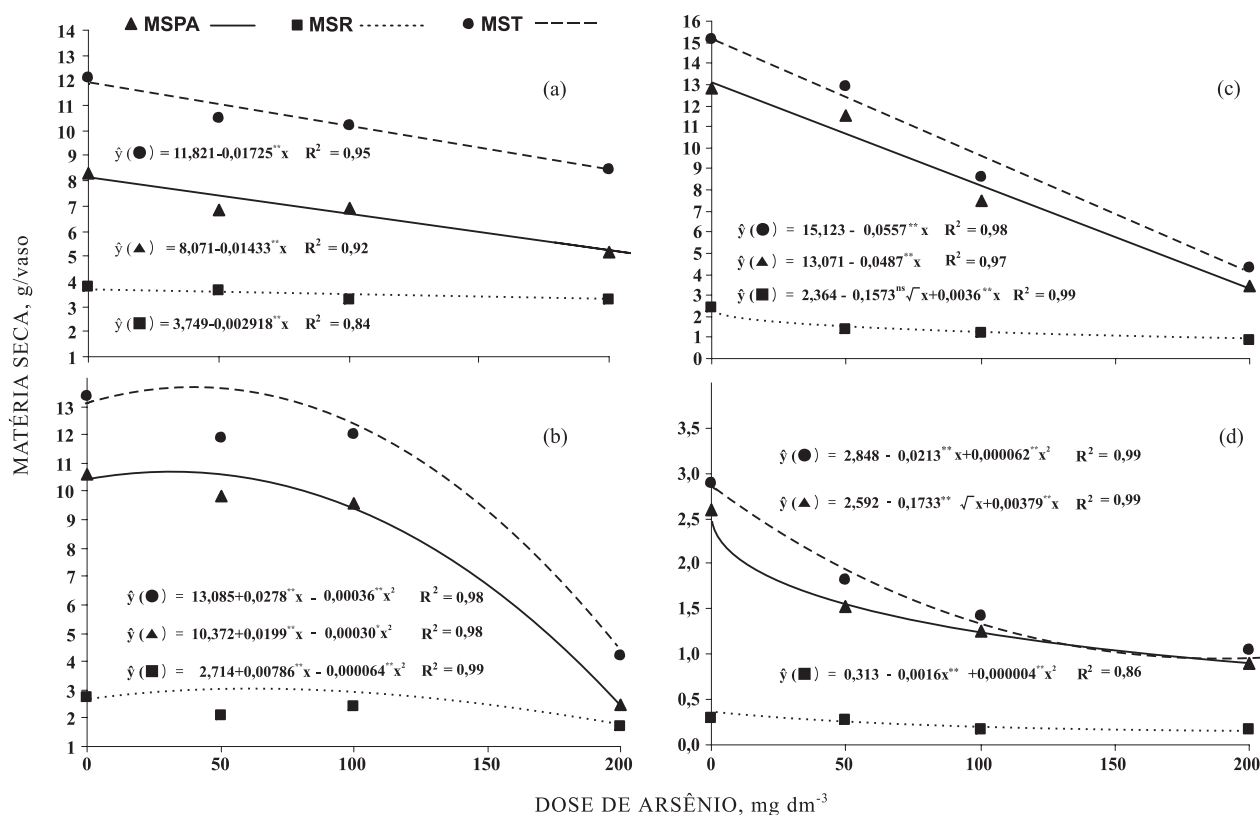


Figura 2. Matéria seca de raízes (MSR), parte aérea (MSPA) e total (MST) de aveia (a), azevém (b) amendoim (c), estilosante (d) submetidas a diferentes doses de As, cultivadas em amostras de um LVA de João Pinheiro-MG. **, * e ns: significativo de doses a 1 e 5 % e não-significativos, respectivamente.

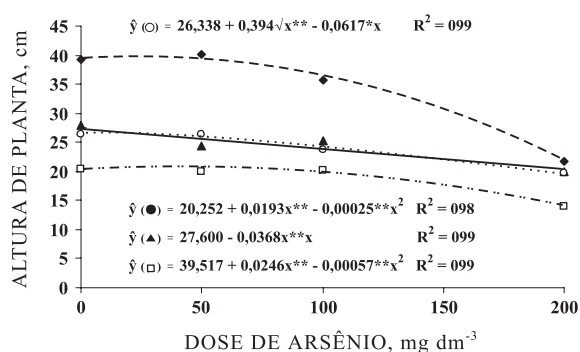


Figura 3. Altura de plantas de aveia (◆), azevém (▲), amendoim (□) e estilosante (○) em diferentes doses de As cultivadas em amostras de um LVA de João Pinheiro-MG. ** e *: significativo a 1 e 5 % respectivamente, pelo teste F.

Teores e conteúdos de As nos diferentes compartimentos das plantas

Como método de controle das análises de As, foi utilizada uma amostra-padrão de referência GBW07603, que resultou em uma taxa de recuperação de 94 % do As contido na amostra.

O aumento das doses de As no solo resultou no aumento significativo ($p \leq 0,01$) dos teores de As nas diferentes partes das plantas para todas as espécies estudadas (Quadros 2 e 3). As diferentes folhas (jovens,

intermediárias e basais) das plantas de aveia, azevém e amendoim apresentaram teores elevados de As quando comparados com a faixa considerada normal, que é de 0,1–5,0 mg kg⁻¹ (Wauchope, 1983).

Os teores de As na parte aérea das plantas de amendoim foram menores em relação aos das demais espécies. Essa diferença de comportamento entre as espécies pode ter base genética ou fisiológica, como a possível existência de fitoquelatinas nas raízes, capazes de complexar e transportar o As para o vacúolo, evitando assim a toxidez das plantas (Ma et al., 2001). De modo geral, o As na parte aérea de todas as espécies obedeceu ao sentido acrópeto, com os maiores teores nas folhas basais seguida de folhas intermediárias, folhas jovens e caule, indicando pequena translocação. Nesse sentido, foram observados maiores teores de As no sistema radicular (Quadro 2), evidenciando assim pouca translocação para a parte aérea. Esse comportamento também foi constatado por Tu & Ma (2003). Diante das inúmeras comprovações citadas na literatura de que o As e P são análogos quimicamente no solo (Schmöger et al., 2000; Tu & Ma, 2003), na planta eles têm comportamento diferenciado (Creger & Peryea, 1994; Tu & Ma 2003; Schmöger et al., 2000). A distribuição do As na planta se dá no sentido inverso ao do P, que é bastante móvel, sendo redistribuído com facilidade dos tecidos mais velhos para os mais novos (Novais & Smyth, 1999).

Quadro 2. Teores de As em folhas jovens (FJ), folhas intermediárias (FI), folhas basais (FB), no caule (C) e nas raízes (R) de plantas de aveia, azevém, amendoim e estilosante em resposta a diferentes doses de As aplicadas em amostras de um LVA de João Pinheiro-MG

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

nd: concentrações abaixo do limite de detecção pelo método de dosagem.

Quadro 3. Equações de regressão para teores de As em folhas jovens (FJ), intermediárias (FI), basais (FB), no caule (C) e nas raízes (R), conteúdo de As na parte aérea (CAsPA), nas raízes (CAsR) e total na planta (CAsT) em plantas de aveia, azevém, estilosante e amendoim, e As disponível no solo após a coleta das plantas (AsDisp) em função das diferentes doses de As aplicadas em amostras de um LVA coletada em João Pinheiro-MG

Espécie	Compartimento	Equação de regressão	R ²
Aveia	FJ ⁽¹⁾	$\hat{y} = 0,196 + 0,1032^{**}x - 0,000296^{**}x^2$	0,98
	FI ⁽¹⁾	$\hat{y} = 0,158 + 0,18011^{**}x - 0,00049^{**}x^2$	0,99
	FB ⁽¹⁾	$\hat{y} = -0,070 + 0,2184x^{**}$	0,94
	C ⁽¹⁾	$\hat{y} = 0,285 + 0,0427x^{**}$	0,98
	R ⁽¹⁾	$\hat{y} = 57,157 + 2,684x^{**}$	0,94
	CAsPA ⁽²⁾	$\hat{y} = 0,0080 + 0,0069^{**}x - 0,000030^{**}x^2$	0,98
	CAsR ⁽²⁾	$\hat{y} = 0,034 + 0,01508^{**}x - 0,000053^{**}x^2$	0,98
	CAsT ⁽²⁾	$\hat{y} = 0,042 + 0,0219^{**}x - 0,000082^{**}x^2$	0,98
	AsDisp ⁽³⁾	$\hat{y} = -2,741 + 0,2595x^{**}$	0,96
Azevém	FI	$\hat{y} = 0,281 + 0,2615x^{**} - 0,00053^{**}x^2$	0,99
	FB	$\hat{y} = -0,788 + 0,3494x^{**}$	0,99
	C	$\hat{y} = 0,114 + 0,02298^{**}x + 0,000068^{**}x^2$	0,98
	R	$\hat{y} = -1,443 + 4,4355^{**}x - 0,01281^{**}x^2$	0,99
	CAsPA	$\hat{y} = -0,0093 + 0,0065^{**}x - 0,000016^{**}x^2$	0,99
	CAsR	$\hat{y} = 0,009 + 0,01508^{**}x - 0,000046x^{2**}$	0,99
	CAsT	$\hat{y} = -0,001 + 0,2155^{**}x - 0,00006^{**}x^2$	0,99
	AsDisp	$\hat{y} = 0,661 + 0,0242^{**}x + 0,001310^{**}x^2$	0,99
	Estilosante	FI	$\hat{y} = 0,508 + 0,1136^{**}x - 0,00018^{**}x^2$
FB		$\hat{y} = 0,441 + 0,1272^{**}x - 0,000193^{**}x^2$	0,98
C		$\hat{y} = 0,936 + 0,00999^{**}x + 0,00085^{**}x^2$	0,98
R		$\hat{y} = -9,371 + 1,3995^{**}x$	0,99
CAsPA		$\hat{y} = 0,001 + 0,0030120^{**}\sqrt{x} + 0,00093^{**}x$	0,97
CAsR		$\hat{y} = 0,002 + 0,0000209^{**}x$	0,97
CAsT		$\hat{y} = 0,008 + 0,00050x^{**}$	0,95
AsDisp		$\hat{y} = -5,296 + 0,2966^{**}x$	0,96
Amendoim		FI	$\hat{y} = 0,0161 + 0,0365^{**}x$
	FB	$\hat{y} = 0,912 - 0,01966^{**}x + 0,00066^{**}x^2$	0,97
	C	$\hat{y} = -0,619 + 0,07314^{**}x - 0,00014x^{2**}$	0,90
	R	$\hat{y} = -15,302 + 1,5507^{**}x$	0,98
	CAsPA	$\hat{y} = 0,001 + 0,0165^{**}\sqrt{x} - 0,00046^{**}x$	0,98
	CAsR	$\hat{y} = 0,008 + 0,00128^{**}x$	0,99
	CAsT	$\hat{y} = 0,042 + 0,0019^{**}x$	0,95
	AsDisp	$\hat{y} = -2,277 + 0,1972^{**}x$	0,97

⁽¹⁾ Teores de As (mg kg⁻¹). ⁽²⁾ Conteúdos de As (mg/vaso). ⁽³⁾ As disponível extraído por Mehlich-3 após a coleta do experimento (mg dm⁻³). ** e * : significativo a 1 e 5 % pelo teste F, respectivamente.

Os maiores teores de As no sistema radicular foram encontrados com a dose de 200 mg dm⁻³, com valores de até 111 (aveia); 74 (azevém); 62 (amendoim) e 56 (estilosante) vezes superiores ao limite considerado normal para plantas, que é de no máximo de 5,0 mg kg⁻¹ segundo Wauchope (1983).

As plantas de azevém apresentaram teores superiores aos encontrados nas plantas de aveia em todos os compartimentos da parte aérea; no entanto, as plantas de aveia chegaram a apresentar teores no sistema radicular 33 % superior aos encontrados nas plantas de azevém, para dose de 200 mg dm⁻³. Esse comportamento permite evidenciar a elevada tolerância apresentada pelas plantas de azevém, que, mesmo apresentando teores superiores ao considerado normal na parte aérea, não manifestaram sintomas de toxidez visíveis, durante o período experimental.

Todas as espécies estudadas emitiram botões florais na fase final do experimento (65 dias após a semeadura). Entre essas, foi possível coletar as panículas em quantidade suficiente para a realização das análises apenas nas plantas de aveia. De acordo com os resultados, foi possível constatar teores de As superiores aos considerados normais em plantas (0,1 a 5,0 mg kg) para a dose de 200 mg dm⁻³ nas flores de aveia (Figura 4). Teores elevados de As na parte aérea de plantas forrageiras despertam preocupação quando se pensa em pastagem cultivada crescendo em áreas contaminadas, devido à possibilidade do As entrar na cadeia trófica. Nesse sentido, o uso de espécies forrageiras como as utilizadas neste trabalho não seria uma boa opção para revegetação ou mesmo para descontaminação de áreas sujeitas ao pastejo.

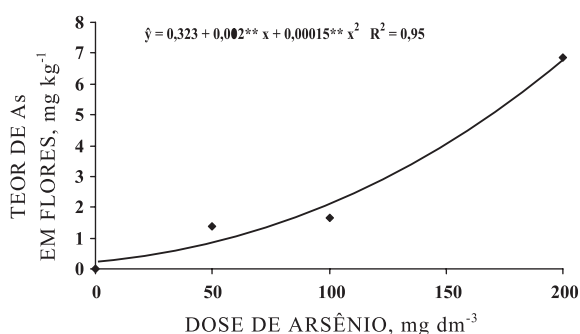


Figura 4. Teores de As em flores de plantas de aveia submetidas a diferentes doses de As cultivadas em amostras de um LVA de João Pinheiro-MG. **: significativo a 1 % pelo teste F.

As doses de As testadas exerceram grande influência sobre o acúmulo de As nos tecidos das plantas (Quadro 4). O acúmulo total de As nas espécies variou de 0,048 a 1,85 mg/vaso indicando comportamento muito diferenciado entre espécies. A maioria das plantas apresentou maior quantidade relativa de As nas raízes, destacando-se a aveia e o azevém, com valores 0,95 e 1,21 mg/vaso. Por outro lado, o estilosante apresentou maior quantidade relativa desse elemento na parte aérea. Porém, devido à baixa produção de matéria seca dessa espécie, os valores de conteúdos foram muito baixos.

De modo geral, o acúmulo de As nos tecidos das espécies estudadas pode contribuir para sua imobilização na vegetação, tornando essas espécies promissoras para programas de fitorremediação, desde que tolerem o teor de As disponível no local. Espécies com essas características podem facilitar o processo de imobilização do As, evitando seu transporte para os componentes do ecossistema, tendo-se em vista que os metais ligam-se facilmente aos compostos orgânicos e formam complexos mais estáveis e menos tóxicos ao ambiente (Accioly & Siqueira, 2000; Chen et al., 2001).

Quanto ao As disponível no solo no término do experimento, houve efeito significativo de doses ($p \leq 0,01$) para todas as espécies estudadas (Quadros 3 e 4). Entretanto, foram observadas diferenças nos teores disponíveis nas amostras de solo coletadas nos vasos das diferentes espécies. Este resultado pode estar relacionado à possível liberação de ácidos orgânicos pelo sistema radicular, e, ou, outros mecanismos ainda desconhecidos, já que o acúmulo de As não foi proporcional ao crescimento do sistema radicular, tomando por base a produção de matéria seca. Isto foi observado nas plantas de azevém, que tiveram seu sistema radicular pouco influenciado pelas doses de As, quando comparadas às plantas de aveia, que apresentaram maior absorção. Esses valores de As disponíveis são superiores ao valor de referência de qualidade para solos do Estado de São Paulo, que é de

Quadro 4. Conteúdo de As na parte aérea (PA), nas raízes (R), total (T) em plantas de aveia, azevém, estilosante e amendoim e As disponível (AsDisp), cultivadas em amostras de um LVA de João Pinheiro-MG, após a coleta das plantas em resposta a diferentes doses de As

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

nd: não-deteção pelo método de dosagem (ICP/AES).

3,5 mg kg⁻¹ de As total (CETESB, 2005), determinado pelo método da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA, 1998), 3050b ou 3051.

O comportamento das espécies quanto à capacidade de absorção e acúmulo divergem dos resultados obtidos por Gonzaga et al. (2005). Esses autores afirmam que a maior capacidade de absorção e acúmulo de As por plantas acumuladoras e não-acumuladoras deve-se ao volume do sistema radicular. A espécie hiperacumuladora de As “Chinese brake fern” (*Pteris vittata*) apresentou volume de sistema radicular quatro vezes superior e acumulou 29 vezes mais As do que *Nephrolepis exaltata* L. (não acumuladora de As) (Gonzaga et al., 2005).

Índice de translocação e teores críticos de As no solo

O índice de translocação de As para a parte aérea das plantas variou entre as espécies, sendo o efeito de doses altamente significativo ($p \leq 0,01$), possibilitando o ajuste de modelos raiz quadrada e quadrático (Figura 5). O resultado indica que a translocação de As atingiu um ponto máximo antes da maior dose de As aplicada ao solo e depois decresceu, sugerindo que mecanismos de saturação de transportadores e, ou, de desintoxicação ocorreram com as doses maiores. A translocação de As foi maior nas plantas de estilosante e de amendoim, com maiores valores na dose de 50 mg dm⁻³. Nesses casos, os índices de translocação atingiram valores de 66 % e 55 % respectivamente. Os menores índices foram constatados nas plantas de aveia, atingindo valor máximo de 32,6 %, na dose de 50 mg dm⁻³, seguido de decréscimo com o aumento das doses de As no solo. O índice de translocação de As nas plantas de estilosante foi consideravelmente elevado, quando comparado com o das demais espécies. Isso pode indicar ausência de um mecanismo adicional de proteção, ocasionando maior impacto da contaminação no crescimento das plantas, o que pode explicar a menor produção de matéria seca por essa espécie.

Nas plantas de azevém, os índices de translocação foram crescentes com o aumento das doses, atingindo cerca de 35 % na dose de 200 mg dm⁻³ (Figura 6). O maior acúmulo de As no sistema radicular pode indicar a baixa capacidade de controle na absorção do As e, ou, maior eficiência de controle na translocação, evitando que o As chegue aos tecidos metabolicamente mais ativos da parte aérea. Esse mecanismo pode estar relacionado à síntese de fitoquelatinas nas raízes que tem papel fundamental na desintoxicação de As em plantas (Sneller et al., 1999; Schmöger et al., 2000; Meharg & Hartley-Whitaker, 2002).

As gramíneas (aveia e azevém) apresentaram baixa translocação de As quando comparadas às leguminosas (amendoim e estilosante), o que pode estar relacionado a mecanismos de controle interno, evitando que o As seja translocado para os tecidos metabolicamente ativos da parte aérea. Poucos são

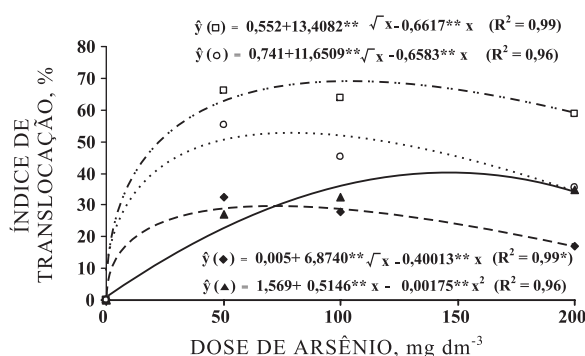


Figura 5. Índice de translocação de arsênio em plantas de aveia (◆), azevém (▲), amendoim (○) e estilosante (□) cultivadas em amostras de um LVA de João Pinheiro-MG em solos com diferentes doses de As. **: significativo a 1 % pelo teste F.

os estudos relacionados com a influência da contaminação de As sobre o índice de translocação deste em plantas herbáceas.

Os resultados sugerem que entre as espécies estudadas, as plantas de estilosante apresentaram maior capacidade de translocação do As, o que possivelmente contribuiu para redução das variáveis de crescimento, já que essas foram influenciadas negativamente pelas doses de As aplicadas, principalmente na dose de 200 mg dm⁻³ (Quadro 4). Por outro lado, levando-se em consideração a ausência de lesões foliares durante o período experimental, todas as espécies apresentaram alguma tolerância ao As, destacando-se o estilosante, o azevém e o amendoim. Desse modo, seriam necessários estudos, principalmente em campo, para observar o limite e o potencial dessas espécies, como indicadoras da contaminação por As e, ou, fitorremediadora, já que plantas indicadoras refletem a contaminação local nos tecidos da planta (Accioly & Siqueira, 2000).

O teor crítico de As disponível no solo para reduzir 50 % da matéria seca (TC₅₀%), variou entre as espécies (Quadro 5). Para as plantas de azevém, o TC₅₀% de matéria seca da parte aérea foi superior ao das demais espécies, mostrando assim maior tolerância dessa espécie ao As. Por outro lado, as plantas de aveia apresentaram maior TC₅₀% para matéria seca radicular, sendo necessário um teor disponível no solo de 62,83 mg dm⁻³, valor este 20,5 % superior ao TC₅₀% para redução da matéria seca da parte aérea (Quadro 5).

Os valores de TC₅₀% para amendoim e estilosante sugerem mecanismos diferenciados de tolerância ao As. O amendoim apresentou maior valor de TC₅₀% para a produção de raízes, quando comparado com o estilosante que apresentou menor valor de TC₅₀% para produção de matéria seca da parte aérea (Quadro 5). As plantas de azevém tinham maior valor de TC₅₀% na parte aérea, provavelmente devido a sua capacidade de controle na translocação do As aos tecidos

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

TC ⁽¹⁾	Aveia	Azevém	Amendoim	Estilosante
	mg dm ⁻³			
TC _{50 % Raiz}	62,83	57,48	21,62	57,84
TC _{50 % Parte aérea}	49,96	79,80	39,47	25,02

¹⁾ TC: teor crítico de As no solo para reduzir 50 % a produção de matéria seca.

metabolicamente ativos da parte aérea (Figura 5). Raciocínio inverso poderia ser realizado para as plantas de aveia, sugerindo maior habilidade da espécie para programas de fitorremediação de As, uma vez que esta apresentou maior valor de TC_{50 %} nas raízes (Quadro 5).

Nenhuma das espécies apresentou potencial de hiperacumulação de As, caracterizado quando a espécie apresenta teores foliares superiores a 1.000 mg kg⁻¹ (Ma et al., 2001). No entanto, em se tratando de programas de revegetação de áreas contaminadas por As, desde que estejam isoladas da possibilidade de pastejo animal, todas apresentaram potencial, principalmente o azevém que se mostrou com maior tolerância e capacidade de acumular o As (Quadro 4).

CONCLUSÕES

1. As plantas de azevém, amendoim e estilosante apresentam potencial para fitorremediação de áreas contaminadas por As, principalmente para fitoestabilização, pois elas não apresentaram lesões foliares em nenhuma das doses testadas.

2. Os teores de As nas raízes de todas as espécies foram bastante elevados, indicando que há mecanismos de compartimentalização, em especial nas plantas de azevém, amendoim e estilosante, a fim de reduzir a translocação do As aos tecidos jovens da parte aérea.

3. As plantas de azevém mostraram bom potencial para programas de revegetação de áreas contaminadas por As. Estas não apresentaram lesões foliares por toxidez ao As mesmo com teores acima do considerado normal na parte aérea.

4. A maior sensibilidade da aveia a elevados teores de As disponível no solo sugere que essa espécie possa ser utilizada como planta bioindicadora do contaminante.

AGRADECIMENTOS

Os autores manifestam agradecimentos ao CNPq (CT-Mineral) e à Rio Paracatu Mineração pelo apoio

financeiro, e ao Acadêmico do Curso de Engenharia Ambiental, Wiliam Gomes Nunes, pelo apoio na condução da pesquisa.

LITERATURA CITADA

- ABICHEQUER, A.D. & BOHNEN, H. Eficiência de absorção, translocação e utilização de fósforo por variedades de trigo. *R Bras. Ci. Solo*, 22:21-26, 1998.
- ACCIOLY, A.M.A. & SIQUEIRA, J.O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H. & SCHAEFER, C.E.G.R. Tópicos em ciência do solo. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. p.299-352.
- ADRIANO, D.C. Trace elements in the terrestrial environment. New York, Springer Verlag, 1986. 533p.
- ADRIANO, D.C. Trace elements in the terrestrial environment: Biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals. New York, Springer, 2001. 867p.
- ALVAREZ V., V.H. Equilíbrio de formas disponíveis de fósforo e enxofre em dois Latossolos de Minas Gerais. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 1974. 125p. (Tese de Mestrado)
- ALVAREZ V., V.H.; DIAS, L.E.; RIBEIRO JR., E.S.; SOUZA, R.B. & FONSECA, C.A. Métodos de análises de enxofre em solos e plantas. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 2001. 13p.
- BAIRD, C. Química ambiental. 2.ed. Porto Alegre, Bookman, 2002. 621p.
- BARRADAS, C.A.A.; FREIRE, L.R.; ALMEIDA, D.L. & DE-POLLI H. Comportamento de alguns adubos verdes de inverno na Região Serrana Fluminense. *Pesq. Agropec. Bras.*, 36:1461-1468, 2001.
- BENZAOUA, M.; MARION, P.; PICQUET, I. & BUSSIÈRE, B. The use of pastefill as a solidification and stabilization process for the control of acid mine drainage. *Miner. Eng.*, 17:233-243, 2004.
- BORBA, R.P.; FIGUEIREDO, B.R. & CAVALCANTI, J.A. Arsênio na água subterrânea em Ouro Preto e Mariana, Quadrilátero Ferrífero (MG). *R. Escola Minas*, 57:45-51, 2004.

- CAMARGO, O.A.; MONIZ, A.C.; JORGE, J.A. & VALADARES, J.M.A.S. Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agrônomo de Campinas. Campinas, IAC, SDTC, 1986. 93p. (Boletim Técnico, 106)
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB. Avaliação valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo. São Paulo, 2005.
- CHEN, M.; MA, L.Q.; HOOGEWEG, C.G. & HARRIS, W.G. Arsenic background concentrations in Florida, U.S.A. surface soils: Determination and interpretation. *Environ. Forensics*, 2:117-126, 2001.
- CREGER, T.L. & PERYEA, F.J. Phosphate fertilizer enhances arsenic uptake by apricot liners grown in lead-arsenate-enriched soil. *Hortic. Sci.*, 29:88-92, 1994.
- CUNNINGHAM, S.D.; ANDERSON, T.A.; SCHWAB, A.P. & HSU, F.C. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Adv. Agron.*, 56:55-114, 1996.
- DESCHAMPS, M.E. Avaliação da contaminação humana e ambiental por As e sua imobilização em óxidos de Fe e Mn. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais, 2003 139p. (Tese de Doutorado)
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGRÍCOLA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solos. Rio de Janeiro, 1997. 212p.
- GLASS, D.J. "Evaluating phytoremediation's potential share of the hazardous site remediation market", in "phytoremediation" In: INTERNATIONAL PHYTOREMEDIATION CONFERENCE, 2., Westborough, 1997. Proceedings. Westborough, IBC Library Service, 1997. p.7-39.
- GONZAGA, M.I.S.; SANTOS, J.A.G. & MA, L.Q. Arsenic chemistry in the rhizosphere of *Pteris vittata* L. and *Nephrolepis exaltata* L. *Environ. Poll.*, 143:254-260, 2006.
- HUANG, J.W.; CUNNINGHAM, S.D. Lead phytoextraction: Species variation in lead uptake and translocation. *New Phytol.*, 134:75-84, 1996.
- MA, L. Q.; KOMAR, K.M.; TU, C.; ZHANG, W.H.; CAI, Y. & KENNELLY, E.D. A fern that hyperaccumulates arsenic, a hardy, versatile, fast-growing plant helps to remove arsenic from contaminated soils. *Nature*, 409:579, 2001.
- MARIN, A.R., MASSCHELEYN, P.H. & PATRICK, J.R.W.H. Soil redox-pH stability of arsenic species and its influence on arsenic uptake by rice. *Plant Soil*, 152:245-253, 1993.
- MEHARG, A.A. & HARTLEY-WHITAKER, J. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and non-resistant plant species: Tansley review. *New Phytol.*, 154:29-43, 2002.
- MEHLICH, A. Mehlich-3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 15:1409-1416, 1984.
- NOVAIS, R.F. & SMYTH, T.J. Fósforo em solo planta em condições tropicais. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 1999. 399p.
- O'NEILL, P. Arsenic. In: Heavy metals in soils. New York, John Wiley & Sons, 1990. p.83-99.
- RIBEIRO JR., E.S. Adsorção e dessorção de arsênio em solos e substratos de mineração de ouro e práticas de mitigação de drenagem ácida em colunas de lixiviação. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 2002. 117p. (Tese de Doutorado)
- SCHMÖGER, M.E.V.; OVEN, M. & GRILL, E. Detoxification of arsenic by phytochelatin in plants. *Plant Physiol.*, 122:793-801, 2000.
- SHAIBUR, M.R.; KITAJIMA, N.; SUGAWARA, R.; KONDO, T.; ALAM, S.; HUQ, S.M.I. & KAWAI, S. Critical toxicity level of arsenic and elemental composition of arsenic-induced chlorosis in hydroponic sorghum. *J. Water, Air, Soil Pollut.*, 191:279-292, 2008.
- SMITH, E.; NAIDU, R. & ALSTON, A.M. Arsenic in the soil environment: A review. *Adv. Agron.*, 64:149-195, 1998.
- SNELLER, F.E.C.; van HEERWAARDEN, L.M.; KRAAIJEVELD-SMIT, F.J.L.; TEN BOOKUM, W.M.; KOEVOETS, P.L.M.; SCHAT, H. & VERKLEIJ, J.A.C. Toxicity of arsenate in *Silene vulgaris*, accumulation and degradation of arsenate-induced phytochelatin. *New Phytol.*, 144:223-232, 1999.
- SUSARLA, S.; MEDINA, V.F. & McCUTCHEON, S.C. Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. *Ecol. Eng.*, 18:647-658, 2002.
- TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H. & VOLKWEISS, S.J. Análise de solo, plantas e outros materiais. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p.
- TU, C. & MA, L.Q. Effects of arsenate and phosphate on their accumulation by an arsenic-hyperaccumulator *Pteris vittata* L. *Plant Soil*, 249:373-382, 2003.
- USEPA. Agência de Proteção Ambiental dos EUA. Method 3050 B. 1998. Disponível em: <<http://www.epa.gov/SW-846/pdfs/3050b.pdf>> Acesso em: fev. 2004.
- VAUGHAN, G.T. The environmental chemistry and fate of arsenical pesticides in cattle tick dip sites and banana land plantations. Melbourne, CSIRO Division of Coal Industry, Center for Advanced Analytical Chemistry, 1993. 32p.
- WAUCHOPE, R.D. Uptake, translocation and phytotoxicity of arsenic in plants. In: LEDERER, W.H & FENSTERHEIM, R.J., eds. Arsenic: Industrial, biomedical, environmental perspectives. New York, Van Nostrand Reinhold, 1983. p.348-375.
- WOOLSON, E.A.; AXLEY J.H. & KEARNEY, P.C. Correlation between available soil arsenic, estimated by six methods, and response of corn (*Zea mays* L.). *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 35:101-105, 1971.

