



BRUNO FERNANDO FARIA PEREIRA

**POTENCIAL FITORREMEIADOR DAS CULTURAS
DE FEIJÃO-DE-PORCO, GIRASSOL E MILHO
CULTIVADAS EM LATOSSOLO VERMELHO
CONTAMINADO COM CHUMBO**

Campinas

2005

BRUNO FERNANDO FARIA PEREIRA

ENGENHEIRO AGRÔNOMO

**POTENCIAL FITORREMEIADOR DAS CULTURAS
DE FEIJÃO-DE-PORCO, GIRASSOL E MILHO
CULTIVADAS EM LATOSSOLO VERMELHO
CONTAMINADO COM CHUMBO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação, em Agricultura Tropical e Subtropical, do Instituto Agrônomo, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Dra. Cleide Aparecida de Abreu.

Campinas

2005

P414d Pereira, Bruno Fernando Faria

Potencial fitorremediador das culturas de feijão-de-porco, girassol e milho cultivadas em LATOSSOLO VERMELHO contaminado com chumbo / Bruno Fernando Faria Pereira. Campinas: Instituto Agronômico, 2005.

68 fls. : il.

Orientador: Profa. Dra. Cleide Aparecida de Abreu
Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical/Gestão de Recursos Agroambientais) – Instituto Agronômico.

1. Metais pesados. 2. EDTA. 3. Feijão-de-porco. 4. Girassol. 5. Milho. 6. Espectação iônica. 7. Mehlich-3. 8. DTPA. 9. Minteq
I. Abreu, Cleide Aparecida de. II. Instituto Agronômico de Campinas. III. Título.

CDD – 631.4

BRUNO FERNANDO FARIA PEREIRA

**POTENCIAL FITORREMEIADOR DAS CULTURAS
DE FEIJÃO-DE-PORCO, GIRASSOL E MILHO
CULTIVADAS EM LATOSSOLO VERMELHO
CONTAMINADO COM CHUMBO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação, em Agricultura Tropical e Subtropical, do Instituto Agronômico, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

COMISSÃO EXAMINADORA

Dra. Cleide Aparecida de Abreu - IAC

Dr. Ronaldo Severiano Berton - IAC

Dr. Arnaldo Antônio Rodella – ESALQ - USP

CAMPINAS, 28 DE FEVEREIRO DE 2005

*"AOS MEUS PAIS JAIR E CRISTINA
PELOS ENSINAMENTOS DA VIDA"*

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Dra. Cleide Aparecida de Abreu, pela amizade, compreensão e dedicação incondicional em todos os momentos.

À toda minha família por suas palavras de incentivo e apoio durante esta jornada.

À todos os amigos da pós-graduação, companheiros, nos momentos de intensa preocupação ou total descontração.

Aos Drs. Aline Coscione, Ana Lagoa, Ângela Furlani, Heitor Cantarella, Mônica Abreu, Ondino Bataglia, Otávio Camargo, Pedro Furlani e Ronaldo Berton, do Instituto Agrônomo, pelo apoio, atenção e descontração nestes dois anos.

Aos Drs. Arnaldo Antônio Rodella, Luiz R. G. Guilherme e Rufus Chaney pelas informações técnicas dadas sobre fitorremediação e EDTA durante o desenvolvimento deste trabalho.

À FAPESP, pelo apoio financeiro oferecido ao projeto e pela bolsa de mestrado.

*"Mantenha seus pensamentos positivos
porque seus pensamentos tornam-se suas palavras
Mantenha suas palavras positivas
porque suas palavras tornam-se suas atitudes
Mantenha suas atitudes positivas
porque suas atitudes tornam-se seus hábitos
Mantenha seus hábitos positivos
porque seus hábitos tornam-se seus valores
Mantenha seus valores positivos
porque seus valores tornam-se seu DESTINO"*

(Mahatma Gandhi)

PEREIRA, Bruno Fernando. **Potencial fitorremediador das culturas de feijão-de-porco, girassol e milho cultivadas em LATOSSOLO VERMELHO contaminado com chumbo**. 2005. 68p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico.

RESUMO

No Estado de São Paulo existem em torno de 38 locais contaminados por Pb. O Pb tem grande importância como contaminante devido à sua dispersão em solos agrícolas. Uma das estratégias mais viáveis para a reabilitação de áreas contaminadas, a fitorremediação, consiste na introdução de espécies altamente especializadas em acumular ou tolerar altíssimas concentrações de metais no solo. O uso da fitorremediação nas condições brasileiras precisa ser intensificado. Há necessidade de estudos que avaliem a tolerância e adaptação de espécies, aos níveis crescentes de contaminação de Pb adaptadas em nossas condições sob influência do agente quelante EDTA. Portanto, os objetivos deste trabalho foram avaliar o desempenho do girassol, feijão-de-porco e milho em solos contaminados por Pb na presença e ausência de EDTA; a disponibilidade de Pb para estas espécies usando extratores químicos (Mehlich-3, DTPA) e pasta de saturação e; o efeito do EDTA nas diferentes formas químicas da solução do solo. Os tratamentos consistiram de seis doses de Pb (0, 100, 200, 350, 1.200, 2.400 mg kg⁻¹) e duas doses de EDTA (0 e 0,5 g kg⁻¹), utilizando-se como planta teste o girassol, feijão-de-porco e milho. Foram quantificados os teores de Pb, na parte aérea das três espécies, os teores de Pb total no solo, e ainda o Pb extraído por Mehlich-3, DTPA, e pasta de saturação. Avaliou-se ainda a especiação iônica dos principais íons da solução do solo com o software *Visual-Minteq* 2.30. Embora o valor *t* (razão entre mg do metal /kg parte aérea e mg do metal/kg solo) e concentração de Pb na parte aérea do girassol tenham sido elevado, esta espécie mostrou grande sensibilidade à aplicação de EDTA. As espécies feijão-de-porco e milho foram as espécies que mais acumularam Pb na parte aérea. Todas as espécies apresentaram redução na produção de massa seca da parte aérea na presença de EDTA. O principal fator que influenciou esta queda foi a elevada concentração de Pb, Fe e Al na parte aérea. Os extratores Mehlich-3 e DTPA foram eficientes em avaliar a disponibilidade de Pb para girassol, feijão-de-porco e milho, diferente da pasta de saturação que foi mais trabalhosa e menos eficaz. Os metais que possuem afinidade com o complexante EDTA (Pb, Al e Fe) tiveram suas concentrações, na solução do solo, alteradas na presença de EDTA, influenciando a absorção destes elementos pela planta. Este fato possui grande importância em LATOSSOLO VERMELHO que apresenta altos teores de Fe e Al. Na presença do quelante EDTA, mais de 90% do total das formas de Pb e Fe foram complexados.

Palavras-chave: Metais pesados, EDTA, feijão-de-porco, girassol, milho, especiação iônica, Mehlich-3, DTPA, Minteq.

PEREIRA, Bruno Fernando Faria. **Phytoremediator potential of crops jack bean, sunflower and corn cultivated on oxisol contaminated with lead**. 2004. 68p. Dissertation (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico.

ABSTRACT

In the State of São Paulo, Brazil, there are about thirty-eight Pb-contaminated locations. Lead assumes importance as a contaminant, because it is spread out over agricultural soils. One of the most viable strategies to clean up contaminated soils is the introduction of highly adapted species, specialized in the accumulation or able to tolerate very high metal concentrations. The use of phytoremediation under Brazilian conditions needs to be improved. Research is required to evaluate the species tolerance and adaptation to increasing Pb-rates under the local conditions and the presence of EDTA chelant. Therefore, the objectives of this research were: to evaluate the development of the sunflower, jack bean and corn in Pb-contaminated soils with and without EDTA; to determine the lead availability to these species using chemical extractors (Mehlich-3 and DTPA) and saturated soil paste; the influence of the chelant onto chemical forms in the soil solution. The treatments consisted of six Pb-rates (0, 100, 200, 350, 1,200 and 2,400 mg kg⁻¹) and two EDTA-rates (0 and 0.5 mg kg⁻¹) using, sunflower, jack bean and corn as test plants. It was measured the total Pb concentration, and Pb extracted with Mehlich-3, DTPA, and saturated soil paste. The ionic speciation of main ions in the soil solution were determined using the software *visual-Minteq* 2.30. Although the *t* value (ratio between mg of metal/kg DW shoot and mg of metal/kg DW soil) and the Pb-concentration in sunflower shoots were high, this specie showed high sensibility to EDTA application. The jack bean and corn were the species that most accumulated Pb. All species showed reduced shoot dry matter production in the presence of EDTA. The main factor that influence this reduction was the high Pb, Fe and Al shoots concentration. The Mehlich-3 and DTPA extractant solutions were effective to evaluate Pb-availability to sunflower, jack bean and corn, different of saturated soil paste that was more time-expensive and not so effective. The metals with high EDTA affinity (Pb, Al and Fe) showed higher concentration in the soil solution in presence of EDTA, influencing their uptake by plants. This fact assumes relevance for oxisol that show high levels of Fe and Al. In the presence of EDTA, more than 90% of the total forms of Pb and Fe were chelated.

Key-words: Heavy metals, EDTA, jack bean, sunflower, corn, ionic speciation, Mehlich-3, DTPA, Minteq.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentração de Pb na parte aérea de algumas espécies cultivadas sob diferentes níveis de Pb e EDTA aplicados ao solo.....	14
Tabela 2. Análise química e física do LATOSSOLO VERMELHO coletado.....	16
Tabela 3. Equação de regressão do Pb extraído por Mehlich-3, DTPA e pasta de Saturação e doses de Pb aplicadas ao solo, na presença e na ausência de EDTA.....	26
Tabela 4. Porcentagem das principais espécies iônicas nas diferentes doses de Pb aplicado ao solo, na ausência e na presença do EDTA.	31
Tabela 5. Equação de regressão do Pb extraído por Mehlich-3, DTPA e pasta de Saturação e, doses de Pb aplicadas ao solo, na presença e na ausência de EDTA.	36
Tabela 6. Porcentagem das principais espécies iônicas nas diferentes doses de Pb aplicado ao solo, na ausência e na presença do EDTA.....	41
Tabela 7. Teor total de Pb obtido pelo método USEPA-3051 e porcentagem recuperada nas diferentes doses de Pb aplicadas ao solo, na ausência e presença de EDTA.	42
Tabela 8. Equação de regressão do Pb extraído por Mehlich-3, DTPA e Pasta de Saturação e, doses de Pb aplicadas ao solo, na presença e na ausência de EDTA.....	48
Tabela 9. Porcentagem das principais espécies iônicas nas diferentes doses de Pb aplicado ao solo, na ausência e na presença do EDTA.	53
Tabela 10. Teor total de Pb obtido pelo método USEPA-3051 e porcentagem recuperada nas diferentes doses de Pb aplicadas ao solo, na ausência e na presença de EDTA.....	54

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Efeito da aplicação de doses crescentes de Pb ao solo e da aplicação ou não de EDTA na produção de massa seca da parte aérea do girassol.....22
- Figura 2.** Efeito da aplicação de doses crescentes de Pb ao solo e da aplicação ou não de EDTA na concentração de Fe na parte aérea do girassol.....22
- Figura 3.** Relação entre as doses de Pb aplicadas ao solo com a concentração de Pb na parte aérea do girassol, na ausência e na presença do EDTA.....24
- Figura 4.** Relação entre as doses de Pb aplicadas ao solo e o Pb acumulado na parte aérea do girassol, na ausência e na presença do EDTA.....24
- Figura 5.** Relação entre o Pb extraído por Mehlich-3 com a concentração de Pb na parte aérea do girassol, na presença e na ausência de EDTA.....27
- Figura 6.** Relação entre o Pb extraído por DTPA com a concentração de Pb na parte aérea do girassol, na presença e na ausência de EDTA.....27
- Figura 7.** Relação entre o Pb da solução do solo e a concentração de Pb na parte aérea do girassol, na presença e na ausência de EDTA.....28
- Figura 8.** Efeito da aplicação de doses crescentes de Pb ao solo e da aplicação ou não de EDTA na produção de massa seca da parte aérea do feijão-de-porco.....33
- Figura 9.** Relação entre as doses de Pb aplicadas ao solo e a concentração de Pb na parte aérea do feijão-de-porco, na ausência e presença do EDTA.34
- Figura 10.** Relação entre doses de Pb aplicadas ao solo e o Pb acumulado na parte aérea, na presença e na ausência de EDTA.....35
- Figura 11.** Relação entre o Pb extraído por Mehlich-3 e a concentração de Pb na parte aérea do feijão-de-porco, na presença e na ausência de EDTA.....37
- Figura 12.** Relação entre o Pb extraído por DTPA e a concentração de Pb na parte aérea do feijão-de-porco, na presença e na ausência de EDTA.....38
- Figura 13.** Relação entre o Pb da solução do solo e a concentração de Pb na parte aérea do feijão-de-porco, na presença e na ausência de EDTA.....39
- Figura 14.** Efeito da aplicação de doses crescentes de chumbo ao solo e da aplicação ou não de EDTA na produção de massa seca da parte aérea do milho.....44
- Figura 15.** Efeito da aplicação de doses crescentes de Pb ao solo e da presença e ausência de EDTA na concentração de Fe parte aérea do milho.....44
- Figura 16.** Relação entre as doses de Pb aplicadas ao solo com a concentração de Pb na parte aérea do milho, na ausência e na presença do EDTA.....45

Figura 17. Relação entre as doses de Pb aplicadas ao solo e o Pb acumulado na parte aérea do milho, na ausência e na presença do EDTA.....	46
Figura 18. Relação entre o Pb extraído por Mehlich-3 e a concentração de Pb na parte aérea do milho, na presença e na ausência de EDTA.....	49
Figura 19. Relação entre o Pb extraído por DTPA e a concentração de Pb na parte aérea do milho, na presença e na ausência de EDTA.....	49
Figura 20. Relação entre o Pb da solução do solo e a concentração de Pb na parte aérea do milho, na presença e na ausência de EDTA.....	50

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Considerações Gerais	3
2.2 Pb no Solo.....	5
2.2.1 Pb total.....	5
2.2.2 Pb disponível	6
2.3 Fitorremediação e Fitoextração	9
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 Girassol (<i>Helianthus annuus</i>)	21
4.1.1 Potencial fitoextrator do girassol.....	21
4.1.2 Pb disponível no solo.....	25
4.1.3 Especiação iônica da solução do solo.....	29
4.2 Feijão-de-porco (<i>Canavalia ensiformis</i>).....	31
4.2.1 Potencial fitoextrator do feijão-de-porco.....	31
4.2.2 Pb disponível no solo.....	36
4.2.3 Especiação iônica da solução do solo.....	39
4.2.4 Pb total no solo	41
4.3 Milho (<i>Zea mays</i>)	42
4.3.1 Potencial fitoextrator do milho	42
4.3.2 Pb disponível no solo.....	48
4.3.3 Especiação iônica da solução do solo.....	51
4.3.4 Pb total no solo	53
5 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	55
6 CONCLUSÕES	58
REFERÊNCIAS	59
APÊNDICE A	66
APÊNDICE B.....	67
APÊNDICE C.....	68

1 INTRODUÇÃO

A contaminação do solo é crescente no mundo, existindo grande extensão de áreas contaminadas por diversos agentes tais como sais, elementos metálicos, compostos orgânicos, organometálicos e elementos radioativos (ACCIOLY & SIQUEIRA, 2000). A preocupação ambiental em relação às áreas onde os metais pesados (MPs) se acumulam tem aumentado, sendo o problema agravado quando esses entram na cadeia alimentar (ABREU et al., 1995). Dentre uma lista de 275 substâncias orgânicas e inorgânicas consideradas prioritárias para o controle nos EUA, baseando-se na combinação de sua frequência, toxicidade e potencial de exposição humana, o chumbo (Pb) ocupa o segundo lugar (ATSDR, 2004). O Pb pode causar diversos problemas como a contaminação do lençol freático e a toxicidade em plantas, animais e humanos. Conforme CETESB (2001), os valores de contaminação do solo por MPs é diferenciado para área agrícola, residencial e industrial, sendo que para Pb são 200, 350 e 1.200 mg kg⁻¹, respectivamente. Considerando esses valores, somente no Estado de São Paulo existem aproximadamente 38 locais considerados contaminados por Pb.

Conforme Accioly & Siqueira (2000), a remediação de áreas contaminadas é geralmente uma exigência legal e um compromisso social que precisa ser executada, criando uma enorme demanda tecnológica. Embora as conseqüências da contaminação dos solos por MPs seja melhor entendida nos dias atuais, ainda permanecem indefinidas as tecnologias efetivas e econômicas para remediação desses sítios.

Programas envolvendo a remediação de áreas contaminadas incluem: diagnóstico, análise de risco, estratégias de mitigação da fitotoxicidade e seleção de plantas tolerantes ao excesso de metais (fitorremediação) (RIBEIRO-FILHO et al., 2001). A fitoextração, um tipo de fitorremediação, é praticada em várias partes do mundo e, em muitos países, em escala comercial (CHANTACHON et al., 2002; LASAT, 2002). Estudos realizados na Suécia

demonstraram que a espécie *Salix vitaminali* cultivada a 500 m de uma fábrica de bateria, área contaminada com Pb, pode reduzir a concentração desse elemento no solo em mais de 60%, após três anos de plantio (GREGER et al., 2003). Entretanto, no Brasil, essa e outras espécies fitorremediadoras ainda não são exploradas comercialmente por falta de capacitação técnica, de conhecimento do mercado e por serem as espécies conhecidas de plantas hiperacumuladoras originárias de clima temperado, não adaptadas às condições tropicais.

A aplicação do quelante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) no solo tem se mostrado eficiente em elevar o potencial de fitorremediação de algumas espécies vegetais. Este quelante forma complexo solúvel com o metal, elevando sua concentração na solução do solo. A concentração de Pb na parte aérea de milho elevou de 100 para 2.400 mg kg⁻¹ quando este foi crescido em solo com 2.500 mg kg⁻¹ adicionando-se 0,5 g kg⁻¹ de EDTA ao solo (HUANG et al., 1997).

O uso da fitorremediação nas condições brasileiras precisa ser intensificado. Há necessidade de estudos que avaliem a tolerância de espécies, aos níveis crescentes de contaminação de Pb, adaptadas em nossas condições sob influência do agente quelante EDTA. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi:

- avaliar o desempenho de algumas espécies vegetais em solos contaminados por Pb, na presença e ausência do agente quelante;
- avaliar a disponibilidade de Pb em solos usando os extratores Mehlich-3, DTPA e pasta de saturação.
- avaliar o efeito do quelante EDTA nas diferentes formas químicas de Pb da solução do solo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Considerações Gerais

Consideram-se metais pesados aqueles elementos que possuem densidade maior que 5 g cm^{-3} (ADRIANO, 1986). Dentre os MPs presentes em áreas de risco nos Estados Unidos (Cd, Pb, Cr, Cu, Hg, Ni e Zn), o Pb e o Hg são os que mais se destacam por ocasionarem sérios riscos a saúde e à vida (HENRY, 2000). Conforme a Agência para Substâncias Tóxicas e Controle de Doenças, em uma lista de 275 substâncias orgânicas e inorgânicas prioritárias nos EUA, baseando-se na combinação de sua frequência, toxicidade e potencial de exposição humana, o Pb seguido do As, ocupa o segundo lugar (ATSDR, 2004).

O Pb encontra-se em diversos produtos e materiais presentes em nosso cotidiano, tais como nas cerâmicas, nos pigmentos, nas fundições, nas soldas, nas munições, nos equipamentos médicos, nos acumuladores (baterias), no encanamento e nos equipamentos elétricos. Quantitativamente, a demanda deste metal no Brasil está voltada para o segmento de fabricação de acumuladores que alcança 80,0%, seguida por óxidos (12,0%) e os eletroeletrônicos (8,0%) (SILVA, 2003).

O Pb é o maior contaminante de solo (LASAT, 2000) e o maior problema ambiental frente ao mundo moderno (SHEN et al., 2002), sendo notoriamente o MP que oferece maior risco de envenenamento para os seres humanos, especialmente às crianças (LASAT, 2002). É um dos metais mais persistentes no solo, estima-se que a sua retenção no solo pode variar de 150 a 5.000 anos (KUMAR et al., 1995).

Problemas ocasionados pela contaminação por Pb foram e continuam sendo historicamente relatados. A maioria dos imperadores romanos que reinaram entre os anos 30 a.C. e 220 d.C. padeciam de sintomas de intoxicação crônica por Pb (NRIAGU, 1983), por

ferverem o vinho e armazenarem alimentos em recipientes feitos ou revestidos por este metal (SOUSA NETO & COSENZA, 1993). Durante o século XIX e início do século XX, com o advento da industrialização, foi comum a contaminação ocupacional por Pb entre os trabalhadores (pintores, encanadores e outros) (TONG et al., 2000).

Em alguns países da América Latina, especialmente nas populações mais pobres, a exposição por diversas fontes de Pb como, mineração, fábricas de baterias, artesanato e fundição possuem grande importância (TONG et al., 2000). No Brasil, em 1990, a Vigilância Sanitária do Estado de São Paulo determinou a interdição da distribuição do leite tipo C, pois, esse apresentava teores de Pb acima dos limites permitidos pelo Ministério da Saúde (1990), que é de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$. Uma recente pesquisa desenvolvida pelo Instituto de Geociências da Unicamp, junto a outras instituições de pesquisa, com objetivo de avaliar a contaminação humana e ambiental por Pb e As, no Vale do Ribeira, em uma área de mineração desativada há seis anos, mostrou que 24% das amostras de sangue coletadas em crianças estavam com teores acima de $10 \text{ } \mu\text{g dL}^{-1}$, número considerado limiar de risco à saúde (COM CIÊNCIA, 2003).

Uma determinada área é considerada contaminada se, entre outros fatores, as concentrações de elementos ou substâncias de interesse ambiental estão acima de um dado limite denominado valor de intervenção. Acima desse limite, há um risco potencial de efeito deletério sobre a saúde humana, havendo necessidade de uma ação imediata na área que inclui uma investigação detalhada e a adoção de medidas emergenciais, visando à minimização das vias de exposição (CETESB, 2001). Os valores orientadores para o Pb no solo, em mg kg^{-1} , no Estado de São Paulo são: de alerta 100; de intervenção em área agrícola, residencial e industrial, respectivamente de 200, 350 e 1.200 (CETESB, 2001). Somente no Estado de São Paulo, existem 197 locais contaminados por MPs (CETESB, 2004) dentre eles 38

contaminados por Pb (CETESB, 2003).

2.2 Pb no Solo

2.2.1 Pb total

O Pb ocorre naturalmente na maioria dos solos e em valores variáveis. A quantidade deste metal no solo, sem interferência antropogênica, depende do seu teor na rocha de origem e do grau de intemperização que esse material sofreu. De acordo com Bergmann (1992), o teor de Pb varia de 0,2 a 23 mg kg⁻¹ nas rochas eruptivas, de 10 a 50 mg kg⁻¹ nas rochas sedimentares e de 1,5 a 21 mg kg⁻¹ nas metamórficas. A média de Pb na litosfera é de aproximadamente 16 mg kg⁻¹.

O teor total de Pb no solo não dá idéia sobre a disponibilidade deste elemento para as plantas e, conseqüentemente, da sua transferência para a cadeia alimentar. De acordo com Traina & Laperche, (1999); Shen et al. (2002); Campos et al. (2003), a concentração total de Pb tem, geralmente, pouca associação com a quantidade biodisponível. Contudo, é importante conhecê-la para se ter idéia do seu teor no ambiente, tanto em estudos de contaminação e poluição, quanto em estudos pedológicos. Cancela (2002), analisando dez perfis de solos não contaminados por Pb, coletados em seis municípios do Estado de São Paulo, encontrou nível total médio de 37 mg kg⁻¹, quando extraído por ácido fluorídrico, e 101 mg kg⁻¹ utilizando fluorescência de Raio-X. Campos et al. (2003), estudando 19 classes de LATOSSOLO não contaminados, distribuídos em mais de dez Estados brasileiros, encontraram valores totais de Pb no solo que variam de 10 a 49 mg kg⁻¹, em média 23 mg kg⁻¹, pelo método USEPA-3051. Esses autores, utilizando método “aqua régia”, obtiveram valores de 6 a 31 mg kg⁻¹, em média 18 mg kg⁻¹.

Os teores totais de Pb no solo podem ser elevados em função de diversas atividades

antropogênicas que comprometem a integridade do ecossistema. A manufatura e a recuperação de baterias ácidas, a mineração, a aplicação de biossólido e/ou fertilizantes químicos e, em alguns países, a gasolina acrescida de Pb, podem elevar sensivelmente os níveis desse elemento no solo.

Quando proveniente de fonte antropogênica, devido à sua baixa mobilidade, o Pb encontra-se, preferencialmente, no horizonte superficial do perfil. Abreu et al. (1998) verificaram que os maiores teores de Pb estavam nos primeiros 10 cm de solos da região de Caçapava (SP), que sofreram contaminação antropogênica - fábrica de lingotes de Pb. Esses autores observaram que a concentração de Pb estava correlacionada com teores de matéria orgânica do solo. Distribuição semelhante foi observada por Cancela (2002) trabalhando com amostras de solos do Estado de São Paulo. Contudo, nessas amostras, o teor total de Pb não se correlacionou com a matéria orgânica.

Em estudos ambientais, além da concentração total de Pb no solo, faz-se necessária a determinação de Pb na fração disponível ou fitodisponível e, ainda, na solução do solo.

2.2.2 Pb disponível

No solo, os MPs são encontrados em diversas formas: como íon livre ou complexo solúvel na solução do solo; adsorvidos especificamente ou não especificamente aos constituintes inorgânicos; ligados à matéria orgânica do solo; precipitados com óxidos, hidróxidos e carbonatos; e constituinte da estrutura de silicatos (LASAT, 2002).

Dentre as várias formas dos metais existentes no solo são consideradas disponíveis as da solução do solo (íon livre, e na grande maioria como complexo solúvel) e a adsorvida não especificamente aos constituintes inorgânicos e orgânicos. As formas associadas à matéria orgânica, precipitadas com os óxi-hidróxidos e carbonatos e a estrutural (constituintes da

estrutura de silicatos) são muito pouco disponíveis às plantas (LASAT, 2002).

Poucos trabalhos inferem sobre as formas disponíveis de Pb no solo bem como sua química na solução do solo (TILLS & ALLOWAY, 1983; PERCIVAL et al., 1999). De acordo com Abreu (2002) a fitodisponibilidade do metal pode ser determinada usando soluções salinas, ácidas, quelantes, mistas (ácidas e quelantes) ou quantificando-se o elemento na solução do solo. Dentre essas soluções, destacam-se a de DTPA-TEA em pH 7,3 (Lindsay & Norvel, 1978) e a de Mehlich-3 (Mehlich, 1984). No Estado de São Paulo, Cancela (2002) encontrou, pelo método DTPA-TEA, concentrações variando de 0,01 a 1,21 mg kg⁻¹, com média de 0,56 mg kg⁻¹ de Pb, e com o método Mehlich-3, concentrações superiores, variando de 0,84 a 1,99, com média de 1,44 mg kg⁻¹. Contudo, Wallace & Wallace (1994) encontraram valores de Pb extraído pelo DTPA-TEA de aproximadamente 20 mg kg⁻¹, bem mais elevados que aqueles encontrados por Cancela (2002).

Para que o extrator seja considerado eficiente em detectar o teor fitodisponível, ele deverá apresentar altas correlações entre o teor de Pb no solo e o seu teor na planta. Abreu et al. (1995 e 2002) relatam que, em solos não contaminados, o uso de extratores químicos na avaliação da fitodisponibilidade de Pb é desanimador independentemente da categoria do extrator. Tal fato está principalmente relacionado com os baixos teores de metais encontrados em solos não contaminados, causando problemas analíticos pela dificuldade em sua determinação. Por outro lado, em solos contaminados, as soluções de DTPA-TEA e de Mehlich-3 foram promissoras para avaliar a fitodisponibilidade do Pb para alface, capim braquiária, napiê e sapé (ABREU et al., 1998; ABREU et al., 2002). Esses autores obtiveram correlação significativa entre os teores de Pb extraídos por DTPA e Mehlich-3 e a concentração de Pb na parte aérea dessas espécies.

A especiação da solução do solo mostra a distribuição dos elementos entre suas

várias formas químicas e os seus possíveis estados de oxidação. Essa distribuição inclui íons livres, complexos, pares iônicos e quelatos em solução que influenciam a reatividade, a mobilidade e a disponibilidade dos elementos. Para os MPs, os íons livres são, provavelmente, as espécies mais disponíveis para as plantas e para a comunidade microbiana, enquanto que os complexos com MPs são, geralmente, importantes para a mobilidade desses elementos (CHANEY, 1988). A solubilidade de Pb dependerá da espécie iônica que conforme Cao et al. (2003), obedece a seguinte ordem: $PbO > PbCO_3 > Pb_3(CO_3)_2(OH)_2 > PbSO_4 > PbHPO_4 > Pb_5(PO_4)_3OH > Pb_5(PO_4)_3Cl$. A solubilidade do complexo iônico na solução do solo está diretamente relacionada à disponibilidade e a absorção do metal pela planta.

Portanto, em solos contaminados cuja concentração de um determinado elemento está muito alta na solução do solo, torna-se importante determinar as espécies iônicas presentes na solução do solo para quantificar sua mobilidade no solo e sua disponibilidade às plantas.

Poucos trabalhos científicos relatam sobre as formas disponíveis de Pb bem como sua espécie química na solução do solo (TILLS & ALLOWAY, 1983; SAUVÉ et al., 1997; SAUVÉ et al., 1998; PERCIVAL et al., 1999; WU et al., 2000). Isto de acordo com Tills & Alloway (1983) deve-se principalmente à dificuldade de se medir baixas concentrações do Pb em sistemas aquosos. Os mesmos autores comentam que as baixas concentrações do Pb na fase aquosa em relação ao teor total no solo, deve-se a complexação, à baixa solubilidade e à relativa característica de imobilidade deste elemento nos solos.

A determinação das espécies iônicas de Pb em solução pode ser feita diretamente empregando eletrodos seletivos, resina de troca de íons, íon seletivo, ultrafiltração e separação por tamanho (SAUVÉ et al., 1998 e WU et al, 2000), ou ainda, indiretamente usando modelador geoquímico computacional (*softwares*) que estimam as espécies iônicas. Estes

modeladores são “alimentados” por variáveis como pH e concentração dos principais ligantes orgânicos e inorgânicos (WOLT, 1994 e SPARKS, 1995). Dentre os diversos *softwares* existentes estão GEOCHEM-PC (PARKER et al. 1995) e *visual-MINTEQ* (GUSTAFSSON, 2004). Yong & Galvez-Cloutier (1993), utilizando o modelador MINTEQ, compararam as formas de Pb precipitadas e dissolvidas na solução de solo, em diferentes valores de pH. Eles observaram que entre os valores de pH 1,0 e 5,0 o Pb estava totalmente dissolvido; em pH 6,0, aproximadamente 70% deste elemento encontrava-se precipitado e o restante dissolvido nas formas de Pb^{2+} , $PbCl^+$, $PbNO_3^+$, $PbOH^+$ e $Pb(OH)_2^0$. Em pH 8,0, o Pb encontrava-se totalmente precipitado. Percival et al. (1999) analisando a especiação do Pb na solução do solo com modelador GEOCHEM-PC, na concentração de 100 mmol kg^{-1} de $Pb(NO_3)_2$, em pH 6,0, verificaram que 43,1% deste metal encontrava-se livre; 56,9% em pares iônicos e destes, 55,8% ligado a NO_3^- , 1,0% a Cl^- e, 0,1% ligado a SO_4^{2-} .

A concentração do Pb na solução do solo é inversamente proporcional ao valor de pH. Em baixo pH, 3,9-4,7, o Pb foi encontrado principalmente na forma Pb^{2+} , forma iônica livre; em solo cálcico, pH 7,4, as espécies iônicas predominantes foram $PbCO_3^0$ e $PbHCO_3^+$ (TILLS & ALLOWAY, 1983). Em solos com pH de 6,02 a 8,25, contaminado por Pb e outros metais, Wu et al. (2000) observaram que a forma predominante de Pb na solução do solo foi $Pb_3(OH)_4^{2+}$ seguida por Pb_2OH^{3+} , usando modelador MINEQL. Em condições hidropônicas, com concentrações do quelante EDTA variando de 0,0 a $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$, a forma de Pb ligado ao ácido EDTA predominou sobre a forma Pb^{2+} (VASSIL et al., 1998). Esses autores verificaram que o Pb complexado com EDTA foi a forma mais absorvida por plântulas de mostarda indiana.

2.3 Fitorremediação e Fitoextração

Embora com algumas variações conceituais, a fitorremediação é uma estratégia de

biorremediação que consiste de procedimentos envolvendo o emprego de plantas e da microbiota, associadas ou não ao uso de amenizantes do solo, além de práticas agronômicas que, se aplicadas em conjunto, removem, imobilizam ou tornam os contaminantes inofensivos ao ecossistema (ACCIOLY & SIQUEIRA, 2000). De acordo com revisão feita por estes autores, a fitorremediação envolve os processos conceituados nos seguintes itens; a) fitoestabilização - visa reduzir o potencial de dano ao meio ambiente pela redução da mobilidade e disponibilidade do contaminante no solo usando processos de precipitação, complexação, humificação e lignificação, prevenindo a entrada do contaminante nas águas subterrâneas ou na cadeia alimentar. As pesquisas sobre esta técnica estão direcionadas para o desenvolvimento de plantas que produzem grande quantidade de massa de raízes, capazes de imobilizar contaminantes sem transportá-los para a parte aérea; b) fitodescontaminação – visa a retirada ou a transformação do contaminante englobando processos de fitodegradação, fitovolatilização, fitoestimulação e fitoextração.

A fitoextração é a técnica que emprega o uso de plantas especializadas em acumular altas taxas de MPs em seus tecidos como: $> 10.000 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn e Mn; $> 1.000 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb, Ni e Cu; $> 100 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd (RASKIN et al., 1994). Para o Pb, conforme HUANG et al. (1997), esta técnica busca reduzi-lo a níveis aceitáveis no solo em um tempo razoável de 3-20 anos. Para alcançar esse objetivo é necessário, entre outros aspectos, obter espécies/cultivares hábeis em acumular mais que 1% de Pb na parte aérea, produzindo mais que 20 t de massa aérea $\text{ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$.

Esta tecnologia de baixo custo tem um grande potencial para remediação *in situ* de grandes áreas contaminadas (CHANEY et al., 2000; ROBINSON et al., 2003; TANDY et al., 2004), com baixo ou médio nível de contaminação (SCHIMIDT, 2003). É considerada uma opção viável e pode satisfazer regulamentos ambientais e, simultaneamente, ser uma das

tecnologias mais eficientes em relação ao custo/benefício, tanto sozinha quanto combinada com outra tecnologia de remediação (ROBINSON et al., 2003). Essa técnica possui outros benefícios como a manutenção da fertilidade do solo e a grande aceitação pública por ser uma tecnologia ‘verde’, além de ter como principal fonte de energia a luz solar (KHAN, 2000; ROBINSON et al., 2003; USEPA 2004b). O estudo e a exploração comercial de plantas fitoextratoras encontram-se bastante avançados nos países mais desenvolvidos e com políticas ambientais sérias. Porém, no Brasil, é ainda pouco explorada.

O sucesso da fitoextração é dependente de alguns fatores (ERNEST, 1996): grau de contaminação do metal no solo; biodisponibilidade do metal; e capacidade das plantas em acumularem o metal na parte aérea. Além da quantidade total ou do grau da contaminação do elemento tóxico (fator quantidade), a atividade do elemento na solução do solo (fator intensidade) e o percentual de transferência do elemento da fase sólida para líquida e para as raízes das plantas (cinética da reação) são fatores importantes (SCHIMIDT, 2003).

Outros fatores desejáveis para fitoextração são as elevadas produções de biomassa e a alta taxa de translocação de metal das raízes para parte aérea (HUANG et al., 1997 e BLAYLOCK et al., 1997; CHANTACHON, 2002). Jarvis & Leung (2001) relataram que a maioria das plantas tende a acumular o Pb nas raízes, restringindo sua translocação para a parte aérea. Salido et al. (2003) concluem que para o sucesso da fitorremediação o tempo de crescimento, o clima, a profundidade das raízes e a condição química do solo são importantes.

Estudos comprovaram a eficiência de muitas espécies vegetais empregadas na fitoextração de MPs no solo, existindo aproximadamente 400 espécies hiperacumuladoras de diversos MPs (CHANEY et al., 2000; LASAT, 2002). Henry (2000) cita que as famílias *Brassicaceae*, *Euphorbiaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae* e *Scrophulariaceae* possuem potencial em acumular Pb. A mostarda indiana (*Brassica juncea*) é uma das espécies citadas com

grande sucesso na fitorremediação de Pb (HUANG, 1997; SCHMIDT, 2003). Ressalta-se que, até então, a maioria das espécies foi avaliada em condições de clima temperado. Estudos envolvendo espécies fitoextratoras de Pb em condições tropicais ainda são incipientes. Zeitouni (2003), testando mamona, girassol, pimenta e tabaco como fitoextratoras de metais em solos do Estado de São Paulo, concluiu que nenhuma dessas espécies foi eficaz para Pb. Schimidt (2003) relata que, apesar do girassol (*Helianthus annuus*) apresentar baixa produção de biomassa, pode acumular mais de 5 g kg⁻¹ de Pb na matéria seca, demonstrando boas perspectivas para fitoextração. De maneira geral, as monocotiledôneas são menos eficientes na fitoextração de metais pesados quando comparadas às dicotiledôneas (HUANG & CUNNINGHAM, 1996). Esses autores relatam que dentre as onze espécies testadas, incluindo mono e dicotiledôneas, o milho (*Zea mays*) foi mais eficiente na fitoextração de Pb. Huang et al. (1997) obtiveram uma concentração de 3.000 mg kg⁻¹ de Pb na parte aérea do milho crescido em solo contaminado com 2.500 mg kg⁻¹ de Pb.

Um das principais dificuldades da fitoextração está em manter alta as concentrações de Pb na solução do solo (BLAYLOCK et al., 1997; HUANG et al., 1997; EPSTEIN et al., 1999; JARVIS & LEUNG, 2001; SHEN et al., 2002). Huang et al. (1997), verificaram que a maioria dos solos estudados apresentaram, na solução do solo, teores de Pb menores que 0,1% do teor total, limitando a fitoextração. Alguns autores como Shen et al. (2002) e Vassil et al. (1998) têm sugerido a utilização de agentes quelantes que podem dessorver o MP da matriz do solo para formar complexo solúvel, na solução do solo, aumentando a absorção pelas plantas. O aumento de Pb na solução do solo está diretamente associado ao seu aumento no xilema das plantas, a translocação das raízes para a parte aérea e à acumulação nas plantas. Isso ocorre porque o quelante mantém constante o suprimento de Pb livre para absorção pelas raízes (HUANG et al., 1997).

A dinâmica de absorção do Pb pelas plantas, com a adição de quelantes no solo, ainda vem sendo esclarecida. Epstein et al. (1999) comentam que existem duas vertentes sobre a absorção de Pb, sendo que a predominante acredita que somente o metal livre é absorvido e translocado para parte aérea, permanecendo o quelante na solução do solo. A outra corrente, reforçada por estudos recentes, acredita que o quelante é absorvido com o Pb e translocado para parte aérea, embora ainda permaneçam indefinidos os caminhos e mecanismos de absorção e translocação do complexo (HUANG & CUNNINGHAM, 1996; BLAYLOCK, et al., 1997; EPSTEIN et al., 1999; VASSIL et al., 1998; CRIST et al., 2004). Vassil et al. (1998), utilizando [¹⁴C]EDTA, confirmaram esta teoria de absorção e translocação do complexo Pb-EDTA pela mostarda indiana (*Brassica juncea*). Crist et al. (2004), conduzindo ensaios em condições hidropônicas, assim como Vassil et al. (1998) relatam que Pb-EDTA foi a forma predominante, mais rapidamente absorvida e translocada, prevalecendo sobre a forma Pb²⁺.

Existem vários agentes quelantes tais como EDTA, HEDTA, EGTA, DTPA, EDDHA, EDDS (HUANG et al., 1997 e LESTAN & GRCMAN 2002) que podem ser aplicados ao solo com a finalidade de complexar os metais. Contudo, importantes fatores devem preceder a escolha do quelante: o reagente deve formar complexos estáveis; a biodegradabilidade do agente quelante e metal devem ser baixas; o complexo metálico formado não deve ser adsorvido na superfície do solo; o agente quelante deve ter baixa toxicidade e potencial de dano ao meio ambiente; e o agente quelante deve ter boa relação custo/benefício (PETERS & SHEM, 1995).

Com relação ao Pb, os quelantes mais importantes são o EDTA e o HEDTA (HUANG et al., 1997). Tandy et al. (2004) descreveram a seguinte ordem de complexação de Pb: EDTA>NTA>EDDS, confirmando a maior eficiência do EDTA. Resultados semelhantes

foram observados por outros autores como Ebbs & Kochian (1998), Chen & Cutright (2001), Shen et al. (2002). Lasat (2002) observou que o milho e a mostarda indiana, crescidos na presença deste quelante, foram mais eficientes em remover o Pb do solo. De acordo com Tandy et al. (2004), o EDTA pode aumentar de 45 a 100 % a eficiência de remoção do Pb de solos contaminados. Conforme Shen et al. (2002) a concentração de Pb na solução do solo aumentou de 15,2 mg L⁻¹ para mais de 9.000 mg L⁻¹ quando acrescentado 1,5 mmol kg⁻¹ de EDTA em solo que apresentava teor total de 10.600 mg kg⁻¹ de Pb. Contudo, a eficiência desse quelante pode ser reduzida pela presença de outros elementos que possuem afinidade por ele tais como: Fe²⁺, Cu²⁺, Al³⁺, Cd²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, Co²⁺, diminuindo substancialmente a quantidade de EDTA livre (GEEBELEN et al., 2002).

Devido à forte afinidade do EDTA por Pb, o complexo Pb-EDTA mostra-se como o complexo metálico predominante em muitos solos com pH entre 5,2 e 7,7, dependendo da forma específica presente no solo (SOMMERS apud EPSTEIN, 1999). Resultados obtidos por cientistas em outros países mostraram a importância do EDTA no aumento da concentração de Pb na parte aérea de diversas culturas (Tabela 1).

Tabela 1. Concentração de Pb na parte aérea de algumas espécies cultivadas sob diferentes níveis de Pb e EDTA aplicados ao solo.

Planta	Pb total	EDTA	Concentração de Pb na parte aérea		Referência
			Sem quelante	Com quelante	
	mg kg ⁻¹		mg kg ⁻¹ de matéria seca		
Milho	2.500	0,5 g kg ⁻¹	≈ 100	3.000	HUANG et al., (1997)
Ervilha	2.500	0,5 g kg ⁻¹	≈ 100	11.000	HUANG et al., (1997)
Centeio perene	6.750	4,0 g kg ⁻¹	--	24.000	SCHIMIDT, (2003)
Repolho	10.600	3,0 mmol kg ⁻¹	126	5.010	SHEN et al., (2002)
Feijão	10.600	3,0 mmol kg ⁻¹		1.170	SHEN et al., (2002)
Trigo	10.600	3,0 mmol kg ⁻¹	80	2.650	SHEN et al., (2002)
Mostarda indiana	550	7,0 mmol kg ⁻¹	13	167	TASSI et al., (2003)
Tremoço branco	550	7,0 mmol kg ⁻¹	2	625	TASSI et al., (2003)
Nabo	1.100	10,0 mmol kg ⁻¹	8	757	LESTAN & GRGMAN, (2002)
Mostarda indiana	600	0,5 mmol kg ⁻¹	≈ 100	≈ 5.000	BLAYLOCK et al., (1997)

A capacidade de remoção do Pb do solo é dependente da espécie vegetal. Em solo de região tropical, Zeitouni (2003) obteve um incremento de 290% na extração de Pb pelas culturas de tabaco, girassol, mamona e pimenta, após aplicar 1 mmol kg^{-1} de EDTA no solo. Huang et al. (1997) compararam o efeito de diversos agentes quelantes na absorção de Pb pelas plantas de milho (*Zea mays* L. cv. Fiesta) e de ervilha (*Pisum sativum* L. cv. Sparkle) crescidas em solos contaminados, com teor total de 2.500 mg kg^{-1} de Pb, em pH 5,5. Adicionando $0,5 \text{ g kg}^{-1}$ de EDTA no solo houve um aumento de mais de 3.000 mg kg^{-1} de Pb na parte aérea do milho e de até $11.000 \text{ mg kg}^{-1}$ na parte aérea da ervilha, evidenciando um aumento na translocação de Pb das raízes para parte aérea.

Estudos realizados por Tassi et al. (2003) em solo contaminado com 550 e 35 mg kg^{-1} Pb e As, respectivamente, demonstraram a influência positiva da adição de EDTA na absorção desses elementos. Na presença de EDTA, a mostarda indiana, foi mais eficiente na absorção do As, enquanto que o tremoço (*Lupinus albus*) na absorção do Pb. Conforme Schimidt (2003), o centeio perene, foi capaz de acumular $24.000 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb na parte aérea, após a adição de 4 g kg^{-1} de EDTA em solo com teor total de Pb de 6.750 mg kg^{-1} .

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, nas dependências da sede do Instituto Agrônomo, usando amostra de LATOSSOLO VERMELHO Distrófico (EMBRAPA, 1999), Campinas, São Paulo, coletada na camada de 0-20 cm de profundidade, com características físicas e químicas mostradas na tabela 2. A amostra de solo foi seca ao sol e peneirada em malha de 2,0 mm recebendo corretivo de acidez, Ca(OH)_2 e $\text{MgCO}_3 \cdot \text{Mg(OH)}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (P.A.), na proporção de 4:1 mol de Ca:Mg, com o objetivo de elevar o V% a 70. Após calagem, a amostra de solo permaneceu incubada, mantendo-se a umidade próxima a capacidade de campo, por 30 dias para completa reação do corretivo.

Tabela 2. Análise química e física do LATOSSOLO VERMELHO Distrófico.

Análise química, antes da aplicação do calcário (RAIJ & QUAGGIO, 1983)

M.O	P	pH	K	Ca	Mg	H+Al	S.B	C.T.C	V	B	Cu	Fe	Mn	Zn	Cd	Cr	Ni	Pb
g dm^{-3}	mg dm^{-3}		mmol, dm^{-3}						%	mg dm^{-3}								
24	3,0	4,2	1,2	3,0	2,0	42,0	6,2	48,5	13	0,29	2,0	33,0	6,5	0,8	0,1	<0,01	<0,01	0,78

Análise granulométrica (CAMARGO et al., 1986)

Argila	Silte	Areia Grossa	Areia Fina	Areia Total	Classificação Textural
% —————					
35,5	2,8	45,3	16,4	61,7	Argiloarenosa

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6 x 2 (seis doses de Pb, presença e ausência de EDTA), com três repetições, totalizando 12 tratamentos e 36 parcelas experimentais, sendo que cada parcela foi constituída por um vaso contendo 3 L de solo. As doses de Pb, aplicadas na forma de $\text{Pb(NO}_3)_2$, foram, em mg kg^{-1} de Pb, de: 0, 100, 200, 350, 1.200 e 2.400. Essas doses equivalem aos níveis de alerta, intervenção em área agrícola, residencial, industrial e dobro do nível industrial, conforme valores orientadores determinados pela Cetesb (2001). Esses tratamentos permaneceram incubados por um período de 5 meses com umidade próxima à capacidade de campo. Em seguida, para balancear o nitrogênio contido nas diferentes doses de $\text{Pb(NO}_3)_2$, foi adicionado NH_4NO_3 , tendo-se como referência a maior dose. Foram aplicados 324, 310, 297, 276, 162 e

0 mg kg⁻¹ de NH₄NO₃ respectivamente para as doses 0, 100, 200, 350, 1200 e 2400 mg kg⁻¹ de Pb.

Após o período de incubação das amostras de solo com o Pb, fez-se uma adubação contendo macro e micronutrientes. Para P, K, S, B, Cu, Mn e Zn foram utilizadas as seguintes fontes e doses (mg kg⁻¹): 360 de P₂O₅, 100 de KCl, 30 de S, 0,5 de Na₂B₄O₇, 1 de CuSO₄, 8 de MnCl₂ e 2 de ZnSO₄. O fosfato granulado e o enxofre em pó foram aplicados e homogeneizados ao solo. Os demais elementos foram aplicados em forma de solução, facilitando a distribuição e a homogeneização desses elementos.

Em seguida, aplicou-se o EDTA dissódico na dose de 0,5 g kg⁻¹ de solo, em metade das parcelas, permanecendo incubado por 15 dias. A outra metade não recebeu EDTA.

Após a incubação e antes do plantio das diferentes espécies, foi coletada uma amostra de solo, em cada vaso, que foi submetida às seguintes análises:

USEPA 3051: 500 mg do solo seco e moído, em moinho de facas, foram colocados em frascos de digestão adicionando-se 10 mL de HNO₃ (65%), deixando em repouso por 15 minutos. Fez-se a seguinte programação do forno de microondas: potência 260 W, pressão de 415 kPa, TAP (tempo na pressão) 10 minutos, tempo 15 minutos (USEPA, 2004a).

DTPA: dietilenotriaminopentaacético + trietanolamina + cloreto de cálcio (DTPA 0,005 mol L⁻¹ + TEA 0,1 mol L⁻¹ + CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ a pH 7,3) conforme Lindsay & Norvel (1978) – 10 cm³ de solo + 20 mL de solução extratora, agitação por 2 horas.

Mehlich-3: (CH₃COOH 0,2 mol L⁻¹ + NH₄NO₃ 0,25 mol L⁻¹ + NH₄F 0,015 mol L⁻¹ + HNO₃ 0,015 mol L⁻¹ + EDTA 0,001 mol L⁻¹ a pH 2,5) descrita por Mehlich (1984) – 5 cm³ de solo + 20 mL da solução extratora, agitação por 5 minutos.

Pasta de saturação: água deionizada + 0,5 kg de solo, misturados até ponto de saturação descrito por Wolt (1994). A pasta foi filtrada em funil de *Buechner* com papel de filtragem lenta e o extrato sucçãoado em Erlenmeyer por bomba de vácuo durante 2 horas.

Em cada extrato fez-se a leitura de Pb por espectrometria de emissão por plasma (ICP-OES). No extrato da pasta de saturação, além do teor de Pb, foram quantificados os teores de Cl^- , NO_3^- , NH_4^+ , SO_4^{2-} , PO_4^{2-} , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Al^{3+} , a CE e o pH. O Cl^- foi determinado com eletrodo seletivo (3 mL solução do solo + 9 mL solução tampão pH 4,7); NO_3^- e NH_4^+ , pelo método de Kjeldahl, descrito por Cantarella & Trivelin (2001); SO_4^{2-} , PO_4^{2-} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Pb^{2+} e Al^{3+} foram determinados por espectrometria de emissão por plasma (com devido cálculo estequiométrico para S e P); Ca^{2+} e Mg^{2+} foram determinados usando a técnica de absorção atômica; K^+ por fotometria de chama; CE e pH determinados usando condutivímetro e pHmetro, respectivamente. No caso específico do EDTA, considerou-se toda quantidade aplicada no solo, $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$, dissolvida na solução do solo. Todos os dados foram submetidos ao modelador geoquímico *visual-MINTEQ 2.30* (GUSTAFSSON, 2004) para obtenção da distribuição porcentual das espécies iônicas na solução do solo.

Quinze dias após o período de incubação com EDTA, em experimentos distintos, fez-se o plantio das seguintes espécies:

Girassol (*Helianthus annuus* L.) IAC-Uruguaí: Sementes de girassol foram postas para germinar em bandejas de polipropileno expandido, contendo substrato a base de casca de pinus e fibra de coco que havia recebido uma solução nutritiva contendo macro e micronutrientes. Vinte dias após a germinação, em 20 de fevereiro de 2004, três plântulas uniformes de girassol foram transplantadas para cada vaso com capacidade de 3 dm^3 (parcela). Durante a condução do ensaio, a umidade do solo foi mantida usando água

destilada, por capilaridade por meio de um pavio em contato com reservatório de água e solo. Fez-se duas adubações nitrogenadas de cobertura, no primeiro e no sétimo dias de cultivo. O N foi aplicado em solução na dose de 30 mg de N vaso⁻¹, usando como fonte o NH₄NO₃.

Feijão-de-Porco (*Canavalia ensiformis*): Vinte quatro sementes de feijão foram semeadas em vasos com capacidade de 3 dm³ (parcela). O desbaste foi realizado uma semana após a semeadura, 05 de julho de 2004, deixando-se 6 plantas por vaso. A umidade do solo foi mantida por meio de pesagens diárias dos vasos. A adição de água, quando necessária, objetivou manter 70% do volume total de poros ocupados com água. Algumas aplicações de inseticida natural *neem* (*Azadirachta indica*) foram necessárias para controle de lagartas de folha. A colheita da parte aérea foi feita aos 90 dias após o plantio.

Milho (*Zea mays*) IAC-8333: o plantio e tratos culturais para milho foram os mesmos do feijão-de-porco. No entanto, a colheita da parte aérea do milho foi realizada aos 45 dias após o plantio.

A parte aérea das três espécies foi lavada com água corrente, com solução 1% de HCl e água destilada, e seca em estufa a 70 °C com circulação de ar, até atingir peso constante. Em seguida, as plantas foram pesadas e trituradas em moinho tipo *Wiley* e submetidas à análise química para determinação de Pb, macro e micronutrientes. Para o girassol, utilizou-se o método de digestão com HNO₃/H₂O₂ em forno de microondas (ABREU, 1997), e para o feijão-de-porco e o milho, empregou-se a digestão via seca conforme Abreu (1997). Nos extratos, fez-se a leitura de P, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn, Al, Cd, Cr, Ni e Pb por espectrometria de emissão por plasma ICP-OES. Na determinação do Pb fez-se a correção interelementos buscando eliminar a interferência do Al. O K foi determinado por fotometria de chama.

HNO₃/H₂O₂: 500 mg de material vegetal foram colocados em frascos de Teflon. Em cada frasco adicionou-se 1,0 mL de ácido nítrico e 2,0 mL de peróxido de hidrogênio (30%), deixando-se em pré-digestão por 30 minutos. Logo a seguir, fez-se o fechamento de válvulas de segurança e a programação do forno de microondas: Etapa 1: potência 296 W, pressão 415 kPa, tempo 10 min, TAP (tempo na pressão) 4 minutos; Etapa 2: potência 565 W, pressão 553 kPa, tempo 15 minutos, TAP 8 minutos (ABREU, 1997).

Via Seca: 1,0 g de material vegetal seco foi incinerado, em mufla a uma temperatura de 500°C, por 3 horas. Depois, adicionaram-se 5,0 mL de HCl 6 mol L⁻¹ cuja a evaporação da solução foi feita em chapa elétrica. O resíduo foi dissolvido em 10 mL de HCl 2 mol L⁻¹ e transferido para balão volumétrico de 50 mL, completando o volume com água. Fêz-se a filtração da solução usando papel de filtro - faixa azul (ABREU, 1997).

Os resultados foram submetidos à análise de variância e regressão com modelo linear ou polinomial, escolhendo-se o modelo de maior significância (*p<0,05 ou **p<0,001). Para isto, utilizou-se o *software* ESTAT v.2.0. (ESTAT, 1992).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Girassol (*Helianthus annuus*)

4.1.1 Potencial fitoextrator do girassol

A produção de massa seca da parte aérea do girassol nos tratamentos que receberam EDTA foi inferior aos que não receberam esse quelante (Figura 1). Na ausência de EDTA, observou-se uma diminuição na massa seca das plântulas com o aumento das doses de Pb. Provavelmente, nas doses de 1.200 e 2.400 mg kg⁻¹ o Pb foi tóxico para o girassol. Conforme Kabata Pendias & Pendias (1984) a faixa tóxica de Pb na parte aérea, para maioria das plantas, está entre 30 a 300 mg kg⁻¹. Nos tratamentos 1.200 e 2.400 mg kg⁻¹ de Pb, na ausência de EDTA, as concentrações na parte aérea foram de 52 e 85 mg kg⁻¹, respectivamente.

Por outro lado, para os tratamentos que receberam EDTA houve um aumento da massa seca com o aumento das doses de Pb (Figura 1). Chama atenção que nas duas primeiras doses (0 e 100 mg kg⁻¹), com o passar de quinze dias, o girassol apresentou folhas cloróticas com pontos necróticos principalmente nas folhas mais velhas. Esses pontos foram acentuando-se até a morte das plantas, razão pela qual o experimento foi encerrado nesta época. Zeitouni (2003) observou sintomas semelhantes em plantas de pimenta e de girassol crescidas na presença de 12 mg kg⁻¹ de Pb e 1 mmol kg⁻¹ de EDTA no solo, que apresentaram murcha e queda das folhas mais velhas. Vassil (1998) observou que as lesões necróticas estão associadas com a baixa quantidade de água presente no tecido das plantas devido à presença de EDTA. Além disso, as necroses observadas no girassol, principalmente nas doses 0 e 100 mg kg⁻¹, podem estar relacionadas com os altos teores de Fe na parte aérea. Os teores de Fe na parte aérea, nas duas primeiras doses, estavam ao redor de 700 mg kg⁻¹, ou seja, 580% maior que a faixa de suficiência do Fe para o girassol que é de 80-120 mg kg⁻¹ segundo Bissani et al.

(2004) (Figura 2). Este alto teor na parte aérea deve-se ao alto teor desse elemento na solução do solo o que sugere uma fitotoxicidade causada por Fe nos tratamentos que receberam EDTA, que será detalhado mais adiante.

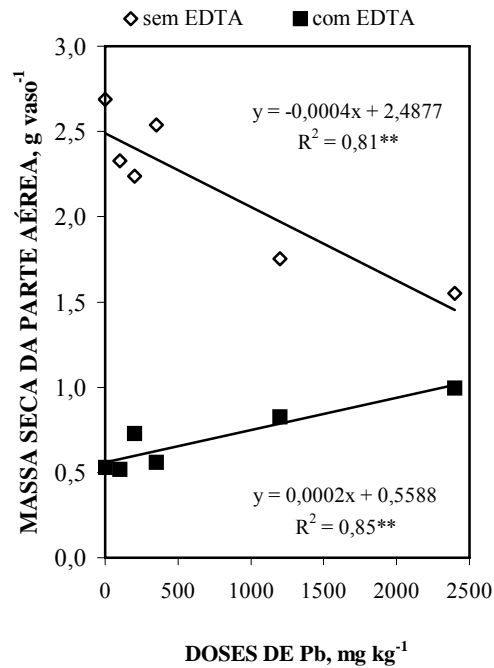


Figura 1. Efeito da aplicação de doses crescentes de Pb ao solo e da aplicação ou não de EDTA na produção de massa seca da parte aérea do girassol.

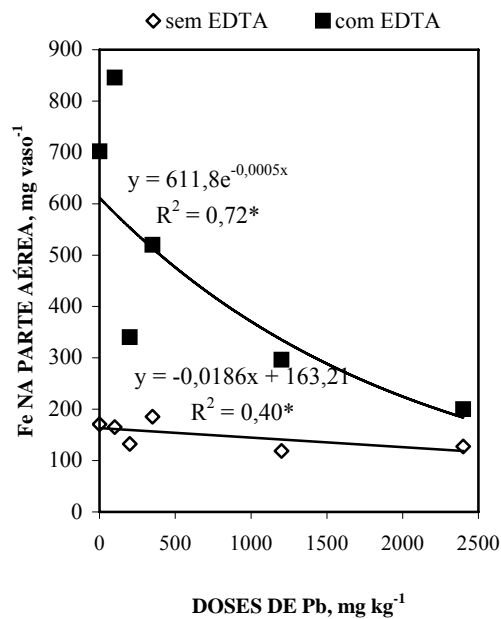


Figura 2. Efeito da aplicação de doses crescentes de Pb ao solo e da aplicação ou não de EDTA na concentração de Fe parte aérea do girassol.

Quanto à concentração de Pb na parte aérea, observou-se que, na ausência do quelante, a máxima foi de $99,6 \text{ mg kg}^{-1}$, conforme ajuste quadrático (Figura 3). Por outro lado, na presença do quelante, houve uma tendência crescente na concentração de Pb na parte aérea até a dose de 1.200 mg kg^{-1} , concentrando 1.634 mg kg^{-1} de Pb, havendo um decréscimo na última dose. Resultados semelhantes foram obtidos por Huang et al. (1997). Eles observaram um aumento de 100 mg kg^{-1} para $11.000 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb na cultura de ervilha, crescida em solo com 2.500 mg kg^{-1} de Pb no solo, na presença de $0,5 \text{ g kg}^{-1}$ de EDTA. De acordo com Tandy et al. (2004) o EDTA pode aumentar em 45 a 100 % a eficiência de remoção do Pb de solos contaminados. Zeitouni (2003) observou um aumento de 290% na absorção de Pb por plantas de pimenta, tabaco e mamona quando acrescentado 1 mmol kg^{-1} de EDTA no solo. Neste experimento, os aumentos percentuais proporcionados pela aplicação do EDTA foram de 760, 2.132, 1.121,1, 1.460, 2.795 e 1.217% para as doses 0, 100, 200, 350, 1.200 e 2.400 mg kg^{-1} de Pb, respectivamente. Tal fato demonstra a importância do complexante no aumento da absorção de Pb pelas plantas. Segundo Vassil et al. (1998) o quelante pode desorver o MP da matriz do solo para formar complexo solúvel, na solução do solo, aumentando sua absorção pelas plantas.

Tanto a concentração de Pb quanto o Pb acumulado na parte aérea do girassol foram maiores nos tratamentos que receberam EDTA (Figuras 3 e 4). Nota-se que as plantas crescidas nas doses de 1.200 e de 2.400 mg kg^{-1} que receberam EDTA foram as que mais acumularam Pb (Figura 4). O decréscimo no Pb acumulado na última dose na presença de EDTA deve-se a menor concentração de Pb nesta dose (Figura 3).

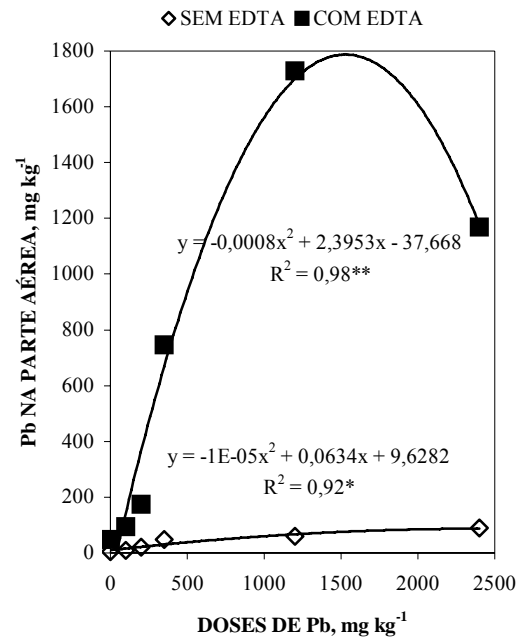


Figura 3. Relação entre as doses de Pb aplicadas ao solo com a concentração de Pb na parte aérea do girassol, na ausência e na presença do EDTA.

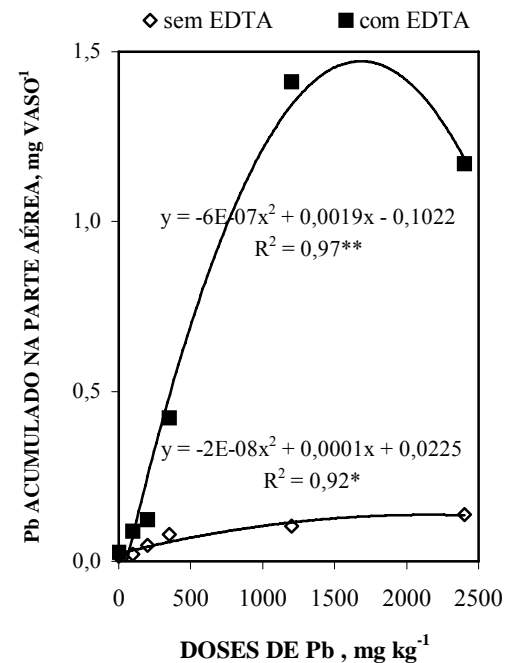


Figura 4. Relação entre as doses de Pb aplicadas ao solo e o Pb acumulado na parte aérea do girassol, na ausência e na presença do EDTA.

O potencial de uma espécie vegetal em fitorremediar solos contaminados pode ser avaliado de diferentes maneiras. Conforme Raskin et al. (1994) plantas hiperacumuladoras de

Pb são aquelas capazes de extrair e acumular em seus tecidos valores superiores a 1.000 mg kg⁻¹ de massa seca. Considerando esse critério, o girassol pode ser considerado uma planta hiperacumuladora de Pb, uma vez que nas doses de 1.200 e de 2.400 mg kg⁻¹ de Pb os teores desse elemento na massa seca da parte aérea estiveram acima de 1.000 mg kg⁻¹.

Outra maneira de se avaliar o potencial fitoextrator da espécie vegetal é o fator de transferência (t), definido como a razão entre a concentração total do contaminante na planta e a concentração total do contaminante no solo, proposta por Lubben e Sauerbeck apud Accioly e Siqueira (2002). Valores elevados de t são desejáveis para fitoextração. Os valores de t para as doses de 100, 200, 350, 1.200 e 2.400 mg kg⁻¹ foram respectivamente 2,02; 1,27; 2,13; 1,44 e 0,48. A mostarda (*Brassica juncea*), em outros países, é sempre citada como uma espécie de sucesso na fitorremediação de Pb. De acordo com Henry (2000) o valor t para o Pb obtido em plantas de mostarda indiana foi de 1,7. Os valores obtidos neste experimento foram próximos ou superiores ao encontrado por esse autor, exceto na última dose, o que mostra o bom potencial do girassol para fitorremediação de locais contaminados por Pb.

4.1.2 Pb disponível no solo

As equações de regressão para as doses de Pb aplicadas ao solo e o teor de Pb extraído pelos extratores Mehlich-3, DTPA e a pasta de saturação foram significativas, com valores de R² acima de 0,94, tanto na presença quanto ausência de EDTA (Tabela 3). Isto indica que todos os extratores foram eficientes em detectar o Pb aplicado ao solo. Para os extratores Mehlich-3 e o DTPA o ajuste foi linear crescente e, para a pasta de saturação quadrático (Tabela 3).

Tabela 3. Equação de regressão entre Pb extraído por Mehlich-3, DTPA e pasta de saturação e, doses de Pb aplicadas ao solo, na presença e na ausência de EDTA; onde y é o teor de Pb, em mg kg^{-1} , extraído por cada método e x é a dose de Pb aplicada ao solo, mg kg^{-1} .

Extrator	Equação de regressão	R ²
Sem EDTA		
Mehlich-3	$y = 0,70 x + 44,66$	0,99**
DTPA	$y = 0,54 x + 33,83$	0,99**
Pasta de saturação	$y = 0,000003 x^2 - 0,003 x + 0,12$	0,99**
Com EDTA		
Mehlich-3	$y = 0,76 x + 65,03$	0,97**
DTPA	$y = 0,95 x - 57,40$	0,98**
Pasta de saturação	$y = -0,0003 x^2 + 0,82 x + 54,35$	0,94*

Para que um extrator seja considerado eficiente em avaliar a disponibilidade de Pb ele deverá prever o Pb extraído pela planta. Deste modo, verifica-se que os extratores Mehlich-3 e DTPA foram eficientes em avaliar o Pb disponível para as plantas de girassol, pois, tanto na ausência quanto na presença do EDTA, os valores de R² foram significativos e superiores a 0,91 (Figuras 5 e 6). Independentemente do extrator utilizado a relação entre Pb-solo e Pb-planta foi afetada pela aplicação do EDTA. Sem o quelante, notou-se que a concentração de Pb na planta pouco variou em função dos teores de Pb extraídos por Mehlich-3 ou DTPA. Por outro lado, na presença do quelante EDTA, a concentração sofreu grande variação em função dos teores de Pb extraídos por estes métodos, atingindo uma concentração máxima de $1.633,2 \text{ mg kg}^{-1}$ para o Mehlich-3 e de $2.093,8 \text{ mg kg}^{-1}$ para o DTPA (Figuras 5 e 6). Chama atenção que se for eliminada a última dose de Pb aplicada, para os tratamentos que receberam EDTA, o ajuste da equação passa a ser linear; sendo: $y = 0,7118 x + 9,03$ ($R^2=0,998$) para o extrator Mehlich-3 e $y = 0,992 x - 1,0983$ ($R^2=0,999$) para o DTPA.

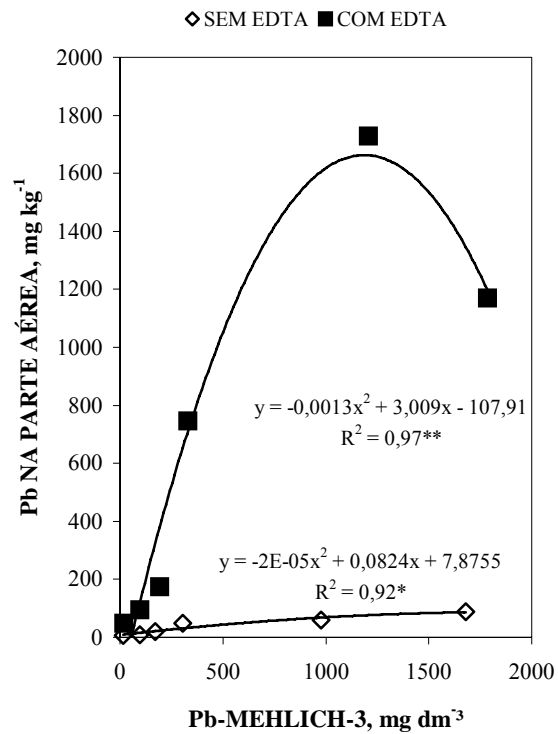


Figura 5. Relação entre o Pb extraído por Mehlich-3 com a concentração de Pb na parte aérea do girassol, na presença e na ausência de EDTA.

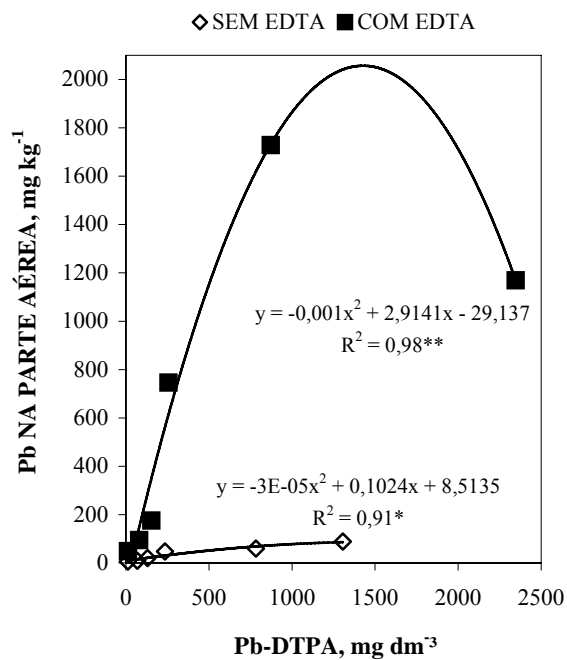


Figura 6. Relação entre o Pb extraído por DTPA e a concentração de Pb na parte aérea do girassol, na presença e na ausência de EDTA.

Outra maneira de se avaliar a disponibilidade de Pb para as plantas é a quantificação desse elemento na solução do solo, meio do qual a planta absorve íons, conforme Sparks (1995) e Wolt (1994). Na ausência de EDTA, não foi observada correlação significativa entre essas variáveis. Já na presença do quelante, o ajuste foi quadrático significativo com R^2 de 0,99. Assim, nota-se que além dos extratores Mehlich-3 e DTPA, o teor de Pb na solução do solo, extraído pela pasta de saturação, foi também um bom parâmetro para avaliar o teor disponível de Pb para o girassol, na presença do quelante EDTA (Figura 7).

Chama atenção que não foi conseguido um bom ajuste da equação na ausência de EDTA. Provavelmente, a concentração muito baixa de Pb na solução do solo ocasionou problemas de leitura e o aparelho não foi capaz de distinguir as pequenas variações de Pb na solução do solo em função das doses aplicadas.

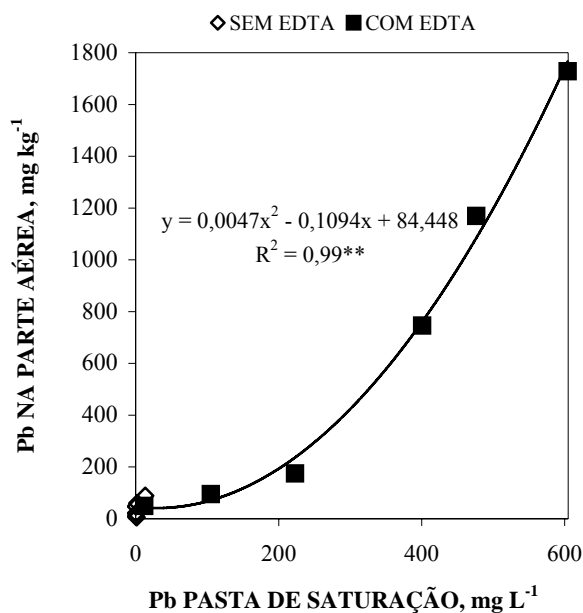


Figura 7. Relação entre o Pb extraído pela pasta de saturação e a concentração de Pb na parte aérea do girassol, na presença e na ausência de EDTA.

4.1.3 Especificação iônica da solução do solo

Quanto à análise química dos principais íons da solução do solo, o Pb e o Fe foram os mais influenciados pelos tratamentos. Houve grande aumento desses elementos na solução do solo quando foi aplicado o EDTA (Apêndice A). Na presença do quelante, os teores de Pb na solução aumentaram até a dose de 1.200 mg kg⁻¹, diminuindo na última dose e o inverso ocorreu com o Fe. Tal fato refletiu claramente na absorção desses elementos pelas plantas conforme comentado anteriormente (Figuras 2 e 3) e ainda nas correlações de Pb extraído por Mehlich-3 e DTPA e nas concentrações desse elemento na planta conforme também já discutido (Figuras 5 e 6). Este fato deve-se provavelmente a forte afinidade do Fe e do Pb pelo EDTA e aos seus teores presentes no solo. Conforme Baccan et al. (2001), dentre os metais presentes no solo, o Fe e o Pb apresentam elevadas constantes de formação para complexação com o íon EDTA⁴⁻. Em consequência, a eficiência do EDTA, em formar complexo com o Pb, pode ser reduzida pela presença de outros elementos que possuem afinidade por ele tais como: Fe²⁺, Cu²⁺, Al³⁺, Cd²⁺, Zn²⁺ e Co²⁺, diminuindo substancialmente a quantidade de EDTA⁴⁻ livre (Geebelen et al., 2002). Quando o Pb encontra-se em menor concentração no solo, a formação do complexo FeEDTA⁻ é favorecida em relação ao complexo PbEDTA⁻². Em altas concentrações de Pb no solo, o inverso poderá ocorrer. Portanto, dependendo da concentração em que se encontram, o Pb e o Fe podem competir entre si para a formação de complexos com EDTA⁴⁻. Este fato é muito importante em LATOSSOLO VERMELHO que apresenta naturalmente altos teores de Fe.

Outro fato interessante foi à especificação iônica da solução do solo (Tabela 4). Sem a aplicação do EDTA, do total das espécies de Pb, houve um discreto aumento da forma livre de Pb (Pb²⁺) com o aumento das doses aplicadas, indo de 53% na dose zero para 70% na dose 2.400 mg kg⁻¹. Na presença do quelante, aproximadamente 99% das espécies iônicas do Fe e

Pb em solução, encontravam-se complexados ao EDTA (FeEDTA^- e PbEDTA^{2-}). Das formas de EDTA, houve um aumento da espécie PbEDTA^{2-} com as doses de Pb aplicadas, indo de 1,4% na dose zero para 31% na dose 1.200 mg kg^{-1} , caindo para 27% na última dose. O inverso ocorreu com o Fe que aumentou de 12 para 41% da dose zero para 100 mg kg^{-1} reduzindo para 8,8% na dose de 2.400 mg kg^{-1} . A tendência antagônica para o aumento dos complexos FeEDTA^- e PbEDTA^{2-} na solução do solo refletiu na concentração desses metais na planta conforme já relatado (Figuras 2 e 3). Segundo Shen et al. (2002) para os MPs, os íons “livres” são provavelmente as espécies mais disponíveis para as plantas. Por outro lado, Vassil et al. (1998) relatam que os quelantes podem desorver o MP da matriz do solo para forma de complexo solúvel, na solução do solo, aumentando a absorção pelas plantas. A solubilidade do complexo iônico na solução do solo também está diretamente relacionada com sua disponibilidade e absorção pela planta e essa solubilidade dependerá da espécie iônica, quanto maior a solubilidade do complexo formado, maior será a disponibilidade do metal às plantas.

Tabela 4. Porcentagem das principais espécies iônicas, na solução do solo, nas diferentes doses de Pb aplicadas ao solo, na ausência e na presença de EDTA.

Íon	Espécie iônica	Doses de Pb, mg kg ⁻¹					
		0	100	200	350	1.200	2.400
		% —————					
		Sem EDTA —————					
Fe ³⁺	FeOH ²⁺	2,8	2,2	1,6	7,7	6,3	13,3
	FeHPO ⁴⁺	3,5	2,8	1,7	10,9	5,4	16,2
	Fe(OH) ²⁺	93,6	95,0	96,7	81,3	88,1	70,3
Pb ²⁺	PbCl ⁺	3,2	3,5	2,0	3,0	2,1	0,3
	PbSO ₄	19,4	18,0	20,2	23,5	16,9	12,5
	PbNO ³⁺	20,9	22,2	20,7	15,9	16,1	15,9
	Pb ²⁺	53,9	53,7	54,5	55,5	63,7	70,3
		Com EDTA —————					
Fe ³⁺	FeEDTA ⁻	99,0	99,5	99,2	99,7	99,7	99,8
Pb ²⁺	PbEDTA ²⁻	99,9	99,8	99,9	99,6	99,6	98,8
EDTA ⁴⁻	PbEDTA ²⁻	1,4	5,2	10,8	19,4	31,8	27,3
	MnEDTA ²⁻	2,4	2,8	2,0	2,2	3,0	5,1
	FeEDTA ⁻	12,0	41,7	30,9	27,2	12,4	8,8
	CaEDTA ²⁻	80,9	45,6	52,3	46,9	49,7	52,2

4.2 Feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*)

4.2.1 Potencial fitoextrator do feijão-de-porco

A produção de massa seca da parte aérea do feijão-de-porco foi menor na presença de EDTA, exceto para a última dose de Pb aplicada (Figura 8). Conforme Cui et al. (2004), a queda de produção na massa seca de plantas tratadas com EDTA pode estar relacionada ao aumento da disponibilidade de metais pesados às plantas ou com a toxicidade do quelante.

Vassil (1998), testando plantas de mostarda cultivadas em solução hidropônica com 0,5 mmol de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ e 2,5 mmol de EDTA, verificou que o quelante diminuiu a quantidade de água no tecido foliar. Resultados semelhantes foram verificados por Hernandez-Allica et al. (2003) que observaram queda na taxa fotossintética, na porcentagem de transpiração e na condutância estomática em alcachofra (*Cynara cardunculus* L.). Além disso, Grcman (2001) observou que o EDTA causou redução na população de fungos do solo (micorriza arbuscular). Certamente, estes fatores devem ter influenciado o desenvolvimento do feijão-de-porco crescido na presença de EDTA, neste estudo.

Não houve efeito significativo da dose de Pb na produção de massa seca da parte aérea do feijão-de-porco, na presença do quelante (Figura 8). Por outro lado, na ausência do quelante, a produção de massa seca da parte aérea diminuiu com o aumento da dose de Pb aplicada (Figura 8). A queda de produção de massa seca nas últimas duas doses de Pb (1.200 e 2.400 mg kg^{-1}) deve-se, provavelmente, ao aumento desse elemento na planta. Nas duas últimas doses, a concentração de Pb foi de aproximadamente 100 mg kg^{-1} , um aumento de aproximadamente 200% considerando a média dos outros tratamentos que não receberam EDTA. Conforme Kabata Pendias & Pendias (1984), a faixa tóxica de Pb para a maioria das plantas está entre 30 a 300 mg kg^{-1} de Pb.

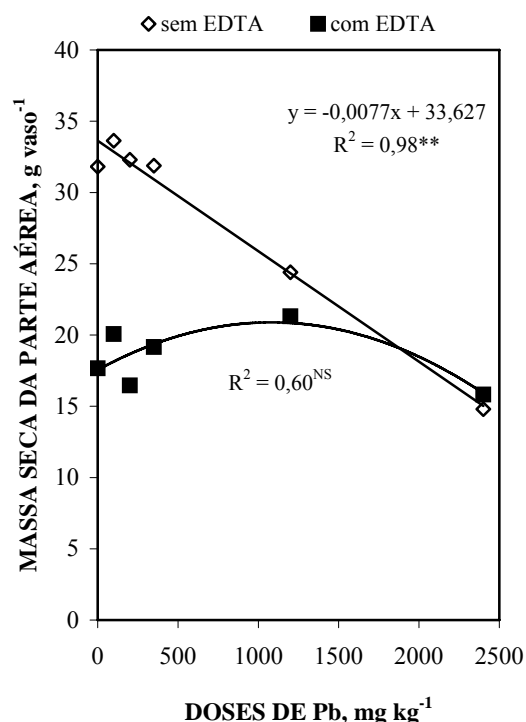


Figura 8. Efeito da aplicação de doses crescentes de Pb ao solo e da aplicação ou não de EDTA na produção de massa seca da parte aérea do feijão-de-porco.

Outro fato interessante observado, nos tratamentos que não receberam o quelante foi a queda do teor de Ca^{2+} na parte aérea. Os valores, em g kg^{-1} , foram de: 11,3; 10,8; 8,6; 9,6; 7,7 e 6,0, para as doses 0, 100, 200, 350, 1.200 e 2.400 mg kg^{-1} de Pb, respectivamente. Tal fato também foi relatado por Huang & Cunningham (1996). Estes autores acreditam que na presença de Pb pode ocorrer a inibição da absorção de Ca^{2+} pelo bloqueio dos canais de Ca da membrana plasmática ou transporte competitivo do Pb com o Ca^{2+} pelos canais de Ca.

O quelante proporcionou grande aumento na concentração de Pb na parte aérea do feijão-de-porco (Figura 9). Tanto na presença como na ausência do quelante houve uma tendência de ajuste quadrático com R^2 superior a 0,98 (Figura 8). Ainda nesta figura, observa-se que, na ausência do quelante, a concentração máxima obtida pelo feijão-de-porco, conforme ajuste foi de 121,5 mg kg^{-1} . Na presença do EDTA, a concentração máxima obtida foi de 866 mg kg^{-1} . De acordo com Tandy et al. (2004) o EDTA pode aumentar em 45 a 100%

a eficiência de remoção do Pb de solos contaminados. Neste experimento a eficiência relativa dos tratamentos com EDTA em relação aos sem EDTA foram de 27, 29, 100, 415 e 692% para as doses 100, 200, 350, 1.200 e 2.400 mg kg⁻¹ de Pb. Resultados semelhantes foram observados por Zeitouni (2003) que obteve um aumento de 290% na absorção de Pb por plantas de pimenta, girassol, mamona e tabaco crescidas em solo contaminado com 12 mg kg⁻¹ de Pb acrescido de 1 mmol de EDTA. Shen et al. (2002) obtiveram um aumento de 127 para 1.700 mg kg⁻¹ de Pb na parte aérea da cultura do feijão quando foi aplicado 3 mmol kg⁻¹ de EDTA, em solo contaminado com 10.600 mg kg⁻¹ de Pb. Estes resultados demonstram a importância do quelante no aumento da absorção de Pb pelas plantas. De acordo com Vassil et al. (1998) o quelante pode dissolver o MP da matriz do solo para forma de complexo solúvel, na solução do solo, elevando sua absorção pelas plantas.

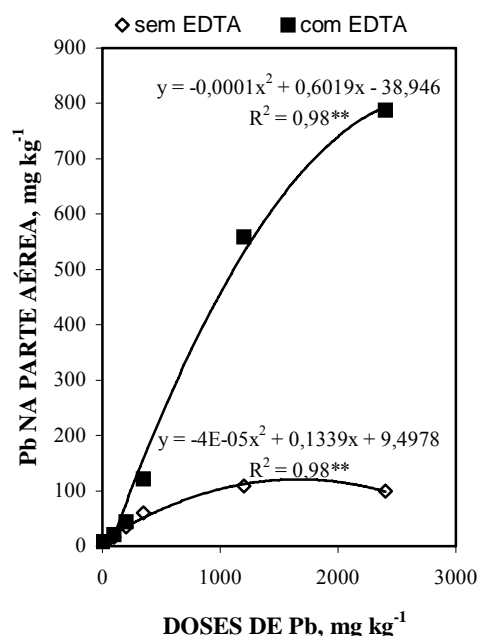


Figura 9. Relação entre as doses de Pb aplicadas ao solo e a concentração de Pb na parte aérea do feijão-de-porco, na ausência e na presença de EDTA.

Tanto a concentração de Pb quanto o Pb acumulado na parte aérea do feijão-de-porco foram maiores para os tratamentos que receberam EDTA (Figuras 9 e 10). Nota-se que as

plantas crescidas nas doses de 1.200 e de 2.400 mg kg⁻¹ de Pb e que receberam EDTA foram as que mais acumularam Pb (Figura 10).

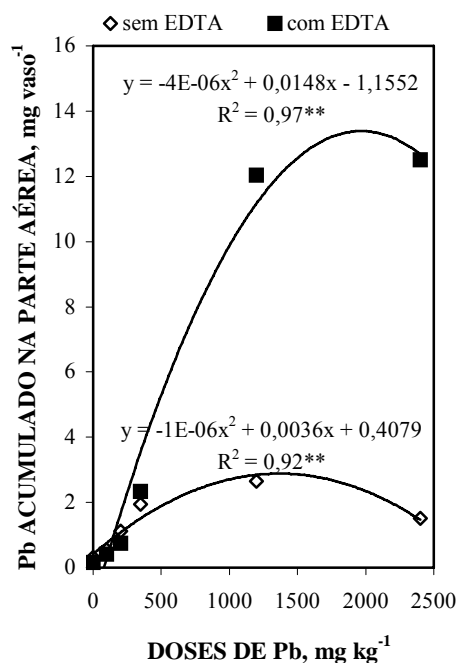


Figura 10. Relação entre as doses de Pb aplicadas ao solo e o Pb acumulado na parte aérea, na ausência e na presença de EDTA.

O potencial de uma espécie vegetal em extrair MPs de solos contaminados pode ser avaliado de diferentes maneiras. Conforme Raskin et al. (1994) plantas hiperacumuladoras de Pb são aquelas capazes de extrair e acumular em seus tecidos valores superiores a 1.000 mg kg⁻¹. Outra maneira de se avaliar o potencial fitoextrator da espécie vegetal é o fator de transferência (t), definido como a razão entre a concentração total do contaminante na planta e a concentração total do contaminante no solo, proposta por Lubben e Sauerbeck apud Accioly e Siqueira (2002).

Baseando-se no teor de Pb no tecido e no valor de (t), o feijão-de-porco não possui potencial fitoextrator, pois os valores de t obtidos foram inferiores a 1,7, referência para plantas de mostarda (*Brassica* sp.), com grande potencial para fitoextração de Pb, de acordo com Henry (2000). A concentração de Pb na parte aérea foi inferior a 1.000 mg kg⁻¹,

concentração acima da qual as plantas devem alcançar para serem consideradas hiperacumuladoras de Pb conforme Raskin (1994).

Observou-se, uma maior incidência de ataque de lagartas cortadoras (dados não quantificados) nas plantas de feijão-de-porco crescidas na ausência de EDTA e, por conseguinte, absorveram menos Pb. Observações feitas em campo por Chaney et al. (2000) relatam que o gado, as ovelhas e as cabras evitam pastar espécies hiperacumuladoras de metais que ocorrem naturalmente em algumas regiões. Tanto as observações feitas por Chaney quanto aquelas notadas no presente experimento sugerem que alguns animais e insetos evitam a ingestão de plantas com níveis de Pb acima do normal.

4.2.2 Pb disponível no solo

A relação obtida entre as doses de Pb aplicadas ao solo e o teor de Pb extraído pelos métodos Mehlich-3, DTPA e pasta de saturação foi quadrática e significativa, com valores R^2 superiores a 0,99 (Tabela 5). Assim, nota-se que todos os extratores foram eficientes em detectar o Pb aplicado ao solo.

Tabela 5. Equação de regressão entre Pb extraído por Mehlich-3, DTPA e pasta de saturação e doses de Pb aplicadas ao solo, na presença e na ausência de EDTA; onde y é o teor de Pb, em mg kg^{-1} , extraído por cada método, e x é a dose de Pb aplicada ao solo, mg kg^{-1} .

Extrator	Equação de regressão	R^2
Sem EDTA		
Mehlich-3	$y = -0,0001 x^2 + 1,29 x - 26,53$	0,99**
DTPA	$y = -0,00007 x^2 + 0,96 x - 20,10$	0,99**
Pasta de saturação	$y = 0,00003 x^2 - 0,03 x + 3,8$	0,99**
Com EDTA		
Mehlich-3	$y = -0,0001 x^2 + 1,19 x - 7,62$	0,99**
DTPA	$y = -0,00006 x^2 + 1,02 x - 0,002$	0,99**
Pasta de saturação	$y = -0,0004 x^2 + 1,22 x + 41,88$	0,99**

Para que um extrator seja considerado eficiente em avaliar a disponibilidade de Pb ele deverá detectar o Pb extraído pela planta. Assim, verifica-se que os dois extratores, Mehlich-3 e DTPA foram semelhantes e eficientes em avaliar o Pb disponível para feijão-de-

porco (Figuras 11 e 12). Nessas figuras, observa-se que, tanto na ausência quanto na presença do quelante, os valores dos coeficientes de determinação (R^2) foram significativos e superiores a 0,98.

Independentemente do extrator utilizado a correlação entre Pb-solo e Pb-planta foi afetada pela aplicação do quelante (Figuras 11 e 12). Sem EDTA, a concentração de Pb na parte aérea variou pouco em função dos teores de Pb extraídos por esses extratores. Por outro lado, na presença do quelante, a concentração de Pb na parte aérea sofreu grande variação em função dos teores de Pb extraídos por Mehlich-3 ou DTPA, atingindo uma concentração de aproximadamente 800 mg kg^{-1} de Pb na parte aérea, na última dose aplicada.

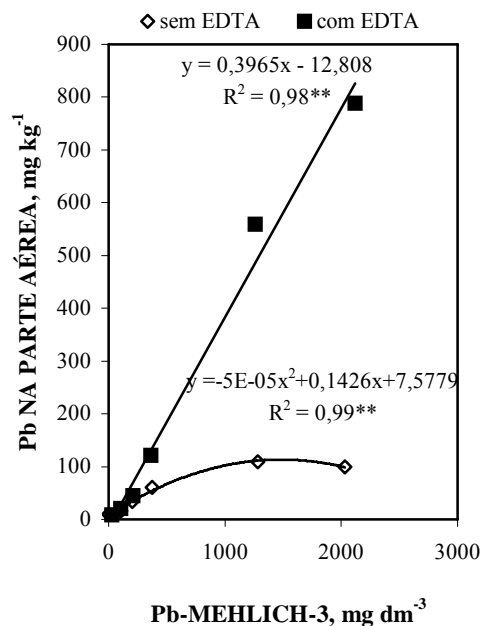


Figura 11. Relação entre o Pb extraído por Mehlich-3 e a concentração de Pb na parte aérea do feijão-de-porco, na presença e na ausência de EDTA.

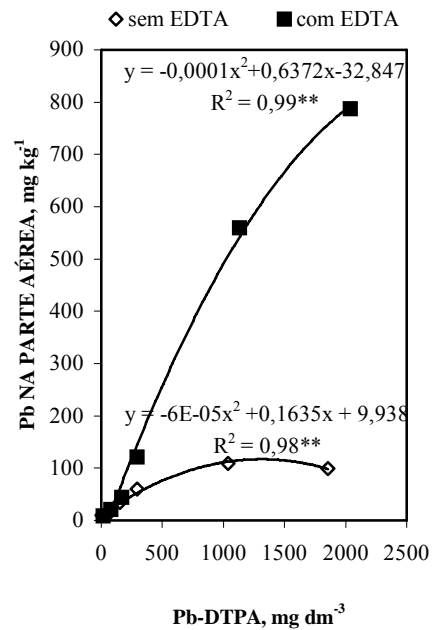


Figura 12. Relação entre o Pb extraído por DTPA e a concentração de Pb na parte aérea do feijão-de-porco, na presença e na ausência de EDTA.

Outra maneira de se avaliar a disponibilidade de Pb para as plantas é a quantificação desse elemento na solução do solo, pois conforme Sparks (1995) e Wolt (1994) a solução do solo é o meio do qual a planta absorve os íons. Na ausência de EDTA, o ajuste entre o teor de Pb na solução do solo e o seu teor na parte aérea foi de segundo grau, com coeficiente de determinação R^2 de 0,87 (Figura 13). Na presença do quelante o ajuste foi exponencial com R^2 de 0,87. Assim, nota-se que além dos extratores Mehlich-3 e DTPA, o teor de Pb na solução do solo extraído pela pasta de saturação é também um bom parâmetro para avaliar o teor fitodisponível de Pb para o feijão-de-porco, tanto na ausência quanto presença do quelante EDTA.

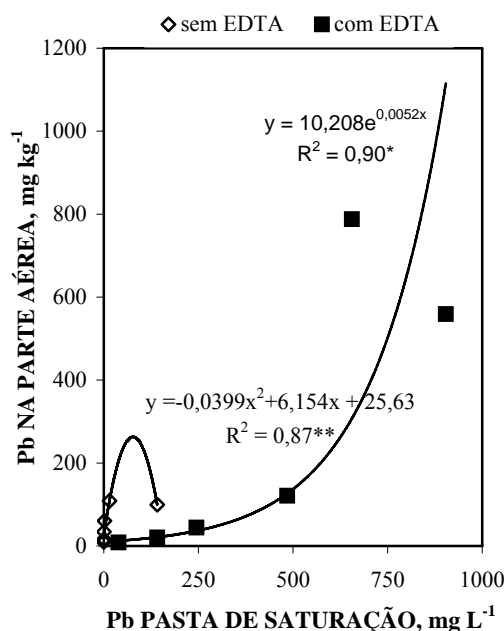


Figura 13. Relação entre o Pb extraído pela pasta de saturação e a concentração de Pb na parte aérea do feijão-de-porco, na presença e na ausência de EDTA.

4.2.3 Especificação iônica da solução do solo

Quanto à concentração dos principais íons da solução do solo, percebe-se que o Pb e o Fe foram os elementos mais influenciados pelos tratamentos (Apêndice B). Além disso, nota-se que a aplicação de EDTA provocou grande aumento desses elementos na solução do solo. Na presença do quelante, os teores de Pb na solução aumentaram até a dose de 1.200 mg kg⁻¹ de Pb diminuindo em seguida e, o inverso, ocorreu com o Fe. O aumento de Pb na solução do solo refletiu na maior absorção desse elemento pela planta. Influenciou também nas correlações de Pb extraído por Mehlich-3 e DTPA com as concentrações de Pb na planta, conforme já comentado nos itens potencial fitoextrator do feijão-de-porco e Pb disponível no solo.

A tendência inversa observada entre o Pb e o Fe na solução do solo deve-se, provavelmente, a forte afinidade dos dois metais pelo quelante e seus teores presentes no solo.

Conforme Baccan et al. (2001), dentre os metais presentes no solo, o Fe e o Pb são os que apresentam as maiores constantes de formação para complexação com o íon EDTA⁴⁻. Portanto, a eficiência do quelante em formar complexos com Pb pode ser reduzida na presença de outros elementos que também possuem afinidade por ele, tais como: Fe²⁺, Al³⁺, Cd²⁺, Zn²⁺ e Co²⁺ (GEEBELEN et al., 2002). Quando o Pb encontra-se em menor concentração no solo, a formação do complexo FeEDTA⁻ será favorecida em relação ao complexo PbEDTA²⁻. Em altas concentrações de Pb no solo, o inverso poderá ocorrer. Portanto, dependendo da concentração em que se encontram, podem competir entre si para formação de complexos com EDTA⁴⁻. Este fato é relevante para a maioria dos solos brasileiros, ricos em óxidos de ferro e que, naturalmente, apresentam altos teores de Fe³⁺, como o LATOSSOLO VERMELHO usado neste experimento.

Outro fato interessante observado foi a especiação iônica do Pb e do Fe na solução do solo (Tabela 6). Sem a aplicação de EDTA, a forma predominante de Pb foi a livre (Pb²⁺) que representou em média 67% do total das formas deste elemento. Por outro lado, observa-se que, na presença de EDTA, a maior parte do Pb manteve-se ligado ao EDTA, em média 97% (PbEDTA²⁻). Nestes tratamentos não foi encontrado Pb livre (Pb²⁺). Assim como o Pb, mais de 90% do total de Fe formou complexo com EDTA (FeEDTA⁻). Do total das formas do quelante EDTA⁴⁻, observou-se um aumento de 3,2 para 52% da forma PbEDTA²⁻ da dose zero para 2.400 mg kg⁻¹. Tendência inversa foi observada para complexos com AlEDTA⁻, FeEDTA⁻ e CaEDTA²⁻ que tiveram sua porcentagem reduzida com o aumento de Pb aplicado ao solo. Vassil et al. (1998) relatam que os quelantes podem dessorver o MP da matriz do solo para formar complexo solúvel na solução do solo, aumentando a absorção do metal pelas plantas. A solubilidade de complexo iônico na solução do solo também está diretamente relacionada com a sua disponibilidade e absorção pela planta.

Tabela 6. Porcentagem das principais espécies iônicas, na solução do solo, nas diferentes doses de Pb aplicado ao solo, na ausência e na presença do EDTA.

Íon	Espécie iônica	Doses de Pb, mg kg ⁻¹					
		0	100	200	350	1.200	2.400
		%					
		Sem EDTA					
Pb ⁺²	Pb ²⁺	69,4	67,1	69,0	66,9	67,9	69,6
	PbNO ³⁺	17,6	21,5	18,4	21,7	23,4	24,6
	PbSO ₄	9,9	8,2	9,6	8,5	5,6	3,6
Fe ⁺³	FeOH ²⁺	33,5	33,5	24,6	67,8	25,1	51,4
	Fe(OH) ²⁺	62,4	61,5	73,5	28,6	72,4	45,8
		Com EDTA					
Pb ⁺²	PbEDTA ²⁻	99,3	97,4	96,7	98,7	97,5	95,2
	PbHEDTA ⁻	1,7	2,6	3,2	1,2	2,4	4,7
Fe ⁺³	FeEDTA ⁻	99,8	99,7	99,7	99,8	99,7	99,6
EDTA ⁻⁴	PbEDTA ²⁻	3,2	11,4	19,7	39,9	73,6	52,0
	AlEDTA ⁻	2,7	2,7	2,0	2,3	1,1	1,7
	FeEDTA ²⁻	45,7	46,2	38,2	37,6	16,5	8,3
	CaEDTA ²⁻	38,0	27,2	25,2	13,8	2,5	18,1

4.2.4 Pb total no solo

O método USEPA-3051 é oficial nos Estados Unidos e no Estado de São Paulo para avaliar áreas contaminadas por Pb (CETESB, 2001). Nota-se que, em alguns casos, o método USEPA-3051 foi eficiente em detectar o Pb aplicado ao solo. A capacidade de recuperação do método, na ausência de EDTA, foi mais eficiente variando de 90 a 122% e, menos eficiente na presença do quelante, variando de 61 a 118% (Tabela 7). Houve uma tendência de menor recuperação de Pb aplicado na presença de EDTA. Relembrando que, conforme Cetesb

(2001), os valores orientadores são 200, 350, 1.200 mg kg⁻¹ de Pb para área agrícola, residencial e industrial, respectivamente.

Tabela 7. Teor total de Pb obtido pelo método USEPA-3051 e porcentagem recuperada nas diferentes doses de Pb aplicadas ao solo, na ausência e presença de EDTA.

Doses de Pb	USEPA-3051	Porcentagem recuperada pelo método USEPA-3051
mg kg ⁻¹		%
sem EDTA		
0	6,6	-
100	96,6	90,0
200	203,3	98,3
350	381,3	107,0
1.200	1.480,0	122,7
2.400	2.574,0	106,9
com EDTA		
0	0,8	-
100	62,0	61,2
200	167,0	83,1
350	335,0	95,4
1.200	1.427,0	118,8
2.400	2.655,0	110,5

4.3 Milho (*Zea mays*)

4.3.1 Potencial fitoextrator do milho

O uso do agente quelante EDTA causou diminuição na produção de massa seca da parte aérea do milho (Figura 14). Conforme Cui et al. (2004) o EDTA pode causar queda na massa seca das plantas pelo aumento do teor de MPs disponíveis ou pela toxicidade do EDTA. Vassil (1998), trabalhando com mostarda crescida em solução hidropônica contendo 0,5 mmol de Pb(NO₃)₂ e 2,5 mmol de EDTA, verificou que o quelante diminuiu a quantidade de água no tecido foliar. Resultados semelhantes foram observados por Hernandez-Allica et al. (2003) que observaram queda na taxa fotossintética, na porcentagem de transpiração e na condutância estomática de alcachofras (*Cynara cardunculus* L.) crescidas em solos contaminados com Pb na presença de 1,0 mmol de EDTA. No presente trabalho, o decréscimo

da produção de massa seca da parte aérea do milho também pode ter sido influenciado pelas altas concentrações de Fe (Figura 15) e de Al na parte aérea, que em média, foram de 396 mg kg⁻¹ e 405 mg kg⁻¹, respectivamente. Raij & Camargo (1997) relatam que o teor adequado de Fe para o milho está entre 30 e 250 mg kg⁻¹ nas folhas. Segundo Bergmann (1992), para maioria das plantas, os valores de Al no tecido foliar estão entre 50 e 400 mg kg⁻¹ e, em média é de 200 mg kg⁻¹. Portanto, tanto os valores de Fe quanto os de Al encontrados neste experimento, foram superiores aos sugeridos por Raij & Camargo (1997) e Bergmann (1992) como adequados. Os elevados teores de Fe e de Al na parte aérea do milho obtidos neste experimento foram reflexos do aumento desses elementos na solução do solo, o que será detalhado adiante no item 4.3.3.

É interessante observar que na ausência de EDTA a produção de massa seca da parte aérea diminuiu com o aumento da dose de Pb aplicada e que o ajuste foi quadrático (Figura 14). Observa-se, ainda, nesta figura que, independentemente da dose de Pb aplicada, a produção de massa seca da parte aérea foi maior na ausência de EDTA quando comparada com a adição do quelante. Isto, provavelmente, deve-se a menor concentração de Fe e Al na solução do solo nos tratamentos que não receberam EDTA. Na ausência de EDTA, os valores de Fe e de Al foram em média 0,43 e 1,15 mg L⁻¹, respectivamente. Estes níveis estão abaixo dos níveis considerados prejudiciais por Sousa et al. (2004) e Sparks (1995) como prejudiciais. De acordo com Sousa et al. (2004), concentrações de Fe, na solução do solo, entre 30 a 500 mg L⁻¹ podem causar toxicidade a diversas culturas e, níveis maiores que 3,6 mg L⁻¹ de Al reduz significativamente a produção de milho (SPARKS, 1995). Por outro lado, na presença do EDTA, os valores de Fe e Al na solução do solo foram de 107 e 3,6 mg L⁻¹, respectivamente, valores considerados prejudiciais de acordo com Sousa (2004) e Sparks (1995).

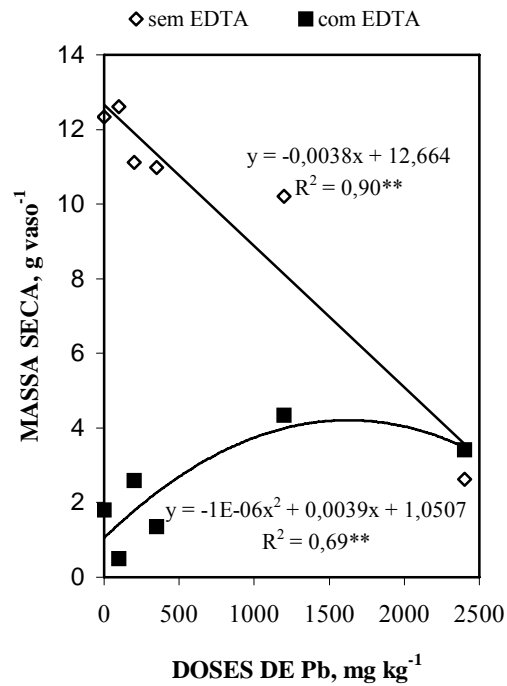


Figura 14. Efeito da aplicação de doses crescentes de Pb ao solo e da aplicação ou não de EDTA na produção de massa seca da parte aérea do milho.

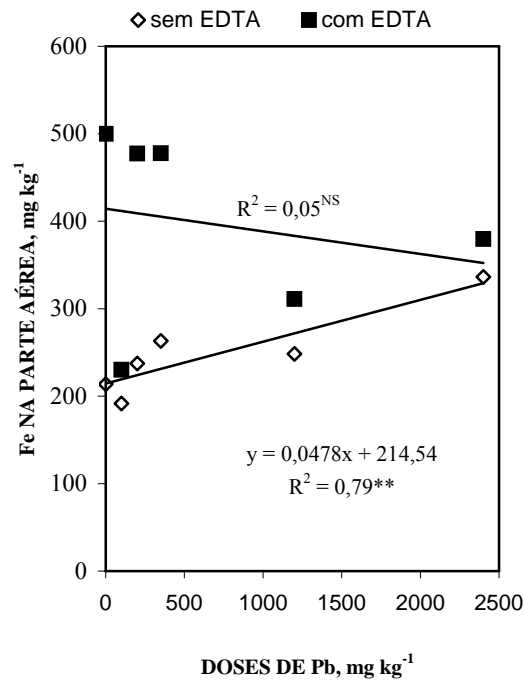


Figura 15. Efeito da aplicação de doses crescentes de Pb ao solo e da presença e ausência de EDTA na concentração de Fe parte aérea do milho.

A concentração de Pb na massa seca da parte aérea do milho não foi influenciada

pela aplicação do EDTA (Figura 16). Os ajustes entre as doses de Pb aplicadas ao solo e a concentração de Pb na parte aérea foram lineares com os coeficientes de determinação de 0,98. Esses resultados foram inesperados uma vez que de acordo com a literatura, o EDTA geralmente proporciona consideráveis aumentos na concentração de Pb na parte aérea de várias espécies como ervilha, milho, repolho, mostarda indiana e tremoço (HUANG et al., 1997; SHEN et al., 2002; TASSI et al., 2003). Esses últimos autores verificaram que a concentração de Pb na parte aérea do milho aumentou de 100 para 3.000 mg kg⁻¹ na presença de 2.500 mg kg⁻¹ de Pb total no solo e 0,5 g kg⁻¹ do quelante EDTA.

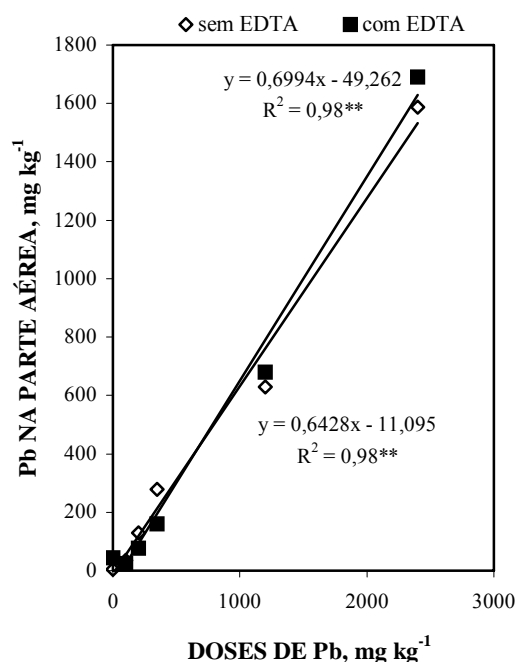


Figura 16. Relação entre as doses de Pb aplicadas ao solo e a concentração de Pb na parte aérea do milho, na ausência e na presença do EDTA.

Não se sabe exatamente o que proporcionou elevadas concentrações de Pb na parte aérea do milho mesmo na ausência do EDTA. Uma das hipóteses é que as raízes das plantas liberam ácidos orgânicos que formam complexos como o Pb, facilitando a absorção do metal. Conforme Pires (2003) existem evidências de que os complexos orgânicos podem ser transportados pelas raízes. von Wiren et al. (1996) observaram que o Zn, na forma de quelato

com ácido orgânico *phytosiderophores* (*Zn-phytosiderophores*), foi absorvido pelas raízes de plantas de milho.

Embora o EDTA não tenha influenciado a concentração de Pb na parte aérea do milho, na sua presença, conforme já descrito, houve uma queda na produção de massa seca que, por consequência, afetou o acúmulo de Pb na parte aérea (Figura 17). A relação entre doses de Pb e Pb acumulado na parte aérea do milho foi quadrática quando não se aplicou o EDTA e linear crescente na presença de EDTA (Figura 17). O máximo acumulado na ausência de EDTA foi de 7,0 mg vaso⁻¹, já na presença do quelante o máximo foi de 5,7 mg kg⁻¹, conforme equações descritas (Figura 17).

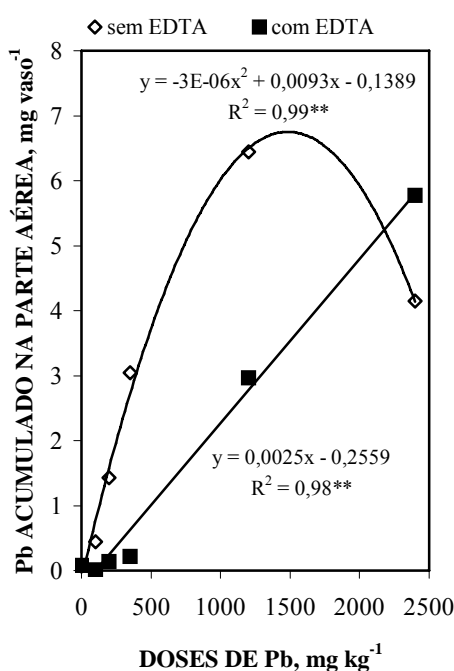


Figura 17. Relação entre as doses de Pb aplicadas ao solo e o Pb acumulado na parte aérea do milho, na ausência e na presença do EDTA.

O potencial de uma espécie vegetal em fitorremediar solos contaminados por metais pode ser avaliado de diferentes maneiras. Dependendo do critério utilizado ela pode ou não ser considerada fitorremediadora de metais. Conforme Raskin et al. (1994) plantas hiperacumuladoras são aquelas capazes de extrair e acumular em seus tecidos valores

superiores a $1.000 \text{ mg de Pb kg}^{-1}$ de massa seca. Baseando-se nesse critério, a planta de milho pode ser considerada hiperacumuladora de Pb, pois os seus teores na parte aérea foram próximos a 1.600 mg kg^{-1} para dose de 2.400 mg kg^{-1} , independentemente da presença de EDTA (Figura 16).

Outra maneira de se avaliar o potencial fitoextrator da espécie vegetal é o fator de transferência (t), definido como a razão entre as concentrações totais do contaminante na planta e no solo, proposta por Lubben e Sauerbeck apud Accioly e Siqueira (2002). De acordo com esses autores valores elevados de t são desejáveis para fitoextração. Os valores de t para as doses de Pb de 100, 200, 350, 1.200 e 2.400 mg kg^{-1} foram, respectivamente de: 0,36, 0,64, 0,80, 0,52 e 0,66, na ausência de EDTA. Na presença de EDTA os valores de t foram muito similares àqueles encontrados quando não foi aplicado o EDTA sendo de 0,24, 0,39, 0,46, 0,57 e 0,70, respectivamente para as mesmas doses de Pb. Chama atenção que para todos os tratamentos os valores de t foram inferiores a 1,0. De acordo Henry (2000), a mostarda (*brassica juncea*), considerada uma boa planta remediadora de Pb, apresenta valor de t de 1,7. Os valores de t obtidos para o milho foram muito inferiores ao encontrado por Henry (2000). Portanto, por este critério o milho pode ser considerado ineficiente em remediar locais contaminados por Pb.

4.3.2 Pb disponível no solo

De maneira geral, o coeficiente de determinação obtido para as doses de Pb aplicadas ao solo e os teores de Pb extraídos pelos métodos DTPA, Mehlich-3 e pasta de saturação foram iguais, com valores de 0,99 (Tabela 8). Isto indica que todos os extratores foram eficientes em detectar o Pb aplicado no solo.

Tabela 8. Equação de regressão entre Pb extraído por Mehlich-3, DTPA e pasta de saturação e, doses de Pb aplicadas ao solo, na presença e na ausência de EDTA; onde y é o teor de Pb, em mg kg⁻¹, extraído por cada método e x é a dose de Pb aplicada ao solo, mg kg⁻¹.

Extrator	Equação de regressão	R ²
————— Sem EDTA —————		
Mehlich-3	$y = -0,0001 x^2 + 1,29 x - 21,94$	0,99**
DTPA	$y = -0,00008 x^2 + 1,00 x - 16,4$	0,99**
Pasta de saturação	$y = 0,00006 x^2 - 0,06 x + 9,10$	0,99**
————— Com EDTA —————		
Mehlich-3	$y = -0,0001 x^2 + 1,22 x - 17,41$	0,99**
DTPA	$y = 0,84 x + 3,07$	0,99**
Pasta de saturação	$y = -0,0003 x^2 + 0,99 x + 61,90$	0,99**

A eficiência de um extrator em avaliar a disponibilidade de Pb às plantas pode ser verificada analisando a relação existente entre as quantidades desse elemento extraídas pelo extrator em questão e àquela absorvida pela planta. Deste modo, verifica-se que os extratores DTPA e Mehlich-3 foram eficientes em avaliar o Pb disponível para plantas de milho, com valores de R² maiores que 0,96 (Figuras 18 e 19). Ainda nestas figuras verifica-se que as curvas obtidas tanto na ausência quanto presença do quelante foram muito similares.

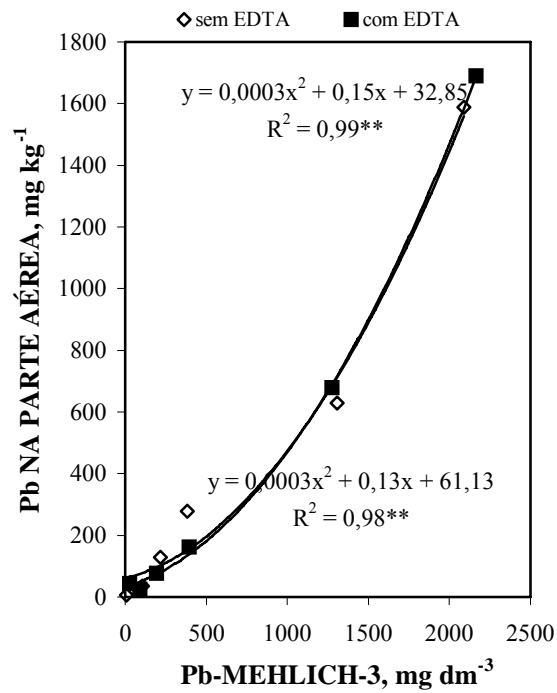


Figura 18. Relação entre o Pb extraído por Mehlich-3 e a concentração de Pb na parte aérea do milho, na presença e na ausência de EDTA.

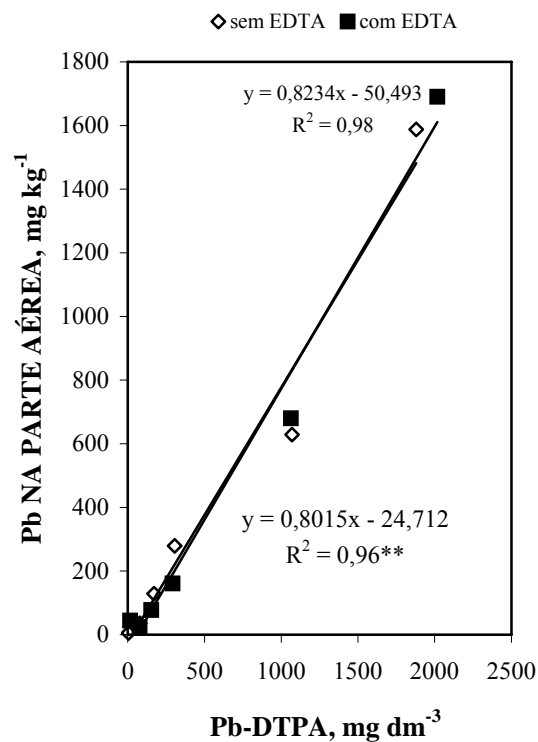


Figura 19. Relação entre o Pb extraído por DTPA e a concentração de Pb na parte aérea do milho, na presença e na ausência de EDTA.

A determinação do Pb na solução do solo é outra maneira de avaliar a disponibilidade desse elemento (WOLT, 1994; SPARKS, 1995). A determinação do Pb da solução do solo foi mais eficiente para os tratamentos que não receberam EDTA e menos para os que receberam, pois, os coeficientes de determinação R^2 foram, respectivamente, de 0,90 e 0,46 (Figura 20).

Os valores de R^2 obtidos entre a concentração de Pb na parte aérea e Pb-Mehlich-3, Pb-DTPA e Pb-solução do solo, sem EDTA, foram similares (Figuras 18, 19 e 20). Contudo, na presença de EDTA, a pasta de saturação foi o método menos eficiente em prever o teor fitodisponível quando comparada aos extratores DTPA e Mehlich-3, pois os valores de R^2 foram respectivamente 0,46, 0,98 e 0,99.

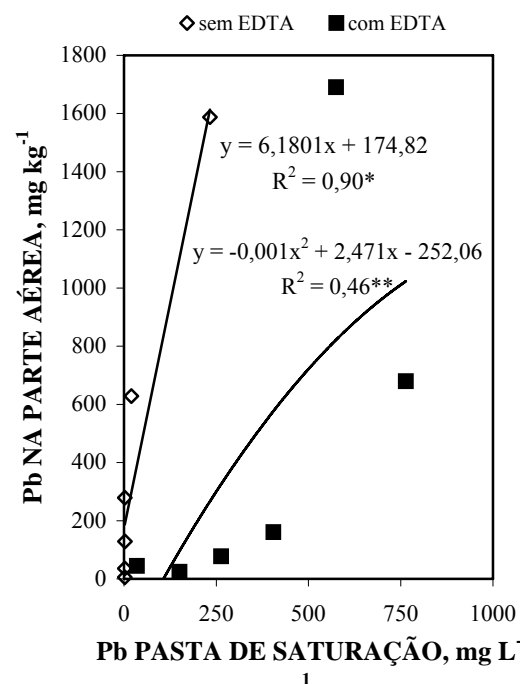


Figura 20. Relação entre o Pb da solução do solo e a concentração de Pb na parte aérea do milho, na presença e na ausência de EDTA.

4.3.3 Especificação iônica da solução do solo

Quanto à análise química dos principais íons da solução do solo, verifica-se que o Pb, o Fe e o Al foram os mais influenciados pelas doses de Pb e de EDTA aplicadas ao solo (Apêndice C). Na presença de EDTA houve considerável aumento desses elementos na solução do solo. Na presença do quelante, os teores de Pb na solução aumentaram até a dose de 1.200 mg kg⁻¹ diminuindo em seguida e o inverso ocorreu com o Fe e Al (Apêndice C).

Concentrações de Fe na solução do solo, entre 30 a 500 mg L⁻¹, podem causar toxicidade às diversas culturas de acordo com Sousa et al. (2004). Teores maiores que 3,6 mg L⁻¹ de Al na solução do solo reduz significativamente a produção de milho (SPARKS, 1995). Neste experimento os teores de Fe na solução do solo, na presença do quelante, estavam dentro da faixa de toxicidade sugerida por Sousa et al. (2004) para as cinco primeiras doses de Pb aplicadas ao solo. Comportamento semelhante foi observado para o Al, que estava na faixa tóxica nas três primeiras doses de Pb. De acordo com esses resultados, acredita-se que esses elementos tenham prejudicado o desenvolvimento do milho na presença do EDTA conforme já discutido.

O aumento de Fe e de Al observado na solução, inverso às doses de Pb aplicadas, deve-se provavelmente, a forte afinidade deles pelo EDTA e pelos seus altos teores presentes no solo. Conforme Baccan et al. (2001), dentre os metais presentes no solo, o Fe²⁺, o Al³⁺ e o Pb²⁺ apresentam grande afinidade pelo EDTA com elevadas constantes de formação. Por consequência, a eficiência desse quelantes pode ser reduzida pela presença de outros elementos que possuem afinidade por ele tais como Fe²⁺, Cu²⁺, Al³⁺, Cd²⁺, Zn²⁺ e Co²⁺, diminuindo consideravelmente a quantidade de EDTA⁴⁻ livre (GEEBELEN et al, 2002). Quando o Pb encontra-se em menor concentração no solo, a formação de outros complexos como FeEDTA⁻ será favorecida em relação ao complexo PbEDTA²⁻. Em altas concentrações

de Pb no solo, o inverso poderá ocorrer. Portanto, dependendo da concentração em que se encontram podem competir entre si pela formação de complexos com EDTA⁴⁻. Este fato é muito importante em LATOSSOLOS VERMELHOS que apresentam naturalmente teores elevados de Fe e de Al.

Outro fato interessante foi a especiação iônica (Tabela 9). Sem a aplicação de EDTA, a forma predominante de Pb foi a livre (Pb²⁺), que representou em média 71% do total das formas deste elemento. Por outro lado, observa-se que na presença de EDTA a maior parte do Pb manteve-se ligado ao EDTA, em média 97% (PbEDTA²⁻) (Tabela 9). Nestes tratamentos não foi encontrado Pb livre (Pb²⁺). Comportamento semelhante foi verificado para o Fe, onde mais de 90% do total destes elementos formou complexo com EDTA (FeEDTA⁻). Do total das formas do quelante EDTA⁴⁻, observou-se um aumento de 3,0 para 46,5% da forma PbEDTA²⁻, variando da zero para a dose de 2.400 mg kg⁻¹ de Pb. Tendência inversa foi observada para complexos com AlEDTA⁻, FeEDTA⁻ e CaEDTA²⁻ que tiveram sua porcentagem reduzida com o aumento de Pb aplicado ao solo. Vassil et al. (1998) relatam que os quelantes podem desorver o MP da matriz do solo para forma de complexo solúvel, na solução do solo, aumentando a absorção pelas plantas.

Tabela 9. Porcentagem das principais espécies iônicas, na solução do solo, nas diferentes doses de Pb aplicadas ao solo, na ausência e na presença de EDTA.

Íon	Espécie iônica	Doses de Pb, mg kg ⁻¹					
		0	100	200	350	1.200	2.400
		%					
		Sem EDTA					
Pb ⁺²	Pb ²⁺	71,3	66,1	68,5	67,3	74,2	77,6
	PbNO ³⁺	15,1	22,2	19,1	20,3	16,4	18,4
	PbSO ₄	10,5	8,0	9,3	9,3	6,5	2,6
Fe ⁺³	FeOH ²⁺	21,0	21,4	24,9	30,0	40,2	60,7
	Fe(OH) ²⁺	76,2	78,1	73,6	69,3	58,2	34,8
		Com EDTA					
Pb ⁺²	PbEDTA ²⁻	98,6	97,9	96,7	98,3	97,4	96,3
	PbHEDTA ⁻	1,3	2,0	3,2	1,6	2,0	3,1
Fe ⁺³	FeEDTA ⁻	99,8	99,8	99,7	99,8	99,7	99,7
EDTA ⁻⁴	PbEDTA ²⁻	3,0	12,3	21,2	33,2	62,1	46,5
	AlEDTA ⁻	3,4	3,3	2,8	1,8	1,0	1,4
	FeEDTA ²⁻	52,0	51,9	41,0	32,1	14,1	7,5
	CaEDTA ²⁻	33,3	23,2	22,0	24,7	14,0	27,7

4.3.4 Pb total no solo

Nota-se que, de maneira geral, o método USEPA-3051 foi eficiente em detectar o Pb aplicado ao solo. A capacidade de recuperação do método variou de 66 a 112% na ausência de EDTA e de 60 a 116% na presença de EDTA (Tabela 10). Houve uma leve tendência de menor recuperação de Pb aplicado na presença de EDTA.

Tabela 10. Teor total de Pb obtido pelo método USEPA-3051 e porcentagem recuperada nas diferentes doses de Pb aplicadas ao solo, na ausência e presença de EDTA.

Doses de Pb	USEPA-3051	Porcentagem recuperada pelo método USEPA-3051
mg kg ⁻¹		%
sem EDTA		
0	0,7	-
100	67,0	66,3
200	167,0	83,1
350	322,0	91,8
1.200	1.405,0	117,0
2.400	2.697,0	112,3
com EDTA		
0	0,9	-
100	61,0	60,1
200	163,0	81,0
350	353,0	100,6
1.200	1.351,0	112,5
2.400	2.787,0	116,0

O método USEPA-3051 é oficial nos Estados Unidos e no Estado de São Paulo para avaliar áreas contaminadas por Pb (CETESB, 2001). Os dados aqui obtidos confirmam que tal método é eficiente para avaliar solos contaminados por Pb. Com exceção dos tratamentos que receberam 100 e 200 mg kg⁻¹ de Pb na ausência e presença de EDTA, todos os demais teores de Pb total estavam acima daquele máximo permitido para área agrícola, residencial e industrial, de acordo com os valores orientadores estabelecidos pela CETESB (2001). Os valores orientadores são 200, 350, 1.200 mg kg⁻¹ de Pb para área agrícola, residencial e industrial, respectivamente.

5 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Quanto ao desempenho das espécies vegetais avaliadas, notou-se que na ausência do quelante, a produção de massa do girassol, do feijão-de-porco e do milho foi significativamente reduzida principalmente nas doses de 1.200 e 2.400 mg kg⁻¹ de Pb. O girassol foi a espécie mais sensível à aplicação do EDTA, principalmente nas doses zero e 100 mg kg⁻¹ de Pb. O quelante proporcionou maior concentração e acúmulo de Pb na parte aérea do girassol e do feijão-de-porco. Já para o milho, notou-se elevadas concentrações de Pb na parte aérea independentemente da aplicação do EDTA. Portanto, a eficiência do EDTA em aumentar a concentração de Pb na parte aérea dependerá da espécie utilizada. Outro ponto importante é que a dose de EDTA necessária para aumentar a absorção de Pb dependerá da espécie e das condições químicas do solo.

Os extratores Mehlich-3 e DTPA, utilizados para avaliar a disponibilidade de Pb em solos foram igualmente eficientes para girassol, feijão-de-porco e milho. Por outro lado, a solução do solo não foi tão eficiente em prever o teor fitodisponível de Pb. Os coeficientes de determinação das diferentes equações, entre a concentração de Pb na solução do solo e a concentração deste elemento na planta, foram inferiores aos encontrados para os extratores Mehlich-3 e DTPA. Além disso, dentre os três métodos (DTPA, Mehlich-3 e pasta de saturação) a pasta foi a mais trabalhosa, dificultando sua adoção em condições de rotina. Outro ponto que deve ser analisado é o teor de Pb extraído por cada extrator. Em alguns casos, o teor de Pb extraído pela pasta de saturação foi muito pequeno dificultando sua determinação. Por outro lado, concentrações muito elevadas de Pb no solo, podem levar a erros analíticos, principalmente pelo uso de extratores Mehlich-3 e DTPA, que extraem grandes concentrações de Pb, necessitando de diluições do extrato.

O EDTA influenciou a concentração de íons na solução do solo. De maneira geral, verificou-se que os íons que apresentam alta afinidade com o complexante como o Pb, o Al e o Fe, tiveram sua concentração alterada em função das doses de Pb aplicadas. Observou-se uma diminuição de Fe e Al na solução do solo com o aumento das doses de Pb aplicadas. Estes resultados são muito importantes, pois, a grande maioria dos solos brasileiros apresenta altos teores de Fe e Al.

Acredita-se que tanto a dose de EDTA a ser utilizada para aumentar a absorção de Pb pelas plantas, como a própria planta a ser recomendada para a fitoextração, dependerá em muito dos atributos do solo. Doses de EDTA e espécies fitorremediadoras selecionadas em outros países dificilmente terão sucesso em solos com elevados teores de Fe e Al. Isto indica que há necessidade de estudos sobre fitorremediação utilizando espécies vegetais adaptadas ao nosso clima em solos do Brasil.

Dentre as três espécies testadas, o feijão-de-porco e o milho foram as que apresentaram maior potencial como remediadora de Pb. Estas espécies foram mais resistentes a aplicação de EDTA, além de acumular mais Pb em sua parte aérea. Além disso, o milho, mesmo na ausência de EDTA, acumulou grandes quantidades de Pb. Isso certamente traz vantagens econômicas para o processo de fitorremediação, pois, mesmo na ausência de EDTA bons resultados foram obtidos com a cultura do milho.

Considerando os resultados obtidos com as três espécies para fitorremediar solos com altos teores de Pb, surge uma pergunta: qual deve ser a recomendada? Não é uma pergunta fácil de ser respondida, pois, a escolha da espécie não deve ser baseada somente na sua capacidade em extrair Pb do solo. Alguns aspectos como produção de massa vegetal, facilidade de cultivo, resistência a pragas e doenças e outras características agronômicas, deverão ser consideradas na escolha da planta remediadora de Pb. Contudo, pesquisas nesta

área estão sendo iniciadas no Brasil e somente, com o trabalho aqui apresentado, é impossível responder esta questão.

6 CONCLUSÕES

1) Dentre as espécies testadas o girassol foi a que apresentou maior sensibilidade à aplicação de EDTA.

2) Tanto o feijão-de-porco como o milho foram eficientes em acumular o Pb na parte aérea, apresentando potencial como fitoextratoras de Pb.

3) Dentre as espécies testadas, o milho foi a única cuja aplicação de EDTA não afetou o teor de Pb na parte aérea. Portanto, não se recomenda o uso de EDTA para aumentar a extração de Pb no solo pelo milho.

4) A fitorremediação de Pb com milho foi economicamente mais vantajosa em relação ao feijão-de-porco e girassol.

5) Na presença do EDTA, mais de 90% do total das formas de Pb, de Fe e de Al foram complexados com o EDTA.

6) A eficiência do EDTA em aumentar a absorção de Pb pelas plantas dependerá da concentração de Pb, de Fe e de Al na solução do solo. Este fato possui grande importância em LATOSOLO VERMELHO que apresenta naturalmente altos teores de Fe e de Al.

7) Os extratores Mehlich-3 e DTPA foram eficientes em avaliar a disponibilidade de Pb para o girassol, o feijão-de-porco e o milho, diferente da pasta de saturação que não foi tão eficiente e foi mais trabalhosa.

REFERÊNCIAS

ABREU, C. A., ABREU, M. F., ANDRADE, J. C. Distribuição do chumbo no solo avaliada pelos extratores DTPA e Mehlich-1. **Bragantia**, Campinas, v.57, n.1, p.185-192, 1998.

ABREU, C. A., ABREU, M. F., RAIJ, B. V., SANTOS, W. R. Comparação de métodos para avaliar a disponibilidade de metais pesados em solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.19, n.3, p.463-468, 1995.

ABREU, C. A.; ABREU, M. F.; BERTON, R. S. Análise química de solo para metais pesados. In: **Tópicos em Ciências do Solo**. v.2, p.645-628, 2002.

ABREU, M.F. **Extração e determinação simultânea por emissão em plasma de nutrientes e elementos tóxicos em amostras de interesse agrônômico**. 1997, 135f. Dissertação (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Campinas.

ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: **Tópicos em Ciência do Solo**, v.1, p.299-351, 2000.

ADRIANO, D. C. **Trace elements in the terrestrial environment**. Springer, Berlin Heidelberg, New York, 1996.

Agency for Toxic Substances and Disease Control (ATSDR). **CERCL priority list of hazardous substances**, 2003. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/cxcx3.html>>. Acesso em 13 de dezembro de 2004.

BACCAN, N.; ANDRADE, J.C.; GODINHO, O.E.S.; BARONE, J.S.; Titulações complexométricas. In: **Química Analítica Quantitativa Elementar**. Campinas, Edgard Blücher, 2001. p.133-134.

BERGMANN, W. **Nutritional disorders of plants: development, visual and analytical diagnosis**. New York: G. Fisher, 1992. 741 p.

BISSANI, C.A.; GIANELLO, G.; TEDESCO, M.; CAMARGO, F.A.O. Teores de micronutrientes considerados adequados para algumas culturas. In: **Fertilidade dos Solos e Manejo da Adubação de Culturas**. 1.ed. Porto Alegre-RS, Gênese, 2004. 325 p.

BLAYLOCK, M.J.; SALT, D.E.; DUSHENKOV, S.; ZAKHAROVA, O.; GUSSMAN, C.; KAPULNIK, Y., ENSLEY, B. D.; RASKIN, I. Enhanced accumulation of Pb in Indian Mustard by soil-applied chelating agents. **Environmental Science Technology**, v.31, p.860-865, 1997.

CAMARGO, O.A.; MONIZ, A.C.; JORGE, J.A.; VALADARES, J.M.A.S. **Métodos de análise química e física de solos do Instituto Agrônomo de Campinas**, IAC, 1986. 94p. (B. Técnico, 106)

CAMPOS, M. L.; PIERANGELI, M. A. P.; GUILHERME, L. R. G.; MARQUES, J. J.; CURI, N. Baseline concentration of heavy metals in Brazilian latossols. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.34, n.3 e 4, p.547-557, 2003.

CANCELA, R., C. **Contenido de macro-micronutrientes, metales pesados y otros elementos en suelos naturales de São Paulo (Brasil) y Galicia (España)**. 574 p.2002. Tese (Facultad de Ciencias) - Universidade da Coruña.

CANTARELLA, H., TRIVELIN, P. C. O. Determinação de nitrogênio inorgânico em solo pelo método da destilação a vapor In: **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**, ed.Campinas: Instituto Agrônômico, 2001, p. 270-276.

CAO, X.; MA, L. Q.; CHEN, M.; HARDISON, D. W.; HARRIS, W. G.; Lead transformation and distribution in the soils of shooting ranges in Florida, USA, **The Science of the Total Environment**, v.307, p.179-189, 2003.

CHANEY, R. L.; BROWN, S. L.; LI, Y. M.; ANGLE, S.; STUCZYNSKI, T. I.; DANIELS, W. L.; HENRY, C.; SIEBIELEC, G.; MALIK, M.; RYAN, J. A.; COMPTON, H. Progress in risk assessment for soil metals, and *in-situ* remediation and phytoextraction of metals from hazardous contaminated soils. **US-EPA's Conference "Phytoremediation: State of Science Conference"**, Boston, MA, p.1-33, 2000.

CHANEY, R.L. Metal speciation and interactions among elements affect trace element transfer in agricultural and environmental food-chains. In: **Metal speciation: theory, analysis, and application**. Chelsea, MI, Lewis Publ, 1988. p.219-260.

CHANTACHON, S.; KRUATRACHUE, M.; POKETHITIYOOK, P.; TANTANASARIT, S.; UPATHAM, S.; SOONTHORNSARATHOOL, V. Phytoextraction of lead from contaminated soil by vetiver grass (*Vetiveria* sp.). **17^o WCSS**, Thailand, 2002.

CHEN, H.; CUTRIGHT, T. EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr, and Ni uptake by *Helianthus annuus*. **Chemosphere**, v.45, p.21-28, 2001.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Relação de áreas contaminadas no Estado de São Paulo**. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>> Acesso em 10 de dezembro de 2004.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Relação de áreas contaminadas no Estado de São Paulo**. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>> Acesso em 10 de dezembro de 2003.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em 02 de outubro de 2001.

COM CIÊNCIA. **Estudo revela altos índices de chumbo em população do Vale do Ribeira**. Disponível em: <www.comciencia.br/noticias/2003/29ago03/chumbo.htm>. Acesso em 08 de outubro de 2003.

CUI, Y.; WANG, Q.; DONG, Y.; LI, H.; CHRISTIE, P. Enhanced uptake of soil Pb and Zn by Indian mustard and winter wheat following combined soil application of elemental sulphur and EDTA. **Plant and soil**. v.261, p.181-188, 2004.

EBBS, S.D.; KOCHIAN, L.V. Phytoextraction of zinc by oat (*Avena sativa*), barley (*Hordeum vulgare*) and Indian mustard (*Brassica juncea*). **Environmental Science Technology**, v.32, p.802-806, 1998.

EMBRAPA, Centro nacional de pesquisa de solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, 1999. 412p.

EPSTEIN, A. L.; GUSSMAN, C.D.; BLAYLOCK, M.J.; YERMIYAHU, U.; HUANG, J.W.; KAPULNIK, Y.; OSER, C.S. EDTA and Pb-EDTA accumulation in *Brassica juncea* grown in Pb-amended soil. **Plant and Soil**, v.208, p.87-94, 1999.

ERNEST, W.H.O.; Bioavailability of heavy metals and descontamination of soils by plants. **Applied Geochemistry**, v.11, p.163-167, 1996.

ESTAT 2.0 Sistema de análise de variância estatística. Jaboticabal: **Polo Computacional** - Departamento de Ciências Exatas - Unesp, 1992.

GEEBELEN, W.; VANGRONSVELD, J.; ADRIANO, D. C.; POUCKE, L. C. V.; CLIJSTERS, H. Effects of Pb-EDTA and EDTA on oxidative stress reactions and mineral uptake in *Phaseolus vulgaris*. **Physiologia Plantarum**, v.115, p.377-384, 2002.

GREGER, M.; LANBERG, T.; BERG, B. Efficient phytoextraction of metals by *Salix* in field influence of biomass and removal of leaf litter. *Workshop "Phytoremediation of toxic metals"*. Stockholm, Sweden, p 2., 2003.

GRCMAN, H; VELIKONJA-BOLTA; S; VODNIK, D; KOS, B; LESTAN, D. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching and toxicity. **Plant and soil**, v.235, n.1, p.105-114, 2001.

GUSTAFSSON, J.P. Visual MINTEQ version 2.30. **Department of Land and Water Resources Engineering. Exposure Assessment Models**, Disponível na internet: <<http://www.lwr.kth.se/English/OurSoftware/vminteq/>>. Acesso em 01 de outubro de 2004a.

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

HERNANDEZ-ALLICA, J.; BARRUTIA, O.; BECERRIL, J.M.; GARBISU, C. EDTA reduces the physiological damage of lead on cardoon plants grown hidroponically. **Journal Physique IV**, v.107, p.613, 2003.

HUANG, J.W.; CHEN, J.; BERTI, W.R.; CUNNINGHAM, S.D. Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. **Environmental Science Technology**, v.31, p.800-805, 1997.

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

JARVIS, M. D.; LEUNG, D. W. M. Chelated lead transport in *Chamaecytisus proliferus* (L.f) link ssp. *proliferus* var. *palmensis* (H. Christ): an ultrastructural study. **Plant Science**, v.161, p.433-441, 2001.

KABATA PENDIAS, A.; PENDIAS. **Trace elements in soils and plants**. Boca raton, CRC Press, 1984. 315p.

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

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

LASAT, M. M. Phytoextraction of metals from contaminated soil: a review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues. **Journal of Hazardous Substance Research**, v.2, p.1-5, 2000.

LASAT, M. M. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. **Journal of Environmental Quality**, v.31, p.109-120, 2002.

LESTAN, D.; GRICMAN, H. Chelate enhanced Pb phytoextraction: plant uptake, leaching and toxicity. **17^o WCSS**, Thailand, 2002.

LINDSAY, W.L.; NORVELL, W.A. Development of DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.42, n.3, p.421-428, 1978.

MEHLICH, A. Mehlich-3 soil test extractant. A modification of Mehlich-1 extractant. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.15, p.1409-1416, 1984.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância Sanitária. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos. Portaria 15, de 13 de março de 1990. **Diário Oficial**, Brasília, Seção 1, Quinta-feira, 15 de março de 1990.

NRIAGU, J.O. Saturnine gout among Roman aristocrats. Did lead poisoning contribute to the fall of the Empire? **The New England Journal of Medicine**, v.308, p.660-663, 1983.

PARKER, D.R.; NORVELL, W.A.; CHANEY, R.L. GEOCHEM-PC: a chemical speciation program for IBM and compatible personal computers. In: LOEPPERT, R.H.; SCHWAB, P.; GOLDBERG, S. eds, Chemical Equilibrium and Reaction Models. **Soil Science Society of America**, Madison, WI, p.253-269, 1995.

PERCIVAL, H.J.; SPEIR, T.W.; PARSHOTAM, A. Soil solution chemistry of contrasting soils amended with heavy metals. **Australian Journal of Soil Research**, v.37, p.993-1004, 1999.

PETERS R. W. & SHEM L. Treatment of Soil Contaminated with heavy metals. In: **Metal speciation and contamination of soil**, 358 p., 1995.

PIRES, A.M.M. **Ácidos orgânicos da rizosfera: aspectos qualitativos e quantitativos e fitodisponibilidade de metais pesados originários de biossólidos**. 2003. 94p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba

RAIJ, B. van; CAMARGO, C. E. O. Cereais In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1997. p.45-47. (Boletim Técnico, 100).

RAIJ, B. van; QUAGGIO, J.A. **Métodos de análises de solo para fins de fertilidade**. Campinas, Instituto Agrônomo, 1983. 31p. (Boletim técnico, 81).

RASKIN, I.; KUMAR, PBA. N.; DUSHENKOV, S.; SALT, D.E. Bioconcentration of heavy metals by plants. **Current opinions in Biotechnology**, v.5, p.285-290, 1994.

RIBEIRO-FILHO, M.R.; SIQUEIRA J.O.; CURTI, N.; SIMÃO, J.B.P. Fracionamento e biodisponibilidade de metais pesados em solo contaminado, incubado com materiais orgânicos e inorgânicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, p.495-507, 2001.

ROBINSON, B.; FERNANDEZ, J. E.; MADEJÓN, P.; MARAÑHÓN, T.; MURILLO, J. M.; GREEN, S.; BRENT, C. Phytoextraction: an assessment of biochochemical and economic viability. **Plant and Soil**, v.249, p.117-125, 2003.

SALIDO, A. L.; HASTY K. L.; LIM, J. M.; BUTCHER, D. J. Phytoremediation of arsenic and lead in contaminated soil using Chinese brake ferns (*Pteris vittata*) and Indian mustard (*Brassica juncea*). **International Journal of Phytoremediation**, v.5, n.2, 2003.

SAUVÉ, S.; McBRIDE, M. B.; HENDERSHOT, W. H. Speciation of lead in contaminated soils. **Environmental Pollution**, v.98, p.149-155, 1997.

SCHMIDT, U. Enhancing phytoextraction: the effect of chemical soil manipulation on mobility, plant accumulation, and leaching of heavy metals. **Journal of Environmental Quality**, v.32, p.1939-1954, 2003.

SHEN, Z.G.; LI, X.D.; WANG, C.C.; CHEN, H.M.; CHUA, H. Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. **Journal of Environmental Quality**, v.31, p.1893-1900, 2002.

SILVA, B. C. E.; **Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM)**. 2003. Disponível na internet:<<http://www.dnpm.gov.br>> Acesso em 10 de dezembro de 2003.

SOUSA NETO, J. A.; COSENZA, R.M. A "gota de chumbo" no vinho. **Revista Médica de Minas Gerais**, v.3, n.2, p.115-117, 1993.

SPARKS, D.L. Soil solution-solid phase equilibria. In: SPARKS, D.L., **Environmental soil chemistry**. 1.ed. London, Academic press, 1995. p.81-97.

TANDY, S.; BOSSART, K.; MUELLER, R.; RITSCHER, J.; HAUSER, L.; SCHULIN, R.;

NOWACK, B. Extraction of heavy metals from soils using biodegradable chelating agents. **Environmental Science Technology**, v.38, p.937-944, 2004.

TASSI, E.; BARBAFIERI, M.; RIZZI, L. PETRUZZELLI, G. Phytoextraction of Pb and As by *Lupinus albus* and *Brassica juncea* in microcosm tests. **Workshop “Phytoremediation of toxic metals”**. Stockholm, Sweden, p.2, 2003.

TILLS, A.R.; ALLOWAY, B.J. The speciation of lead in soil solution from very polluted soils. **Environmental Technology Letters**, v.4, p.529-534, 1983.

TONG, S.; SCHIRNDING, Y. E.; PRAPAMONTOL, T. Environmental lead exposure: a public health problem of global dimensions. **Bulletin of the World Health Organization**, 2000, v.79, 1068-1077.

TRAINA, J.S. & LAPERCHÉ, V. Contaminant bioavailability in soils, sediments, and aquatic environments. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.96, p.3365-3371, 1999.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **Method 3051: microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils**. Disponível na internet: <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/3_series.htm>. Acesso em 01 de outubro de 2004a.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **The Clean Green—Phytoremediation**: Produced by U.S. EPA Environmental Response Team. Disponível na internet: <<http://www.clu-in.org/studio/video.cfm>>. Acesso em 01 de outubro de 2004b.

VASSIL, A. D.; KAPULNIK, Y.; RASKIN, I.; SALT, D. E. The role of EDTA in lead transport and accumulation by Indian mustard. **Plant physiology**, v.117, n.2, p.447-453, 1998.

von WIREN N.; MARSCHNER H.; RÖMHELD V. Roots of iron-efficient maize also absorb phytosiderophore-chelated zinc. **Plant physiology**, v.111, p.1119–1125, 1996.

WALLACE, G.A.; WALLACE, A. Lead and other potentially toxic heavy metals in soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.25, p.137-141, 1994.

WOLT, J.D. Obtaining soil solution: laboratory methods. In: WOLT, J.D. **Soil solution chemistry: applications to environmental science and agriculture**. New York: John Wiley & Sons, 1994. p. 95-120.

WU, Q.; HENDERSHOT, W.H.; MARSHALL, W.D.; GE, Y. Speciation of cadmium, copper, lead, and zinc in contaminated soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.31, n.9 e 10, p.1129-1144, 2000.

YONG, R.N.; GALVEZ-CLOUTIER, R. Selective extraction analysis of heavy-metal retention in soil. **Canadian Geotechnical Journal**, v.30, p.834-847.

ZEITOUNI, C. F. Eficiência de espécies vegetais como fitoextratoras de cádmio, chumbo, cobre, níquel e zinco de um Latossolo Vermelho Amarelo distrófico. 2003, 91p. Dissertação (Mestrado), Instituto Agronômico, Campinas.

APÊNDICE A

Efeito da aplicação de EDTA e de doses crescentes de Pb ao solo na concentração dos principais íons da solução do solo.

DOSES de Pb	Al ³⁺	B	Ca ²⁺	Cu ²⁺	Fe ³⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Mn ²⁺	Pb ²⁺	Zn ²⁺	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	pH
mg kg ⁻¹	mg L ⁻¹														
SEM EDTA															
0	0,3	0,2	804,0	0,1	0,5	308,0	404,0	7,7	1,3	0,3	8,4	1067,1	180,0	2772,2	5,3
100	0,4	0,2	904,0	0,1	0,4	308,0	422,0	11,5	0,2	0,6	7,3	968,8	191,1	2736,2	5,1
200	0,2	0,2	582,0	0,1	0,4	231,0	292,0	6,4	0,1	0,3	8,6	847,5	145,3	2515,8	5,4
350	0,3	0,2	600,0	0,1	0,4	256,0	344,0	8,0	0,2	0,6	7,3	980,7	134,2	2467,8	5,5
1.200	0,3	0,2	1184,0	0,1	0,3	333,0	556,0	16,3	2,3	0,5	11,4	993,5	149,1	3148,8	5,2
2.400	0,5	0,2	1260,0	0,1	0,3	282,0	506,0	23,7	13,4	0,9	4,4	645,7	175,1	3240,9	4,9
COM EDTA															
0	4,5	0,2	694,0	5,9	217,2	308,0	416,0	14,1	12,2	12,0	9,4	1155,3	185,9	2968,5	5,3
100	3,6	0,2	856,0	4,2	216,6	359,0	486,0	15,3	105,4	6,8	10,0	1177,5	210,4	3501,3	5,2
200	2,2	0,2	594,0	3,5	153,9	256,0	346,0	9,9	222,8	5,7	8,7	1086,8	133,6	2820,3	5,4
350	2,0	0,2	746,0	3,2	139,4	333,0	440,0	11,8	400,8	4,2	10,9	1150,3	131,6	6005,2	5,3
1.200	1,0	0,2	926,0	1,0	61,5	295,0	488,0	14,5	604,4	1,0	10,0	965,8	129,9	2812,3	5,2
2.400	0,9	0,2	1100,0	0,5	41,2	282,0	476,0	22,5	476,4	1,1	9,2	759,4	36,4	3505,3	4,9

APÊNDICE B

Efeito da aplicação de EDTA e de doses crescentes de Pb ao solo na concentração dos principais íons da solução do solo.

Doses de Pb	pH	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SO ₄ ²⁻	Cl ⁻	Cu ²⁺	Fe ³⁺	Mn ²⁺	Zn ²⁺	Al ³⁺	Pb ²⁺
mg kg ⁻¹	mg L ⁻¹														
Sem EDTA															
0	4,3	398,06	2713,47	0,41	120,75	456,00	247,00	314,97	72,07	0,03	0,08	4,20	0,29	0,60	0,10
100	4,3	415,65	3478,73	0,59	120,75	438,00	240,00	271,52	65,68	0,03	0,06	5,23	0,66	0,57	0,46
200	4,5	373,99	2802,75	0,25	115,50	409,00	219,00	287,86	67,10	0,02	0,05	4,58	1,42	0,50	0,54
350	4,4	285,12	3405,39	0,50	99,75	393,00	215,00	256,73	56,45	0,06	0,06	4,35	0,80	0,63	1,50
1.200	4,5	268,46	3794,40	0,57	115,50	513,00	265,00	196,12	53,96	0,02	0,22	8,08	1,50	1,71	15,44
2.400	4,0	138,86	4036,73	0,48	131,25	678,00	303,00	142,72	21,30	0,01	0,07	15,94	0,91	2,05	141,24
Com EDTA															
0	4,3	324,00	2713,47	0,78	126,00	396,00	233,00	278,36	70,29	1,20	148,00	7,37	2,39	4,49	39,00
100	4,1	442,49	2678,40	1,03	136,50	433,00	258,00	308,37	85,91	1,15	149,72	8,38	2,31	4,49	141,09
200	4,0	364,73	2738,98	0,76	131,25	424,00	250,00	298,05	68,87	0,85	123,88	8,41	1,53	3,18	244,99
350	4,4	351,77	3666,86	0,99	152,25	525,00	313,00	360,20	66,74	0,84	121,58	10,97	1,47	3,84	484,87
1.200	4,1	339,74	3092,91	0,79	152,25	607,00	410,00	318,86	66,74	0,25	53,38	11,90	0,57	1,80	903,83
2.400	3,8	175,89	3124,80	0,44	152,25	823,00	410,00	184,31	28,40	0,08	27,87	22,32	0,77	3,29	655,84

APÊNDICE C

Efeito da aplicação de EDTA e de doses crescentes de Pb ao solo na concentração dos principais íons da solução do solo.

Doses de Pb	pH	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SO ₄ ²⁻	Cl ⁻	Cu ²⁺	Fe ³⁺	Mn ²⁺	Zn ²⁺	Al ³⁺	Pb ²⁺
mg kg ⁻¹		mg L ⁻¹													
Sem EDTA															
0	4,6	473,97	2327,66	0,41	147,00	537,00	312,00	314,97	84,14	0,03	2,12	6,22	0,34	1,06	2,00
100	4,6	416,57	3663,67	0,59	115,50	432,00	241,00	271,52	90,53	0,01	0,22	5,74	0,21	1,25	2,07
200	4,5	368,43	2955,81	0,25	115,50	424,00	232,00	287,86	69,23	0,01	0,12	5,13	0,17	0,64	2,64
350	4,4	325,85	3220,46	0,50	110,25	437,00	239,00	256,73	71,00	0,01	0,07	5,27	0,20	0,64	2,16
1.200	4,2	318,45	2436,07	0,57	136,50	598,00	315,00	196,12	70,29	0,02	0,04	9,62	0,32	0,89	19,93
2.400	3,8	138,86	2652,89	0,48	126,00	692,00	312,00	142,72	16,69	0,01	0,04	16,77	0,82	2,43	232,74
Com EDTA															
0	4,4	344,37	3194,95	0,78	141,75	438,00	258,00	278,36	83,78	1,36	168,13	8,59	2,61	5,64	35,18
100	4,2	455,45	2573,18	1,03	152,25	474,00	286,00	308,37	96,21	1,29	168,11	9,23	2,52	5,34	150,52
200	4,0	371,21	2429,69	0,76	141,75	434,00	253,00	298,05	75,26	0,98	132,78	8,87	1,68	3,78	263,33
350	4,3	306,41	2732,61	0,99	136,50	443,00	253,00	360,20	61,42	0,75	103,84	9,42	1,20	2,96	404,89
1.200	4,1	307,34	3019,58	0,79	141,75	529,00	290,00	318,86	61,06	0,29	45,82	10,44	0,48	1,64	764,05
2.400	4,0	155,52	3147,12	0,44	141,75	695,00	330,00	184,31	21,30	0,08	24,48	19,35	0,65	2,44	575,02