

Trabalho Final de Mestrado em Engenharia Ambiental  
Modalidade: Dissertação

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ESPÉCIES VEGETAIS  
NA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS  
POR PETRÓLEO**

*Giselle Smocking Rosa*

Orientadora: *Marcia Marques Gomes*  
Co-orientador: *Sérgio Machado Corrêa*

Centro de Tecnologia e Ciências  
Faculdade de Engenharia  
Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente

Junho de 2006

# AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ESPÉCIES VEGETAIS NA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR PETRÓLEO

Giselle Smocking Rosa

Trabalho Final submetido ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Aprovada por:

---

Prof.<sup>a</sup> Marcia Marques Gomes, PhD  
PEAMB/FEN/UERJ

---

Prof. Sérgio Machado Corrêa, DSc  
Faculdade de Tecnologia-UERJ

---

Prof. Fabiano Balieiro, DSc  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro-UFRRJ

---

Prof.<sup>a</sup> Mirian Araújo Carlos Crapez, PhD  
Universidade Federal Fluminense-UFF

Universidade do Estado do Rio de Janeiro  
Junho de 2006

ROSA SMOCKING, GISELLE  
Avaliação do Potencial de Espécies Vegetais na  
Fitorremediação de Solos Contaminados por  
Petróleo  
[Rio de Janeiro] 2006.

xiii, 144 p. 29,7 cm (FEN/UERJ, Mestrado,  
Programa de Pós-graduação em Engenharia  
Ambiental - Área de Concentração: Saneamento  
Ambiental - Controle da Poluição Urbana e  
Industrial, 2002.)

Dissertação - Universidade do Estado do Rio de  
Janeiro - UERJ

1. Fitorremediação de áreas contaminadas
  2. Hidrocarbonetos de Petróleo
  3. Fitotoxicidade
- I. FEN/UERJ II. Título (série)

Resumo do Trabalho Final apresentado ao PEAMB/UERJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Ambiental

## Avaliação do Potencial de Espécies Vegetais na Fitorremediação de Solos Contaminados por Petróleo

Giselle Smocking Rosa

Junho de 2006

Orientadora: Márcia Marques Gomes

Co-orientador: Sérgio Machado Corrêa

Área de Concentração: Saneamento Ambiental - Controle da Poluição Urbana e Industrial

A fitorremediação é uma tecnologia que utiliza espécies vegetais para extrair, conter, imobilizar ou degradar contaminantes do solo e da água. Vários fatores podem afetar o desempenho da fitorremediação, incluindo propriedades do solo, microorganismos da rizosfera, metabolismo da planta e características físico-químicas do contaminante. No entanto, o conhecimento disponível sobre o potencial do uso espécies vegetais restringe-se quase que exclusivamente a regiões de clima temperado, sendo necessário o estudo desta tecnologia em regiões tropicais. O presente trabalho avaliou o desempenho em termos de germinação e de produção de biomassa radicular e aérea de sete espécies vegetais (*Ricinus communis*, *Helianthus annuus*, *Glicine max*, *Acacia holosericea*, *Brachiaria brizantha*, *Tibouchina granulosa*, *Leucaena leucocephala*) pertencentes a diferentes grupos (nativas, exóticas, oleaginosas com potencial de produção de biodiesel, gramíneas e florestais) na presença de dois tipos de óleo cru de origens, idades e composições distintas, em cinco concentrações (0,05%; 0,5%; 2%; 4%; 6% p/p) em três condições experimentais (germinador, sala climatizada e casa de vegetação). Observou-se que dependendo da espécie, condições experimentais e da concentração do óleo, o mesmo pode inibir, adiar ou favorecer a germinação, assim como a produção de biomassa. Óleo pesado, recém-extraído da bacia de Campos-CP (14,94°API) apresentou aparentemente efeitos tóxicos mais acentuados quando comparado ao óleo leve e envelhecido da bacia de Alagoas-AL (56,43 °API). Em condições experimentais similares para seis espécies (seis concentrações, óleo AL, sala climatizada), *A. holosericea* não foi significativamente afetada pela presença do óleo em nenhuma variável ou concentração. As demais espécies apresentaram efeito da toxicidade sobre pelo menos uma das variáveis estudadas. Os resultados reforçam a hipótese de que não há somente um tipo de interação óleo-planta, nem uma espécie ideal para fitorremediação. A seleção da espécie deve ser baseada no comportamento desta nas condições específicas da área a ser remediada. Devido ao baixo custo e à rapidez de execução (menos de um mês), testes de germinação e produção inicial de biomassa são sugeridos como screening para escolha das espécies com potencial de remediação de uma área.

**Palavras-Chave:** fitorremediação, solo contaminado, petróleo, toxicidade, crescimento vegetal

Abstract of Final Work presented to PEAMB/UERJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Environmental Engineering

## Assessment of Plant Species Potential for Phytoremediation of Oil-Contaminated Soils

Giselle Smocking Rosa

Junho de 2006

Advisor: Dr. Marcia Marques Gomes

Co-advisor: Dr. Sérgio Machado Corrêa

Area: Environmental Sanitation - Urban and Industrial Pollution Control

Phytoremediation is a technology that uses plants to extract, contain, immobilize or to degrade contaminants found in soil and water. Several factors can affect the performance of the phytoremediation, including the soil's properties, physical and chemical characteristics of the contaminant, microorganisms in the rhizosphere, and plant metabolism. However, available information on the potential of plants is almost exclusively restricted to temperate climate regions; therefore, there is a need for investigations in tropical regions. The present work assessed the performance in terms of germination and root/aerial biomass production of seven species (*Ricinus communis*, *Helianthus annuus*, *Glicine max*, *Acacia holosericea*, *Brachiaria brizantha*, *Tibouchina granulosa*, *Leucaena leucocephala*) that belong to different groups (native and exotic, biodiesel potential producers, grass and forest species) in the presence of two types of oil from different sources, ages and composition, in five concentrations (0.05%; 0.5%; 2%; 4%; 6% w/w) under three experimental conditions (growth chamber, *in vitro* cell culture room and greenhouse). It was observed that depending on the species, experimental conditions, oil characteristics and concentration, the oil can inhibit, postpone or favor the germination, as well as the root and/or aerial biomass growth. Heavy crude oil, recently extracted from Campos basin (CP) with 14.94°API apparently had stronger toxic effect at greenhouse, when compared to lighter and aged oil from Alagoas basin (AL) with 56.43 °API in *in vitro* cell culture room. Under similar experimental conditions (five concentrations of AL oil and *in vitro* cell culture room), *Acacia holosericea* was not significantly affected in any of the variables studied. All other species under the same conditions suffered at least some slight toxic effect depending on oil concentration. The results strengthen the hypothesis that there is not only one type of interaction oil-plant, neither the best specie for phytoremediation in field-scale. The selection of the specie must be based on its behavior under the specific conditions found in the area to be remediate. Due to low costs and short time required (less than one month), germination and initial biomass growth tests are suggested as a preliminary screening for choosing the species with potential to remediate a contaminated site.

**Keywords:** phytoremediation, contaminated soil, petroleum, phytotoxicity, plant growth

*Para o Ronnes Marcelo  
com muito carinho*

## AGRADECIMENTOS

A Deus por mais esta conquista.

Aos meus pais José César e Sandra e irmãos Daniela e Hugo pelo amor, apoio e incentivo constantes. A minha família pelo amor e incentivo.

A Prof<sup>a</sup>. Marcia Marques Gomes pela orientação, apoio e amizade.

A Christiane Rosas Chafim pelo carinho, amizade e colaboração.

A Dr<sup>a</sup>. Maria Luiza Araújo e toda a equipe da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro Pesagro-Rio, pelo apoio, incentivo e acesso às instalações da Estação Experimental de Seropédica. Ao MSc. Marcelo Castilho da Pesagro-Rio pelo apoio na identificação dos fungos.

Ao Prof. Sérgio Machado Corrêa pela co-orientação e apoio nas análises químicas.

Ao Dr. Fabiano de Carvalho Balieiro pelas sugestões nas discussões sobre espécies a serem testadas.

A Prof<sup>a</sup>. Beth Ritter e toda a equipe do Laboratório de Engenharia Sanitária da Faculdade de Engenharia da FEN/ UERJ pelo apoio e acesso às instalações.

A Prof<sup>a</sup>. Fátima Pina Rodrigues pela colaboração e disponibilidade do Laboratório de Sementes do Instituto de Floresta/ UFRRJ.

Aos membros da banca pela valiosa contribuição nos aprimoramentos deste trabalho.

À Peugeot de Resende, RJ e ao Laboratório de Química do Instituto de Química/ UERJ por disponibilizar instalações e reagentes para as análises cromatográficas.

Ao Biól. Bruno Cardoso do Laboratório de Morfologia Vegetal do Museu Nacional pelo apoio nos cortes histológicos.

Aos amigos integrantes atuais ou antigos do Grupo de Pesquisa BioProcess UERJ/ CNPq: Paulo César Silva da Motta e Leonardo de Araújo pelo carinho, encorajamento e colaboração, Fábio Kaczala, Eduardo Togoro, Gobby Miranda, Jonatas Silva, Eduardo Sodrê, Raphael Favilla, Thais Brito e Anderson pela amizade e pelos desafios compartilhados.

As amigas Vilma Xavier e Raphaela Rangel pelo companherismo, carinho e incentivo.

A todos que direta ou indiretamente, participaram deste trabalho meu muito obrigada.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	ix
LISTA DE TABELAS .....	xii
ABREVIACÕES .....	xiii
1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1 Contextualização e Relevância do tema .....	1
2. OBJETIVOS .....	4
2.1 Objetivo geral .....	4
2.2 Objetivos específicos .....	4
3. ABORDAGEM METODOLÓGICA .....	5
4. PETRÓLEO .....	6
4.1 Características físico-químicas do petróleo .....	7
4.2 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) .....	12
5. SOLO .....	14
6. FATORES RELEVANTES À DEGRADAÇÃO DOS HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO NO SOLO .....	16
6.1 Fatores ambientais .....	16
6.2 Manejo do solo .....	17
6.3 Transporte e interação dos hidrocarbonetos de petróleo com o solo .....	18
6.4 Biodegradação de compostos orgânicos no solo .....	21
6.5 Microrganismos e biodegradação dos HPAs .....	22
6.6 Raízes e Micorrizas .....	25
7. FITORREMEDIAÇÃO .....	27
8. DESEMPENHO DE ESPÉCIES VEGETAIS .....	33
8.1 Germinação .....	34
8.2 Efeito tóxico do petróleo sobre as plantas .....	36
9. MATERIAIS E MÉTODOS .....	38
9.1 Revisão bibliográfica e seleção das espécies .....	38
9.2 Condições experimentais utilizadas .....	39
9.3 Caracterização dos dois tipos de óleo cru utilizados .....	40
9.4 Testes em germinador .....	42
9.5 Testes na casa de vegetação .....	42
9.6 Experimento em sala climatizada .....	43
9.7 Análise de germinação precoce, tardia e total .....	44
9.8 Análises estatísticas .....	45
10.1 Caracterização dos óleos crus utilizados .....	47
10.2 Padrão de germinação .....	49
10.3 Experimento realizado em germinador (Ge) .....	50
10.3.1. <i>Brachiaria brizantha</i> .....	50
10.3.1.1 <i>Taxa de germinação</i> .....	50
10.3.1.2 <i>Produção de biomassa</i> .....	51
10.3.2. <i>Helianthus annuus</i> .....	52
10.3.2.1 <i>Taxa de germinação</i> .....	52
10.3.2.2 <i>Produção de biomassa</i> .....	52
10.4 Experimentos realizados em casa de vegetação (CV) .....	54
10.4.1 <i>Leucaena leucocephala</i> .....	54
10.4.1.1 <i>Taxa de germinação</i> .....	54
10.4.1.2 <i>Produção de biomassa</i> .....	55
10.4.2 <i>Ricinus communis</i> .....	56
10.4.2.1 <i>Taxa de germinação</i> .....	56
10.4.2.2 <i>Produção de biomassa</i> .....	57



10.5 Experimentos realizados em sala climatizada (SC).....	58
10.5.1 <i>Acacia holosericea</i> .....	58
10.5.1.1 Germinação .....	58
10.5.1.2 Produção de biomassa .....	59
10.5.2 <i>Brachiaria brizantha</i> .....	60
10.5.2.1 Taxa de germinação .....	60
10.5.2.2 Produção de biomassa .....	60
10.5.3 <i>Helianthus annuus</i> .....	62
10.5.3.1 Taxa de germinação .....	62
10.5.3.2 Produção de biomassa .....	62
10.5.3.3 Observação microscópica de cortes transversais .....	64
10.5.4 <i>Ricinus comunnis</i> .....	65
10.5.4.1 Taxa de germinação .....	65
10.5.4.2 Produção de biomassa .....	65
10.5.5 <i>Glycine max</i> .....	67
10.5.5.1 Taxa de germinação .....	67
10.5.5.2 Produção de biomassa .....	67
10.5.6 <i>Tibouchina granulosa</i> .....	69
10.5.6.1 Taxa de germinação .....	69
10.5.6.2 Produção de biomassa .....	69
10.6 Incidência de sementes com fungos em sala climatizada.....	70
10.7 Comparação de desempenho: Diferentes espécies, mesma condição experimental ....	71
10.7.1 Espécies testadas em germinador ( <i>Brachiaria brizantha</i> versus <i>Helianthus annuus</i> )	72
10.7.2 Espécies testadas em casa de vegetação ( <i>R. comunnis</i> versus <i>L. leucocephala</i> ).....	73
10.7.3 Espécies testadas em sala climatizada (seis espécies).....	75
10.8 Comparação de desempenho: mesma espécie, condições experimentais distintas .....	78
10.8.1 <i>Brachiaria brizantha</i> , <i>Helianthus annuus</i> , <i>Ricinus comunnis</i> .....	78
10.8.2 Efeitos dos dois óleos testados .....	84
11. DISCUSSÃO .....	89
12. CONCLUSÕES .....	94
13. PERSPECTIVAS E AÇÕES FUTURAS.....	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	97
ANEXO I – CHAVE DE DECISÃO NA ESCOLHA DA ESPÉCIE.....	115
ANEXO II – FICHAS AGRONÔMICAS .....	117
ANEXO III - LISTA DE ESPÉCIES COM POTENCIAL PARA FITORREMEDIAÇÃO .....	124
ANEXO IV – TESTES KRUSKAL-WALLIS .....	128
ANEXO V. Valores de $p$ do teste Kruskal-Wallis ou $p$ do teste Mann-Whitney ( $\alpha = 0,05$ ). .....	144

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Contaminantes encontrados nas áreas contaminadas inventariadas pela CETESB em São Paulo e frequência de ocorrência (CETESB, 2006). .....	7
<b>Figura 2.</b> Classificação dos principais hidrocarbonetos do petróleo (Fontes: POTTER & SIMMONS, 1998; GÓES, 1997). .....	9
<b>Figura 3.</b> Estrutura molecular dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos prioritários, segundo a U.S. EPA (Fonte: EPA, 2005). .....	13
<b>Figura 4.</b> Cromatograma do óleo da bacia de Alagoas (AL). .....	47
<b>Figura 5.</b> Cromatograma do óleo da bacia de Campos (CP) .....	48
<b>Figura 6.</b> Padrão de dispersão do período germinativo (início e fim) por espécie estudada. <b>Ha</b> ( <i>Helianthus annus</i> ), <b>Rc</b> ( <i>Ricinus comunnis</i> ), <b>Bb</b> ( <i>Brachiaria brizantha</i> ); <b>Tg</b> ( <i>Tibuchina granulosa</i> ), <b>Gm</b> ( <i>Glycine max</i> ); <b>Ah</b> ( <i>Acacia holosericea</i> ). .....	49
<b>Figura 7.</b> Taxa de germinação (a) precoce, (b) tardia e (c) total de <i>Brachiaria brizantha</i> em germinador, frente a diferentes concentrações de óleo cru. ....	50
<b>Figura 8.</b> Produção de biomassa radicular e aérea de <i>Brachiaria brizantha</i> em germinador; plântulas com germinação precoce. ....	51
<b>Figura 9.</b> Produção de biomassa radicular e aérea de <i>Brachiaria brizantha</i> em germinador; plântulas com germinação tardia. ....	51
<b>Figura 10.</b> Taxa de germinação precoce, tardia e total de <i>Helianthus annus</i> em germinador, frente a diferentes concentrações de óleo cru (linhas verticais: $\pm$ erro padrão). ....	52
<b>Figura 11.</b> Produção de biomassa radicular e aérea de <i>Helianthus annus</i> em germinador; plântulas de germinação precoce. ....	53
<b>Figura 12.</b> Produção de biomassa radicular e aérea de <i>Helianthus annus</i> em germinador; plântulas de germinação tardia. ....	53
<b>Figura 13.</b> Taxa de germinação precoce, tardia e total de <i>Leucaena leucocephala</i> em casa de vegetação, frente a diferentes concentrações de óleo cru (linhas verticais: $\pm$ erro padrão). ....	54
<b>Figura 14.</b> Produção de biomassa radicular e aérea, plântulas <i>Leucaena leucocephala</i> em casa de vegetação; plântulas germinação precoce. ....	55
<b>Figura 15.</b> Produção de biomassa radicular e aérea de <i>Leucaena leucocephala</i> em casa de vegetação; plântulas de germinação tardia. ....	55
<b>Figura 16.</b> Taxa de germinação (a) precoce, (b) tardia e (c) total de <i>Ricinus comunnis</i> em casa de vegetação, frente a diferentes concentrações de óleo cru. ....	56
<b>Figura 17.</b> Produção de biomassa radicular de <i>Ricinus comunnis</i> em casa de vegetação; plântulas de germinação precoce e tardia (linhas verticais: $\pm$ erro padrão). .....	57
<b>Figura 18.</b> Produção de biomassa aérea de <i>Ricinus comunnis</i> em casa de vegetação; plântulas de germinação precoce e tardia (linhas verticais: $\pm$ erro padrão). .....	57
<b>Figura 19.</b> Taxa de germinação (a) precoce, (b) tardia e (c) total da <i>Acacia holosericea</i> em sala climatizada, frente a diferentes concentrações de óleo-cru. ....	58
<b>Figura 20.</b> Produção de biomassa radicular e aérea de <i>Acacia holosericea</i> em sala climatizada; plântulas de germinação precoce (linhas verticais: $\pm$ erro padrão). ....	59
<b>Figura 21.</b> Produção de biomassa radicular e aérea de <i>Acacia holosericea</i> em sala climatizada; plântulas de germinação tardia (linhas verticais: $\pm$ erro padrão). ....	59
<b>Figura 22.</b> Taxa de germinação (a) precoce, (b) tardia e (c) total <i>Brachiaria brizantha</i> em sala climatizada, frente a diferentes concentrações de óleo cru. ....	60
<b>Figura 23.</b> Produção de biomassa (a) radicular e (b) aérea em plântulas de <i>Brachiaria brizantha</i> em sala climatizada; plântulas de germinação precoce. ....	61
<b>Figura 24.</b> Produção de biomassa (a) radicular e (b) aérea de <i>Brachiaria brizantha</i> em sala climatizada; plântulas de germinação tardia. ....	61
<b>Figura 25.</b> Taxa de germinação (a) precoce, (b) tardia e (c) total de <i>Helianthus annus</i> em sala climatizada, frente a diferentes concentrações de óleo-cru. ....	62

<b>Figura 26.</b> Produção de biomassa radicular de <i>Helianthus annuus</i> em sala climatizada; plântulas de germinação precoce e tardia (linhas verticais: $\pm$ erro padrão).....	63
<b>Figura 27.</b> Produção de biomassa (a) radicular e (b) aérea de <i>Helianthus annuus</i> em sala climatizada; plântulas de germinação tardia.....	63
<b>Figura 28.</b> Taxa de germinação (a) precoce, (b) tardia e (c) total de <i>Ricinus comunnis</i> em sala climatizada, frente a diferentes concentrações de óleo cru. ....	65
<b>Figura 29.</b> Produção de biomassa (a) radicular e (b) aérea das plântulas de <i>Ricinus comunnis</i> em sala climatizada; plântulas de germinação precoce. ....	66
<b>Figura 30.</b> Produção de biomassa (a) radicular e (b) aérea de <i>Ricinus comunnis</i> em sala climatizada; plântulas de germinação tardia.....	66
<b>Figura 31.</b> Taxa de germinação (a) precoce, (b) tardia e (c) total de <i>Glycine max</i> em sala climatizada, frente a diferentes concentrações de óleo cru. ....	67
<b>Figura 32.</b> Produção de biomassa (a) radicular e (b) aérea de <i>Glycine max</i> em sala climatizada; plântulas de germinação precoce. ....	68
<b>Figura 33.</b> Produção de biomassa (a) radicular e (b) aérea de <i>Glycine max</i> em sala climatizada; plântulas de germinação tardia.....	68
<b>Figura 34.</b> Taxa de germinação total de <i>Tibouchina granulosa</i> em sala climatizada frente a diferentes concentrações de óleo-cru.....	69
<b>Figura 35.</b> Produção de biomassa das plântulas de <i>Tibouchina granulosa</i> em sala climatizada frente a diferentes concentrações de óleo-cru.....	70
<b>Figura 36.</b> Incidência de sementes com fungo. Agregação dos dados nas diferentes concentrações de óleo cru (AL) em seis espécies estudadas em sala climatizada (média $\pm$ erro padrão).....	71
<b>Figura 37.</b> Índice de germinação da <i>Brachiaria brizantha</i> e do <i>Helianthus annuus</i> no germinador (GE).....	72
<b>Figura 38.</b> Índice de biomassa radicular da <i>Brachiaria brizantha</i> e do <i>Helianthus annuus</i> no germinador (GE).....	73
<b>Figura 39.</b> Índice de biomassa aérea da <i>Brachiaria brizantha</i> e do <i>Helianthus annuus</i> no germinador (GE).....	73
<b>Figura 40.</b> Índice de germinação total de <i>Ricinus comunnis</i> e <i>Leucena leucocephala</i> em casa de vegetação (CV). ....	74
<b>Figura 41.</b> Índice de biomassa radicular de <i>Ricinus comunnis</i> e <i>Leucena leucocephala</i> em casa de vegetação (CV). ....	74
<b>Figura 42.</b> Índice de biomassa aérea da <i>Ricinus comunnis</i> e <i>Leucena leucocephala</i> em casa de vegetação (CV). ....	74
<b>Figura 43.</b> Índices de germinação total das seis espécies estudadas em sala climatizada.....	76
<b>Figura 44.</b> Índice de produção de biomassa radicular em plântulas de germinação precoce nas seis espécies estudadas em sala climatizada.....	76
<b>Figura 45.</b> Índice de produção de biomassa radicular em plântulas de germinação tardia nas seis espécies estudadas em sala climatizada.....	76
<b>Figura 46.</b> Índice de produção de biomassa aérea em plântulas de germinação precoce das espécies estudadas em sala climatizada.....	77
<b>Figura 47.</b> Índice de produção de biomassa aérea em plântulas de germinação tardia das espécies estudadas em sala climatizada.....	77
<b>Figura 48.</b> Taxa de germinação total da <i>Brachiaria brizantha</i> em (a) germinador (Ge) e em (b) sala climatizada (SC). ....	79
<b>Figura 49.</b> Biomassa radicular (a, b) plântulas de germinação precoce e (c, d) tardia. <i>Brachiaria brizantha</i> (Bb) em (a, c) germinador e em (b, d) sala climatizada. ....	79
<b>Figura 50.</b> Biomassa aérea (a, b) plântulas de germinação precoce e (c, d) tardia. <i>Brachiaria brizantha</i> (Bb) em (a, c) germinador e (b, d) sala climatizada.....	80
<b>Figura 51.</b> Taxa de germinação total do <i>Helianthus annuus</i> (Ha) em germinador (GE) e sala climatizada (SC). ....	81

<b>Figura 52.</b> Biomassa radicular (a, b) plântulas de germinação precoce e (c, d) tardia. <i>Helianthus annuus</i> (Ha) em (a, c) germinador e (b, d) sala climatizada.....	81
<b>Figura 53.</b> Biomassa aérea (a, b) plântulas de germinação precoce e (c, d) tardia. <i>Helianthus annuus</i> (Ha) em (a, c) germinador e (b, d) sala climatizada.....	82
<b>Figura 54.</b> Taxa de germinação total da <i>Ricinus comunnis</i> (Rc) em sala climatizada (SC) e casa de vegetação (CV). .....	83
<b>Figura 55.</b> Biomassa radicular (a, b) plântulas de germinação precoce e (c, d) tardia. <i>Ricinus comunnis</i> (Rc) em (a, c) casa de vegetação e (b, d) sala climatizada.....	83
<b>Figura 56.</b> Biomassa aérea (a, b) plântulas de germinação precoce e (c, d) tardia. <i>Ricinus comunnis</i> (Rc) em (a, c) casa de vegetação e (b, d) sala climatizada.....	84
<b>Figura 57.</b> Quadro sinóptico - Germinação: espécies, condições experimentais, concentrações e tipos de óleo (GE = Germinador; CV = Casa de Vegetação; SC = Sala Climatizada).....	86
<b>Figura 58.</b> Quadro sinóptico - Biomassa: espécies, condições experimentais, concentrações e tipos de óleo (GE= Germinador; CV= Casa de Vegetação; SC= Sala Climatizada). .....	87
<b>Figura 59.</b> <i>Acacia holosericea</i> .....	117
<b>Figura 60.</b> <i>Brachiaria brizantha</i> .....	118
<b>Figura 61.</b> <i>Glycine max</i> .....	119
<b>Figura 62.</b> <i>Helianthus annuus</i> .....	120
<b>Figura 63.</b> <i>Leucaena leucocephala</i> .....	121
<b>Figura 64.</b> <i>Ricinus comunnis</i> . .....	122
<b>Figura 65.</b> <i>Tibouchina granulosa</i> .....	123

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Elementos comuns à composição do petróleo e respectivas faixas de abundância, indicando a dominância dos formadores de hidrocarbonetos.....	8
Tabela 2 - Classificação dos tipos de óleo.....	9
Tabela 3 - Principais hidrocarbonetos presentes no óleo cru. ....	10
Tabela 4 - Exemplo de comparação de custo. ....	28
Tabela 5 - Mecanismos de fitorremediação.....	29
Tabela 6 - Cinco classes de compostos rizodepositados e seus potenciais de influência na rizodegradação.....	31
Tabela 7 - Espécies e condições experimentais utilizadas nos testes de germinação.....	40
Tabela 8 – Densidade relativa dos óleos. ....	47
Tabela 9 - Resultados das análises de BTEXT e HPAs das amostras de petróleo: CG-DIC realizadas no Agilent 6820 da UERJ; CG-DSM realizadas no Agilent 6890 da Peugeot.....	47

## ABREVIACÕES

Ah	<i>Acácia holosericea</i>
AL	leo da bacia de Alagoas
BAP	Biomassa aérea precoce
BAT	Biomassa aérea tardia
Bb	<i>Brachiaria brizantha</i>
BTEXT	Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno, Xileno, Trimetilbenzeno.
BRP	Biomassa radicular precoce
BRT	Biomassa radicular tardia
CP	leo da bacia de Campos
Cv	Casa de vegetação
GE	Germinador
Gm	<i>Glycine max</i>
Ha	<i>Helianthus annus</i>
HPAs	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
Ll	<i>Leucaena leucocephala</i>
Rc	<i>Ricinus comunnis</i>
SC	Sala climatizada
Tg	<i>Tibouchina granulosa</i>
HTPs	Hidrocarbonetos totais de petróleo

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Contextualização e Relevância do tema

A expansão do setor petroquímico ao longo do século XX resultou no aumento da produção de compostos químicos incluindo os combustíveis e vários outros derivados de petróleo de ampla utilização na indústria moderna.

Ao longo do tempo, o petróleo tornou-se uma fonte de energia essencial. A invenção dos motores a gasolina e a diesel fez com que outros derivados, até então desprezados, passassem a ter novas aplicações. Hoje, além de grande utilização dos seus derivados, com o advento da petroquímica, centenas de novos produtos foram surgindo; muitos deles diariamente utilizados, como os plásticos, borrachas sintéticas, tintas, corantes, adesivos, solventes, detergentes, explosivos, produtos farmacêuticos, cosméticos, dentre outros.

O petróleo pode ser encontrado naturalmente em determinadas formações geológicas resultante da transformação e decomposição da matéria orgânica de plantas aquáticas e animais pré-históricos. Esses seres decompostos foram acumulando-se ao longo de milhões de anos (15 a 500 milhões), no fundo dos mares e dos lagos e pântanos; sendo pressionados pelos movimentos da crosta terrestre, transformaram-se na substância oleosa que é o petróleo (PEDROZO *et al.*, 2002).

A atividade petrolífera é uma das atividades industriais que oferecem risco para o meio ambiente, pois pode ocasionar a contaminação dos meios terrestre, aquático e atmosférico por vários compostos orgânicos ao longo de sua cadeia produtiva.

A existência de uma área contaminada por este poluente pode gerar problemas como danos a saúde humana, comprometimento da qualidade dos recursos hídricos, restrições ao uso do solo e sérios danos à biota.

Segundo Dinardi *et al.* (2005) a estimativa mundial para os gastos anuais com a despoluição ambiental gira em torno de 25 a 30 bilhões de dólares e este mercado tende a crescer no Brasil uma vez que os investimentos para tratamento dos rejeitos humanos, agrícolas e industriais têm aumentado devido às exigências da sociedade e a aplicação de leis mais rígidas.

No entanto, em muitos países a remediação de áreas contaminadas fica restrita às condições econômicas. Vários processos de tratamentos químicos e físicos têm sido desenvolvidos e testados para remover os hidrocarbonetos de petróleo do solo (STEGMANN

*et al.*, 2001), mas a aplicação destes métodos é geralmente onerosa e não adequada ambientalmente, pois promove a desestruturação do solo e a redução da biodiversidade, além de transferir um problema de poluição em meio sólido em geral para um meio líquido.

As tecnologias de biorremediação e de fitorremediação surgem com ênfase a partir de meados dos anos 90, como opção promissora para integrar um conjunto de tecnologias ambiental e financeiramente viável.

A remediação biológica *in situ* (biorremediação) apresenta vantagens, mas exige a geração de biomassa microbiológica suficiente para que se alcance as taxas desejáveis de contato do microorganismo com os hidrocarbonetos do petróleo (ALEXANDER, 1977).

A fitorremediação, que consiste em um tratamento biológico do solo, mediado por plantas, possui investimento e custo de operação significativamente mais baixo, variando de USD 0.02 a USD1.00 por m<sup>3</sup> de solo, segundo Cunningham *et al.* (1996), é aplicável *in situ* e utiliza o sol como fonte de energia.

Esta tecnologia tem sido utilizada para tratar solos contaminados por metais (Pb, Zn, Cu, Ni, Hg, Se), compostos inorgânicos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>), elementos químicos radioativos (U, Cs, Sr), hidrocarbonetos derivados de petróleo (BTEX), pesticidas e herbicidas (atrazine, bentazona, compostos clorados e nitroaromáticos), explosivos (TNT, DNT), solventes clorados (TCE, PCE) e resíduos orgânicos industriais (PCPs, PAHs), entre outros (CUNNINGHAM *et al.*, 1996).

A fitorremediação baseia-se na utilização de espécies vegetais para extrair, conter, imobilizar ou degradar contaminantes da água e do solo (MCCUTCHEON & SCHNOOR, 2003). Também pode estar associada à biodegradação estimulando o crescimento e a atividade dos microrganismos capazes de degradar compostos no âmbito da rizosfera das plantas. Na biodegradação os hidrocarbonetos totais de petróleo (HTPs) são convertidos pelos microrganismos do solo em dióxido de carbono, água, biomassa e ácidos orgânicos incorporados ao material húmico. Este método tem sido testado para o tratamento de solos contaminados por derivados de petróleo, sendo apropriado para a remediação de solos em grandes áreas onde a aplicação dos métodos convencionais seria economicamente inviável.

A fitorremediação possui um alto potencial de desenvolvimento, pois existe uma grande quantidade de fenogênótipos a serem testados, uma vez que atualmente existem cerca de 250.000 espécies de plantas superiores descritas (O'BRIEN & O'BRIEN, 1995; NUTSCH, 2000), que se subdividem em um número maior de variedades das quais, somente uma fração insignificante foi investigada para este tal uso até o presente momento. Tendo em conta que 170.000 espécies ocorrem nos trópicos e subtropicais (WILSON, 1992), a aplicação desta



tecnologia em países de clima tropical é muito favorecida devido à biodiversidade vegetal e de microrganismos nestes locais.

Vários fatores podem afetar o desempenho da fitorremediação, incluindo propriedades do solo, as características físico-químicas do contaminante e a espécie vegetal. No entanto, o conhecimento disponível restringe-se quase que exclusivamente a regiões de clima temperado. Portanto, faz-se necessário o estudo desta tecnologia em regiões tropicais, com foco na adaptação às condições edafoclimáticas, bem como a sua influência no crescimento e metabolismo das plantas e microrganismos.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

O objetivo geral do presente trabalho foi testar a tolerância de espécies vegetais a solos contaminados por petróleo (óleo cru), avaliando para tanto, a taxa de germinação e produção de biomassa como indicadores do potencial de uso em projetos de fitorremediação.

### 2.2 Objetivos específicos

- Definir o estado da arte da fitorremediação de solos contaminados por petróleo;
- Testar a tolerância à presença de óleo cru no solo, de espécies selecionadas com potencial para a produção de biodiesel ou outros usos, tais como alimentação animal, humana, cosmético, ornamental, medicinal, etc, a saber:
  - Euphorbiaceae: *Ricinus communis* (mamona)
  - Compositae: *Helianthus annuus* (girassol).
  - Fabaceae: *Glicine max* (soja) e *Acacia holosericea* (acácia)
  - Poaceae: *Brachiaria brizantha* (braquiária).
  - Melastomataceae: *Tibouchina granulosa* (quaresmeira).
  - Mimosaceae: *Leucaena leucocephala* (leucena)
- Selecionar as espécies vegetais mais promissoras para futuras investigações e projetos em escala piloto e de campo, com base na tolerância das mesmas à presença de petróleo no solo;
- Propor uma chave de decisão para fitorremediação em escala de campo com as espécies selecionadas.

### 3. ABORDAGEM METODOLÓGICA

A abordagem metodológica utilizada no desenvolvimento do presente trabalho incluiu:

- Revisão bibliográfica para determinação do estado da arte da fitorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo e processos associados;
- Testes de fitotoxicidade em três condições experimentais (germinador, sala climatizada e casa de vegetação) com oito espécies vegetais (*Helianthus annuus*, *Ricinus communis*, *Glicine max*, *Brachiaria brizantha*, *Acacia holosericea*, *Tibouchina granulosa* e *Leucaena leucocephala*) em cinco concentrações de petróleo (0,05%; 0,50%; 2,00%; 4,00%; 6,00%) para avaliar a tolerância das espécies à presença do óleo no solo;
- Análises estatísticas para comparar a capacidade de germinação e desenvolvimento pós-germinativo (produção de biomassa radicular e aérea) em diferentes concentrações de óleo;
- Construção de uma chave de decisão com base nos conhecimentos atuais das espécies testadas incluindo exigências culturais e adequação de uso em diferentes condições ambientais.

## 4. PETRÓLEO

Tendo em vista que os efeitos tóxicos de solos contaminados com óleo cru sobre plantas - particularmente sobre a germinação e crescimento das mesmas - estão associados à composição química do petróleo derramado, no presente capítulo a composição do petróleo e seu comportamento no meio contaminado, são brevemente apresentados e discutidos.

O petróleo é um combustível fóssil de grande significado para a economia mundial, mas que também representa um problema ambiental relevante, devido à sua freqüente introdução no meio ambiente, não apenas sob a forma de combustível, como também pela larga utilização industrial de seus derivados (PONS *et al.*, 2005). Por este motivo, a contaminação do solo por petróleo e derivados tem merecido pesquisas extensas nos últimos anos.

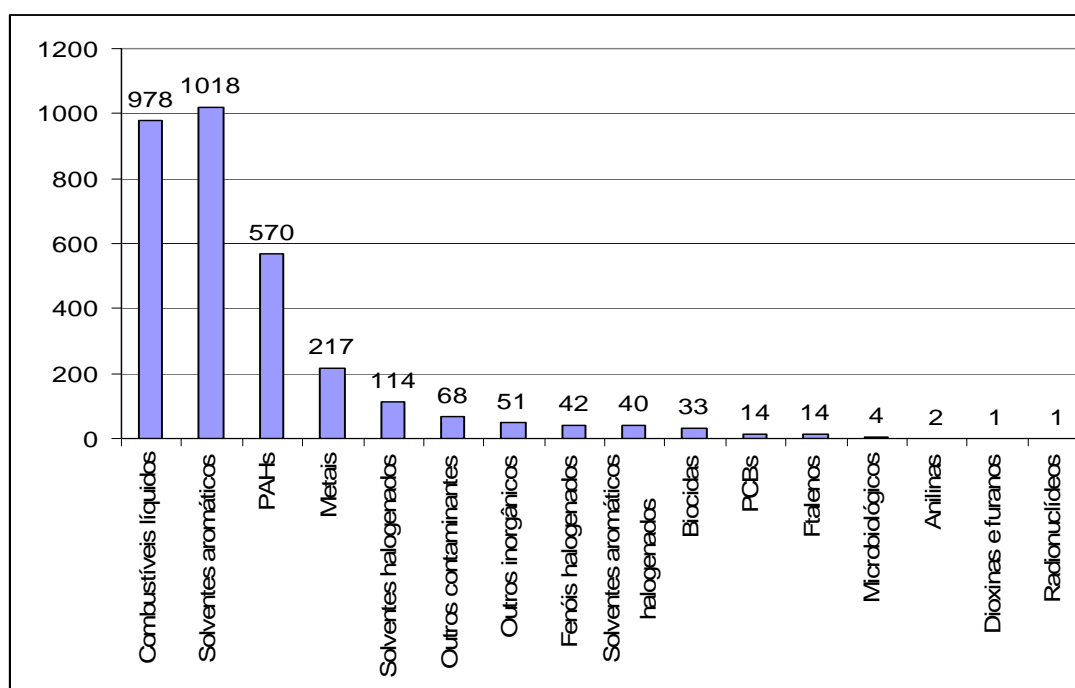
Segundo Patin (1982), o petróleo e derivados estão entre os principais poluentes ambientais, juntamente com os metais pesados, os organoclorados e os compostos altamente voláteis. A razão para isso é a intensa utilização do ambiente marinho pela indústria petrolífera seja pela exploração “off-shore” ou pelo transporte marítimo e terrestre de petróleo e de seus derivados, com ênfase nas atividades de processamento. Os vazamentos considerados normais no processo de transporte marítimo representam cerca de 98% das perdas totais de petróleo e derivados, enquanto que as perdas acidentais correspondem aos 2% restantes. A liberação acidental de óleo por petroleiros é responsável pelo lançamento no ambiente de aproximadamente 400.000 toneladas/ ano, sendo que cerca de 70% dos casos ocorrem durante as operações de carga e descarga dos navios nos portos e terminais petrolíferos (IPIECA, em CETESB, 2006).

Em um levantamento recente sobre principais contaminantes encontrados nas áreas identificadas como contaminadas em São Paulo (CETESB, 2006), verificou-se que os mais freqüentemente encontrados estavam associados à indústria do petróleo, tais como combustíveis líquidos, solventes aromáticos e HPAs entre outros (Figura 1).

Uma vez derramado, o óleo sofre imediatamente alterações da sua composição original, devido a uma combinação de processos físicos, químicos e biológicos chamados conjuntamente de intemperismo. Este se inicia imediatamente após o derrame e ocorre a taxas variáveis dependendo do tipo de óleo, do meio contaminado e das condições ambientais. A taxa do processo não é constante, sendo mais efetiva no período imediatamente após o derrame. O grau de impacto ambiental e persistência do petróleo no ambiente dependem de fatores como o habitat atingido, tipo e quantidade de óleo derramado, espécies de organismos

atingidos, época do ano (que afeta o ciclo de vida das espécies), condições hidrográficas e meteorológicas (que afeta a dispersão do petróleo), clima, frequência e duração da exposição ao petróleo e práticas utilizadas na tentativa de contenção e descontaminação (SLOAN, 2005).

Os processos físico-químicos de espalhamento, volatilização, dispersão, emulsificação e dissolução ocorrem nos períodos iniciais de um derrame, enquanto que oxidação, sedimentação e biodegradação ocorrem a longo-prazo (CETESB, 2005). Com o passar do tempo, o óleo no ambiente mudará suas características iniciais, ficando menos tóxico, mais denso e viscoso e mais recalcitrante.



**Figura 1.** Contaminantes encontrados nas áreas contaminadas inventariadas pela CETESB em São Paulo e frequência de ocorrência (CETESB, 2006).

#### 4.1 Características físico-químicas do petróleo

Com nome proveniente do latim *petra* (pedra) e *oleum* (óleo), o petróleo no estado líquido é uma substância oleosa, inflamável, menos densa que a água, com cheiro característico e cor variando entre negro e castanho-claro (THOMAS, 2004).

Os óleos obtidos em diferentes reservatórios de petróleo possuem características diferentes. Alguns são pretos, densos e viscosos, liberando pouco ou nenhum gás, enquanto que outros são castanhos ou bastante claros, com baixa viscosidade e densidade, liberando

quantidade razoável de gás. Outros reservatórios produzem somente gás (THOMAS, 2004). Entretanto, todos eles produzem análises elementares semelhantes à dada na Tabela 1:



A alta porcentagem de carbono e hidrogênio existente no petróleo mostra que os seus principais constituintes são os hidrocarbonetos e devido à sua predominância no petróleo, são estes os compostos utilizados como indicadores deste tipo de poluição. Os outros constituintes aparecem sob a forma de compostos orgânicos que contêm outros elementos, sendo os mais comuns o nitrogênio, o enxofre e o oxigênio. Metais também podem ocorrer como sais de ácidos orgânicos (THOMAS, 2004).

**Tabela 1** - Elementos comuns à composição do petróleo e respectivas faixas de abundância, indicando a dominância dos formadores de hidrocarbonetos.

Hidrogênio	11-14%
Carbono	83-87%
Enxofre	0,06-8%
Nitrogênio	0,11-1,7%
Oxigênio	0,1-2%
Metais	até 3%

Fonte: THOMAS (2004)

O petróleo é composto basicamente por três grupos de hidrocarbonetos: os parafínicos, os naftênicos e os aromáticos, e estes podem ser saturados ou insaturados (PEDROZO *et al.*, 2002). Os saturados possuem somente ligações simples entre os átomos de carbono e hidrogênio e podem estar na forma de cadeia aberta (parafínicos ou alifáticos) ou em anel (naftênicos ou ciclo-parafínicos). Os insaturados não possuem átomos de hidrogênio suficiente para saturar todos os carbonos, apresentando ligações duplas e triplas entre os átomos de carbono, e também podem apresentar-se sob a forma de cadeia aberta ou anel (aromáticos). A Figura 2 mostra alguns dos principais hidrocarbonetos presentes no petróleo e a Tabela 3 os principais hidrocarbonetos presentes no petróleo. O American Petroleum Institute-API (THOMAS, 2004) analisou amostras de petróleo de diferentes origens e concluiu que todos contêm substancialmente os mesmos hidrocarbonetos, em diferentes quantidades. A quantidade relativa de cada grupo de hidrocarbonetos presentes varia muito. Conseqüentemente, segundo estas quantidades, os vários tipos de petróleo diferem quanto a várias características físico químicas. No entanto a quantidade de compostos dentro de cada grupo de hidrocarbonetos é semelhante em diferentes tipos de petróleo.

	<b>Parafinicos (Alcanos)</b>	normal-Parafinas (cadeia retilínea)	n-Pentano	$H_3C-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3$
<b>Saturados</b>		Isoparafinas (cadeia ramificada)	Isopentano	$H_3C-CH_2-\underset{\begin{array}{c}   \\ CH_3 \end{array}}{CH}-CH_3$
	<b>Naftênicos</b>	Cicloalcanos	Ciclopentano	
<b>Insaturados</b>	<b>Aromáticos</b>	Benzeno		

**Figura 2.** Classificação dos principais hidrocarbonetos do petróleo (Fontes: POTTER & SIMMONS, 1998; GÓES, 1997).

O petróleo pode ser classificado em doce ou ácido de acordo com a composição dos seus hidrocarbonetos e dos compostos sulfúricos (PETROBRAS, 1994), e este tipo de classificação é importante para a saúde e segurança, pois o petróleo doce apresenta baixas concentrações de enxofre (até 6 ppm de gás sulfídrico -  $H_2S$ ), enquanto que no óleo ácido, o gás sulfídrico pode atingir concentrações atmosféricas bem mais altas, na ordem de 50 a 180.000 ppm.

Uma outra classificação possível baseia-se na densidade relativa sendo:

- Leve: densidade inferior a 0,82 (g/ml)
- Médio: densidade entre 0,82 e 0,97 (g/ml);
- Pesado: densidade superior a 0,97 (g/ml);

**Tabela 2** - Classificação dos tipos de óleo.

Grupo	Densidade	API	Composição	Meia Vida	Persistência
I	< 0,8	> 45	Leve	~ 24h	1-2 dias
II	0,80 à 0,85	35 à 45	Leve	~ 48h	3-4 dias
III	0,85 à 0,95	17,5 à 35	Pesado	~ 72 h	5-7 dias
IV	> 0,95	< 17,5	Pesado	~ 168 h	> 7 dias

Fonte: ITOPF - The International Tanker Owners Pollution Federation em CETESB (2006).

**Tabela 3** - Principais hidrocarbonetos presentes no óleo cru.

<b>Composto</b>	<b>Nº de carbonos</b>	<b>EC</b>	<b>% de peso</b>
<b>Alcanos de cadeia aberta</b>			
n-Hexano	6	6	0,7-1,8
n-Heptano	7	7	0,8-2,3
n-Octano	8	8	0,9-1,9
n-Nonano	9	9	0,6-1,9
n-Decano	10	10	1.8
n-Undecano	11	11	1.7
n-Dodecano	12	12	1.7
<b>Alcanos ramificados</b>			
2,2-Dimetilbutano	6	5.37	0.04
2,3-Dimetilbutano	6	5.68	0,04-0,14
2-Metilpentano	6	5.72	0,3-0,4
3-Metilpentano	6	5.85	0,3-0,4
3-Etilpentano	7		0.05
2,4-Dimetilpentano	7	6.31	0.05
2,3-Dimetilpentano	7	6.69	0,1-0,6
2,2,4-Trimetilpentano	8	6.89	0.004
2,3,3-Trimetilpentano	8	7.58	0.006
2-metil-3-etilpentano	8	7.66	0.04
2-Metilexano	7	6.68	0.7
3-Metilexano	7	6.76	0,19-0,5
2,2-Dimetilexano	8	7.25	0,01-0,1
2,3-Dimetilexano	8	7.65	0,06-0,16
2,4-Dimetilexano	8	7.38	0.06
2,5-dimetilexano	8	7.36	0.06
3,3-Dimetilexano	8	7.45	0.03
2,3-Dimetileptano	9	8.64	0.05
2,6-Dimetileptano	9	8.47	0,05-0,25
2-Metiloctano	9		0.4
3-Metiloctano	9	8.78	0,1-0,4
4-Metiloctano	9	8.71	0.1
<b>Cicloalcanos</b>			
Ciclopentano	5	5.66	0.05
Metilciclopentano	6	6.27	0,3-0,9



<b>Composto</b>	<b>Nº de carbonos</b>	<b>EC</b>	<b>% de peso</b>
1,1-Dimetilciclopentano	7	6.72	0,06-0,2
1-trans-2-Dimetilciclopentano	7	6.87	0,15-0,5
1-cis-3-Dimetilciclopentano	7	6.82	0.2
1-trans-3-Dimetilciclopentano	7	6.85	0,2-0,9
1,1,2-Trimetilciclopentano	8	7.67	0.06
1,1,3-Trimetilciclopentano	8	7.25	0.3
1-trans-2-cis-3-Trimetilciclopentano	8	7.51	0,3-0,4
1-trans-2-cis-4-Trimetilciclopentano	8		0.2
1-trans-2-Dimetilcicloexano	8	7.94	0.3
Etilcicloexano	8	8.38	0.2
Cicloexano	6	6.59	0.7
1-trans-2-trans-4-Trimetilcicloexano	9		0.2
<b>Alquilbenzenos</b>			
Benzeno	6	6.5	0,04-0,4
Tolueno	7	7.58	0,09-2,5
Etilbenzeno	8	8.5	0,09-0,31
o-Xileno	8	8.81	0,03-0,68
m-Xileno	8	8.6	0,08-2,0
p-Xileno	8	8.61	0,09-0,68
1-Metil-4-etilbenzeno	9	9.57	0,03-0,13
1-Metil-2-etilbenzeno	9	9.71	0,01-0,09
1-Metil-3-etilbenzeno	9	9.55	0,04-0,4
1,2,3-Trimetilbenzeno	9	10.06	0.1
1,2,4-Trimetilbenzeno	9	9.84	0,13-0,69
1,3,5-Trimetilbenzeno	9	9.62	0,05-0,18
1,2,3,4-Tetrametilbenzeno	10	11.57	0.2
Bifenila	12	14.26	0,006-0,04
<b>Benzonaftenos</b>			
Indano	9	10.27	0.07
Tetraidronaftaleno	10	11.27	0.03
5-Metil-hidronaftaleno	11		0.08
6-Metil-hidronaftaleno	11		0.09
Fluoreno	13	16.55	0,003-0,06
<b>Alquilnaftalenos</b>			
Naftaleno	10	11.69	0,02-0,09
<b>Aromáticos polinucleares</b>			
Fenantreno	14	19.36	0,003-0,05

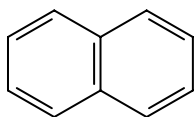
EC = número equivalente de carbono (Fonte: GUSTAFSON *et al.*, 1997).

Em condições normais de temperatura e pressão, os hidrocarbonetos podem apresentar-se sob as formas gasosa, líquida ou sólida, dependendo do número e disposição dos átomos de carbono nas suas moléculas (PEDROZZO *et al.*, 2002). Os hidrocarbonetos com

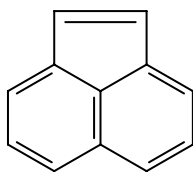
até quatro átomos de carbono apresentam-se sob a forma de gás, como o gás natural liquefeito (GLP). Os hidrocarbonetos de 5 a 25 átomos de carbono apresentam-se sob a forma líquida, como o hexano e aqueles com mais de 25 átomos sob a forma sólida, por exemplo, os constituintes da graxa e parafina (GÓES, 1997). A solubilidade dos hidrocarbonetos na água depende da polaridade de suas moléculas, sendo que quanto maior a polaridade maior será a solubilidade em água e o seu ponto de ebulição. A natureza hidrofóbica dos hidrocarbonetos apolares de peso molecular alto é fator relevante aos processos de remediação de solos (MCCUTCHEON & SCHNOOR, 2003). O ponto de ebulição de um hidrocarboneto depende do número de átomos de carbono presentes em sua molécula e determina a persistência dos hidrocarbonetos no meio ambiente. Segundo a WHO (1982) quanto maior a temperatura de ebulição, maior será a permanência do hidrocarboneto no meio sólido, sendo transferido preferencialmente para a atmosfera por volatilização. Os HPAs são solúveis em solventes orgânicos, mas apresentam baixa solubilidade em água. De modo geral, quanto maior o peso molecular menor a solubilidade.

#### **4.2 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs)**

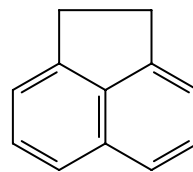
Um grupo especial dentro dos aromáticos são os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) presentes nos combustíveis fósseis como constituintes naturais e em alta quantidade nos produtos de refino, podendo também ser formados durante a combustão incompleta da matéria orgânica (BOS *et al.*, 1984). Os HPAs são constituídos por ligações duplas e simples que se alternam em dois ou mais anéis com seis átomos de carbono, ou seja, anéis de benzeno. Ao contrário dos compostos insaturados, o benzeno é estável e devido ao seu odor, todos os compostos formados por ele são conhecidos como hidrocarbonetos aromáticos. Compostos formados por dois ou mais anéis de benzeno são mais resistentes a biodegradação, pois ficam fortemente adsorvidos nos sedimentos, persistindo por muitos anos no ambiente. Alguns exemplos mais comuns de HPAs presentes no petróleo e derivados, considerados prioritários pela U.S. EPA, devido aos efeitos sobre a saúde ambiental e humana, são mostrados na Figura 3. Os HPAs são especialmente tóxicos e potencialmente carcinogênicos ao homem e aos organismos marinhos (COLE, 1994). Segundo o GESAMP (1991), há fortes evidências que os HPAs são capazes de causar câncer em peixes e moluscos. A atividade mutagênica descrita está relacionada com o formato e a estrutura molecular dos HPAs e conseqüentemente com sua toxicidade (DONNELLY *et al.*, 1998).



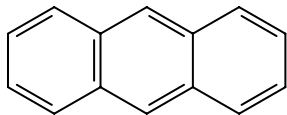
Naftaleno



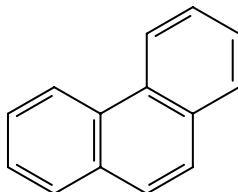
Acenaftileno



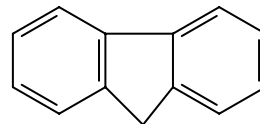
Acenafteno



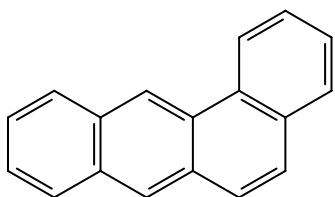
Antraceno



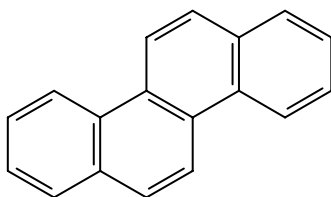
Fenantreno



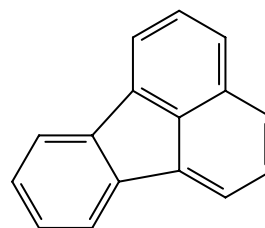
Fluoreno



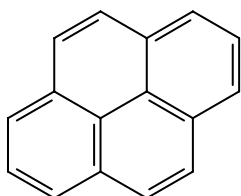
Benzo(a)antraceno



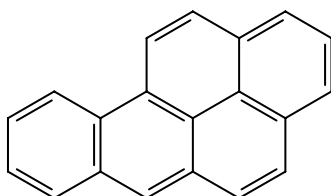
Criseno



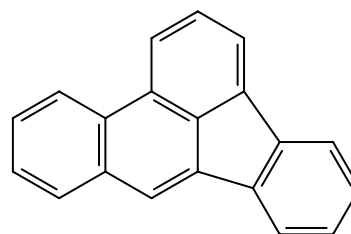
Fluoranteno



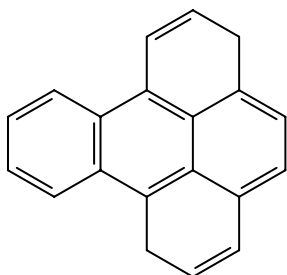
Pireno



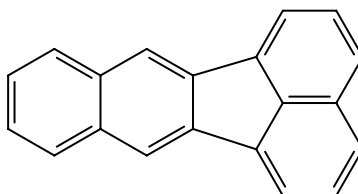
Benzo(a)pireno



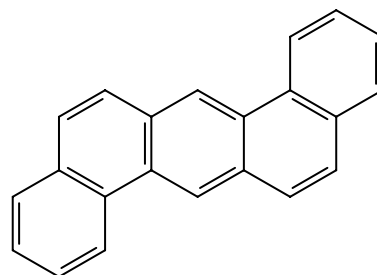
Benzo(b)fluoranteno



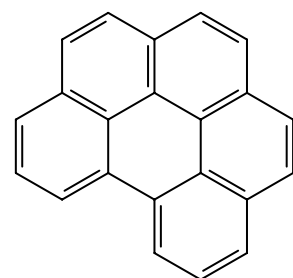
Benzo(e)pireno



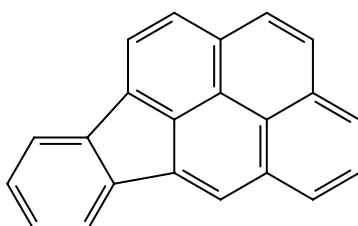
Benzo(k)fluoranteno



Dibenzo(a,h)antraceno



Benzo(g,h,i)perileno



Indeno(1,2,3-c,d)pireno

**Figura 3.** Estrutura molecular dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos prioritários, segundo a U.S. EPA (Fonte: EPA, 2005).

## 5. SOLO

O solo é um corpo natural da superfície terrestre, independente e dinâmico, resultante da ação cumulativa de fatores, tais como rocha mãe, relevo, tempo, clima e organismos (vegetais e animais) designados conjuntamente por fatores pedogenéticos ou fatores de formação do solo (EMBRAPA, 1999).

A qualidade do solo é definida como a aptidão de um solo específico em atuar dentro de um ecossistema natural ou manejado, para sustentar a produtividade de plantas e animais, manter ou aumentar a qualidade da água e do ar e suportar a saúde humana e habitação (KARLIN *et al.*, 1997 em COUTINHO, 2005). Esta pode ser atribuída à inter-relação das suas características químicas, físicas e biológicas, ou seja, a química do solo afeta a disponibilidade de nutrientes que influencia a comunidade microbiana; a estrutura física do solo esta relacionada à capacidade de retenção de água, que interfere nas reações químicas e biológicas.

O solo é constituído por minerais e poros preenchidos por água e ar, além de matéria orgânica e organismos. A natureza e a proporção de cada uma destas partes é muito variável.

Os organismos formam a chamada matéria orgânica viva do solo e têm um papel fundamental nos solos atuando na regulação dos processos biogeoquímicos formadores e mantenedores dos ecossistemas (ALEXANDER, 1977) Dentre estes, incluem-se:

- A formação e estruturação de solos;
- Decomposição da matéria orgânica;
- Ciclagem de nutrientes;
- A formação dos gases componentes da atmosfera terrestre.

Segundo Coutinho (1999), quanto maior a biomassa de um solo, maior será o seu potencial de estoque de nutrientes através do acúmulo destes nas células microbianas. Os nutrientes são liberados conforme as células são degradadas, devido à morte ou predação por outros organismos.

A macrofauna influencia o grau de porosidade e agregação de solos. A atividade de formigas, cupins e minhocas geram canais, poros e agregados que influenciam no transporte de gases e água no solo. Portanto, as propriedades e funções do solo são resultantes da interação da biodiversidade com seus componentes físico-químicos.

A porosidade é uma propriedade do solo que depende da textura (proporção relativa das partículas que constituem o solo por tamanho, isto é, argila, silte e areia), da estrutura (agregação das partículas em unidades maiores) e da fração orgânica. Um agregado é um conjunto de partículas primárias (argila, silte, areia) do solo que se aderem umas às outras

mais fortemente do que a outra partícula circunvizinha (KEMPER & ROSENAU, 1986) e comporta-se mecanicamente como uma unidade estrutural. A distribuição das classes ou tamanhos de agregados é considerada um fator importante para a germinação de sementes e para o desenvolvimento das raízes (BRAUNACK & DEXTER, 1989).

O estado de agregação das partículas tem influência sobre a infiltração de água, a biodiversidade, a dinâmica da biomassa do solo, a disponibilidade de oxigênio às raízes e a erosão do solo (DENEFF *et al.*, 2001; FRANZLUEBBERS, 2002) é também um dos principais processos responsáveis pela acumulação e o seqüestro de carbono em solos (LAL *et al.*, 1997).

O teor de umidade do solo é fundamental para o sucesso da biorremediação, a sobrevivência das plantas e dos microrganismos depende de água, portanto uma estrutura do solo que favorece a retenção de água mantendo uma fração significativa de poros preenchidos por ar beneficia a atividade biológica.

O limite máximo de água que um solo pode reter é indicado pela capacidade de campo que corresponde à umidade do solo na qual a drenagem interna praticamente cessa (REICHARDT, 1985) este parâmetro determina a disponibilidade de água no solo.

A permeabilidade intrínseca do solo ao ar ( $k_a$ ) é uma propriedade física que varia de acordo com o tamanho dos grãos, uniformidade do solo, porosidade e teor de umidade. Segundo Norris *et al* (1993), coeficientes de permeabilidade menores que 0-4 cm/s limitam a eficiência da biorremediação, devido à dificuldade de infiltração de fluidos e transporte microbiano no solo.

As propriedades do solo influenciam diretamente o processo de fitorremediação determinando a disponibilidade de água, ar e nutrientes, fatores que podem inibir ou estimular o crescimento e desenvolvimento das plantas e microrganismos responsáveis pela degradação do contaminante.

## 6. FATORES RELEVANTES À DEGRADAÇÃO DOS HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO NO SOLO

Solos contaminados com HPAs podem ser classificados em duas categorias de acordo com sua fitotoxicidade: (i) solos recentemente contaminados e rico em compostos voláteis, e (ii) solos contaminados que sofreram atenuação natural “aged” (HENNER *et al.*, 1999). O óleo altera as propriedades do solo, devido à sua propriedade hidrofóbica, resultando na alteração da disponibilidade de água e nutrientes. Os principais fatores que interferem no processo de degradação dos hidrocarbonetos de petróleo no solo são apresentados a seguir.

### 6.1 Fatores ambientais

Segundo Pedrozzo *et al.* (2002) os fatores ambientais que afetam a biodegradação do petróleo são:

- **Teor de oxigênio.** O oxigênio é importante porque as etapas iniciais do catabolismo dos hidrocarbonetos envolvem a oxidação dos substratos por oxigenases. E apesar de alguns compostos tais como o benzoato, hidrocarbonetos clorados, benzeno, tolueno, xileno, naftaleno e acenafteno serem degradados na ausência de oxigênio, esta ocorre de forma lenta (ATSDR, 2006; OUDOT, 1998; ROSATO, 1997).
- **pH.** O pH ideal para a biodegradação encontra-se próximo ao neutro (6 a 8). Este parâmetro influencia o crescimento e a atividade dos microrganismos e das plantas.
- **Teor de água.** A água do solo contaminado é responsável pela dissolução dos componentes residuais e pela ação dispersora sendo esta necessária ao metabolismo dos microrganismos e plantas. A maioria dos estudos indica que os teores ótimos de umidade encontram-se entre 50 e 70% (FRANKENBERGER, 1992).
- **Temperatura.** Todas as transformações biológicas são afetadas pela temperatura. Com o aumento da temperatura a atividade biológica tende a aumentar até a temperatura em que

ocorre desnaturação enzimática. A temperatura também influencia as características físico-químicas do petróleo. Em temperaturas baixas a viscosidade do óleo tende a aumentar e a volatilização é reduzida. A temperatura ótima para biodegradação varia de 18°C a 30°C (OUDOT, 1998; ROSATO, 1997).

- **Concentração de nutrientes.** Os macronutrientes e os micronutrientes devem estar presentes no solo em quantidades suficientes e nas formas adequadas para suprir as necessidades dos microrganismos e das plantas.
- **Microrganismos.** Altas concentrações de óleo no solo inibem a atividade dos microrganismos. Os microrganismos encontrados no solo, águas subterrâneas e superficiais são capazes de degradar compostos orgânicos utilizando-os como fonte de energia. Em ambiente marinho, por exemplo, foram listados 25 gêneros de bactérias, um de algas e 27 de fungos (ROSATO, 1997), sendo os mais comuns: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Nocardia*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Cândida*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Rhodosporidium* e *Sporobolomyces*. No solo, foram registrados 22 gêneros de bactérias e 31 de fungos (ROSATO, 1997); os fungos como *Penicillium* e *Cunninghamella sp* apresentam maior capacidade de degradação do que a *Flavobacterium*, *Brevibacterium* e *Arthrobacter sp*. A formação de compostos intermediários orgânicos tóxicos tais como o tolueno, pode resultar em intermediários como o ácido benzóico e compostos fenólicos, os quais em concentrações elevadas atuam como biocida (FRANKENBERGER, 1992). Os metais pesados também podem influenciar a biodegradação de substâncias orgânicas por alterar a atividade ou a população microbiana (FRANKENBERGER, 1992). A redução da biomassa microbiana afeta diretamente a biodegradação do petróleo.

## 6.2 Manejo do solo

A adição de fertilizantes no solo contaminado auxilia o crescimento das plantas e maximiza a atividade microbiana capaz de degradar contaminantes. Foi observado que a adição de nitrogênio aumentou a biorremediação de HPAs em solos e na água (LIN & MENDELSSOHN, 1998; CHURCHILL *et al.*, 1995; GLASER, 1991). Rasiah *et al.* (1992)

observaram que o grau de mineralização dos hidrocarbonetos no solo aumentou em resposta a adição de fertilizantes e que níveis baixos de nitrogênio e fósforo no solo limitam o crescimento das plantas e dos microrganismos.

Segundo Hutchinson *et al.*, (2003), a adição de minerais para otimização do processo de fitorremediação deve atender as necessidades das plantas e dos microrganismos. Cookson (1995) e Hutchinson *et al.* (2001) sugerem uma adição de carbono: nitrogênio: fósforo (N:P:K) na proporção de 100:10:1 mg kg<sup>-1</sup> de solo para uma contaminação com HPAs a 30 cm de profundidade. A concentração de aproximadamente 600 mg kg<sup>-1</sup> de N, P e K foi considerada suficiente para suprir as necessidades nutricionais da espécie *Brachiaria brizantha* e o crescimento dos microrganismos em um solo com 5% de petróleo (MERKL *et al.*, 2005).

As exigências nutricionais variam entre as espécies de plantas e microrganismos, ou seja, a quantidade adequada de nutrientes a ser adicionada deve considerar fatores como espécie e condições edafoclimáticas que iram influenciar o comportamento dos fertilizantes no solo.

A aplicação de nutrientes em excesso, entretanto, não beneficia a biorremediação, pois as comunidades microbianas do solo irão utilizar os nutrientes para acelerar a produção de biomassa a partir do carbono disponível no solo com pouco uso do carbono do contaminante (MCCUTCHEON & SCHNOOR, 2003).

Descrito anteriormente como um dos fatores que influenciam a biodegradação no solo, segundo Merkl *et al.* (2005), o pH é um parâmetro que pode ser manejado pela calagem para aumentar consideravelmente a atividade de microrganismos e, portanto a degradação do petróleo em solos tropicais.

Em áreas com baixa pluviosidade ou regime de chuvas mal distribuído, o uso da irrigação é recomendado para implantação e manutenção da fitorremediação, visto que a água é um fator indispensável ao processo.

### **6.3 Transporte e interação dos hidrocarbonetos de petróleo com o solo**

Os hidrocarbonetos de petróleo se encontram dissolvidos na solução do solo, na fase gasosa ou adsorvidos na fração sólida e são transportados no solo pelo fluxo subterrâneo (FREEZE & CHERRY, 1979).



A migração do petróleo no solo ocorre por meio de dois mecanismos (ATSDR, 2006; REID *et al.*, 2000):

- Como uma massa de óleo que se infiltra no solo por ação da força da gravidade e da capilaridade;
- Como compostos individuais que se separam da mistura de componentes, pelo fenômeno chamado de percolação, dissolvendo-se na água ou volatilizando no ar.

Quando o óleo flui, a velocidade de infiltração é mais rápida que a velocidade de dissolução resultando em pouca separação dos compostos. Os fatores que afetam a velocidade de infiltração do óleo são o teor de água no solo, a vegetação e as condições edafoclimáticas (ATSDR, 2006; REID *et al.*, 2000).

A quantidade de óleo retida nas partículas do solo é pequena e constitui as frações residuais de saturação, que determinam o grau de contaminação no solo e sua persistência no ambiente (ATSDR, 2006).

Quando a quantidade de óleo liberada para o meio ambiente é baixa, todo o produto se torna resíduo de saturação. A altas concentrações de petróleo a migração da massa de óleo cessa quando os espaços entre os poros do solo apresentam-se saturados com água. Se a densidade do produto for inferior à da água, o produto tende a flutuar através da interface entre as zonas saturadas e insaturadas de água e espalha-se horizontalmente formando uma camada fina, geralmente em direção às águas subterrâneas (ATSDR, 2006). Se a densidade do produto for superior à da água, o óleo continuará a migrar em direção ao aquífero sob influência da gravidade. A migração cessa quando o produto é convertido em fração residual saturada ou quando encontra uma superfície impermeável.

De acordo com as características físico-químicas dos compostos estes podem ser divididos em dois grupos: os compostos hidrófilos, (álcoois, aldeídos, cetonas e ácidos carboxílicos) e compostos hidrófobos (hidrocarbonetos alifáticos, cíclicos e aromáticos). À medida que o peso molecular dos hidrocarbonetos aumenta, a sua solubilidade e mobilidade diminuem (MATTNEY, 1994). Os compostos apolares, como os hidrocarbonetos, são pouco solúveis em água e rapidamente ficam retidos nos constituintes hidrofóbicos do solo, como a matéria orgânica (JONER & LEYVAL, 2001).

Os compostos orgânicos distribuem-se entre a fração móvel (hidrocarbonetos com baixa viscosidade e elevada volatilidade) e imóvel (hidrocarbonetos com elevada viscosidade e baixa volatilidade) (MATTNEY, 1994). Os produtos derivados do petróleo (óleos e gasolina) são menos densos do que a água, pouco solúveis e bastante voláteis.

A concentração do poluente no solo varia com o tempo de contato, que influencia diretamente sua biodisponibilidade e toxicidade (REID *et al.*, 2000; SALZER *et al.*, 1999).

Um dos efeitos do tempo de contato do poluente com o solo é que muitos compostos ficam retidos mais fortemente e tornam-se menos biodisponíveis com o tempo. Este fenômeno denominado “aging” afeta a remediação do solo (HATZINGER & ALEXANDER, 1995). A ação do tempo inclui mudança da composição do contaminante por meio da volatilização, solubilidade, transformações bióticas e abióticas, difusão e reação com a dinâmica dos agregados do solo.

O transporte dos poluentes orgânicos nos meios subterrâneos é influenciado por alguns mecanismos (adsorção, hidrólise, oxidação-redução, precipitação, degradação e volatilização), que podem retardar a migração destes a partir da superfície do solo, para as zonas saturadas subjacentes. A ação destes mecanismos depende das características físico-químicas do poluente, das características do solo e da interação dos poluentes com os componentes do solo (HAMIDI, 2000).

A adsorção representa, provavelmente, o processo mais significativo de interação entre os produtos derivados do petróleo e as frações orgânica e mineral do solo (SENESI, 1993; HAMIDI, 2000). Entende-se por adsorção, a concentração de matéria na interface entre a fase sólida e a solução da fase aquosa. Este processo depende do tipo de minerais de argila que constituem o solo e do teor e natureza da matéria orgânica. A adsorção de íons ou moléculas na superfície das partículas do solo envolve a formação de complexos de superfície. Um complexo de superfície acontece no caso de um grupo funcional da superfície reagir com um íon ou molécula (dissolvidas na solução) para formar uma unidade molecular estável (SPOSITO, 1989).

Os processos de adsorção podem ser reversíveis ou irreversíveis. O composto orgânico adsorvido pode ser dessorvido com vários graus de dificuldade ou nunca ser dessorvido (SENESI, 1993). O grau e a dimensão da adsorção dependem da estrutura química dos compostos orgânicos e das características físicas e químicas do solo. Os HPAs de alto peso molecular tendem a serem adsorvidos pelo solo (HAMIDI, 2000).

Senesi (1993) mostrou que os poluentes orgânicos possuem maior afinidade com a fração orgânica (em geral absorção) do que com a fração mineral do solo (em geral adsorção). Deste modo, a mobilidade dos poluentes é maior em solos com baixo teor de matéria orgânica.

Grande parte dos hidrocarbonetos pode ficar adsorvida na matéria orgânica. Existem radicais livres no húmus que podem reagir com os HPAs formando elétrons, ou seja, complexos acceptor-receptor, os quais podem iniciar ligações covalentes (MAHRO *et al.*, 1994).

A matéria orgânica do solo é muito complexa e é constituída por ácidos húmicos e fúlvicos. O efeito da adsorção na migração dos poluentes no solo depende desta ocorrer em

frações orgânicas insolúveis e imóveis (ácidos húmicos), ou de ocorrer em frações orgânicas móveis, dissolvidas ou em suspensão (ácidos fúlvicos). A matéria orgânica do solo, sob a forma de ácidos húmicos ou fúlvicos, pode assim atenuar ou facilitar o transporte de poluentes (SENESI, 1993).

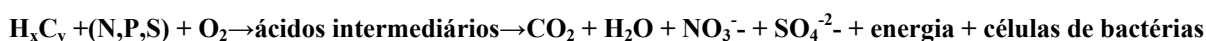
As reações de oxidação-redução afetam significativamente o transporte de poluentes orgânicos, e estão muito relacionadas com a atividade microbológica e com o tipo de substrato disponível para os microrganismos (HAMIDI, 2000). Dependem igualmente do potencial de oxi-redução do solo (HAMIDI, 2000) que expressa a tendência do meio em doar e receber elétrons. Ou seja, para que a oxidação ocorra o potencial do solo tem que ser maior que o dos compostos orgânicos, que podem hidrolisar, oxidar ou reduzir-se rapidamente, em contato com a água, resultando em novos compostos (HAMIDI, 2000).

A volatilização consiste na perda por difusão de compostos químicos da fase líquida ou da fase sólida do solo para a atmosfera (FREEZE & CHERRY, 1979; HAMIDI, 2000). Segundo Hamidi (2000), a volatilização da fase sólida para a fase gasosa do solo é pouco significativa e pode ser desprezada. Segundo Mattney (1994) a taxa de volatilização é afetada pela volatilidade e viscosidade do poluente e profundidade, teor de umidade, porosidade e temperatura do solo.

#### **6.4 Biodegradação de compostos orgânicos no solo**

Nas camadas superficiais do solo as condições são mais favoráveis à biodegradação, devido a maior quantidade de oxigênio e nutrientes disponíveis aos microrganismos.

Segundo Mattney (1994) o processo da biodegradação do petróleo pode ser representado da seguinte forma:



Onde  $\text{H}_x\text{C}_y$  são hidrocarbonetos derivados do petróleo e N, P, S são os nutrientes nitrogênio, fósforo e enxofre que são necessários para o metabolismo e crescimento dos microrganismos.

Durante a biodegradação o valor do pH diminui devido à produção de ácidos orgânicos intermediários e de  $\text{CO}_2$  (MATTNEY, 1994). Os metabólitos formados a partir da biodegradação dos HPAs como os ácidos carboxílicos e os compostos fenólicos podem

interagir quimicamente com a fração orgânica do solo e serem incorporados no material húmico, formando ligações residuais.

A susceptibilidade dos compostos para a biodegradação aeróbia ou aneróbia depende da natureza e complexidade do composto e de fatores ambientais. Os compostos orgânicos na forma reduzida tendem a ser mais susceptíveis à biodegradação aeróbica que os compostos que estão na forma oxidada, sendo estes mais susceptíveis a biodegradação anaeróbia (KNOX *et al.*, 1993).

Os HPAs de alto peso molecular são metabolizados em condições aeróbias de forma lenta, devido a sua complexidade estrutural, baixa solubilidade e forte adsorção à matriz sólida.

A relação entre a persistência ambiental do HPA e número crescente de anéis de benzeno é relatado em vários estudos (BANERJEE *et al.*, 1995; HEITKAMP & CERNIGLIA, 1987; BOSSERT & BARTHA, 1986). Shuttleworth *et al.* (1995) relataram que o tempo de degradação da molécula do fenantreno (três anéis de benzeno) pode variar de 16 a 126 dias enquanto que para a molécula do benzo(a)pireno (cinco anéis de benzeno) pode variar de 229 a 1.400 dias.

A hidrólise dos compostos orgânicos ocorre mesmo na ausência da biodegradação e produz compostos susceptíveis de biodegradação posterior (KNOX *et al.*, 1993). As reações de hidrólise alteram as propriedades físicas e químicas dos compostos, modificando sua mobilidade e comportamento no solo (SENESI, 1993). A hidrólise é influenciada por processos bióticos e abióticos. A hidrólise biótica é afetada pela biomassa e pela concentração de enzimas específicas do processo. Fatores abióticos da solução aquosa como pH, temperatura, matéria orgânica dissolvida, íons metálicos, teores de umidade influenciam a taxa de hidrólise (KNOX *et al.*, 1993).

## **6.5 Microrganismos e biodegradação dos HPAs**

A fitorremediação depende da melhor compreensão das funções exercidas pelas plantas nos ambientes terrestres e o conhecimento das suas interações com outros componentes da biodiversidade, como por exemplo, com os microrganismos. A população e a atividade de microrganismos estão associadas espécie vegetal (ALEXANDER, 1977).

Muitos microrganismos são capazes de degradar os hidrocarbonetos de petróleo. Alguns são capazes de degradar hidrocarbonetos alifáticos e cíclicos, outros aromáticos e alguns conseguem metabolizar ambos (ATLAS & BARTHA, 1992; LEAHY & COLWELL,

1990; ATLAS, 1981). Entre os aromáticos de baixo peso molecular estão o benzeno, o tolueno e o xileno, que são componentes tóxicos do petróleo facilmente degradados pelos microrganismos. Moléculas com estruturas mais complexas, contendo ramificações e anéis aromáticos são degradados por um número menor de microrganismos e com uma taxa de degradação menor, se comparadas com moléculas de estrutura mais simples.

A indução de genes dos microrganismos responsáveis pela degradação de HPAs pode ser feita pelo lançamento de moléculas provenientes de lises e outros processos realizados pelas raízes, como os compostos fenólicos (DONNELLY *et al.*, 1994). Por exemplo, o salicilato é um composto que atua como intermediário na ação da enzima dioxigenase na degradação do naftaleno e induz os genes nah, que são os genes responsáveis pela degradação do naftaleno e do benzoantraceno (YEN & SERDAR, 1988).

Como as moléculas de HPAs de alto peso molecular, em condições aeróbicas, são degradadas mais lentamente que moléculas de baixo peso molecular, sua degradação pode ser otimizada quando há outra fonte de carbono e energia para servir de substrato para os microrganismos. Desse modo, o poluente pode ser co-metabolizado pelos microrganismos, ou seja, ele deixa de ser a principal fonte de nutriente e passa a ser metabolizado junto com a fonte principal. Portanto, co-metabolismo consiste na ocorrência da degradação de um composto somente na presença de outro composto orgânico, que serve como indutor dos genes necessários ou como fonte principal de energia (MCCARTY, 1987). A adição de co-metabolitos resulta na biodegradação de HPAs de alto peso molecular em um estudo realizado por McCutcheon & Schonoor, (2003). Portanto, os HPAs de alto peso molecular são degradados de forma mais lenta devido à dificuldade dos microrganismos em obter energia suficiente a partir da sua degradação.

A respiração basal (RB) reflete a atividade atual da microbiota do solo, responsável pela degradação de compostos orgânicos. Cury (2002) mostrou que os valores de RB se relacionam diretamente com o número mais provável de bactérias heterotróficas aeróbias (NMP) e mostrou que há maior atividade microbiana no ponto mais contaminado.

Segundo Cury (2002), as populações microbianas em solos de mangue possuem potenciais degradadores de hidrocarbonetos, e isto deve estar relacionado à adaptação destes microrganismos a grandes quantidades de matéria orgânica presente nestes solos.

O petróleo, por sua complexidade, não é totalmente degradado por uma única espécie de microrganismos. A degradação é realizada por um consórcio de espécies de microrganismos e sua ampla capacidade enzimática (LEAHY & COLWELL, 1990). McCutcheon & Schonoor (2003) testaram duas espécies de bactérias do gênero *Sphingomonas* usadas individualmente e em consórcio para degradar HPAs e verificaram que apenas as

moléculas de baixo peso molecular (naftaleno, fenantreno e fluorantreno) foram degradadas pelo grupo individual, enquanto que o consórcio de espécies degradou todos compostos inclusive os de alto peso molecular.

Várias espécies de *Pseudomonas*, que utilizam normalmente hidrocarbonetos produzidos por plantas, algas e outros organismos, estão entre os potencialmente degradadores de hidrocarbonetos do petróleo (ATLAS, 1995). Isto reforça o estudo de Wunsche *et al.* (1995) que encontraram uma dominância do gênero *Pseudomonas* entre os microrganismos, especialmente *P. boxyhydrogena* em um estudo com solo exposto durante vários anos à contaminação com hidrocarbonetos.

As reações bioquímicas para a biodegradação dos HPAs foram descritas por Gibson & Subramanian (1984). Compreende-se que a primeira etapa do catabolismo de uma molécula de HPA por bactérias em condições aeróbicas ocorre pela oxidação do HPA a um diidrodiol pela ação de um complexo de enzimas. O diidrodiol é então processado e por uma reação de quebra orto ou meta resulta em intermediários centrais tais como os 3,4-dihidroxibenzeno e o 1,2-dihidroxibenzeno (HO-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-OH) ou catecol, que são convertidos aos intermediários do ciclo do ácido tricarbóxico (VAN DER MEER *et al.*, 1992).

Em condições aeróbicas, o processo ocorre primeiro em moléculas de baixo peso molecular. O catabolismo inicia-se pela reação das enzimas monooxigenase ou dioxigenase, onde uma hidroxila é adicionada ao anel aromático; este então sofre fissão originando um HPA com um anel a menos. A oxigenase é uma enzima que promove a oxidação química dos hidrocarbonetos e está presente no processo de mineralização dos HPAs.

A decomposição da matéria orgânica resulta na quebra dos compostos orgânicos e liberação de elementos essenciais que estão presentes nas moléculas dos tecidos vegetais e animais. Bactérias e fungos são responsáveis por cerca de 90% da mineralização do carbono presente nos compostos orgânicos em decomposição (COUTINHO, 1999).

O processo de mineralização em determinado período depende de vários fatores, tais como: temperatura, umidade, aeração, quantidade e natureza do material orgânico presente (MARY *et al.*, 1996). Desta forma, a variação nesses fatores determina distintas velocidades na transformação do carbono orgânico para as formas minerais.

A atividade microbiana aumenta a disponibilidade de água e nutrientes na rizosfera e produz substâncias reguladoras de crescimento e antibióticos que inibem o crescimento de patógenos no solo. Estes fatores favorecem o crescimento e desenvolvimento das plantas promovendo a otimização do processo de fitorremediação.

## 6.6 Raízes e Micorrizas

As raízes promovem uma melhora na estrutura do solo e um aumento na área de superfície de interação com os microrganismos, também estão envolvidas na assimilação de cátions e ânions e na excreção de substâncias orgânicas e inorgânicas que resultam em um sistema químico dinâmico. Em resposta à quantidade de nutrientes disponíveis no solo, o sistema radicular pode alterar o pH da solução do solo, o potencial de oxidação e a redução de compostos na rizosfera.

As plantas excretam entre outros, aminoácidos, ácidos carboxílicos, carboidratos, derivados de ácidos nucleicos e enzimas (ALEXANDER, 1977). Estes compostos promovem o aumento da comunidade microbiana na rizosfera e conseqüentemente ocorre um aumento na degradação de substâncias orgânicas, além de promoverem a floculação da argila no solo e a solubilização de metais formando quelatos.

As propriedades do sistema radicular que são importantes para a fitorremediação consistem na elongação, área de superfície, massa, profundidade de penetração, quantidade e composição de matéria orgânica e exudatos, proliferação de raízes capilares e associações com fungos e bactérias. Estas propriedades são influenciadas pelo ar, temperatura, temperatura do solo, disponibilidade de água, concentração de nutrientes, espécie e variedade da planta e propriedades do solo.

Os fungos são importantes na decomposição de compostos orgânicos e no ciclo do carbono no ambiente (MEHARG & CAIRNEY, 2000). Existem no meio terrestre saprófitas de vida livre ou em associações simbióticas com a vegetação e raízes (micorrizas).

A micorriza é uma simbiose entre fungos e raízes. A principal função da micorriza é o transporte de nutrientes. O fungo auxilia a transferência de água e nutrientes (nitrogênio, fósforo e micronutrientes) do solo que não estão acessíveis à planta e é nutrido por esta com carbono orgânico (em geral, sob a forma de sacarose). As micorrizas podem ser divididas em três grupos (SMITH & READ, 1997):

- Ectotróficas que ocorrem tipicamente entre árvores e basidiomicetos;
- Endotróficas comumente encontradas nas orquídeas e nas Ericáceas;
- Ectendotróficas que são uma forma intermediária entre os outros dois tipos, formadas por plantas herbáceas.

Os dois últimos grupos são endomicorrizas, ou seja, elas entram nas células das raízes durante a colonização, ao contrário das ectomicorrizas na qual o fungo simplesmente envolve a epiderme e parcialmente as células do córtex da raiz.

No contexto da biodegradação, é importante ressaltar que os três grupos de micorrizas apresentam capacidades saprófitas diferentes. As micorrizas endotróficas são potencialmente degradadoras, enquanto que as ectotróficas apresentam capacidade de degradação moderada e as ectendotróficas são obrigatoriamente simbióticas com pouca capacidade de degradação de compostos orgânicos (MICHELSEN *et al.*, 1996).

Todos os grupos de micorriza interagem e modificam as comunidades microbianas afetando indiretamente o processo de biodegradação (JONER & LEYVAL, 2003).

Os fungos degradam lignina e complexos de hidrocarbonetos aromáticos (MEHARG & CAIRNEY, 2000). Nestes processos, muitos fungos utilizam o citocromo P-450 monooxigenase para oxidar bifenilas policloradas (PCBs) e HPAs em óxidos, os quais podem ser transformados pela epóxido hidrolase em trans-diidrodiols. Estas reações foram demonstradas para PCBs (ABRAMOWICZ, 1990) e HPAs (SUTHERLAND *et al.*, 1995), incluindo benzo(a)antraceno e benzo(a)pireno.

Em estudos realizados por Cerniglia (1997) e Novotny *et al.* (2000), foi mostrado que a espécie *Phanerochaete chysosporium* metabolizou PCBs e HPAs usando lignina peroxidase para formar quinona.

Segundo Merkl *et al.* (2005) os fungos são um grupo de organismos importante para a fitorremediação de petróleo em solos tropicais, devido a sua tolerância à seca, ao pH baixo e à deficiência de nutrientes.

As micorrizas causam efeitos benéficos na nutrição e fisiologia das plantas hospedeiras, aumentando sua tolerância à deficiência de nutrientes. Alguns estudos tentaram determinar o impacto das micorrizas no estabelecimento e crescimento de plantas em solos poluídos (HEINONSALO *et al.*, 2000; HSU & BARTHA, 1979), mas o aumento da tolerância à toxicidade é difícil de se distinguir dos efeitos da melhora na nutrição das plantas. De qualquer forma os resultados indicaram um efeito favorável das micorrizas.



## 7. FITORREMEDIAÇÃO

As plantas sempre estiveram em contato com diferentes substâncias de ocorrência natural no solo, como ligninas, a celulose, a quitina, os materiais húmicos e vários compostos tóxicos, como os fenóis, os diterpenos e os alcalóides (MELO, 2001). Segundo Andrade *et al.* (2002) possivelmente por essa razão, os processos adaptativos evoluíram e resultaram em diversos mecanismos fisiológicos e formas de interações com microrganismos que permite a degradação de compostos orgânicos em outros menos tóxicos, além de substâncias e minerais passíveis de serem utilizados na nutrição vegetal.

A tecnologia de fitorremediação envolve o uso de seres vivos, cuja sobrevivência e desenvolvimento é dependente das características ambientais que variam com os diferentes locais de aplicação, o que implica em um maior número de variáveis a serem consideradas, em comparação com os tratamentos físico-químicos convencionais (ANDRADE *et al.*, 2002). É uma tecnologia que pode ser utilizada, com as devidas restrições, nos casos de contaminação por metais, pesticidas, solventes, explosivos, petróleo e chorume (EPA, 2005) e, portanto, aplica-se a uma grande variedade de poluentes, inclusive alguns recalcitrantes. A fitorremediação apresenta estética favorável, pois imprime ao local da remediação o aspecto de uma área de cultivo agrícola ou de paisagismo e outras vantagens associadas como baixo custo de implantação e manutenção e possibilidade de posterior reutilização do solo. O material vegetal produzido pode ser convertido em matéria prima para atividades como confecção de móveis, geração de energia, produção de fibras etc.

A viabilidade econômica e tecnológica de aplicação deste processo está relacionada ao tempo para se obter resultados que é dependente do ciclo da planta, da concentração do poluente no solo e da presença e de outras toxinas que devem estar dentro dos limites tolerados pela planta (PLETSCH *et al.*, 2000). Outro fator que deve ser considerado é o risco de que as plantas mobilizem ou disponibilizem o contaminante no ambiente por volatilização ou na cadeia alimentar. Por isso espécies de valor comestível não são recomendadas para fitorremediação em países em desenvolvimento. A Tabela 4 compara o custo da fitorremediação com os métodos convencionais de remediação.

O termo fitorremediação engloba todos os processos envolvidos na remediação de solos, sedimentos e sistemas de aquíferos contaminados por meio da seleção e utilização de espécies vegetais (SCHNOR *et al.*, 1995 em MORENO & CORSEUIL, 2001).

**Tabela 4** - Exemplo de comparação de custo.

Contaminante	Custos com fitorremediação Dólares americanos	Custo estimado empregando outras tecnologias	Fonte
<b>Metais</b>	<b>\$80 por jarda (91.4cm) cúbica</b>	<b>\$250 por jarda (91.4cm) cúbica</b>	<b>BLACK (1995)</b>
<b>Área contaminada com petróleo</b>	<b>\$70,000</b>	<b>\$850,000</b>	<b>JIPSON (1996)</b>
<b>10 acres de área contaminada</b>	<b>\$500,000</b>	<b>\$12 milhões</b>	<b>PLUMMER (1997)</b>
<b>Radionuclídeos em águas superficiais</b>	<b>\$2 a \$6 por mil galões tratados</b>	<b>Não listado</b>	<b>RICHMAN (1997)</b>
<b>1 ha por 15cm de profundidade (diversos contaminantes)</b>	<b>\$2,500 a 15,000</b>	<b>Não listado</b>	<b>CUNNINGHAM et al. (1996)</b>

Fonte: CHAPPELL, (1998) em SILVA (2005)

Como exemplos destes processos podem ser citados (i) a rizodegradação que consiste na degradação do poluente pela associação dos microrganismos com as raízes e a fitoextração seguida de (ii) fitoacumulação que consiste na acumulação de metais que não sofreram modificação nas raízes ou nos tecidos da parte aérea da planta, Uma vez absorvidos pela raiz, os contaminantes podem sofrer (iii) fitodegradação que consiste na degradação ou detoxificação nos tecidos aéreos da planta ou (iv) fitovolatilização, quando os compostos são volatilizados a partir das folhas para a atmosfera.

Contaminantes que permanecem no solo podem ser transformados cometabolicamente pela ação de enzimas ou por microrganismos (colônias de bactérias ou fungos micorrízicos) associados simbioticamente com as raízes (MORENO & CORSEUIL, 2001), sendo a rizodegradação, juntamente com a fitoacumulação de metais os tipos de fitorremediação mais conhecidos.

A Tabela 5 resume os mecanismos e processos que atuam na interação planta-substrato-microrganismos da rizosfera e que resultam na remediação de solos contaminados e respectivos grupos de contaminantes.

**Tabela 5** - Mecanismos de fitorremediação.

Mecanismo	Processo	Meio	Contaminante
<b>Fitoextração</b>	<b>Extração e captura do contaminante</b>	<b>Solo, sedimentos, pântanos</b>	<b>Metais, radionuclídeos</b>
<b>Rizofiltração</b>	<b>Extração e captura do contaminante</b>	<b>Lençol d'água, aquíferos</b>	<b>Metais, radionuclídeos</b>
<b>Fitoestabilização</b>	<b>Contenção do contaminante</b>	<b>Solo, sedimentos, pântanos</b>	<b>As, Cd, Cr, Cu, Hs, Pb, Zn</b>
<b>Rizodegradação</b>	<b>Destruição do contaminante</b>	<b>Solo, sedimentos, pântanos, lençol d'água</b>	<b>Compostos orgânicos</b>
<b>Fitodegradação</b>	<b>Destruição do contaminante</b>	<b>Solo, sedimentos, pântanos, lençol d'água, aquíferos</b>	<b>Compostos orgânicos, solventes clorados, fenóis, herbicidas</b>
<b>Fitovolatilização</b>	<b>Extração do contaminante do meio e liberação no ar</b>	<b>Lençol d'água, solo, sedimentos, pântanos</b>	<b>Solventes clorados, Se, Hg, As</b>
<b>Controle Hidráulico</b>	<b>Degradação do contaminante ou contenção</b>	<b>Lençol d'água, aquíferos</b>	<b>Compostos orgânicos e inorgânicos hidrossolúveis</b>
<b>Cobertura Vegetal</b>	<b>Contenção do contaminante, controle erosivo</b>	<b>Solo, pântano, sedimentos</b>	<b>Compostos orgânicos e inorgânicos</b>
<b>Corredores Riparianos</b>	<b>Destruição do contaminante</b>	<b>Aquíferos, lençol d'água</b>	<b>Compostos orgânicos e inorgânicos hidrossolúveis</b>

Fonte: FRICK et al. (1999) em SILVA (2005).

Os compostos orgânicos presentes em solos vegetados podem ter vários destinos. Se o composto apresenta propriedades físico-químicas como baixa solubilidade em água e alto  $\log k_{wo}$  é improvável que ele será transportado para dentro da planta e nos tecidos vegetais. No entanto, se o composto orgânico possui características favoráveis ao transporte ( $\log k_{wo}$  entre 0,5 e 3,0) é provável que ocorra a absorção e o transporte do composto na planta (BURKEN & SCHNOOR, 1996).

A absorção dos compostos orgânicos se restringe à compostos de baixo peso molecular ou à compostos de alto peso molecular que tenham sido transformados fora da planta de modo a favorecer a absorção (por exemplo, o aumento da solubilidade por meio da hidroxilação). Depois de transportado do solo para a planta, o composto é oxidado ou biodegradado *in vivo*, em seguida ocorre à conjugação ou a retenção no vacúolo ou na parede celular. Os dois processos iniciam-se no interior da planta com a hidroxilação do composto pelas enzimas monooxigenase (citocromo P-450) ou peroxidase (GUNTHER *et al.*, 1998), que facilita o transporte dos compostos não polares nos tecidos vegetais porque os torna mais móveis.

Dependendo das características do composto, estas enzimas podem direcionar a reação de oxidação por vários caminhos metabólicos que resultam em água e dióxido de carbono. A etapa da conjugação utiliza açúcares (glicosilação), aminoácidos e pequenos peptídeos (FIELD & THURMAN 1996).

Os mecanismos que promovem o aumento da degradação na rizosfera não são totalmente conhecidos devido a sua complexidade. As explicações baseiam-se no efeito direto das enzimas derivadas das raízes (GRAMSS & RUEDESCHKO, 1998) e indiretos com o aumento da aeração no solo, aumento da comunidade microbiana e modificação da composição microbiana pela quantidade de carbono emitida nos exudatos das raízes.

A rizodegradação de poluentes orgânicos foi demonstrada para vários compostos, ou mistura de compostos, como para os hidrocarbonetos alifáticos (GÜNTHER *et al.*, 1996), óleo combustível e outras misturas de hidrocarbonetos de petróleo (CHINEAU *et al.*, 2000; NICOLOTTI & EGLI, 1998) hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PRADHAN *et al.*, 1998; SCHWAB & BANKS, 1995), explosivos (SICILIANO & GREER, 2000), pesticidas (HSU & BARTHA, 1979) e organoclorados (ANDERSON *et al.*, 1993).

A eficácia da rizodegradação pode ser observada na revegetação de solos contaminados. Segundo Fletcher (2000) o estudo da rizodegradação natural pode descrever tempo, espaço e eventos ecológicos críticos para o restabelecimento da vegetação em áreas contaminadas e revelar fatores importantes como tolerância da vegetação restabelecida, crescimento radicular e interações na rizosfera, níveis de contaminantes e previsão de tempo para restauração da área.

A rizodeposição consiste no total de carbonos lançados pelas raízes na rizosfera, que permite o estabelecimento e o crescimento da comunidade microbiana. A quantidade e a qualidade dos compostos orgânicos lançados no solo dependem da espécie vegetal, ciclo de vida e estágio de crescimento. Os compostos orgânicos rizodepositados dividem-se em cinco classes que são mostradas na Tabela 6.

O efeito das plantas e da rizosfera na degradação de HPAs foi estudado por Aprill & Sims (1990), Ferro *et al.* (1994), Schwab *et al.* (1995) e Reilley *et al.* (1996). Em geral a presença de plantas aumentou a remoção do contaminante do solo.

Rovira & Davey (1974) mostraram que o número de bactérias na rizosfera foi maior que na área de solo não abrangida pelas raízes. Os microrganismos mais encontrados foram pequenos bastonetes gram negativos, especialmente *Pseudomonas sp.*, *Flavobacterium sp.* e *Alcaligenes sp.* (Barber, 1976).

Ferro *et al.* (1994) avaliaram a mineralização do pentaclorofenol e do fenantraceno usando o  $C^{14}$  em um solo com *Agropyron desertorum*, uma gramínea. Após 155 dias em solos

com plantas, 22% do pentaclorofenol foi convertido em  $C^{14}O_2$  e em solo sem vegetação apenas 5% do pentaclorofenol foi mineralizado.

**Tabela 6** - Cinco classes de compostos rizodepositados e seus potenciais de influência na rizodegradação.

Classes de rizodeposição	Origem metabólica	Exemplos	Modo de rizodeposição	Potencial de influência
Exudatos da raiz	Metabolismo primário da planta	Carboidratos, aminoácidos e ácidos orgânicos	Emitido pelas células da raiz	Aumento da biomassa microbiana
Secreções da raiz	Metabolismo primário e secundário das plantas	Enzimas e carboidratos	Secreção ativa das células da raiz	Aumento da biomassa e da biodisponibilidade
Mucilagens	Metabolismo primário da planta	Carboidratos e restos celulares	Secreção ativa e perda passiva da raiz	Aumento da biomassa e da biodisponibilidade
Mucigel	Metabolismo primário da planta e das bactérias	Carboidratos e restos celulares	Secreção ativa e perda passiva da raiz e das bactérias	Aumento da biomassa e da biodisponibilidade
Restos celulares das raízes	Metabolismo primário e secundário das plantas	Compostos fenólicos e restos celulares	Perda passiva por meio da autólise das células da raiz	Aumento da biomassa, indução de genes e catabolismo

Fonte: ROVIRA (1979).

Schwab & Banks (1994) investigaram a degradação de pireno na rizosfera de quatro gramíneas (*Medicago sativa*, *Festuca arundinacea*, *Andropogon gerardii* e *Sorghum vulgare*). Após quatro semanas houve um decréscimo na concentração de pireno de  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  de solo para  $12,6 \text{ mg kg}^{-1}$  de solo. Após vinte e quatro semanas a concentração de pireno encontrada foi menor que  $2,4 \text{ mg kg}^{-1}$  de solo.

Lee (1996) investigou a degradação do benzo(a)pireno utilizando  $C^{14}$  marcado em solos com sorgo (*Sorghum vulgare*). Após 190 dias constatou que a mineralização do benzo(a)pireno foi maior nos solos com plantas, sendo que 1,3% mineralizou formando  $C^{14}O_2$ ; 0,121% ficou retido nos tecidos das plantas; 0,115% ficou retido nos tecidos das raízes; 0,006% ficou retido nos brotos radiculares e 92% permaneceu no solo. No controle (solos sem plantas) 0,7% foi mineralizado e 96% permaneceu no solo. A grande quantidade de contaminante retida no solo foi associada às características do composto que possui alto peso molecular (cinco anéis).

Gunther *et al.* (1996) estudando a degradação de hidrocarbonetos de petróleo na rizosfera do azevém (*Lolium multifforme*) demonstrou que após 22 semanas houve uma

redução de 97% dos hidrocarbonetos no solo com plantas e 82% no solo sem plantas. As análises mostraram que os microrganismos da rizosfera foram responsáveis pela degradação.

## 8. DESEMPENHO DE ESPÉCIES VEGETAIS

A seleção e a interação de espécies vegetais é um fator importante no processo da fitorremediação. Para que a fitorremediação seja bem sucedida é necessário que as espécies selecionadas sejam capazes de germinar, se estabelecer e florescer nas condições daquele ambiente. Para tanto, é necessário conhecer o impacto da área no crescimento das plantas e na degradação do contaminante. A capacidade de sobrevivência da planta no ambiente pode ser considerada como potencial fitorremediador (MCCUTCHEON & SCHNOOR, 2003).

Como parte do processo de fitorremediação, Hutchinson *et al.* (2003) sugerem que a seleção de espécies seja baseada na revisão de informações relevantes, incluindo literatura publicada e consultas com especialistas locais, em viveiros e casas de vegetação comerciais, cooperativas agrícolas, universidades, serviços de extensão que irão avaliar e sugerir espécies vegetais que apresentam bom crescimento no local.

As características desejáveis para as espécies selecionadas para fitorremediação dependem da adequação da espécie ao solo selecionado e às condições climáticas do local, além da finalidade da área a ser remediada. Em países com população pobre, por exemplo, o uso de espécies comestíveis não é recomendado para a descontaminação ambiental, a não ser que um controle rigoroso do material comestível seja feito. No caso de fitoextração, fitoacumulação ou formação de sub-produtos tóxicos, tal material biológico deve ser retirado (colheita) e disposto, por exemplo em aterro ou incinerado.

De modo geral, devem ser consideradas características tais como ciclo de vida da planta, sistema radicular, potencial de formação de simbiose com microorganismos e resistência. A concentração do poluente e a presença de toxinas devem estar dentro dos limites tolerados pela planta para não comprometer o tratamento.

Existe uma correlação entre biomassa radicular e taxa de fitorremediação. Em espécies perenes o crescimento radicular é contínuo e os microorganismos da rizosfera permanecem ativos. Tais espécies possuem manejo simplificado comparado às espécies anuais que precisam ser semeadas novamente a cada ciclo e em áreas propensas a erosão isto pode ser inconveniente (HUTCHINSON *et al.*, 2003). Além disso, as árvores promovem uma variedade de serviços ambientais incluindo o seqüestro de dióxido de carbono atmosférico (podendo obter ainda créditos de carbono), aumento da biodiversidade, promove a estética e a recreação associada à remediação da área (ROOCKWOOD *et al.*, 2001), o que favorece seu uso na fitorremediação. Entretanto, as espécies de ciclo curto, produzem biomassa mais rapidamente e são portanto desejáveis em projetos de fitorremediação onde há urgência de

descontaminação da área, por exemplo, próximo a centros urbanos onde os riscos à saúde humana assumem caráter prioritário. Existem espécies que são tolerantes às condições de saturação hídrica, no entanto, a degradação de HPAs nestas áreas é muito lenta em função da predominância de condições anaeróbias.

## 8.1 Germinação

A germinação é uma seqüência de eventos fisiológicos que ocorrem nas sementes e é influenciada por fatores externos (ambientais) e internos (dormência, inibidores e promotores da germinação), onde cada fator pode atuar sozinho ou em interação com os demais (IPEF, 2006).

A germinação é um fenômeno biológico considerado pelos botânicos como a retomada do crescimento do embrião, com o subsequente rompimento do tegumento pela radícula. Entretanto, para os tecnólogos de sementes, germinação é definida como a emergência e o desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, manifestando a sua capacidade para dar origem a uma plântula normal, sob condições ambientais favoráveis (IPEF, 2006).

Em síntese, tendo-se uma semente viável em repouso, por quiescência ou dormência, quando são satisfeitas as condições externas (do ambiente) e internas (intrínsecas do indivíduo), ocorre o crescimento do embrião, o qual conduzirá à germinação.

O processo germinativo compreende aqueles eventos celulares e metabólicos que se iniciam com a absorção de água por sementes quiescentes e culminam com o alongamento do eixo embrionário (BEWLEY & BLACK, 1994), envolvendo várias etapas (POPINIGIS, 1977), que por sua vez, são influenciadas por fatores tais como: luz, temperatura, disponibilidade de água e oxigênio.

Marcos Filho (1986) destaca que, no processo de germinação ocorre uma série de atividades metabólicas, baseadas em reações químicas e que cada uma delas apresenta exigências quanto à temperatura, principalmente porque dependem da atividade de sistemas enzimáticos complexos, cuja eficiência é diretamente relacionada à temperatura e à disponibilidade de oxigênio.

As sementes têm capacidade de germinar sob faixa de temperatura característica da espécie (BEWLEY & BLACK, 1994), ou seja, a temperatura para a germinação não apresenta um valor específico, mas pode ser expressa em termos das temperaturas cardeais, isto é,



mínima, máxima e ótima. A temperatura ótima é definida como sendo aquela em que ocorre o máximo de germinação em tempo relativamente curto (NOVEMBRE, 1994).

A temperatura ótima para a germinação pode variar em função da condição fisiológica da semente (POPINIGIS, 1977). Da mesma forma, o efeito da temperatura sobre a germinação pode sofrer influência da espécie e da região de origem e de ocorrência. Normalmente, sementes de espécies de clima tropical germinam bem em temperaturas mais altas, ao contrário daquelas de clima temperado, que requerem temperaturas mais baixas.

Para a maioria das espécies tropicais, a temperatura ótima de germinação encontra-se entre 15°C e 30°C e a máxima varia entre 35°C e 40°C. De maneira geral, temperaturas abaixo da ótima reduzem a velocidade de germinação, resultando em alteração da uniformidade de emergência das plântulas (IPEF, 2006).

A água é o fator que mais influencia o processo de germinação. A absorção de água pela semente ocorre por embebição, um processo físico relacionado às características de permeabilidade do tegumento e das propriedades dos colóides que constituem as sementes, cuja hidratação é uma de suas primeiras conseqüências. Com a rehidratação dos tecidos da semente ocorre a intensificação da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, que resultam em energia e nutrientes, necessários para a retomada de crescimento do eixo embrionário (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000). O excesso de umidade, no entanto, provoca decréscimo na germinação, porque impede a penetração do oxigênio e reduz todo o processo metabólico resultante (IPEF, 2006).

A velocidade de absorção de água varia com a espécie, com o número de poros distribuídos sobre a superfície do tegumento, disponibilidade de água, temperatura, pressão hidrostática, área de contato da semente com a água, forças intermoleculares, composição química e qualidade fisiológica da semente. A absorção de água pela semente é muito rápida em condição de excesso de umidade no solo, ocorrendo desorganização das membranas celulares, rupturas nos tecidos, perda de solutos para o meio e surgimento de plântulas anormais e pouco vigorosas (LUCCA & REIS, 1995).

O movimento da água para o interior da semente é devido tanto ao processo de capilaridade quanto de difusão e ocorre do sentido do maior para o menor potencial hídrico (IPEF, 2006).

A avaliação da germinação das sementes é efetuada pelo teste de germinação, conduzido em laboratório sob condições controladas e por meio de métodos padronizados que visam, principalmente, avaliar o valor das sementes para a semeadura e comparar a qualidade de diferentes lotes (NOVEMBRE, 1994; MARCOS FILHO *et al.*, 1987).

A germinação constitui a fase do ciclo de vida que determina a distribuição das plantas e o estudo sobre a ecologia desse processo e o conhecimento acerca da biologia das sementes pode ser de grande valor para compreender as etapas do estabelecimento de uma comunidade vegetal, bem como sua sobrevivência e regeneração natural (VÁZQUEZ-YANES & OROZCO-SEGOVIA, 1993).

## 8.2 Efeito tóxico do petróleo sobre as plantas

A implantação da fitorremediação em áreas contaminadas requer que a taxa de germinação e o crescimento da planta não sejam afetados pela presença do contaminante. Portanto, é necessário conhecer o efeito tóxico do contaminante na espécie utilizada para a fitorremediação, antes de realizar o experimento em escala de campo.

A fitotoxicidade é definida como qualquer alteração no desenvolvimento normal das plantas cultivadas, provocada por efeitos tóxicos provenientes do uso de produtos químicos. (ANVISA, 1997).

Os efeitos adversos do petróleo sobre as plantas são resultantes de efeitos físicos e da toxicidade química do óleo e variam da redução na transpiração e fixação de carbono à morte da planta. A taxa de redução destes processos depende da extensão da área da planta coberta pelo óleo, que está relacionada à quantidade de óleo derramada, a velocidade do vento e ao tipo e dispersão do óleo (PEDROZO *et al.*, 2002).

Segundo Pezeshki *et al.* (2000), o impacto físico do óleo inclui a cobertura da parte aérea das plantas e da superfície do solo. O óleo presente nas folhas pode bloquear a transpiração e reduzir a fotossíntese porque reduz a entrada de CO<sub>2</sub> devido ao bloqueio dos estômatos. E o óleo derramado sobre a superfície do solo, restringe a movimentação de oxigênio no solo, favorecendo as condições anaeróbicas que causam o estresse nas raízes (PEZESHKI *et al.*, 2000). O impacto químico varia com o tipo de óleo, os óleos pesados têm menor efeito em relação aos óleos leves nas plantas (PEZESHKI *et al.*, 2000).

A literatura relata a redução da germinação na presença de HPAs em solos com contaminação recente e em soluções de HPAs (SMITH *et al.*, 2005; SMRECZAK & MALISZEWSKA-KORDYBACH, 2003; HENNER *et al.*, 1999; CHAÎNEAU *et al.*, 1997; REN *et al.*, 1996;), assim como na inibição da produção de biomassa (CHAÎNEAU *et al.*, 1997; GALLEGOS MARTINEZ *et al.*, 2000; MERKL *et al.*, 2004b; BOSSERT & BARTHA, 1985; REIS 1996; BAKER, 1970).

Foi demonstrado que a toxicidade dos HPAs sobre microrganismos, animais e plantas aquáticas é aumentada com a ação da radiação (REN *et al.*, 1994; ANKLEY *et al.*, 1994; HUANG *et al.*, 1993; NEWSTED & GIESY, 1987; ORIS & GIESY, 1985). Na planta aquática *Lemma gibba* os HPAs foram fotomodificados pela ação da radiação ultravioleta em uma mistura complexa e não definida de fotoprodutos que foram mais tóxicos que os compostos iniciais (REN *et al.*, 1994; HUANG *et al.*, 1993). Por outro lado, no processo de “landfarming”, técnica em que o resíduo oleoso ou solo contaminado é disposto no solo como forma de tratamento, sob condições controladas, para promover a degradação e imobilização dos contaminantes (CETESB, 2006) o impacto da radiação solar promove efeitos benéficos e que devem ser considerados pela sua ação significativa na degradação de resíduos, como os HPAs (US TECHNICAL LETTER N° 1110-1-176, 2006). Como a luz é um fator fundamental para o crescimento das plantas, durante a realização dos testes ela pode promover a fotomodificação dos compostos.

Altas concentrações do contaminante podem inibir o crescimento da planta e limitar a aplicação da fitorremediação em alguns locais (SILVA, 2005), por isso a determinação da concentração do contaminante é frequentemente a meta inicial na remediação. Uma vez que a fitorremediação é uma tecnologia emergente, ainda há pouca informação a respeito das concentrações de contaminantes que podem ser alcançadas pelos vários tipos de fitorremediação.

## 9. MATERIAIS E MÉTODOS

### 9.1 Revisão bibliográfica e seleção das espécies

Com o objetivo de obter conhecimentos acerca dos processos que participam da fitorremediação, foi conduzida revisão bibliográfica abrangendo aspectos tais como: caracterização do contaminante estudado (óleo cru), interação contaminante-solo, atividades microbiológicas e espécies vegetais com propriedades ou potencial de uso na fitorremediação. Para tanto, foi utilizado o sistema de busca do ScienceDirect disponibilizado pela CAPES, artigos publicados em periódicos científicos e congressos e relatórios técnicos na Internet.

A seleção das espécies utilizadas nos experimentos do presente estudo foi baseada na lista publicada pelo Phytomet Database ([PHYTOMET](#), 2005), na consulta com especialistas e na literatura científica. Foram utilizados critérios para seleção distintos, para que o grupo de espécies testadas fosse heterogêneo o suficiente para cobrir uma gama diversificada de atributos, tais como (Anexo II):

- espécies não comestíveis (pelo menos *in natura*) e de diferentes grupos (florestais, oleaginosas e gramínea);
- velocidade de crescimento e produção de biomassa (remediação rápida);
- espécies nativas, para uso próximo aos ecossistemas frágeis ou áreas de proteção ambiental;
- adaptação às condições edafo-climáticas locais;
- potencial de produção de biodiesel.

Foram então, selecionadas as espécies *B. brizantha* (*Bb*), *H. annuus* (*Ha*), *A. holosericea* (*Ah*), *R. communis* (*Rc*), *G. max* (*Gm*), *T. granulosa* (*Tg*), *L. leucocephala* (*Ll*).

A consulta bibliográfica revelou que os estudos de tolerância de espécies vegetais a concentrações de petróleo (óleo cru) no solo apresentavam limites dependendo da espécie em 3% e 5% (MERKL *et al.*, 2004b), 6% (TAVARES *et al.*, 2005). Por isso foi feita uma escala de concentrações de petróleo para avaliação da tolerância das espécies vegetais utilizadas iniciando em concentrações de 0,05% até um máximo de 6%.

## **9.2 Condições experimentais utilizadas**

Com o objetivo de verificar a tolerância de diferentes espécies à presença de óleo durante o período de germinação e o início de crescimento de biomassa, sementes foram colocadas para germinar em meio de areia contendo concentrações distintas de óleo cru de petróleo diretamente proveniente de duas plataformas “off-shore” de exploração.

Com o objetivo de avaliar o desempenho das espécies em diferentes ambientes, testes de germinação foram conduzidos em 3 condições experimentais:

### **(1) Germinador de câmara**

Os germinadores consistem de uma câmara de paredes duplas, adequadamente isolada por uma camada de ar ou de material isolante a fim de diminuir variações internas de temperatura, e equipada com um conjunto de bandejas, onde as amostras são colocadas para germinar no escuro ou na luz artificial, com temperatura e umidade controladas (BRASIL, 1992).

### **(2) Sala climatizada ou germinador de sala**

Este tipo de germinador, cujos princípios de construção e funcionamento são semelhantes ao de câmara, difere apenas em suas dimensões, que são suficientemente grandes para permitir a entrada de pessoas. As amostras são colocadas em prateleiras laterais ao longo da passagem central, com luz artificial, temperatura e umidade controlada (BRASIL, 1992).

### **(3) Casa de vegetação**

Refere-se a uma estrutura com paredes, um teto e um piso projetado e usado, principalmente, para o crescimento de plantas em ambiente controlado e protegido. As paredes e o teto são geralmente construídos de material transparente ou translúcido para permitir a passagem de luz solar.

Dificuldades materiais e de infra-estrutura disponível impediram a reprodução na íntegra de todos os experimentos em cada uma das três condições ambientais eleitas em ambos os óleos. A Tabela 7 resume as espécies estudadas, tipos de óleo e concentrações, assim como condições experimentais utilizadas no presente estudo.

**Tabela 7** - Espécies e condições experimentais utilizados nos testes de germinação.

<b>Origem do óleo</b>	<b>Plataforma de Alagoas</b>		<b>Plataforma de Campos</b>
Concentrações do óleo	0%, 0,05%, 0,5%	0%, 0,05%, 0,5%, 2%, 4%, 6%	0%, 0,05%, 0,5%, 2%, 4%, 6%
Espécie vegetal	Germinador	Sala climatizada	Casa de vegetação
<i>B. brizantha (Bb)</i>	X	X	-
<i>H. annuus (Ha)</i>	X	X	-
<i>A. holosenicea (Ah)</i>	-	X	-
<i>R. comunis (Rc)*</i>	-	X	X
<i>G. max (Gm)</i>	-	X	-
<i>T. granulosa (Tg)</i>	-	X	-
<i>L. leucocephala (Ll)</i>	-	-	X

\* foram utilizadas duas cultivares distintas

Por exemplo, dois tipos de óleos crus foram utilizados, ao invés de um, conforme a intenção original de projeto, devido à dificuldade de obtenção de óleo-cru de uma única bacia de exploração para todos os experimentos. Tal fato, no entanto, revelou aspectos interessantes de toxicidade diferenciada dos dois óleos (vide RESULTADOS). O número de espécies testadas em cada ambiente também refletiu a disponibilidade de espaço e de sementes. As conclusões referentes à influência das diferentes condições ambientais são, portanto, limitadas. Entretanto, a comparação do desempenho de cada espécie frente a diferentes concentrações de óleo e entre espécies na mesma condição ambiental, foi possível para seis das sete espécies estudadas em sala climatizada com o mesmo óleo.

### 9.3 Caracterização dos dois tipos de óleo cru utilizados

Dois óleos crus de origens, composições originais e idades distintas foram obtidos, sendo um da bacia de Alagoas (AL) e outro da bacia de Campos (CP). O óleo AL era um óleo envelhecido, extraído e armazenado por tempo desconhecido. O óleo CP, por outro lado, foi extraído a poucos dias antes do seu fornecimento para o experimento em questão. O fator envelhecimento provavelmente alterou a composição do óleo AL, e pode ter sido um dos

fatores que resultou em toxicidades distintas para a mesma espécie quando comparado com o óleo jovem CP, como será observado adiante.

Os dois óleos foram caracterizados em laboratório quanto à densidade, hidrocarbonetos totais de petróleo (TPHs), benzeno, tolueno, etileno, xileno e 1,2,3-trimetilbenzeno e 1,2,5 trimetilbenzeno (BTEXT) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs).

As amostras de petróleo foram diluídas em diclorometano (Tedia grau pesticida) em uma proporção de 1g:1000mL. As amostras foram analisadas inicialmente em um cromatógrafo Agilent 6820 com detector de ionização na chama (CG-DIC), empregando Hélio como fase móvel a 2,0 mL/min, com injeção sem divisão de amostra (“splitless”). A temperatura do injetor foi de 250°C e do detector de 300°C. Foi empregada uma coluna HP5-MS de 30 m de comprimento, 0.32 mm de espessura e 0.25 µm de filme. A temperatura inicial da coluna foi de 40°C, mantida por 6 min, sendo então aquecida a 10°C/min até 300°C.

Para quantificação do benzeno, tolueno, xileno e 1,2,3-trimetilbenzeno foi usada uma mistura padrão de BTEXT da Chemservice (USTWI-1JM) e para os HPA foi usada a mistura padrão da Supelco SS EPA 610.

A identificação dos picos de BTEXT e de HPAs foi realizada em um cromatógrafo Agilent 6890 com detector seletivo de massas Agilent MSD 5973, usando as mesmas condições operacionais do CG-DIC, inclusive a coluna cromatográfica. O espectrômetro de massas foi operado em modo SIM (“single íon monitoring”), com o objetivo de gerar um cromatograma somente com os compostos aromáticos. Os íons característicos de cada composto foram:

Pireno (202); Benzo(a)antraceno (228); Criseno (228); Benzo(a)fluoranteno (252); Benzo(k)fluoranteno (252); Benzo(g,h,i)perileno (276); Dibenzo(a,h)antraceno (278); Antraceno (178); Fenantreno (178); Acenafteno (154); Acenaftileno (152); Fluoranteno (202); Fluoreno (166); Indeno(1,2,3-cd)pireno (276); Naftaleno (128); Benzeno (78); Tolueno(92); Etil benzeno (116); Xilenos (116); Trimetilbenzenos (130).

Para a medição da densidade dos óleos foi utilizado um aerômetro (densímetro).

#### 9.4 Testes em germinador

O óleo AL foi adicionado à areia previamente esterilizada a 120°C (1 atm) durante uma hora. A areia esterilizada úmida foi contaminada nas concentrações de 0% (controle), 0.05% e 0.5% (peso seco).

Caixas do tipo gerbox (11x11x4 cm) foram preenchidas com 150g de areia para as espécies *Brachiaria brizantha* (braquiária) e *Helianthus annuus* (girassol). Antes de utilizadas, as caixas gerbox foram desinfetadas com álcool etílico 10% .

Para cada concentração, foram feitas quatro repetições com cinquenta sementes em cada, resultando em doze unidades experimentais para *Brachiaria brizantha*. Devido ao maior tamanho das sementes, para *Helianthus annuus* oito repetições com vinte e cinco sementes em cada e vinte e quatro unidades experimentais foram montadas.

Antes do plantio todas as sementes foram desinfetadas com solução de hipoclorito 5% por quinze minutos e enxaguadas várias vezes com água esterilizada.

As instruções do Manual Brasileiro para Análise de Sementes (BRASIL, 1992) foram seguidas de forma que as sementes de *Helianthus annuus* (variedade Embrapa 2000) foram dispostas entre o substrato e colocadas no germinador de 20-30°C e *Brachiaria brizantha* (variedade Marangatu) sobre o substrato no germinador de 30°C, luz artificial branca (fotoperíodo 12h), umidade relativa 90 a 95%.

Por três semanas consecutivas foram contados o número de plântulas completas e sementes mortas. As sementes com fungo foram contadas e retiradas do gerbox.

As plântulas contadas foram retiradas do substrato, lavadas e separadas a parte área da raiz. O material foi seco em estufa a 40°C por 24 horas e em seguida pesado para determinação da biomassa seca aérea e radicular para cada tratamento.

#### 9.5 Testes na casa de vegetação

O experimento foi conduzido no campo experimental da PESAGRO-RIO, Estação experimental de Itaguaí-RJ sob as condições agroclimáticas de Seropédica-RJ, de 09/03/2006, data de implantação a 29/03/2006.

Óleo CP foi adicionado à areia fina (0,20-0,05 mm) previamente esterilizada a 120°C (1 atm) durante uma hora. A areia esterilizada úmida foi misturada nas concentrações de 0% (controle), 0.05%; 0.5%; 2%; 4% e 6% (peso seco).



Foi utilizado o sistema de bandejas multicelulares para produção de mudas de *Ricinus comunnis* (variedade IAC-80) (128 células, 31,2g de substrato/ célula) e de *Leucaena leucocephala* (200 células, 20g de substrato/ célula). As bandejas foram preenchidas com um total de 4000g de areia contaminada e controle (0%).

Antes do plantio as sementes foram desinfetadas com solução de hipoclorito 5% por quinze minutos e enxaguadas com água esterilizada.

As bandejas foram colocadas em casa de vegetação coberta com plástico transparente e sombrite 50% nas laterais e a irrigação foi realizada de forma a manter as condições necessárias de umidade para a germinação.

Por três semanas consecutivas foram contados o número de plântulas completas e sementes mortas. As sementes com fungos foram contadas e retiradas das bandejas.

As plântulas foram retiradas do substrato, lavadas e a parte aérea foi separada da raiz. O material foi seco em estufa a 60°C por 24 horas e em seguida pesado para determinação da biomassa seca aérea e radicular para cada tratamento.

## 9.6 Experimento em sala climatizada

O experimento em sala climatizada (sala de cultivo de tecidos vegetais *in vitro*) foi o mais completo, tanto em termos de espécies estudadas quando em concentrações de óleo. O óleo AL (também utilizado em casa de vegetação) foi adicionado à areia fina (0,20-0,05 mm) previamente esterilizada a 120°C (1 atm) durante uma hora. A areia esterilizada úmida foi misturada nas concentrações de 0% (controle), 0.05%; 0.5%; 2%; 4% e 6% (peso seco).

Caixas plásticas transparentes (19 x 11 x 5,5 cm) foram preenchidas com 400g de areia e usadas para *Brachiaria brizantha* (variedade Marangatu), *Acacia holosericea*, *Tibouchina granulosa*, *Glicine max* (variedade M-Soy 5826) e *Leucaena leucocephala*.

Caixas plásticas transparentes grandes (16 x 25 x 6,5 cm) foram preenchidas com 1000g de areia e usadas para *Helianthus annuus* (variedade Embrapa 2000) e *Ricinus communis* (variedade Guarani). Antes de usadas às caixas foram desinfetadas em solução de hipoclorito 10%.

Foram feitas quatro repetições com cinquenta sementes em cada, resultando em vinte e quatro unidades experimentais para cada espécie testada, com exceção da *Ricinus communis* onde devido ao maior tamanho das sementes e o tamanho da caixa utilizada, foram necessárias oito repetições com vinte e cinco sementes em cada e quarenta e oito unidades experimentais.

Para aumentar a taxa de germinação, as sementes de *Ricinus communis*, *Brachiaria brizantha*, *Acacia holosericea* foram escarificadas. Foram montados controles (0%) com sementes sem escarificação.

A escarificação da *Ricinus comunnis* foi feita por imersão em água quente (80°C) por um minuto seguido por imersão em água fria (aproximadamente 10°C) por um minuto. O procedimento foi repetido três vezes.

Para escarificação da *Brachiaria brizantha* 5 ml de solução KNO<sub>3</sub> a 0,2% foi adicionado em cada caixa.

Para a *Acacia holosericea* a escarificação foi feita por imersão em água quente (80°C) por dois minutos.

Antes do plantio todas as sementes foram desinfetadas com solução de hipoclorito 5% por quinze minutos e enxaguadas com água esterilizada.

As instruções do Manual Brasileiro para Análise de Sementes (BRASIL, 1992) foram seguidas de forma que as sementes de *Ricinus communis*, *Glicine max* e *Helianthus annus* foram dispostas entre o substrato e *Brachiaria brizantha*, *Acacia holosericea*, *Tibouchna granulosa* sobre o substrato.

As caixas foram colocadas em sala climatizada com temperatura variando de 24 a 25°C, umidade de 98% e foto-período de 8 a 12h (luz artificial branca e lâmpada especial agrolux).

Por cinco semanas foram contados o número de plântulas completas e sementes mortas. Sementes com fungos foram contadas e retiradas das caixas.

As plântulas contadas foram retiradas do substrato, lavadas e separadas a parte área da raiz. O material foi seco em estufa a 60°C por 24 horas e em seguida pesado para determinação da biomassa seca aérea e radicular para cada tratamento.

Sementes mortas (que não germinaram) e sementes com fungo foram contadas e retiradas das caixas.

### **9.7 Análise de germinação precoce, tardia e total**

Devido à ausência de um protocolo experimental para estes testes as análises foram baseadas no Manual Brasileiro para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). As variáveis analisadas (germinação, biomassa aérea e radicular) foram avaliadas em dois períodos conforme recomendado pelo manual.

Neste estudo utilizou-se o termo precoce para as sementes que germinaram no início do período germinativo e tardio para as sementes que germinaram tardiamente, próximo à finalização do período germinativo.

Foram analisadas as taxas de germinação total e separadamente a germinação precoce e germinação tardia. Tal análise em separado decorreu da observação de que o óleo em algumas espécies e em concentrações específicas antecipa ou adia a germinação quando comparados ao controle. Por esse motivo, as taxas de germinação foram computadas separadamente e de forma agregada, e as análises estatísticas foram também conduzidas para as três categorias.

## 9.8 Análises estatísticas

Para as análises estatísticas, foram utilizados os softwares Analyse-it (Version 1.71, Analyse-it Software Ltd, 1997-2000) e Minitab (Release 12.23, Minitab Inc., 1999).

Teste de normalidade Anderson-Darling foi aplicado às sete variáveis estudadas (germinação precoce, germinação tardia, germinação total, produção de biomassa radicular e aérea em plântulas de germinação precoce, produção de biomassa radicular e aéreas em plântulas com germinação tardia) para cada uma das sete espécies estudadas (*B. brizantha*, *H. annuus*, *A. holosenicea*, *R. communis*, *G. max*, *T. granulosa*, *L. leucocephala*), em seis diferentes tratamentos (0%, 0,05%, 0,5%, 2%, 4% e 6%) e três condições experimentais (Germinador GE; Casa de Vegetação CV; Sala Climatizada SC).

Tendo em vista que um grande número de variáveis não seguiu distribuição normal e, tendo em vista que as formas mais comuns de transformação dos dados não resultaram em distribuição normal, optou-se num primeiro momento, por procedimentos não-paramétricos para comparação entre tratamentos (diferentes concentrações de óleo) e respectivos controles para cada variável, espécie estudada e condição experimental. Utilizou-se  $\alpha = 0,05$  para todas as análises.

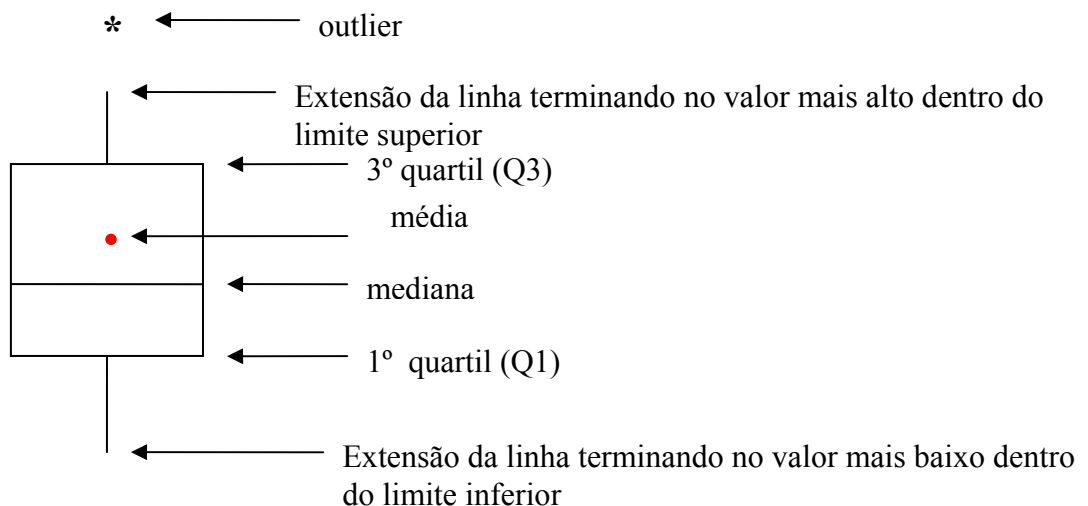
Kruskal-Wallis testa a hipótese de igualdade entre medianas (one-way) para duas ou mais populações. Tal teste oferece uma alternativa não-paramétrica à análise de variância ANOVA-one-way. O teste Kruskal-Wallis busca diferenças entre as medianas das populações. Tal teste é mais poderoso (intervalos de confiança mais estreitos, em geral) do que o teste de mediana de Mood para analisar dados de diferentes distribuições, inclusive normal, mas é menos robusto contra outliers.

O menor valor absoluto de  $z$  obtido pelo Mruskal-Wallis, indica que o rank médio para o tratamento respectivo (conc. de óleo) difere menos do rank médio para todas as observações;  $z$  negativo significa que o rank médio do respectivo tratamento é inferior ao rank médio para todas as observações. Um  $z$  positivo alto indica que o rank médio para o respectivo tratamento é mais alto que o rank médio para todas as observações. Assumindo  $\alpha = 0.05$ ,  $p$  inferior a esse valor significa que a Hipótese 0 ( $H_0$ : medianas iguais) é rejeitada, em favor da hipótese alternativa ( $H_1$ : existe pelo menos uma diferença significativa entre os grupos de tratamentos). Uma vez que o teste Kruskal-Wallis não permite verificar qual diferença entre os diferentes tratamentos (concentrações do óleo) é significativa, foi necessário recorrer ao teste não paramétrico de comparação de dois grupos Mann-Whitney, para testar significância para aqueles tratamentos onde a Hipótese 0 ( $H_0$ ) foi rejeitada, com o objetivo de verificar qual tratamento está diferindo significativamente do controle.

A representação gráfica escolhida foi boxplot. Um boxplot consiste de uma caixa, linhas e outliers. Outliers são valores extremos abaixo ou acima dos limites mínimo e máximo respectivamente e são representados por asterisco (\*). A média é representada por um ponto vermelho.

Limite inferior:  $Q1 - 1.5 (Q3-Q1)$

Limite superior:  $Q3 + 1.5 (Q3-Q1)$



## 10. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 10.1 Caracterização dos óleos crus utilizados

As tabelas 8, 9 e figuras 4 e 5 apresentam a caracterização dos óleos crus utilizados.

**Tabela 8.** Densidade relativa dos óleos.

Óleo	Densidade relativa (g/ ml)	<sup>0</sup> API*	Composição
AL	<b>0,824</b>	<b>40,2<sup>0</sup></b>	<b>Leve</b>
CP	<b>0,892</b>	<b>27,1<sup>0</sup></b>	<b>Pesado</b>

\* <sup>0</sup>API = (141,5/gravidade específica) – 131,5

**Tabela 9.** BTEXT e HPAs das amostras de petróleo: CG-DIC realizadas no Agilent 6820 da UERJ; CG-DSM realizadas no Agilent 6890 da Peugeot.

Hidrocarbonetos	Bacia de Campos CP			Bacia de Alagoas AL			
	Sinal		Teor	Sinal		Teor	
	DSM	DIC	mg/L	DSM	DIC	mg/L	
BTEXT	Benzeno	1996972	51,3	4129	3914507	100,6	7387
	Tolueno	1417113	34,66	2790	3061134	74,86	5497
	Etil benzeno	530356	12,97	964	546357	13,36	987
	m+p-xileno	2034298	52,22	1879	3986596	102,33	3208
	o-xileno	815879	21,42	1615	1489533	39,11	2590
	1,2,3-trimetilbenzeno	640887	14,78	966	1492068	34,40	2047
	1,3,5-trimetilbenzeno	2495827	65,60	3642	2894537	76,08	4213
PAHs	Naftaleno	1576790	19,31	754	1357503	16,62	622
	Acenaftileno	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	Acenafteno	304897	3,48	329	646519	7,37	504
	Fluoreno	280879	26,58	125	412900	39,08	237
	Antraceno	1072457	58,21	1065	850818	46,18	852
	Fenatreno	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	Fluoranteno	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	Pireno	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	Benzo(a)antraceno	403320	35,94	96	< LD	< LD	< LD
	Criseno	402330	22,18	71	< LD	< LD	< LD
	Benzo(b)fluoranteno	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	Benzo(k)fluoranteno	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	Benzo(a)pireno	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	Dibenzo(a,h)antraceno	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	Benzo(g,h,i)perileno	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	<b>BTEXT totais</b>			<b>15.985</b>			<b>25.929</b>
<b>HPAs totais</b>			<b>2.440</b>			<b>2.215</b>	

< LD = abaixo do limite de detecção

Segundo a CETESB (2006) a persistência do óleo no ambiente depende da sua gravidade específica que é a sua densidade em relação à água pura.

As figuras 4 e 5 a seguir mostram os cromatogramas dos óleos AL e CP. Observou-se que a fração inorgânica no óleo CP é maior que no óleo AL, isto pode ser verificado na elevação que ocorre na linha base da Figura 5 que é típica de compostos inorgânicos.

Segundo Thomas (2004) a fração inorgânica do petróleo é constituída por:

- Compostos sulfurados: o enxofre é o terceiro elemento mais abundante no petróleo, e sua concentração média é de 0,65% em peso, com uma faixa apresentando valores entre 0,02 e 4,00%;
- Compostos nitrogenados: os petróleos contêm em média 0,17% em peso de nitrogênio, com maior concentração nas frações pesadas;
- Compostos oxigenados: aparecem no petróleo sob diferentes formas, tais como ácidos carboxílicos, fenóis, cresóis, ésteres, amidas, cetonas e benzofuranos;
- Resinas e asfaltenos: moléculas grandes com alta relação carbono/hidrogênio e presença de enxofre, oxigênio e nitrogênio (de 6,9 a 7,3%);
- Compostos metálicos: apresentam-se como sais orgânicos dissolvidos na água emulsificada no petróleo e na forma de compostos organometálicos.

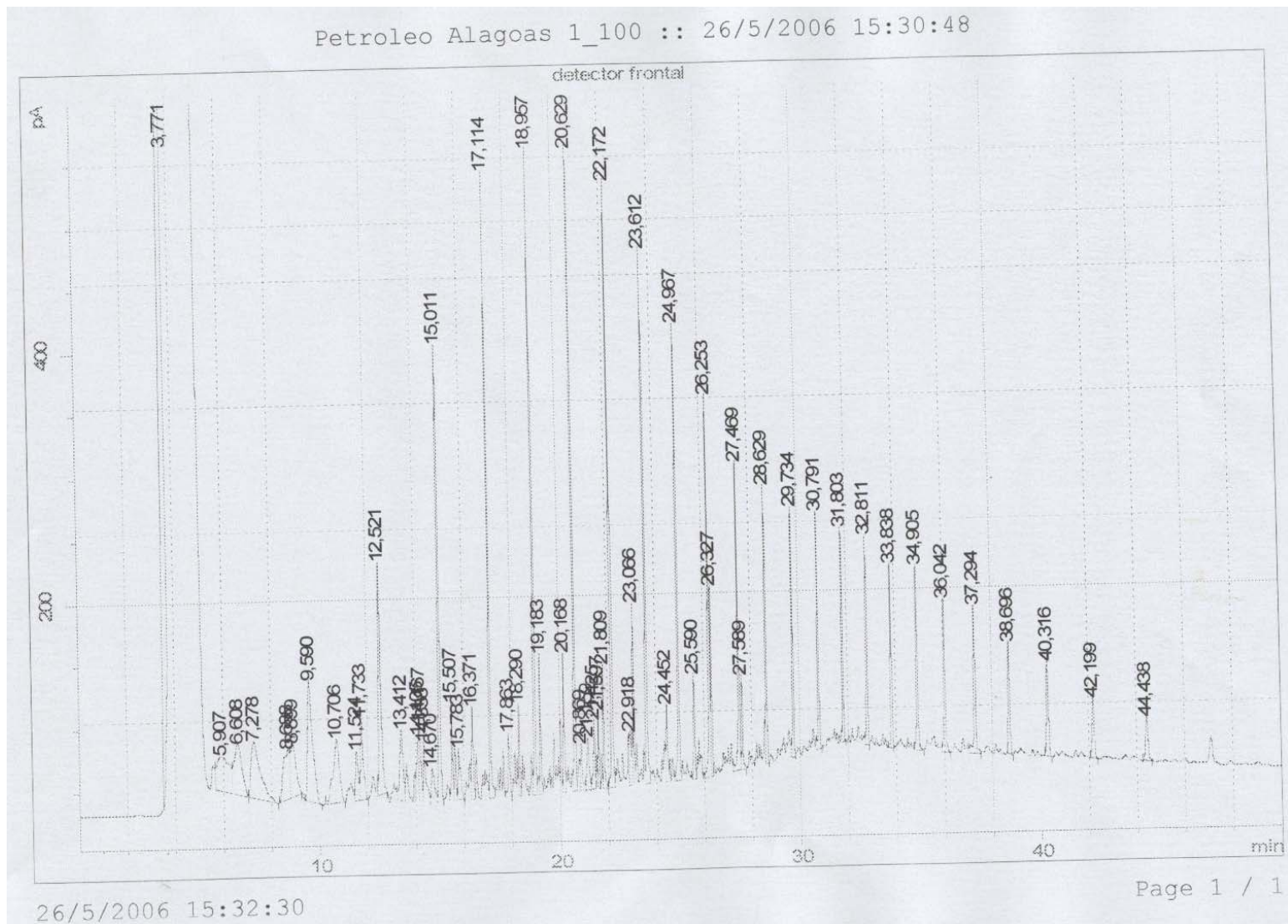
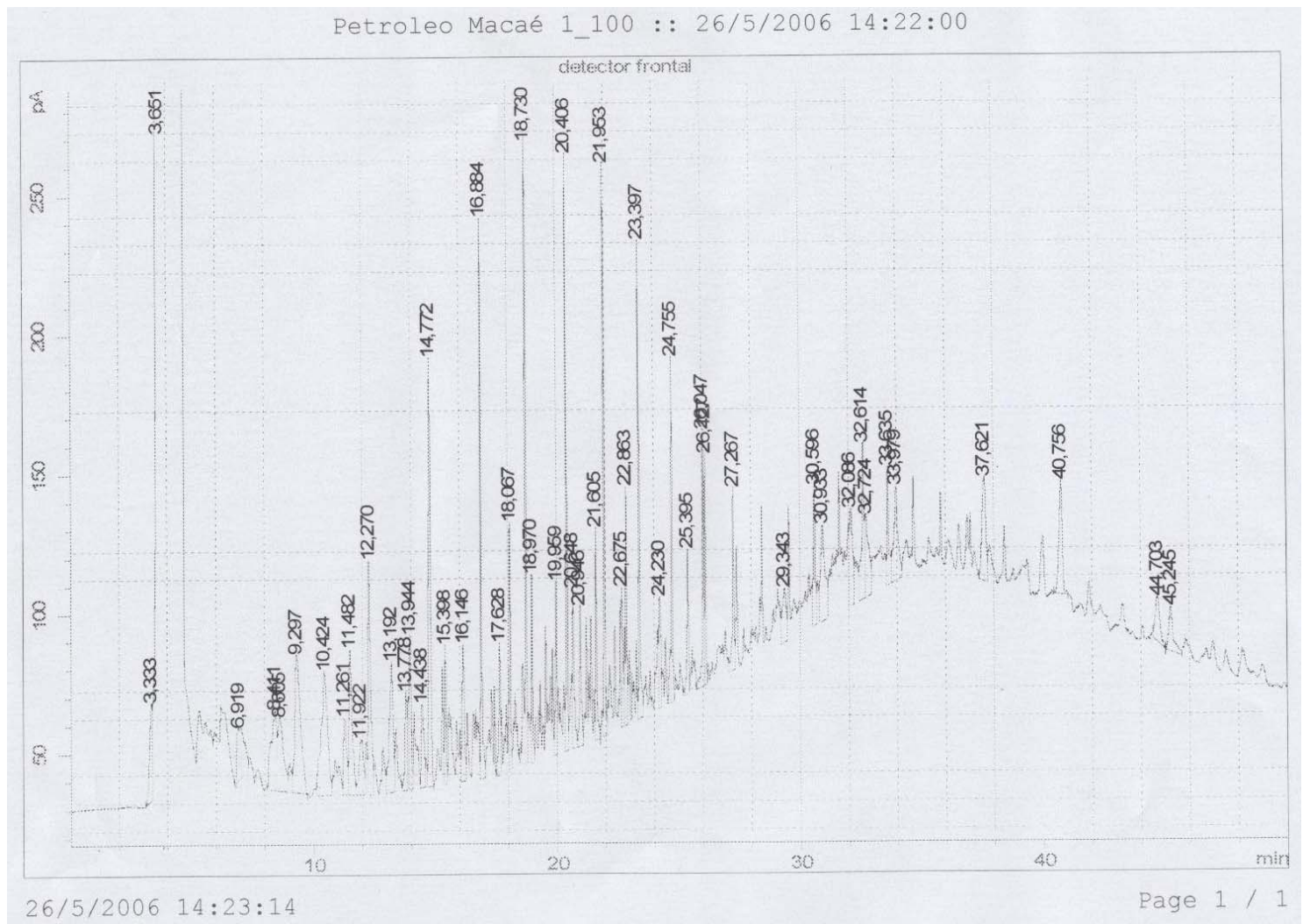


Figura 4. Cromatograma do óleo da bacia de Alagoas (AL)

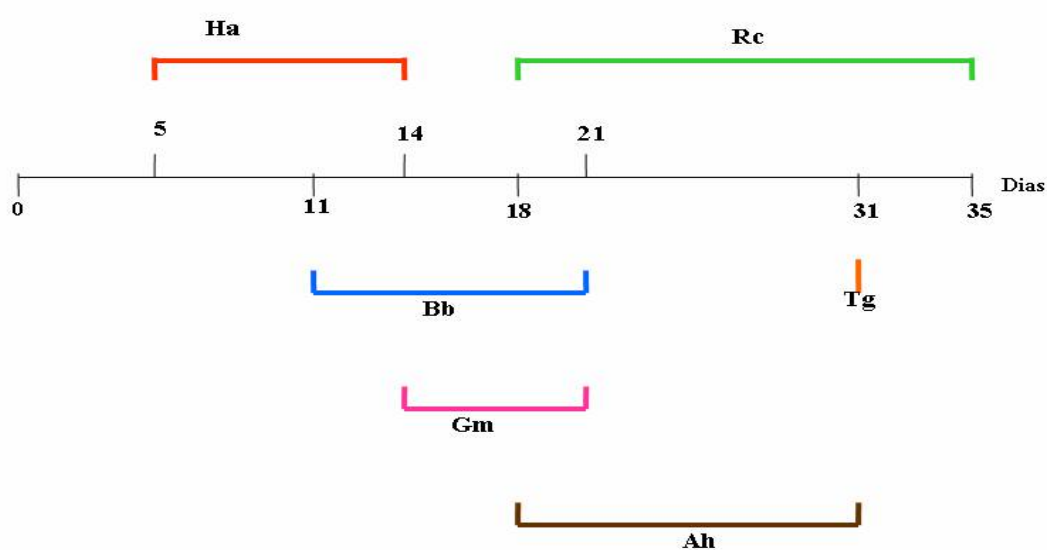


**Figura 5.** Cromatograma do óleo da bacia de Campos (CP)



## 10.2 Padrão de germinação

Observou-se que as espécies vegetais diferem entre si quanto à dispersão do período de germinação. Em termos gerais, o girassol foi a espécie com germinação mais precoce e as espécies arbustivas (mamona, quaresmeira e acácia) foram as que apresentaram germinação mais tardia (Figura 6). A mamona foi a espécie com maior dispersão do período germinativo



**Figura 6.** Padrão de dispersão do período germinativo (início e fim) por espécie estudada. **Ha** (*Helianthus annuus*), **Rc** (*Ricinus communis*), **Bb** (*Brachiaria brizantha*); **Tg** (*Tibuchina granulosa*), **Gm** (*Glycine max*); **Ah** (*Acacia holocericea*).

Robson *et al.* (2004) relataram a correlação positiva entre tamanho de sementes (1,0 a 9,9 mg), germinação mais lenta e tolerância ao contaminante. Os autores associam tal correlação ao fato de que as sementes grandes produzem plântulas maiores, capazes de absorver mais água e nutrientes e que conseqüentemente possuem germinação e crescimento mais lentos. Por armazenarem maior quantidade de nutrientes há disponibilidade dos mesmos por um período maior de tempo durante o desenvolvimento da planta (FENNER & KITAJIMA 1999).

Entretanto, no presente estudo, as espécies de germinação tardia (mamona, acácia e quaresmeira) apresentam sementes de tamanhos bem variados (valores médios de 200mg; 20mg e 0,3mg respectivamente). O tamanho das sementes tampouco pode ser associado à tolerância da espécie ao meio contaminado, pois a soja (100mg) obteve desempenho superior à mamona

(200mg) e as espécies mais tolerantes (acácia e soja) apresentam padrões de germinação distintos.

A seguir, são apresentados os resultados das análises estatísticas para as três condições experimentais (Ge, CV, SC). O Anexo IV apresenta os resultados do teste Kruskal-Wallis e destaca aquelas variáveis para as quais a  $H_0$  foi rejeitada. O Anexo V apresenta os valores de  $p$  do Kruskal-Wallis para a variável independentemente do tratamento (conc.), sempre que tal valor foi  $\geq 0,05$  e os valores de  $p$  do Mann-Whitney para cada tratamento, sempre que o  $p$  do Kruskal-Wallis foi  $< 0,05$ .

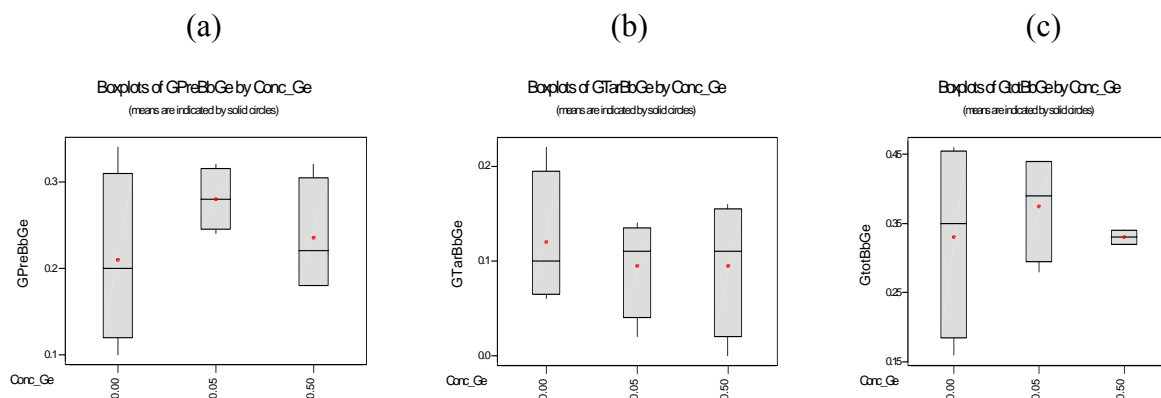
### 10.3 Experimento realizado em germinador (Ge)

Somente duas concentrações (0,05% e 0,5%) de óleo ba bacia de (AL) e duas espécies (Bb e Ha) foram testadas no germinador (Ge).

#### 10.3.1. *Brachiaria brizantha*

##### 10.3.1.1 Taxa de germinação

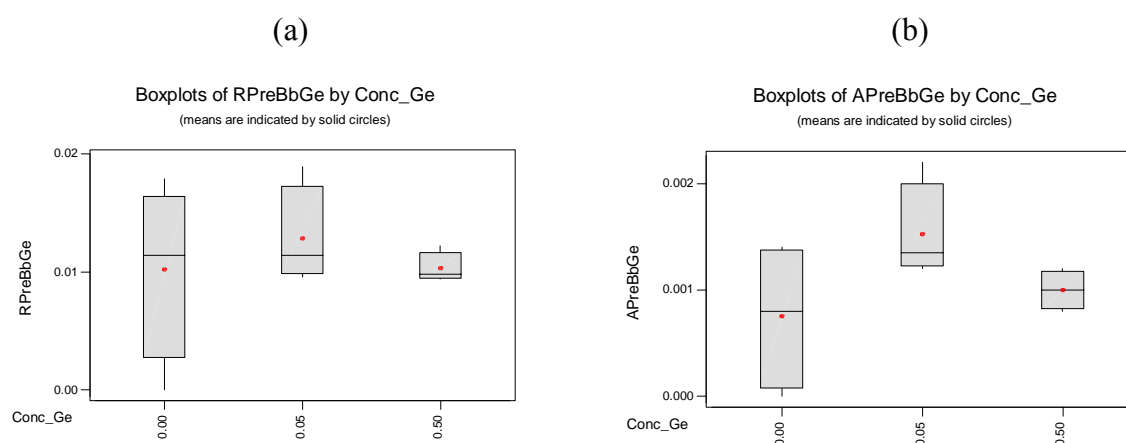
A taxa de germinação total no controle (33%) foi baixa, provavelmente, devido ao fato que não foi realizada escarificação das sementes nesse primeiro experimento. Tal problema foi solucionado nas condições experimentais seguintes (CV e SC). Não houve diferença significativa nas taxas de germinação precoce, tardia ou total na presença de óleo AL (Alagoas) nas concentrações testadas (0,05; 0,5%) comparadas ao controle, nem diferença significativa quando a germinação foi separada em precoce e tardia.



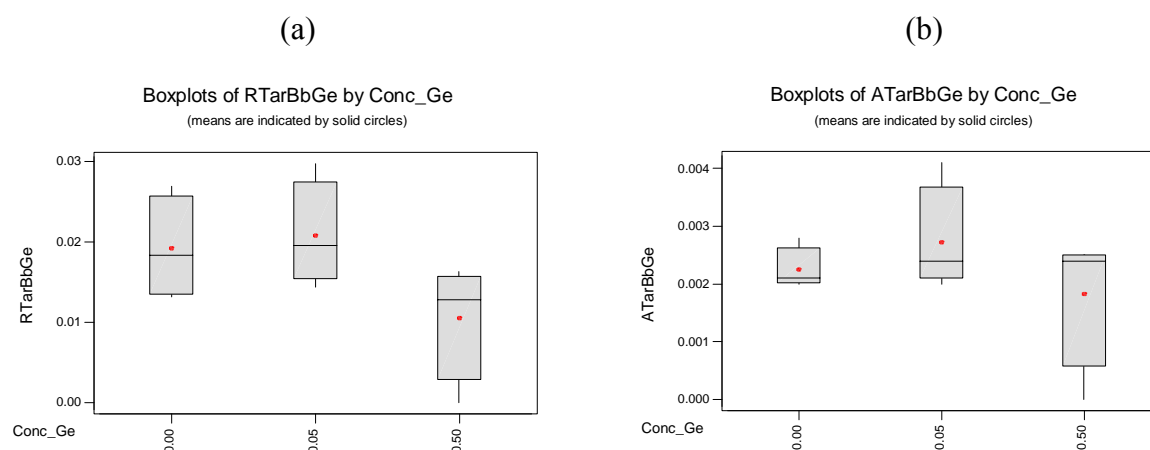
**Figura 7.** Taxa de germinação (a) precoce, (b) tardia e (c) total de *Brachiaria brizantha* em germinador, frente a diferentes concentrações de óleo cru.

### 10.3.1.2 Produção de biomassa

Não houve diferença significativa na biomassa radicular nem aérea de plântulas de braquiária tanto com germinação precoce quanto tardia. A produção de biomassa não foi, portanto, afetada pela presença do óleo AL nessas concentrações de 0,05 e 0,5% em germinador (Figuras 8 e 9).



**Figura 8.** Produção de biomassa radicular e aérea de *Brachiaria brizantha* em germinador; plântulas com germinação precoce.



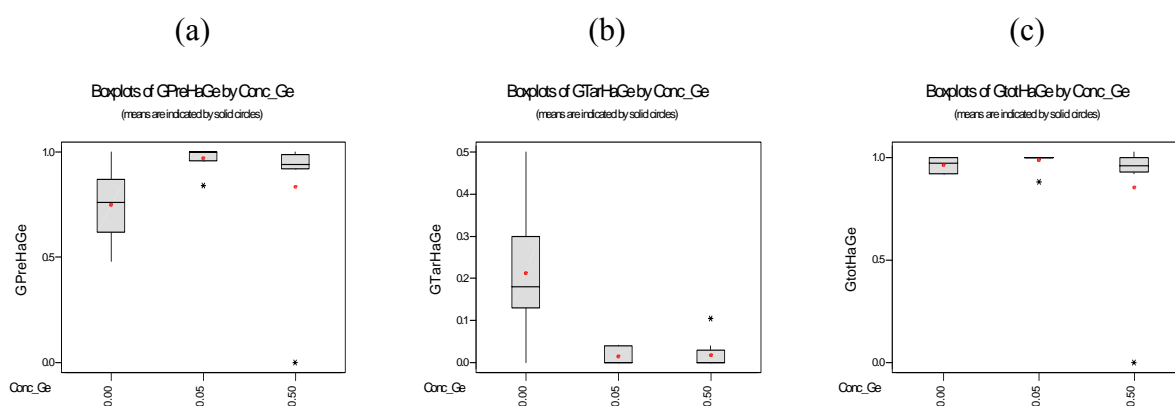
**Figura 9.** Produção de biomassa radicular e aérea de *Brachiaria brizantha* em germinador; plântulas com germinação tardia.

### 10.3.2. *Helianthus annuus*

#### 10.3.2.1 Taxa de germinação

A taxa de germinação total do controle foi alta (98%) no germinador (Figura 10).

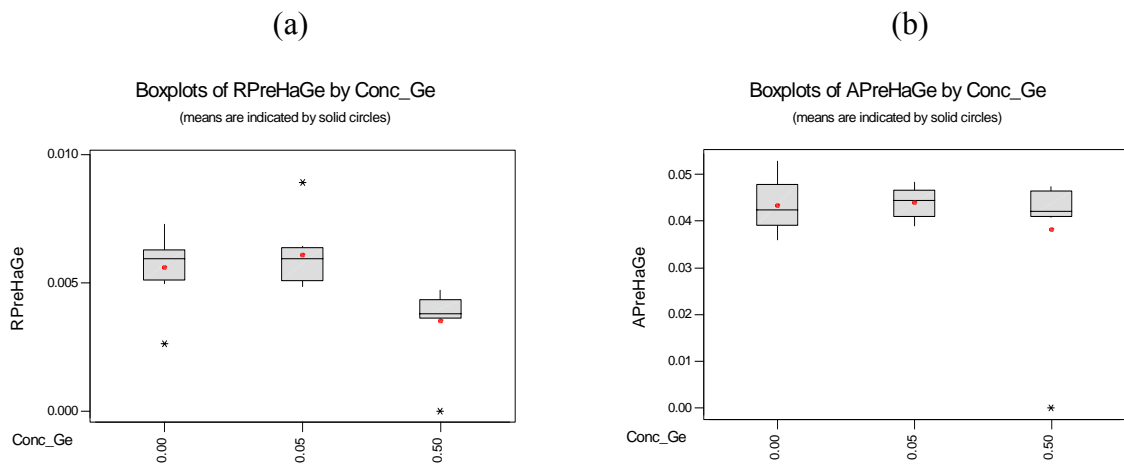
Houve um acréscimo significativo na taxa de germinação precoce na concentração de 0,05% e um decréscimo significativo na taxa de germinação tardia nas concentrações de 0,05% e 0,5%. Nas concentrações testadas, a germinação ocorre quase que exclusivamente no período precoce, fenômeno também observado no experimento em sala climatizada descrito posteriormente (figuras 10 e 25). A taxa de germinação total não foi significativamente afetada em nenhuma das concentrações de óleo testadas.



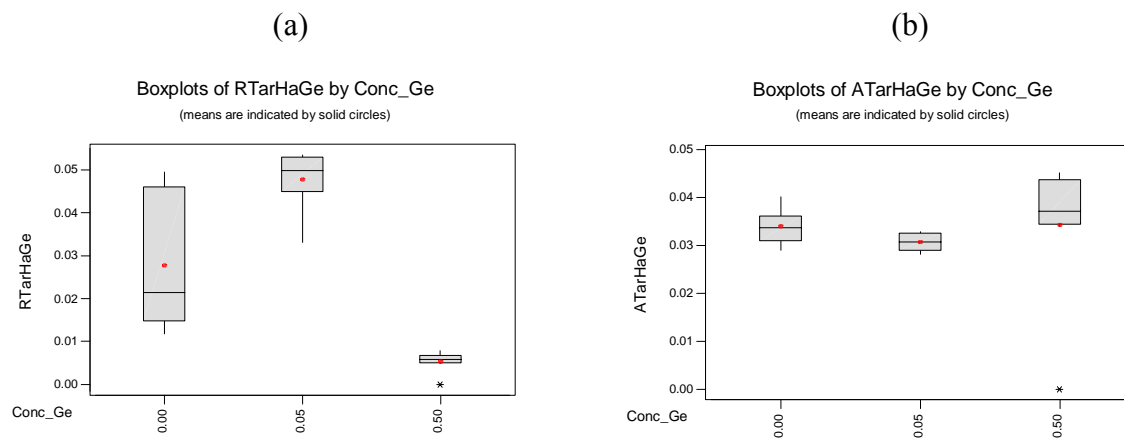
**Figura 10.** Taxa de germinação precoce, tardia e total de *Helianthus annuus* em germinador, frente a diferentes concentrações de óleo cru (linhas verticais:  $\pm$  erro padrão).

#### 10.3.2.2 Produção de biomassa

Na concentração de 0,05%, a biomassa radicular de plântulas de germinação tardia foi significativamente aumentada. Na concentração de 0,5%, houve um decréscimo significativo na biomassa radicular tanto de plântulas de germinação precoce quanto tardia (Figuras 11a e 12a). Na concentração de 0,05%, a biomassa aérea de plântulas de germinação precoce foi também significativamente reduzida (Figuras 12).



**Figura 11.** Produção de biomassa radicular e aérea de *Helianthus annuus* em germinador; plântulas de germinação precoce.



**Figura 12.** Produção de biomassa radicular e aérea de *Helianthus annuus* em germinador; plântulas de germinação tardia.

## 10.4 Experimentos realizados em casa de vegetação (CV)

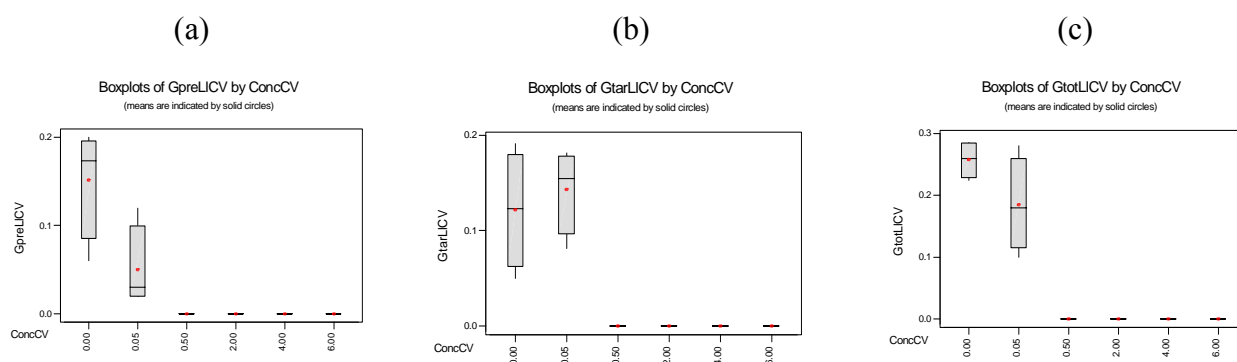
A casa de vegetação (CV) foi à única condição experimental onde o óleo CP, recém-extraído da bacia de Campos foi testado, nas concentrações de 0,05; 0,5; 2; 4 e 6%. Em tais condições experimentais, as únicas duas espécies testadas apresentaram baixa tolerância à presença do óleo, conforme descrito a seguir.

### 10.4.1 *Leucaena leucocephala*

#### 10.4.1.1 Taxa de germinação

A taxa de germinação da leucena em casa de vegetação foi baixa (26%) no controle, o que é esperado por tratar-se de uma espécie florestal.

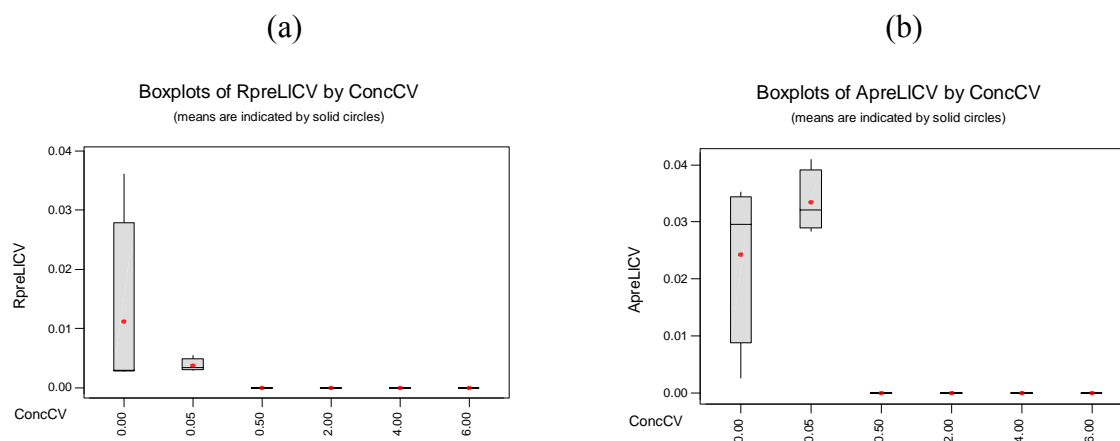
A germinação na presença de óleo CP foi totalmente inibida a partir da concentração de 0,5% inclusive (Figura 13). Na concentração mais baixa testada (0,05%) o óleo afetou significativamente somente a germinação precoce.



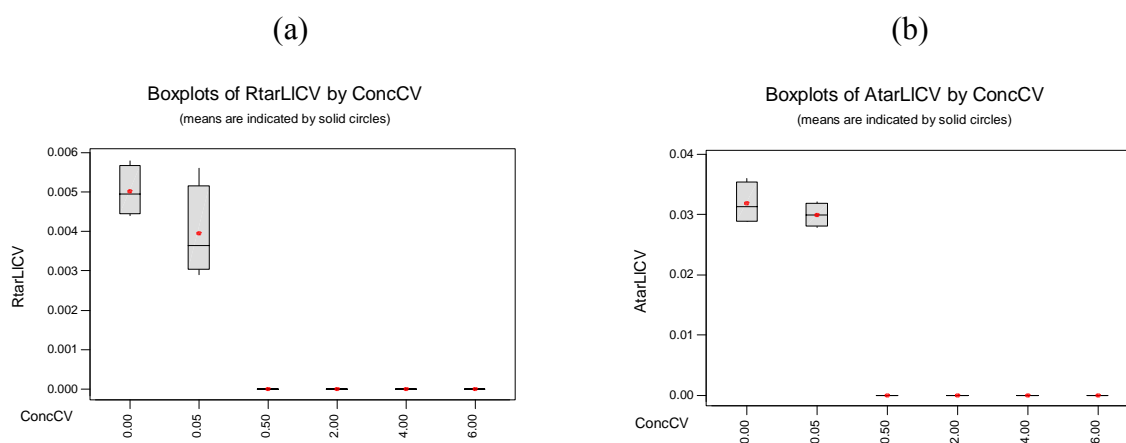
**Figura 13.** Taxa de germinação precoce, tardia e total de *Leucaena leucocephala* em casa de vegetação, frente a diferentes concentrações de óleo cru (linhas verticais:  $\pm$  erro padrão).

### 10.4.1.2 Produção de biomassa

Houve diferença significativa na biomassa radicular tardia e aérea de plântulas, tanto precoces quanto tardias, nas concentrações a partir de 0,5% inclusive, quando comparadas ao controle. O óleo não afetou a produção de biomassa radicular em plântulas de germinação precoce (Figuras 14 e 15).



**Figura 14.** Produção de biomassa radicular e aérea, plântulas *Leucaena leucocephala* em casa de vegetação; plântulas germinação precoce.

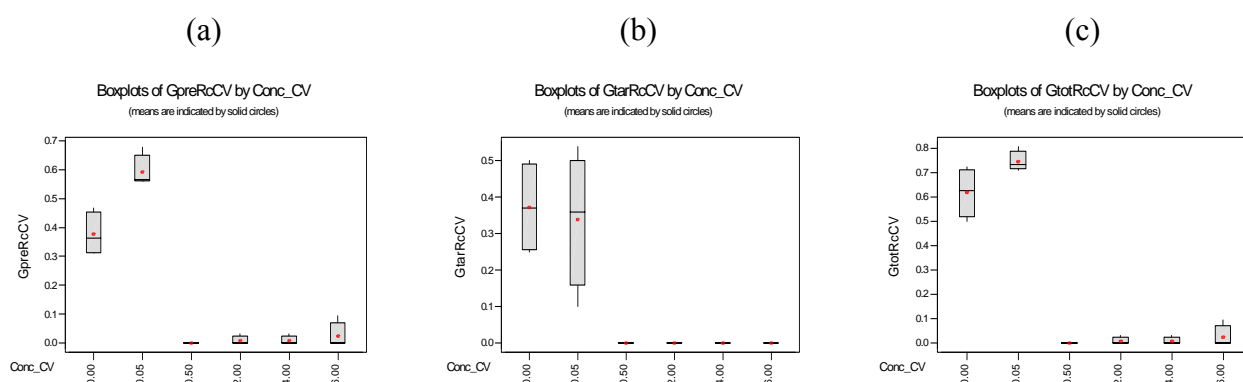


**Figura 15.** Produção de biomassa radicular e aérea de *Leucaena leucocephala* em casa de vegetação; plântulas de germinação tardia.

## 10.4.2 *Ricinus comunnis*

### 10.4.2.1 Taxa de germinação

A taxa de germinação total da mamona em casa de vegetação no controle foi de aproximadamente 62%. Tal taxa é considerada alta, em se tratando de espécie com pouco ou sem melhoramento. O óleo promoveu um acréscimo significativo na taxa de germinação precoce e total na concentração de 0,05% e decréscimo significativo nas concentrações de 0,5% a 6% (Figura 16).



**Figura 16.** Taxa de germinação (a) precoce, (b) tardia e (c) total de *Ricinus comunnis* em casa de vegetação, frente a diferentes concentrações de óleo cru.

Um aumento da germinação de várias espécies (gramíneas e oleaginosas) nos primeiros dias na presença do benzo(a)pireno foi observada por Henner *et al.* (1999). Efeito similar ao descrito no presente experimento, foi mostrado por Borneff *et al.* (1968) e por Edwards (1983), que sugerem que tal composto assim como os produtos de sua degradação atua como estimuladores de crescimento nestas espécies. Tais autores não analisaram separadamente germinação precoce e tardia.

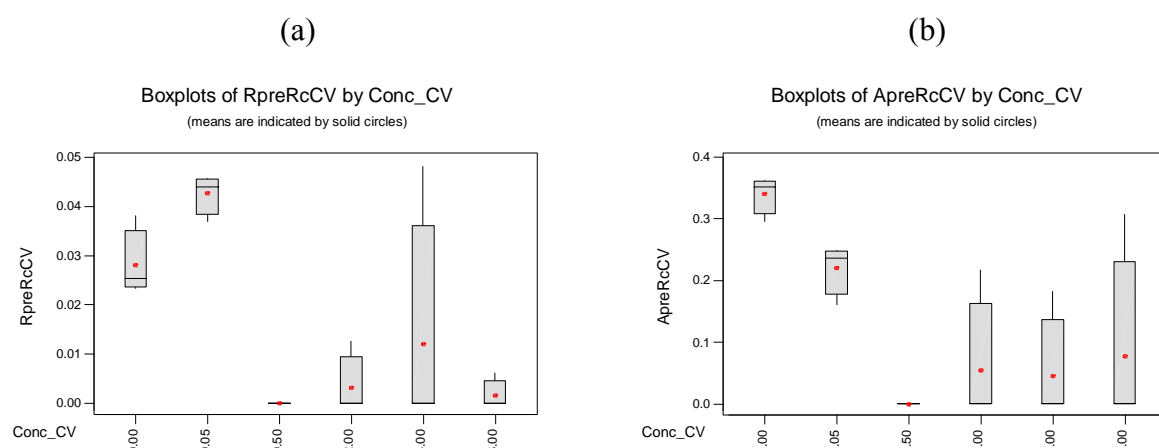
No entanto, em concentrações a partir de 0,5% inclusive, houve um decréscimo significativo e acentuado nas taxas de germinação precoce, tardia e total, semelhantemente ao observado para a leucena nas mesmas condições experimentais (Figura 13).

Os resultados sugerem que a espécie, é favorecida em termos de germinação nas concentrações bem baixas do óleo, mas sofre efeitos tóxicos acentuados em concentrações superiores (Figura 16).

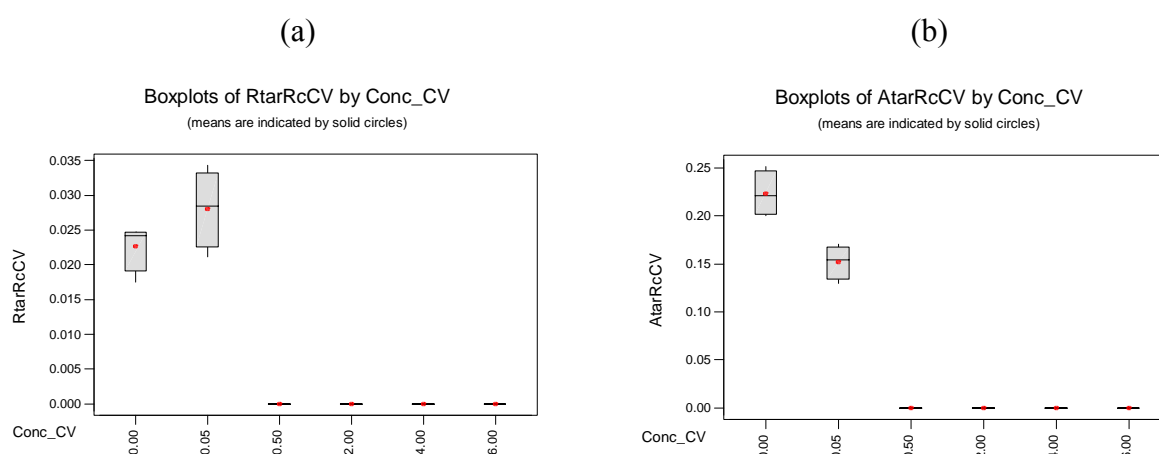


### 10.4.2.2 Produção de biomassa

Houve redução significativa na biomassa radicular e aérea de plântulas tanto precoces quanto tardias nas concentrações a partir de 0,5% inclusive, quando comparadas ao controle, (Figuras 17 e 18), semelhantemente ao resultado obtido em sala climatizada (Figura 29). A biomassa da raiz de plântulas de germinação precoce foi aparentemente (mas não significativamente) superior na concentração 0.05% (ver discussão posterior sobre o grupo de plantas oleaginosas testadas). A concentração de 0,05% reduziu a produção de biomassa aérea em plântulas com germinação tardia (Figura 18).



**Figura 17.** Produção de biomassa radicular de *Ricinus comunnis* em casa de vegetação; plântulas de germinação precoce e tardia (linhas verticais:  $\pm$  erro padrão).



**Figura 18.** Produção de biomassa aérea de *Ricinus comunnis* em casa de vegetação; plântulas de germinação precoce e tardia (linhas verticais:  $\pm$  erro padrão).

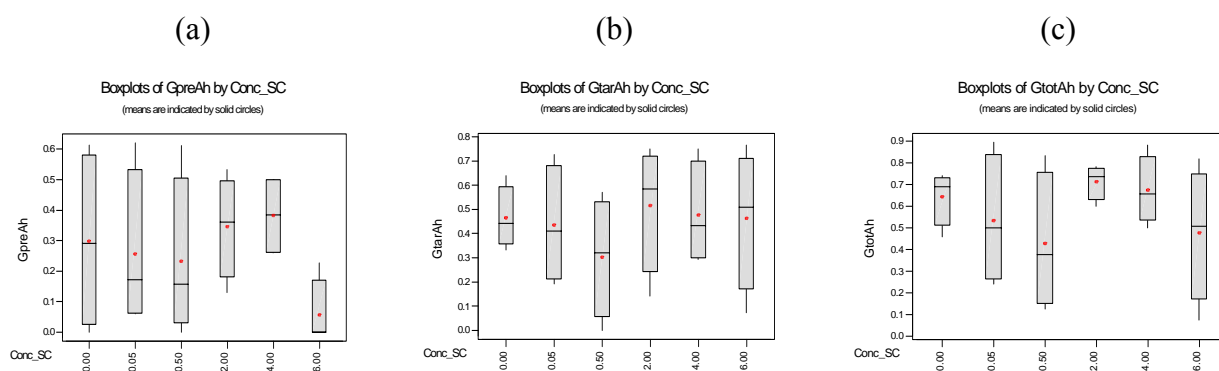
## 10.5 Experimentos realizados em sala climatizada (SC)

O óleo utilizado em sala climatizada foi AL nas concentrações de 0,05; 0,5%; 2%; 4% e 6% nos testes com seis espécies.

### 10.5.1 *Acacia holosericea*

#### 10.5.1.1 Germinação

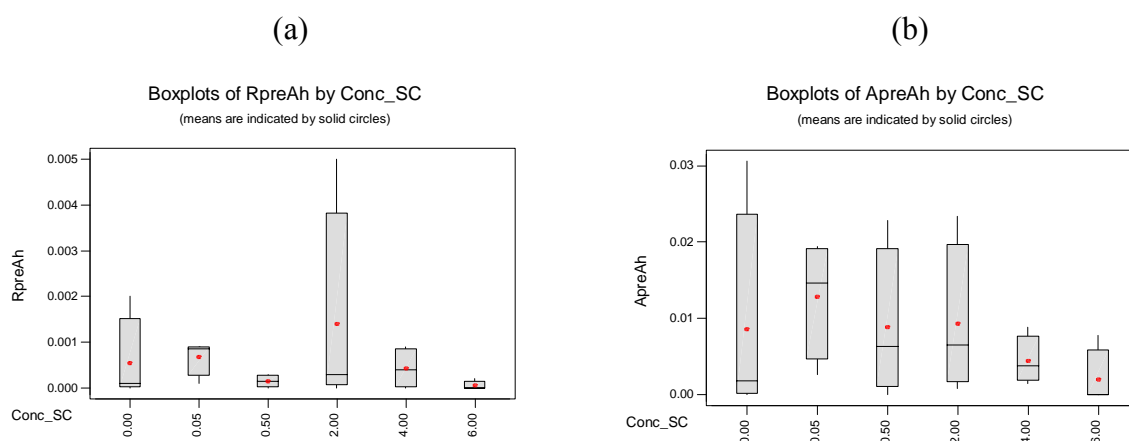
O controle apresentou germinação total relativamente alta (64%), considerando-se que a acácia é espécie florestal onde uma taxa de germinação baixa e não uniforme é esperada devido à diversidade genética existente. Não houve diferença significativa nas taxas de germinação total, precoce ou tardia nas diversas concentrações comparadas ao controle. Observou-se, entretanto, uma redução aparente (sem significância estatística) da germinação precoce a 6%, aparentemente compensada na germinação tardia (Figura 19). Udo & Fayemi (1975) verificaram que uma das respostas de plantas cultivadas em solos contaminados é o atraso na germinação.



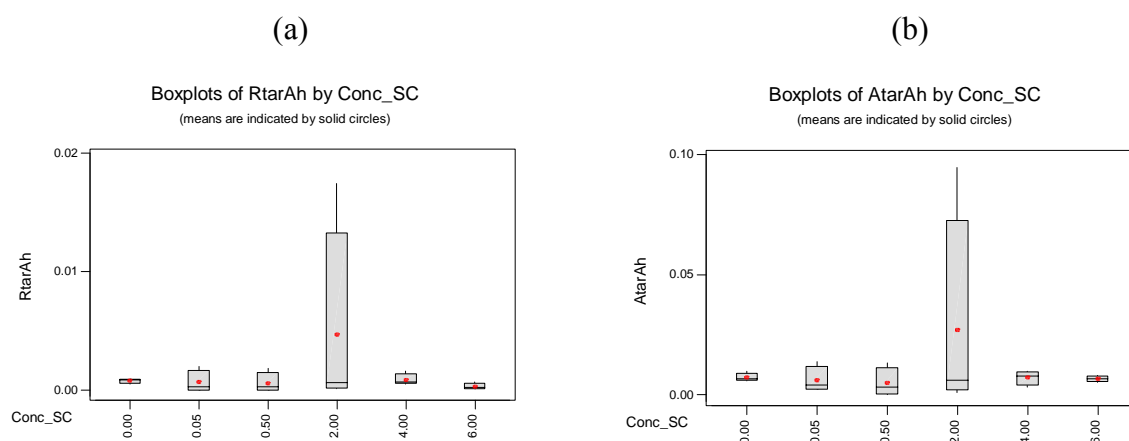
**Figura 19.** Taxa de germinação (a) precoce, (b) tardia e (c) total da *Acacia holosericea* em sala climatizada, frente a diferentes concentrações de óleo-cru.

### 10.5.1.2 Produção de biomassa

Com relação à produção de biomassa radicular e aérea tanto em plântulas de germinação precoce quanto tardia não houve diferenças significativas em nenhuma das concentrações de óleo, quando comparadas ao controle (Figuras 20 e 21).



**Figura 20.** Produção de biomassa radicular e aérea de *Acacia holosericea* em sala climatizada; plântulas de germinação precoce (linhas verticais:  $\pm$  erro padrão).



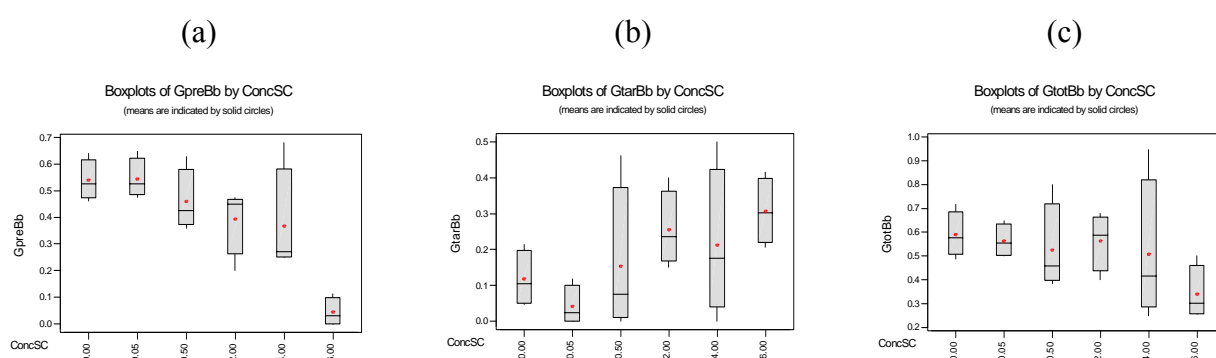
**Figura 21.** Produção de biomassa radicular e aérea de *Acacia holosericea* em sala climatizada; plântulas de germinação tardia (linhas verticais:  $\pm$  erro padrão).

## 10.5.2 *Brachiaria brizantha*

### 10.5.2.1 Taxa de germinação

O processo de escarificação utilizado nas sementes de braquiária nos testes em sala climatizada, conforme esperado, resultou em aumento significativo da taxa de germinação: aproximadamente 60% em sementes escarificadas contra 39% obtido em sementes não escarificadas (não apresentados no gráfico). Cabe lembrar que no germinador, a braquiária sem escarificação apresentou taxa de germinação total de 33% no controle. Como esta espécie se encontra em processo de melhoramento genético, tal taxa está dentro dos níveis esperados.

Observou-se que à medida que a concentração de óleo aumenta (de 0% a 6%) há uma queda aparente da germinação precoce (Figura 22a) e um aumento aparente da germinação tardia (Figura 22b). Entretanto, somente na germinação precoce na concentração de 6% a diferença foi significativa (Figura 22a). Nessa concentração (6%), a germinação ocorre quase que exclusivamente no período tardio.

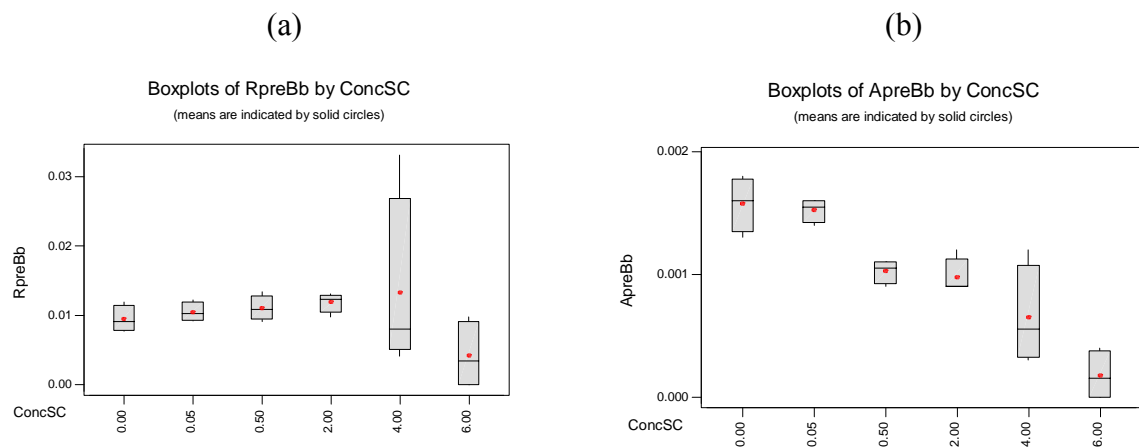


**Figura 22.** Taxa de germinação (a) precoce, (b) tardia e (c) total *Brachiaria brizantha* em sala climatizada, frente a diferentes concentrações de óleo cru.

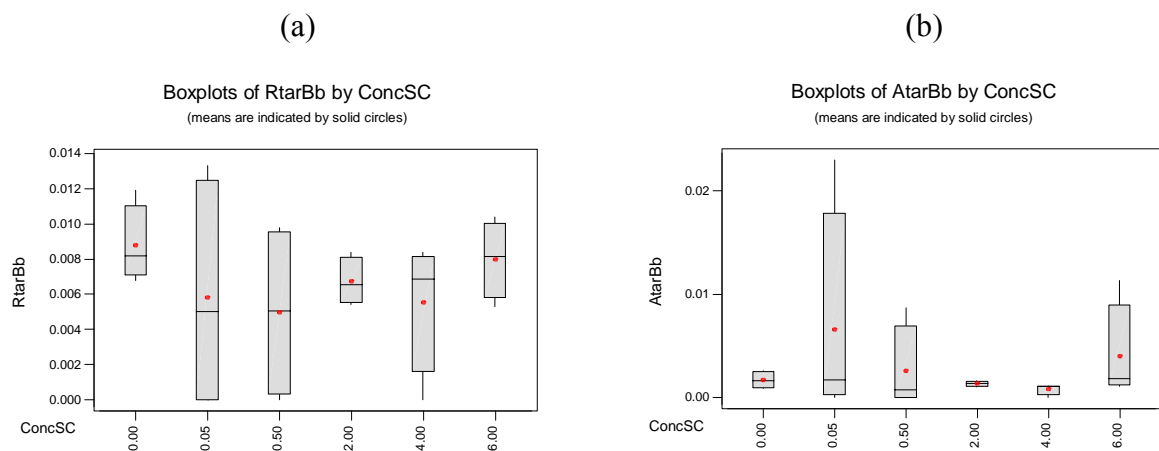
### 10.5.2.2 Produção de biomassa

Não houve diferença significativa na produção de biomassa radicular das plântulas de germinação precoce ou tardia em nenhuma das concentrações testadas comparadas ao controle (Figuras 23a e 24a). Entretanto, a biomassa aérea das plântulas de germinação precoce foi afetada significativamente nas concentrações de óleo a partir de 0,5% inclusive até 6% (Figura

23b). Tal efeito não ocorreu nas plântulas de germinação tardia. A biomassa aérea também foi mais afetada que a biomassa radicular, nos estudos de Hernandez-Valencia & Mager (2003) com soja e girassol.



**Figura 23.** Produção de biomassa (a) radicular e (b) aérea em plântulas de *Brachiaria brizantha* em sala climatizada; plântulas de germinação precoce.



**Figura 24.** Produção de biomassa (a) radicular e (b) aérea de *Brachiaria brizantha* em sala climatizada; plântulas de germinação tardia.

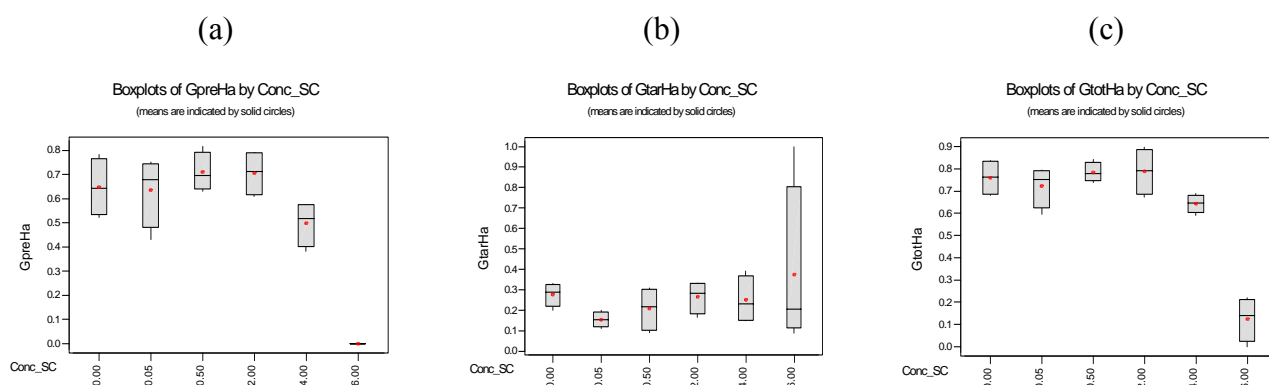
### 10.5.3 *Helianthus annus*

#### 10.5.3.1 Taxa de germinação

A taxa de germinação total do girassol no controle foi alta (76%) em sala climatizada, provavelmente por ser uma espécie melhorada geneticamente. Esta espécie possui um padrão precoce de germinação, uma vez que já no controle a germinação precoce foi significativamente superior à germinação tardia.

Semelhante à braquiária, a concentração de 6% reduziu significativamente a germinação precoce, não compensada na germinação tardia. Tal hipótese é confirmada pelo decréscimo significativo na taxa de germinação total na concentração de 6% comparada ao controle (Figura 25c).

Os dados indicam que o girassol possui tolerância a concentrações de óleo AL abaixo de 6%, no tocante à germinação.



**Figura 25.** Taxa de germinação (a) precoce, (b) tardia e (c) total de *Helianthus annus* em sala climatizada, frente a diferentes concentrações de óleo-cru.

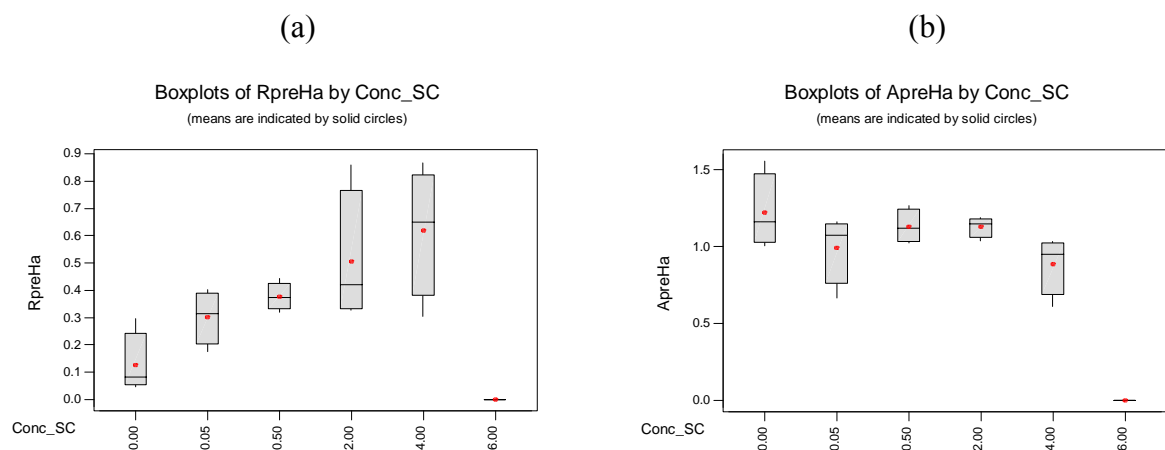
#### 10.5.3.2 Produção de biomassa

O girassol em sala climatizada na presença de óleo AL apresentou alterações complexas para biomassa radicular e aérea, com aumento em algumas concentrações e redução em outras. A biomassa radicular de plântulas de germinação precoce apresentou aumento significativo nas

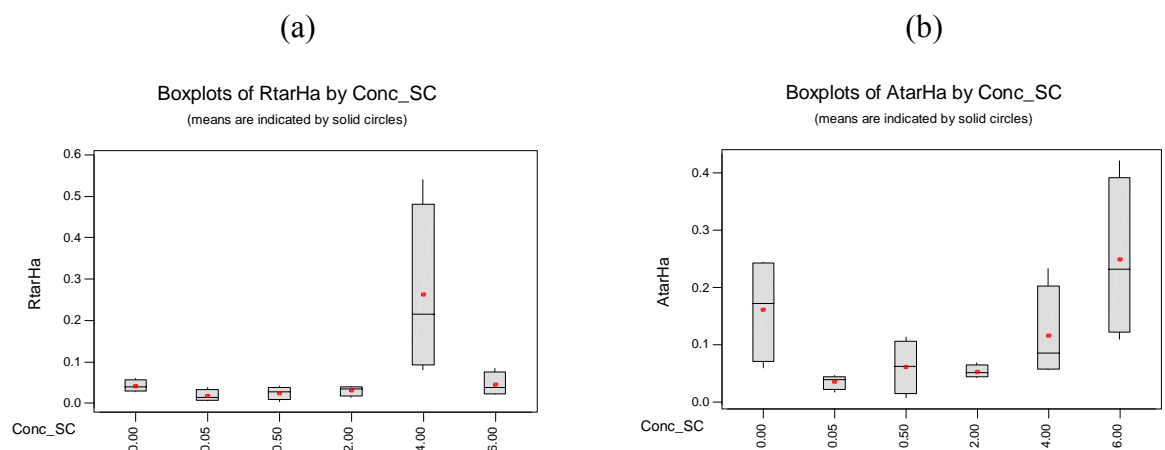
concentrações de 0,5 a 4% e redução significativa na concentração de 6% (Figura 26a), tendo em vista que nessa concentração a taxa de germinação foi zero.

Em plântulas de germinação tardia, houve aumento significativo de biomassa radicular somente na concentração de 4% (Figura 27a).

Houve redução significativa com relação à biomassa aérea, na germinação precoce na concentração de 6% (onde não houve germinação) (Figura 25b) e na germinação tardia, na concentração de 0,05% (Figura 26b).



**Figura 26.** Produção de biomassa radicular de *Helianthus annuus* em sala climatizada; plântulas de germinação precoce e tardia (linhas verticais:  $\pm$  erro padrão).



**Figura 27.** Produção de biomassa (a) radicular e (b) aérea de *Helianthus annuus* em sala climatizada; plântulas de germinação tardia.

### 10.5.3.3 Observação microscópica de cortes transversais

O girassol é descrito na literatura como espécie fito-acumuladora de metais (ROMEIRO *et al.*, 2005). Foi observado no presente estudo que as plântulas de girassol aparentemente absorvem óleo do substrato contaminado. Na hipótese da secagem por 24hs a 60°C não ter sido suficiente para eliminar todo o óleo, o aumento na biomassa poderia ser atribuído ao acúmulo de óleo no parênquima, que segundo a literatura (MCCUTCHEON & SCHONNOOR, 2003) fica armazenado nos vacúolos e na parede celular. A hipótese poderia ser confirmada pela análise de cinzas das plântulas controle e das plântulas crescidas no óleo com tratamento de aproximadamente 550°C por 16h (AMIR *et al.*, 2005). Uma outra possível explicação para o aumento da biomassa, segundo DOMINGUEZ-ROSADO *et al.* (2004) é que tal aumento pode estar associado à utilização de carbono a partir dos hidrocarbonetos do óleo como nutriente pela planta, o que estimulou seu crescimento (BAKER, 1970).

Em apoio à hipótese da absorção do óleo pela plântula, durante o experimento foi observado que plântulas de girassol germinadas em substrato contaminado apresentavam manchas de coloração marrom escura e perda de turgência tanto na parte aérea quanto na radicular. Para dar início a uma investigação sobre a origem de tais sintomas e, tendo em vista a hipótese de acúmulo no parênquima, foram feitos cortes histológicos transversais da parte aérea e radicular nas concentrações de 0,05% e 4% observados em microscopia ótica (aumento 1.000 vezes). A imagem microscópica produzida a pedidos por B.C. Lopes, do Laboratório de Anatomia Vegetal do Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro (LOPES, 2006) revelou a presença de uma substância escura no parênquima. Embora não tenha sido utilizado nenhum processo de coloração específica, tal imagem não foi observada em cortes de plântulas crescidas em meio sem óleo. Aparentemente, o óleo penetra nas células, sugerindo uma capacidade da espécie em absorver e eventualmente acumular óleo, a exemplo do que ocorre com os metais. Gill & Nyawuame (2006) observaram a presença do óleo cru ao nível celular em plântulas de *Chromolaena odorata* e relatam a ausência do mesmo nos tecidos vasculares, sugerindo que o transporte do óleo ocorre via extracelular (determinada pela difusão através das paredes e espaços intercelulares da água e solutos até a endoderme, uma barreira que determina o transporte ativo dos solutos para dentro das células).

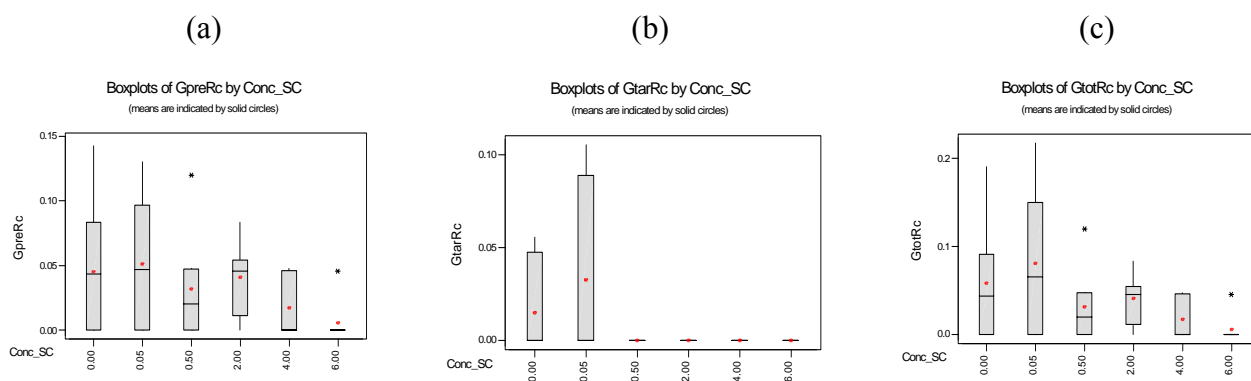


## 10.5.4 *Ricinus comunnis*

### 10.5.4.1 Taxa de germinação

A mamona teve uma baixa taxa de germinação total (apenas 6%) no controle em sala climatizada, comparada aos 62% obtidos no controle em casa de vegetação. Tal resultado distinto pode ser atribuído à: (i) condições experimentais na SC (iluminação artificial, etc) menos adequadas para a germinação dessa espécie de semi-árido; (ii) diversidade genética relacionada à cultivares distintas utilizadas (Guarani na SC e IAC-80 na CV); (iii) má qualidade do lote de sementes utilizados na SC; (iv) uma combinação desses fatores.

Em concentrações de 0,5% (inclusive) em diante, a mamona apresentou quase que exclusivamente germinação precoce (antes de 15 dias após o plantio). Houve, portanto diferença significativa na germinação tardia nas concentrações de 0,5 a 6% comparadas ao controle. Em casa de vegetação também houve uma antecipação da germinação para mamona, conforme discutido anteriormente. Baixas concentrações de óleo (0,05%) aparentemente aumentaram (sem significância) a germinação tardia e final.

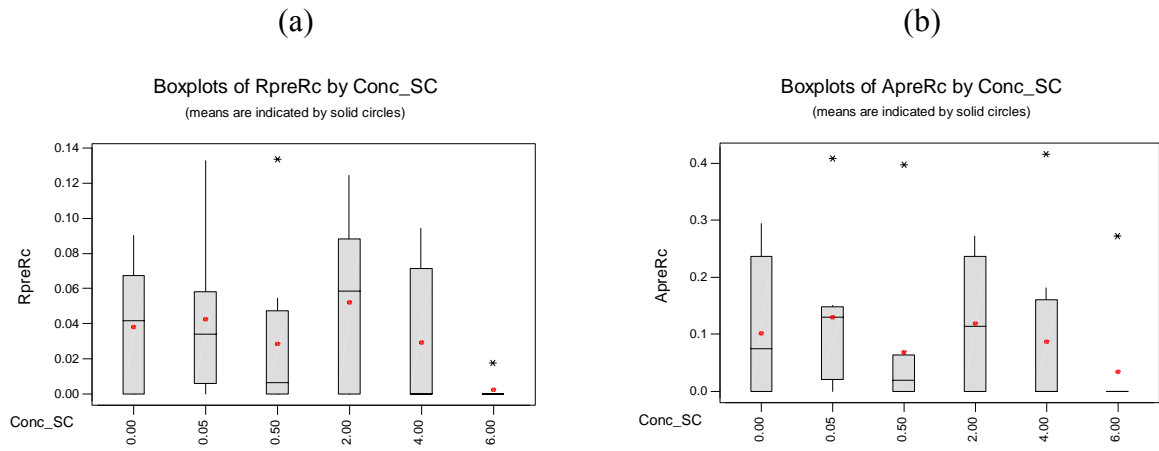


**Figura 28.** Taxa de germinação (a) precoce, (b) tardia e (c) total de *Ricinus comunnis* em sala climatizada, frente a diferentes concentrações de óleo cru.

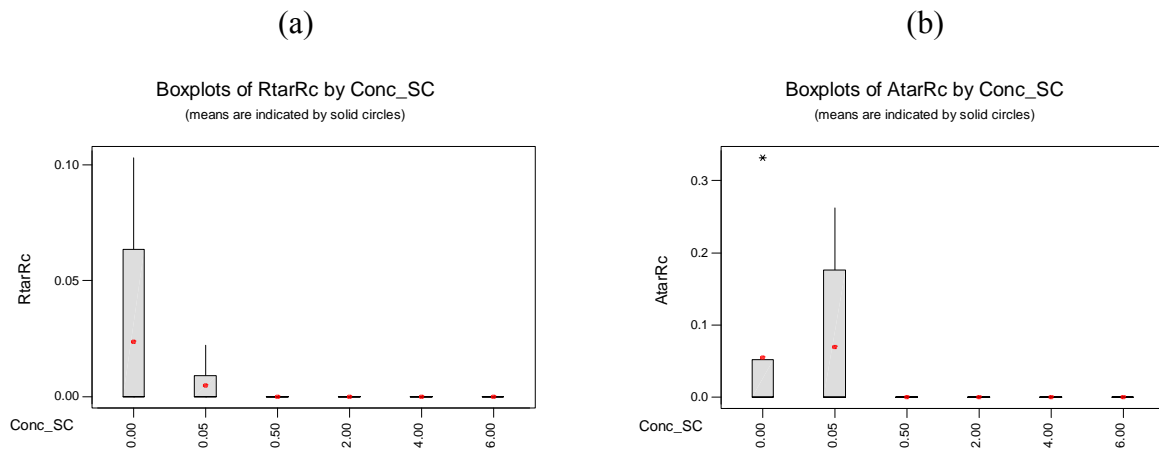
### 10.5.4.2 Produção de biomassa

Em plântulas de germinação precoce, não houve diferenças significativas na biomassa radicular ou aérea (Figura 29).

Como não houve germinação tardia a partir de 0,5%, houve diferença significativa tanto na biomassa radicular quanto aérea nas concentrações de 0,5% a 6%.



**Figura 29.** Produção de biomassa (a) radicular e (b) aérea das plântulas de *Ricinus comunnis* em sala climatizada; plântulas de germinação precoce.



**Figura 30.** Produção de biomassa (a) radicular e (b) aérea de *Ricinus comunnis* em sala climatizada; plântulas de germinação tardia.

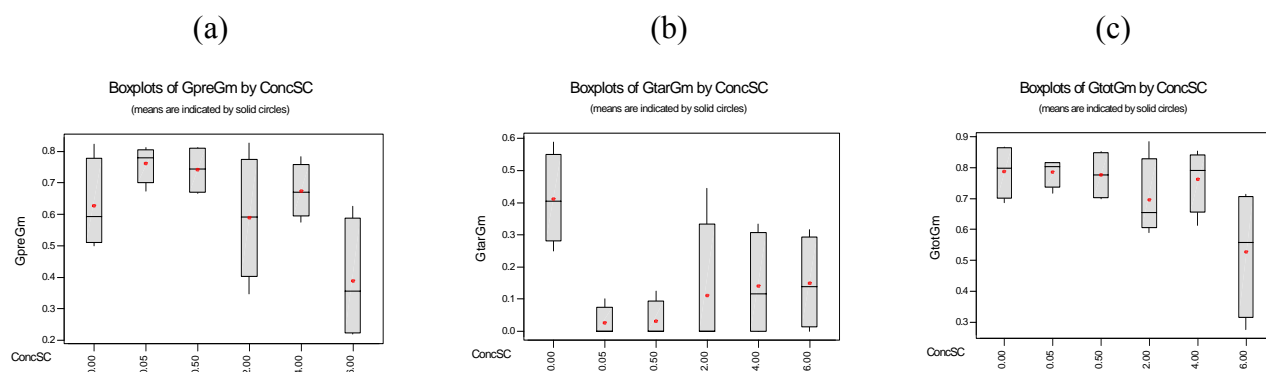
## 10.5.5 *Glycine max*

### 10.5.5.1 Taxa de germinação

A soja apresentou taxa de germinação alta em SC (79% no controle), o que pode ser atribuído ao melhoramento genético pelo qual passou a espécie.

O óleo aparentemente beneficiou a germinação precoce nas concentrações de 0,05% até 4% (Figura 31a) comparadas ao controle. Tal fenômeno também foi verificado por Dominguez-Rosado *et al.* (2004), que descrevem a soja como tendo taxa de germinação mais alta na presença de baixas concentrações (0,1% e 1%) de óleo usado de motor. A presença de 5% de óleo cru promoveu um aumento na germinação da também leguminosa *M. orthocarpa* que segundo Merkl *et al.* (2004b), pode ter sido causada pela alteração na umidade e na infiltração de água no substrato devido às propriedades hidrofóbicas do óleo.

Não houve diferença significativa na taxa de germinação total em nenhuma das concentrações testadas comparadas ao controle. Entretanto, observou-se uma aparente tendência (não significativa) de queda na germinação na concentração de 6%.

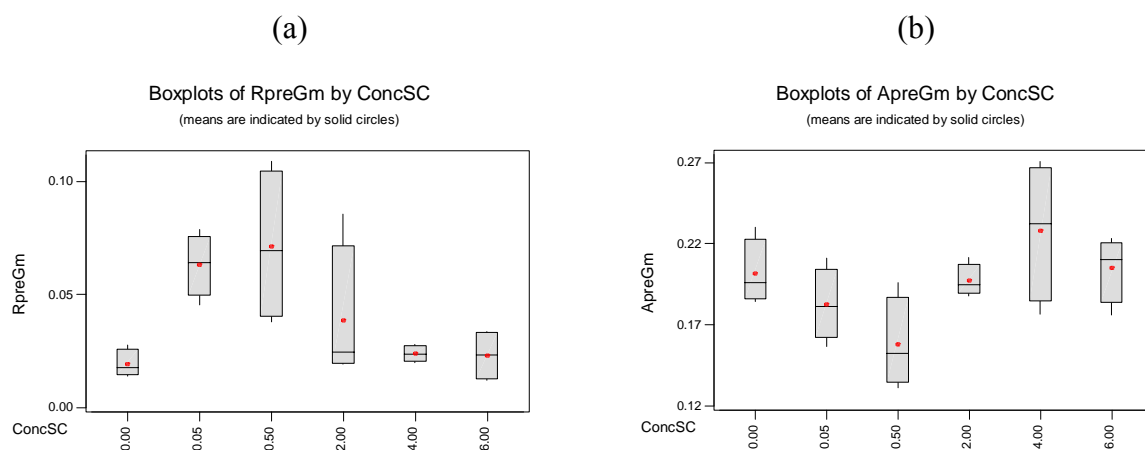


**Figura 31.** Taxa de germinação (a) precoce, (b) tardia e (c) total de *Glycine max* em sala climatizada, frente a diferentes concentrações de óleo cru.

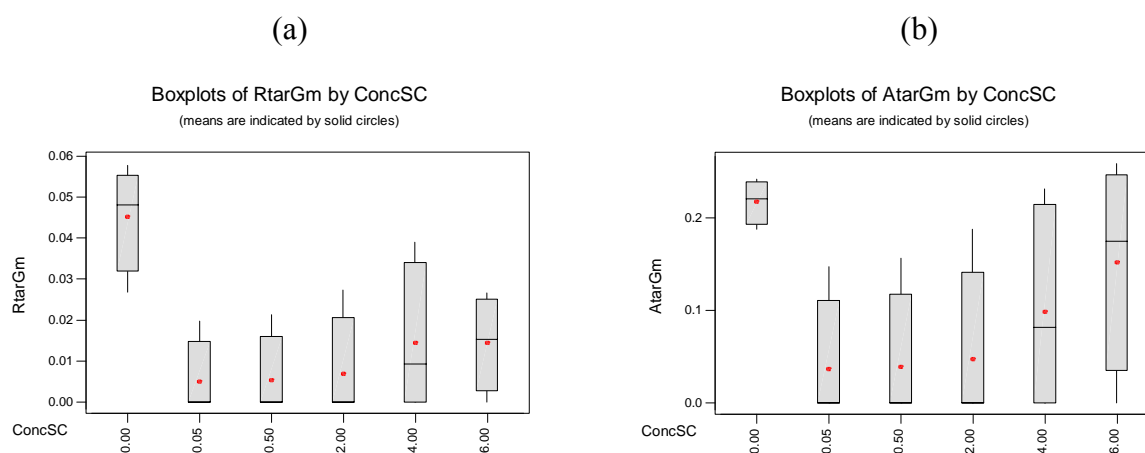
### 10.5.5.2 Produção de biomassa

O óleo em baixas concentrações (0,05% e 0,5%) aumentou de forma significativa a biomassa radicular de plântulas de germinação precoce e não influenciou a biomassa aérea (Figuras 32).

Nas plântulas de germinação tardia, entretanto, houve um decréscimo significativo da biomassa radicular nas concentrações de 0,05, 0,5 e 6%, enquanto que a produção de biomassa aérea não foi afetada (Figura 33).



**Figura 32.** Produção de biomassa (a) radicular e (b) aérea de *Glycine max* em sala climatizada; plântulas de germinação precoce.



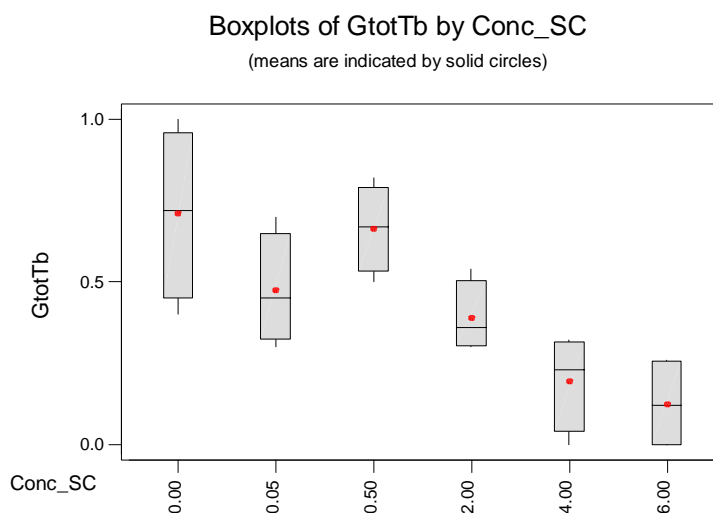
**Figura 33.** Produção de biomassa (a) radicular e (b) aérea de *Glycine max* em sala climatizada; plântulas de germinação tardia.

## 10.5.6 *Tibouchina granulosa*

### 10.5.6.1 Taxa de germinação

A quaresmeira, apesar de ser uma espécie nativa e sem melhoramento, apresentou uma taxa de germinação total alta (71%) no controle em SC. O período de germinação da espécie foi concentrado entre o 30º-31º dias. Além disso, devido ao seu lento crescimento, a análise de biomassa não pode ser feita separadamente para parte aérea e parte radicular. A taxa de germinação e a biomassa foram, portanto, analisadas na totalidade.

A presença do óleo ocasionou redução significativa da taxa de germinação total, nas concentrações de 4% e 6% (Figura 34).

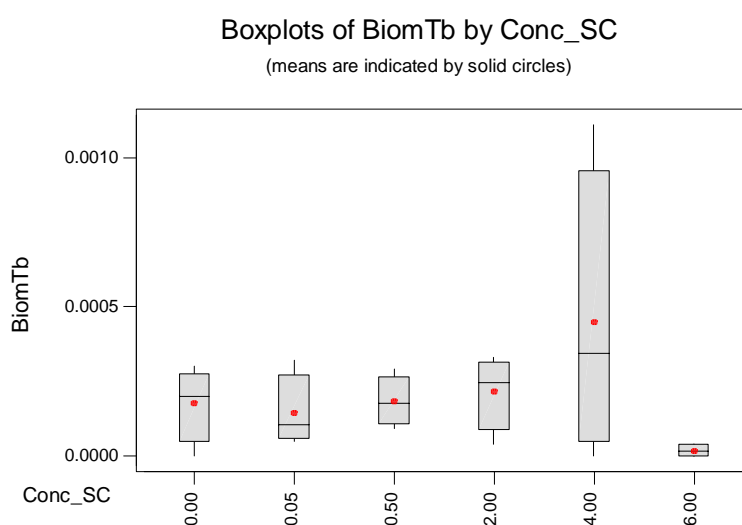


**Figura 34.** Taxa de germinação total de *Tibouchina granulosa* em sala climatizada frente a diferentes concentrações de óleo cru.

### 10.5.6.2 Produção de biomassa

Não houve diferença significativa na produção de biomassa total nas diferentes concentrações de óleo comparadas ao controle (Figura 35). Entretanto, observou-se uma tendência aparente (não significativa) de aumento gradativo da produção de biomassa total com a presença de óleo, até a concentração de 4%, seguida de uma queda observada na concentração de 6%.

O tamanho reduzido das sementes da quaresmeira (0,3 mg), a germinação lenta e a tolerância de germinação na presença de concentrações de óleo em algum ponto entre 2 e 4% (a ser determinado em investigações futuras) não inviabilizam o uso dessa espécie nativa de Mata Atlântica em projetos de fitorremediação. Como a germinação é significativamente afetada, mas a produção de biomassa não é, sugere-se que para uso na fitorremediação seja utilizado o plantio de mudas crescidas previamente em meio sem contaminantes. Supõe-se aqui que mudas saudáveis transplantadas poderiam crescer bem no meio a ser remediado.



**Figura 35.** Produção de biomassa das plântulas de *Tibouchina granulosa* em sala climatizada frente a diferentes concentrações de óleo cru.

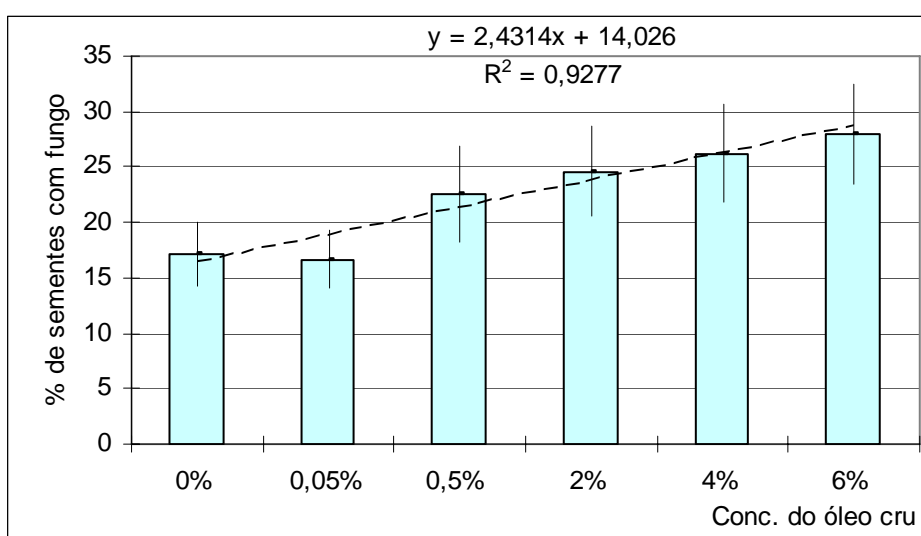
### 10.6 Incidência de sementes com fungos em sala climatizada

Apesar da esterilização dos recipientes e das sementes, sementes com fungos surgiram nas caixas de germinação tanto no germinador, quanto em sala climatizada.

As curvas de crescimento de fungos não apresentaram exatamente o mesmo formato, e a diversidade nos padrões de crescimento dos fungos pode ser atribuída ao fato de que oito gêneros diferentes de fungos foram identificados no experimento em questão nas diferentes caixas de germinação. Os gêneros identificados foram: *Aspergillus spp.*, *Epicoccum sp.*, *Fusarium spp.*, *Monilha sp.*, *Penicillium spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Trichoderma spp.* e *Verticillium sp* (CASTILHO, 2006). Tal identificação foi parte integrante do presente estudo, com o apoio da Pesagro-Rio. Quando os números de sementes com fungo nas seis espécies estudadas foram

agrupados por concentração de óleo (independentemente da espécie vegetal), uma correlação positiva entre aumento do número de sementes com fungos e aumento da concentração do óleo no substrato, foi observada (Figura 36). Entretanto não houve diferença estatística entre as concentrações testadas e o controle. A distribuição dos gêneros em cada unidade experimental ou repetição não foi realizada.

Embora correlação positiva não implique obrigatoriamente em relação causal, estudos anteriores referem-se à capacidade de degradar petróleo e derivados de alguns gêneros e espécies de fungo, tais como *Penicillium sp* e *Cunninghamella sp* (ROSATO, 1997) e *Aspregillus niger* e *Penicillium corylophilum* (PEREIRA & LEMOS, 2006).



**Figura 36.** Incidência de sementes com fungo. Agregação dos dados nas diferentes concentrações de óleo cru (AL) em seis espécies estudadas em sala climatizada (média ± erro padrão).

### 10.7 Comparação de desempenho: Diferentes espécies, mesma condição experimental

Para efeito de visualização comparativa entre diferentes espécies e condições experimentais, foram calculados os índices de germinação e de produção de biomassa, conforme Equação 1:

$$\text{Índice} = \frac{\text{Taxa* na concentração X\%}}{\text{Taxa* no controle (0\%)}} \quad \text{Equação 1}$$

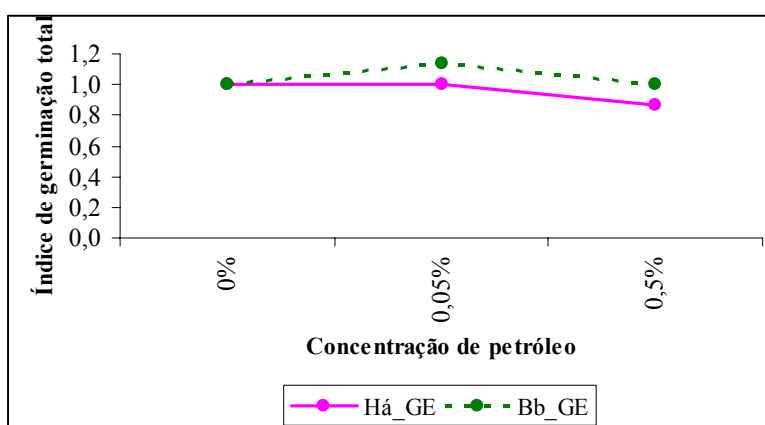
\* taxa de germinação (em %) ou de produção de biomassa (em %)

O cálculo de índice objetivou eliminar das análises, as diferenças em termos de taxa de germinação natural da espécie e a maior ou menor adaptação da espécie às condições experimentais, independente da presença do contaminante. Não foram realizadas análises estatísticas e todas as comparações são baseadas em diferenças aparentes.

### 10.7.1 Espécies testadas em germinador (*Brachiaria brizantha* versus *Helianthus annuus*)

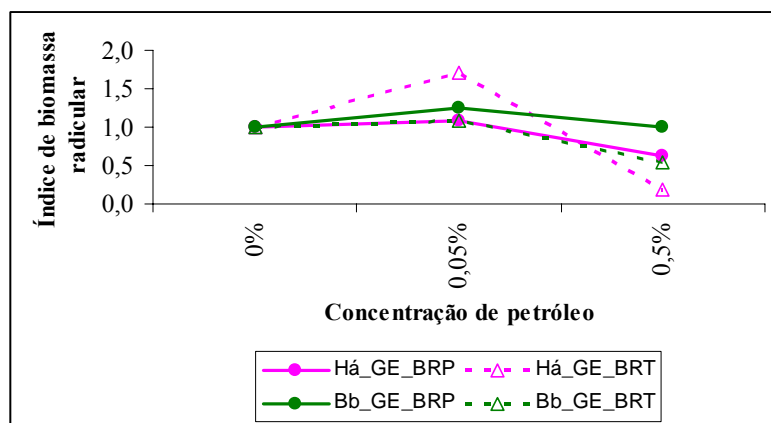
No experimento realizado no germinador, a braquiária apresentou índice de germinação aparentemente superior ao girassol na concentração máxima testada de 0,5% (1,0 e 0,87 respectivamente), (Figura 37). O mesmo ocorreu para a biomassa radicular precoce (1,0 e 0,62 respectivamente), com a biomassa radicular tardia (0,55 e 0,19 respectivamente) (Figura 38) e com a biomassa aérea precoce (1,31 e 0,88 respectivamente). Apenas o índice de biomassa aérea tardia do girassol foi aparentemente superior ao da braquiária na concentração de 0,5% (1,01 e 0,81 respectivamente), (Figura 39). Tal fato pode estar relacionado as hipóteses formuladas para as oleaginosas (girassol, soja e mamona) (Vide capítulo 10.7 Discussão).

Os dados sugerem que nas condições experimentais do germinador a braquiária tem um desempenho aparentemente superior em termos de germinação e desenvolvimento na presença de óleo.

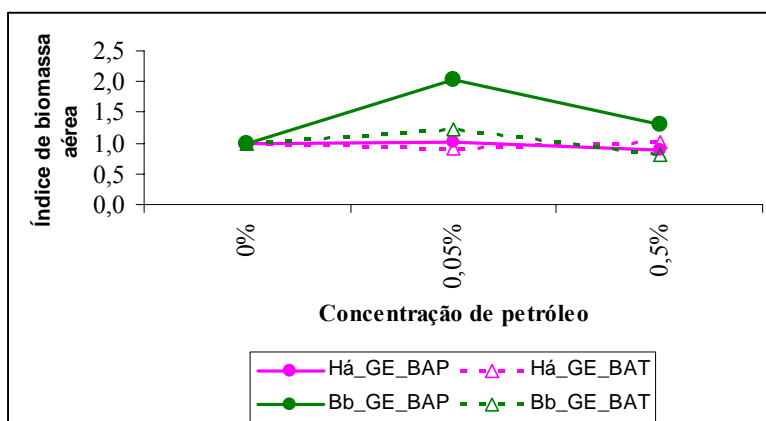


**Figura 37.** Índice de germinação da *Brachiaria brizantha* e do *Helianthus annuus* no germinador (GE).





**Figura 38.** Índice de biomassa radicular da *Brachiaria brizantha* e do *Helianthus annus* no germinador (GE).

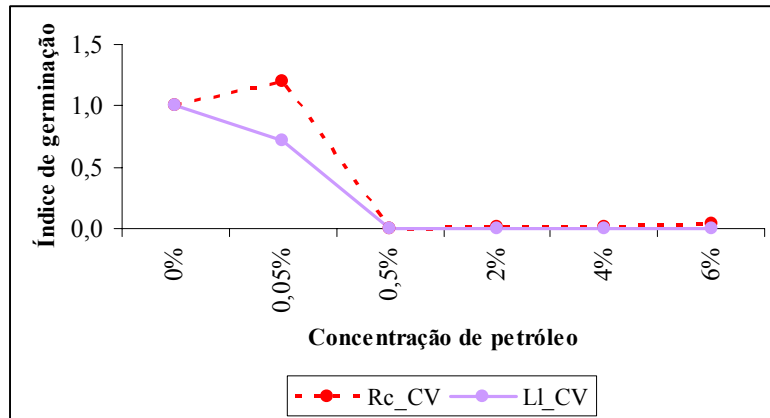


**Figura 39.** Índice de biomassa aérea da *Brachiaria brizantha* e do *Helianthus annus* no germinador (GE).

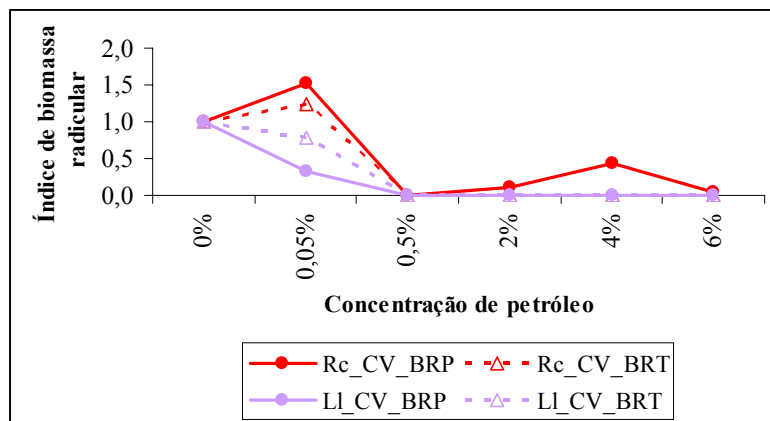
### 10.7.2 Espécies testadas em casa de vegetação (*R. comunnis* versus *L. leucocephala* )

Não houve germinação da leucena em concentrações a partir 0,5%. Os índices de germinação total, biomassa radicular e aérea de plântulas precoces e tardias da mamona foram aparentemente superiores aos da leucena em todas as concentrações testadas, com exceção da concentração de 0,5% na qual não houve germinação da mamona e das concentrações 0,5% em diante onde não houve germinação tardia (Figuras 40, 41 e 42).

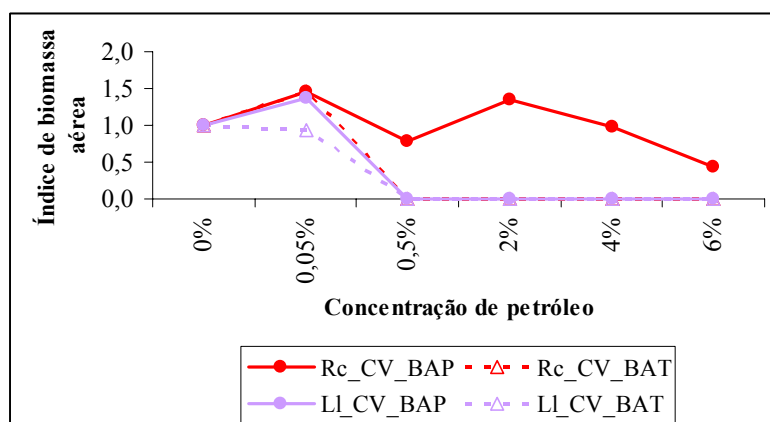
Em casa de vegetação a leucena foi aparentemente mais susceptível aos efeitos do óleo do que a mamona.



**Figura 40.** Índice de germinação total de *Ricinus comunnis* e *Leucena leucocephala* em casa de vegetação (CV).



**Figura 41.** Índice de biomassa radicular de *Ricinus comunnis* e *Leucena leucocephala* em casa de vegetação (CV).



**Figura 42.** Índice de biomassa aérea da *Ricinus comunnis* e *Leucena leucocephala* em casa de vegetação (CV).

### 10.7.3 Espécies testadas em sala climatizada (seis espécies)

A acácia, a mamona, a soja e a braquiária não tiveram a taxa de germinação total afetada pelo menos até a concentração de 6%, sendo que a soja foi à espécie com germinação mais alta na concentração máxima testada (6%) com 53% de germinação. A 6% de óleo, a soja e a acácia apresentaram tolerância superior às outras espécies estudadas (Figura 43).

Resultados semelhantes para acácia foram obtidos por Tavares *et al.* (2005) em condições de campo, que considerou a *Acacia holosericea* promissora para a fitorremediação, pois apresentou tolerância a altos níveis de petróleo (60.000 ppm de TPH).

Dominguez-Rosado *et al.* (2004a) relataram que a soja germinou em concentrações de óleo usado superiores a 10% (p/p). Carr (1919) relatou que soja não foi afetada pela concentração de 4% (p/p) de petróleo.

Hernandez-Valencia & Mager (2003) observaram que a concentração de 3% de óleo cru não afetou a germinação da braquiária e Merkl *et al.* (2004b) que concentração de 5% não causou nenhum efeito e consideraram a gramínea *Brachiaria brizantha* como espécie promissora para a fitorremediação com base na alta taxa de germinação e produção de biomassa menos afetada pelo solo contaminado.

A soja foi à espécie com índice de produção de biomassa de plântulas precoces menos afetada na concentração de 6%. Com relação ao índice de produção de biomassa de plântulas tardias na concentração de 6% a espécie menos afetada foi a braquiária (Figuras 43 a 47).

Dominguez-Rosado *et al.* (2004b) estudaram o potencial de fitorremediação do girassol na concentração de 1,5% (p/p) de óleo usado e relataram que esta concentração não afetou a germinação desta espécie. No presente estudo, o girassol teve a taxa de germinação reduzida significativamente somente concentração de 6%, ampliando assim, o limite conhecido de tolerância dessa espécie, em determinadas condições experimentais.

Como esperado nenhum dado de literatura foi encontrado para mamona, tampouco para quaresmeira.

A quaresmeira foi à espécie com a taxa de germinação mais afetada pelo óleo (a partir de 4%). Redução significativa da taxa de germinação, com o aumento das concentrações de óleo foi observada somente na quaresmeira. A taxa de germinação do girassol foi afetada significativamente somente na concentração de 6% e as outras espécies apresentaram quando muito, uma tendência aparente (não significativa) de queda na germinação em 6%.

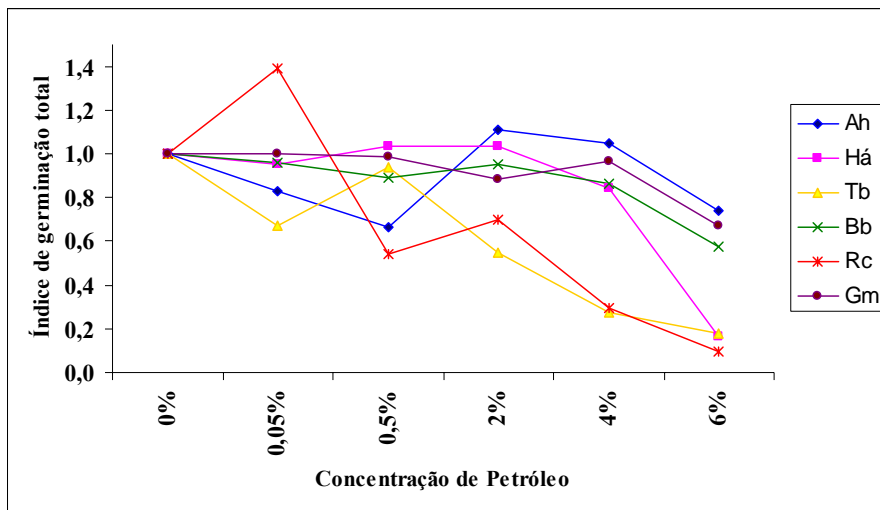


Figura 43. Índices de germinação total das seis espécies estudadas em sala climatizada.

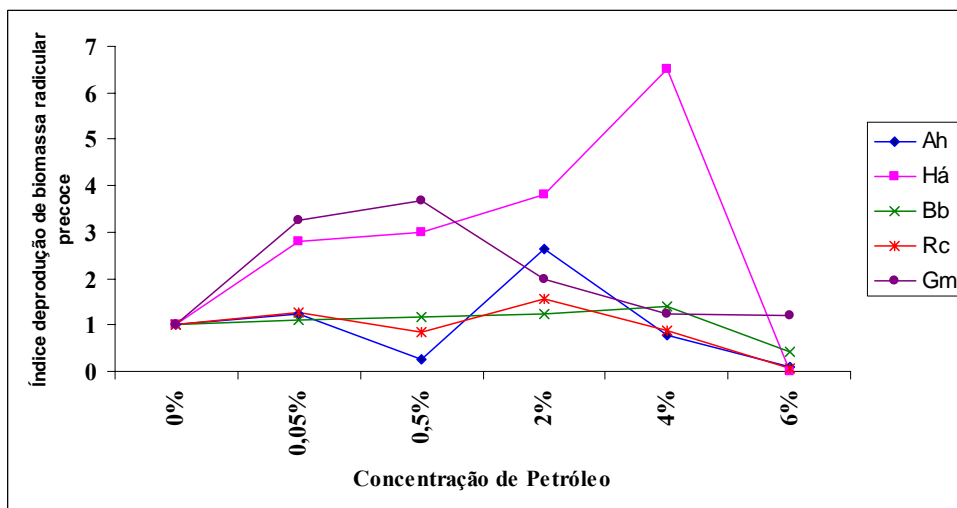


Figura 44. Índice de produção de biomassa radicular em plântulas de germinação precoce nas seis espécies estudadas em sala climatizada.

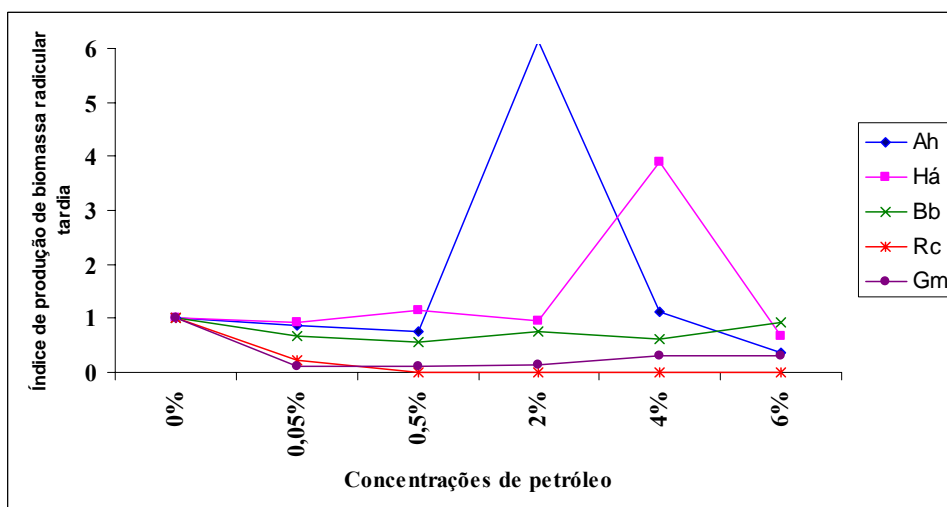
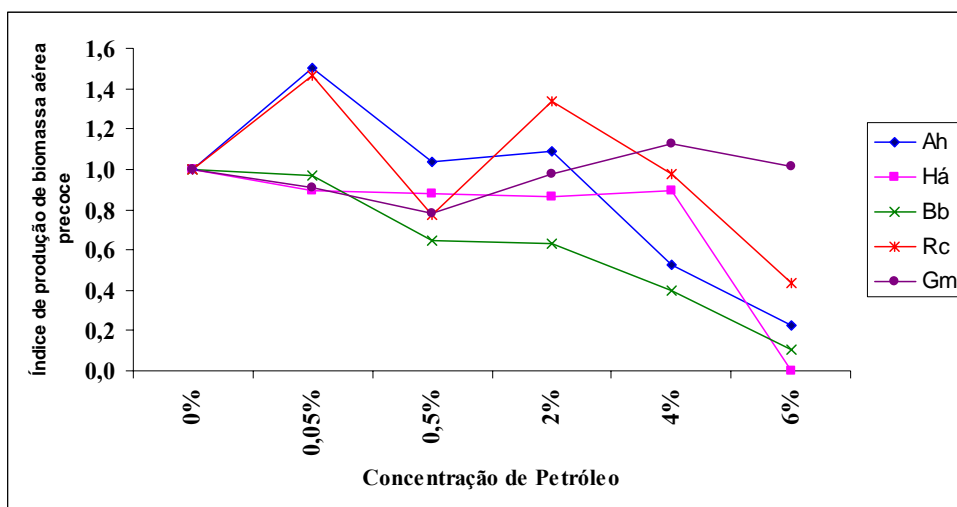
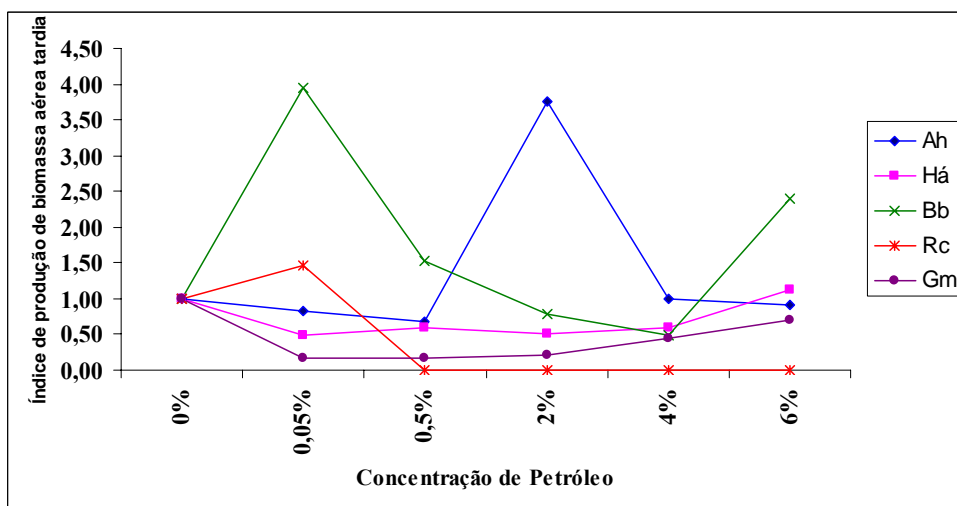


Figura 45. Índice de produção de biomassa radicular em plântulas de germinação tardia nas seis espécies estudadas em sala climatizada.



**Figura 46.** Índice de produção de biomassa aérea em plântulas de germinação precoce das espécies estudadas em sala climatizada.



**Figura 47.** Índice de produção de biomassa aérea em plântulas de germinação tardia das espécies estudadas em sala climatizada.

Em sala climatizada, o “ranking” das espécies estudadas em termos de desempenho superior de germinação na presença de óleo pode ser estabelecido conforme se segue:

**Acácia; Mamona; Braquiária; Soja > Girassol > Quaresmeira**

E em termos de desempenho quanto à produção de biomassa na presença de óleo pode ser estabelecido conforme se segue:

**Acácia; Mamona; Quaresmeira > Girassol; Braquiária > Soja**

## 10.8 Comparação de desempenho: mesma espécie, condições experimentais distintas

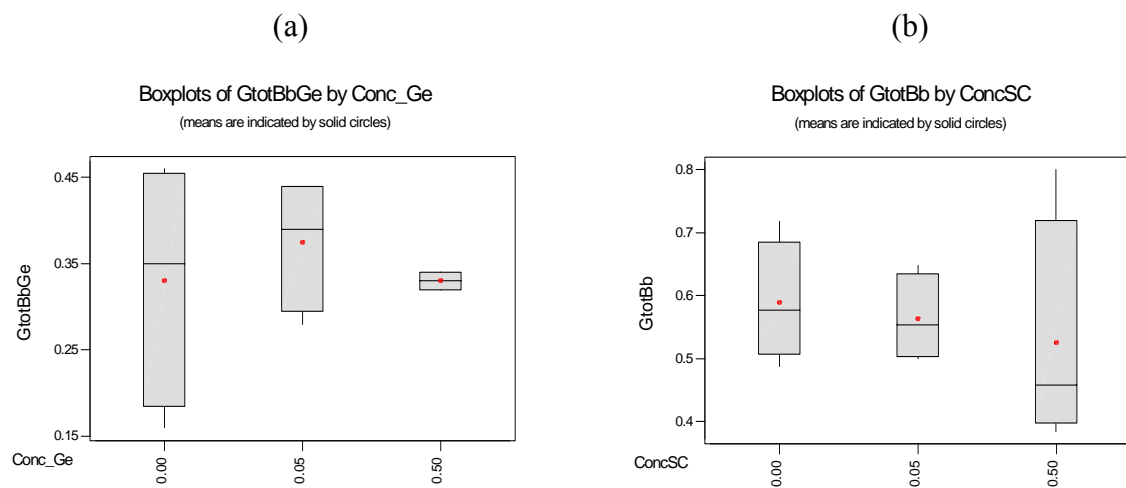
### 10.8.1 *Brachiaria brizantha*, *Helianthus annuus*, *Ricinus communis*

Apenas três das seis espécies foram estudadas em mais de uma condição experimental: (i) braquiária (GE e SC a 0,05 e 0,5% de óleo AL), (ii) girassol (GE e SC a 0,05 e 0,5% de óleo AL) e (iii) mamona (SC e CV em todas as concentrações, óleo AL em SC e óleo CP em CV). As figuras 48 a 56 ilustram graficamente o seguinte:

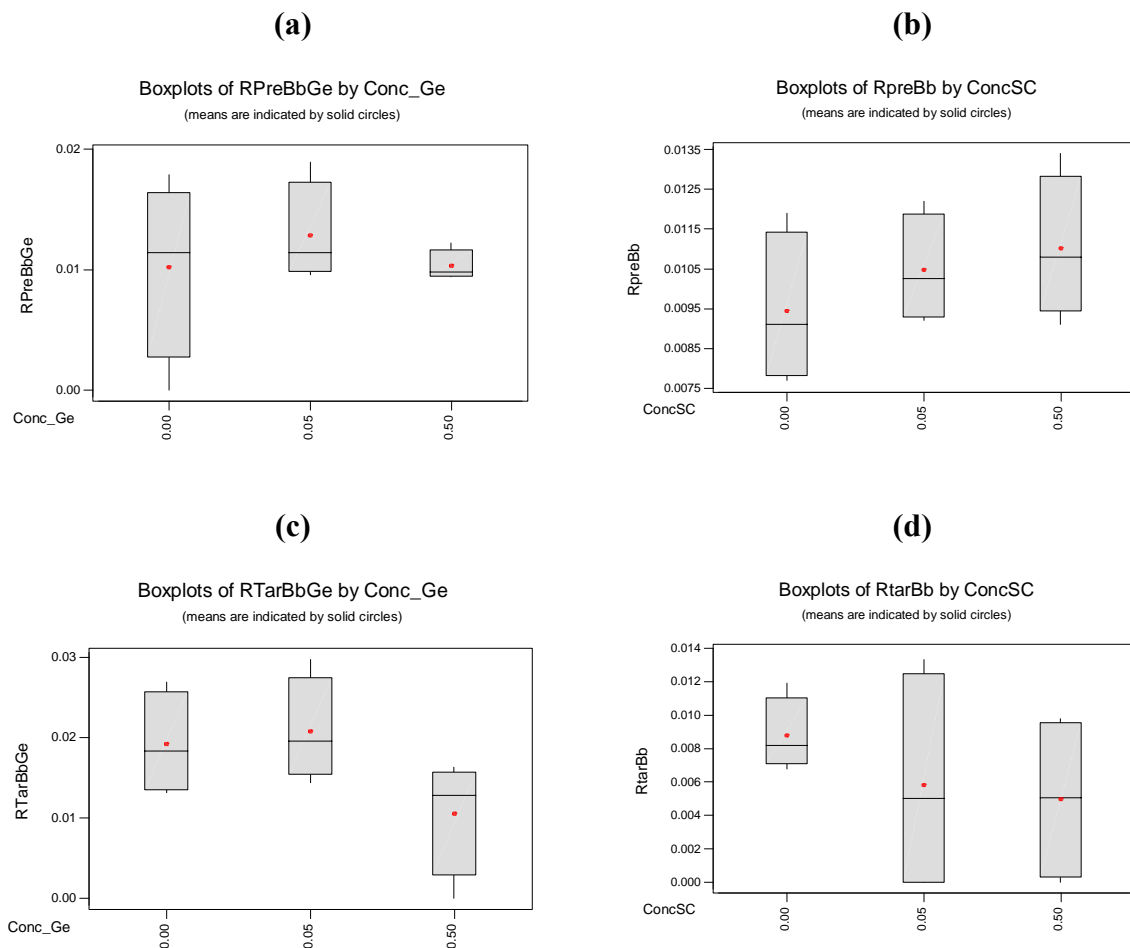
*Brachiaria brizantha*: Houve superioridade aparente de desempenho da braquiária em sala climatizada comparada com germinador, inclusive quanto aos controles (taxa de germinação total de 33% em GE contra 60% em SC), provavelmente porque o processo de escarificação não foi realizado em GE.

*Helianthus annuus*: O girassol também apresentou desempenho aparentemente superior em sala climatizada.

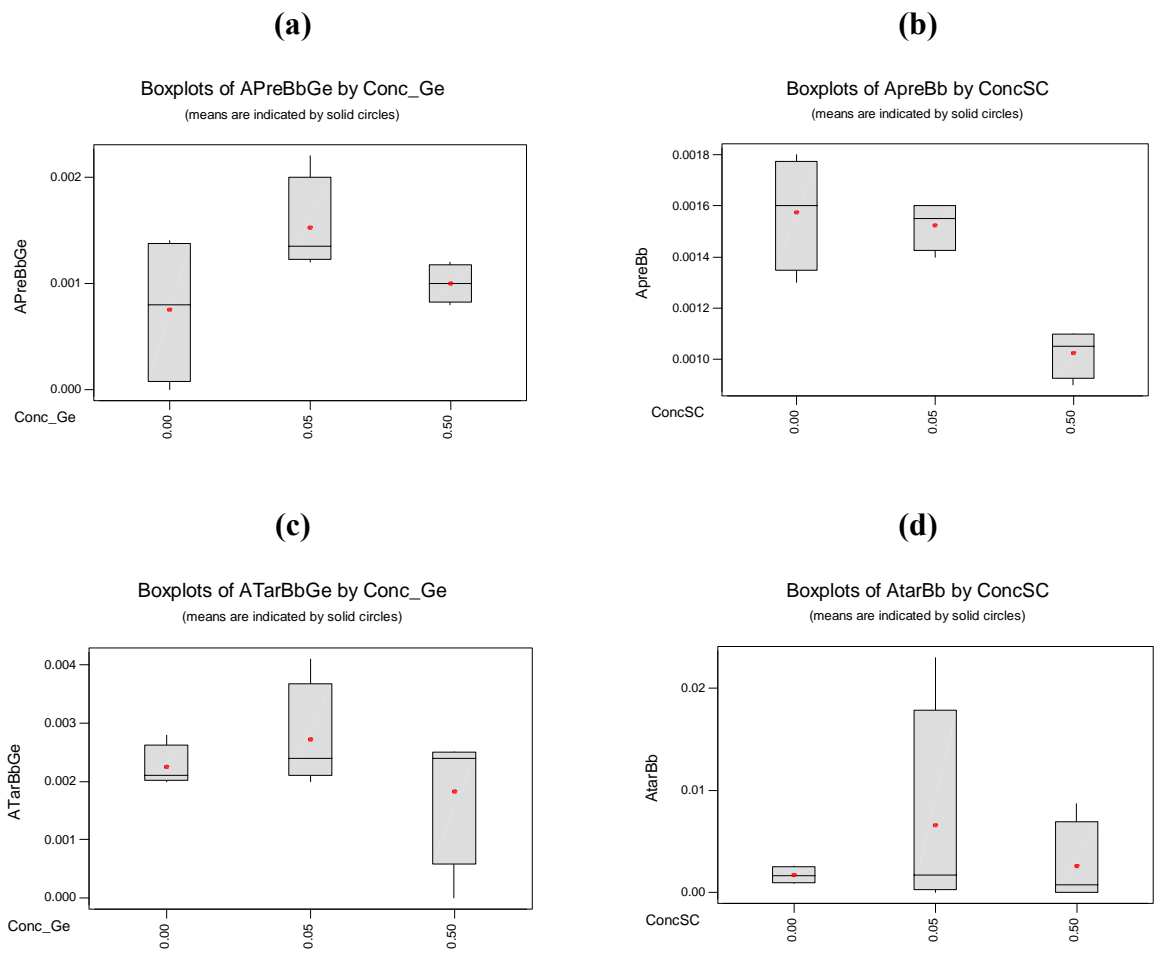
*Ricinus communis*: Com relação à mamona, devido ao fato de que foram utilizados dois tipos de óleo de origens distintas um em cada condição experimental – SC e CV (Tabela 7 e 8), as conclusões são limitadas. A mamona apresentou índices de germinação superiores em sala climatizada (óleo leve envelhecido AL) em todas as concentrações testadas comparadas à casa de vegetação (óleo pesado jovem CP). A partir da concentração 0,5% (inclusive), não houve germinação tardia em CV (óleo CP) e em SC (óleo AL). A leucena não foi testada em SC, mas em casa de vegetação com óleo CP, também apresentou ausência de germinação a partir de 0,5% (inclusive), o que indica que tal resposta está associada provavelmente ao óleo utilizado e não especificamente à espécie mamona.



**Figura 48.** Taxa de germinação total da *Brachiaria brizantha* em (a) germinador (Ge) e em (b) sala climatizada (SC).

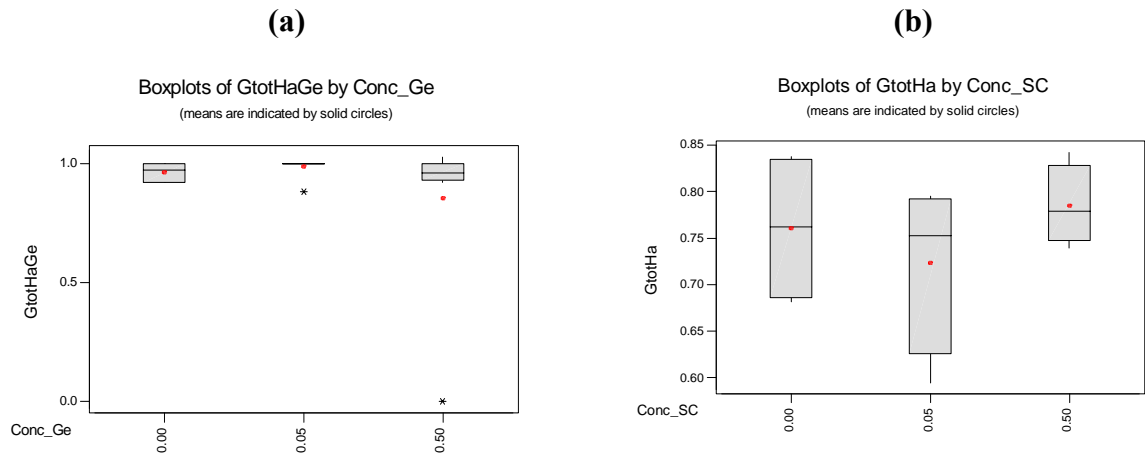


**Figura 49.** Biomassa radicular (a, b) plântulas de germinação precoce e (c, d) tardia. *Brachiaria brizantha* (Bb) em (a, c) germinador e em (b, d) sala climatizada.

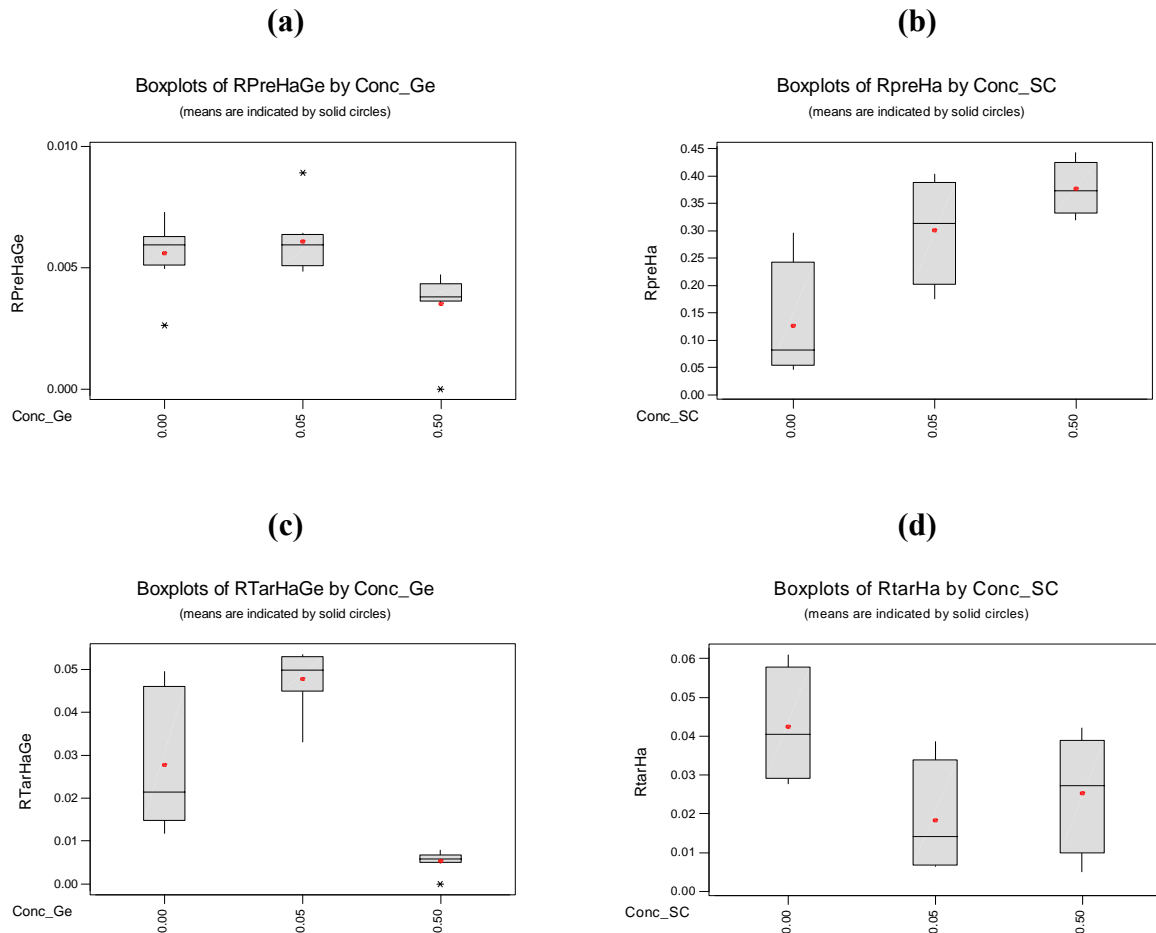


**Figura 50.** Biomassa aérea (a, b) plântulas de germinação precoce e (c, d) tardia. *Brachiaria brizantha* (Bb) em (a, c) germinador e (b, d) sala climatizada.

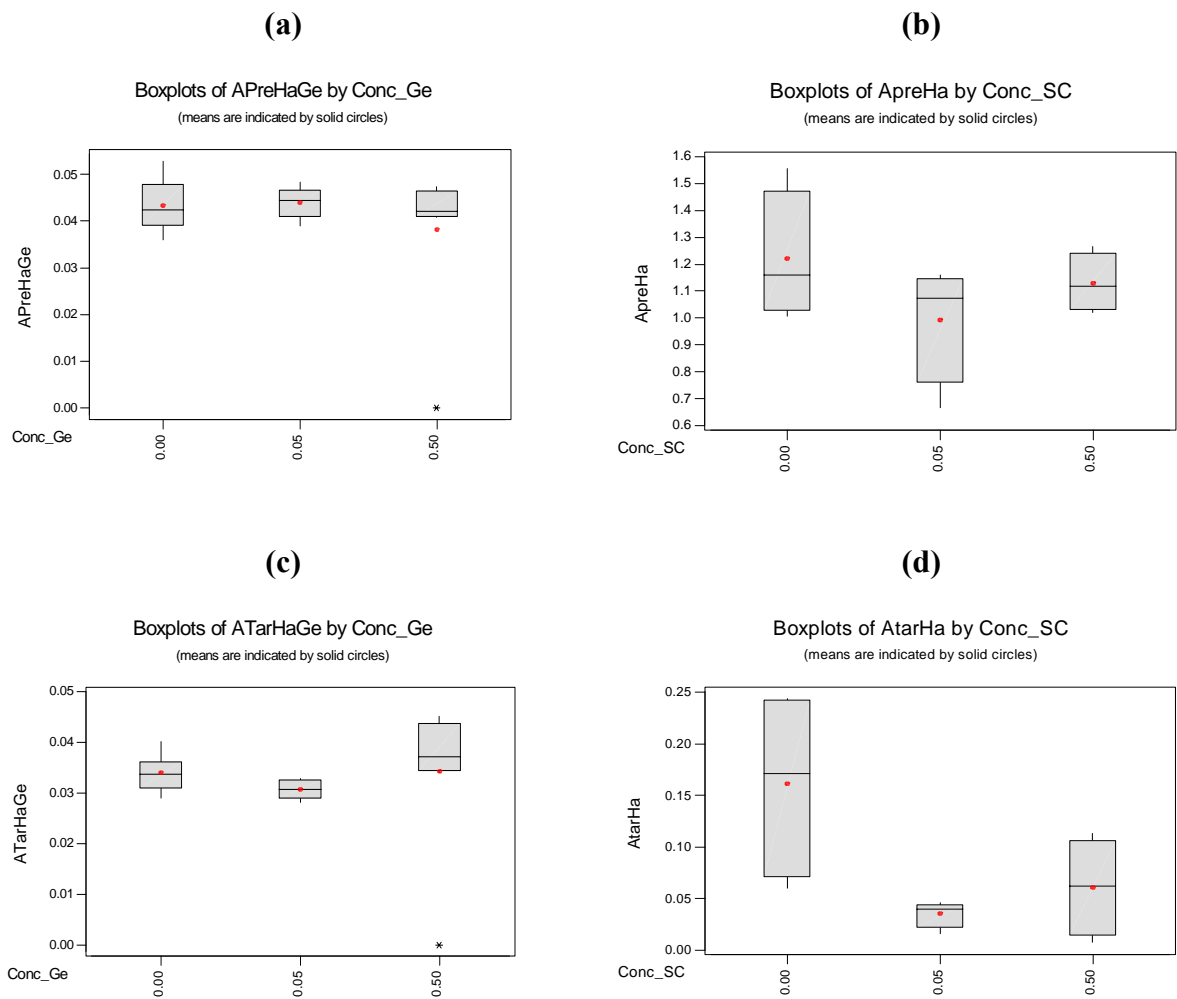




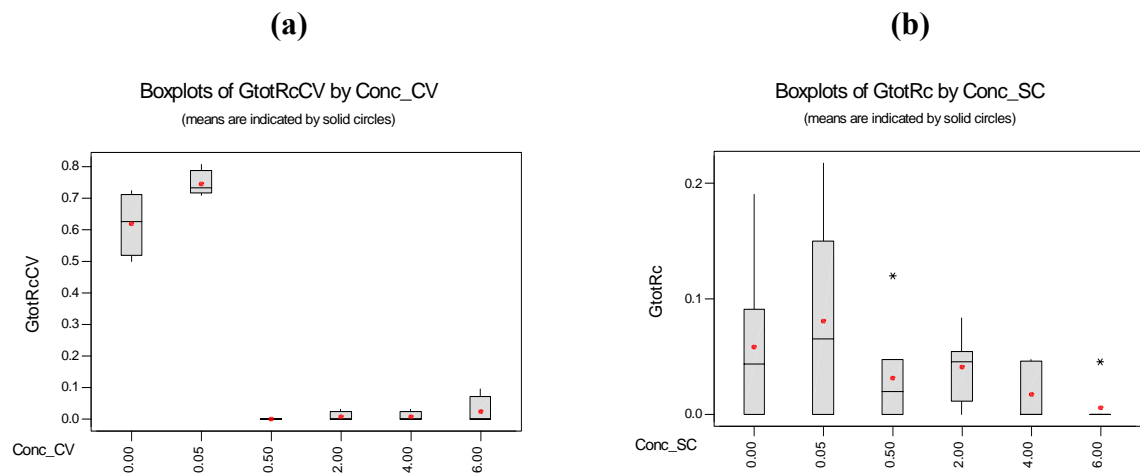
**Figura 51.** Taxa de germinação total do *Helianthus annuus* (Ha) em germinador (GE) e sala climatizada (SC).



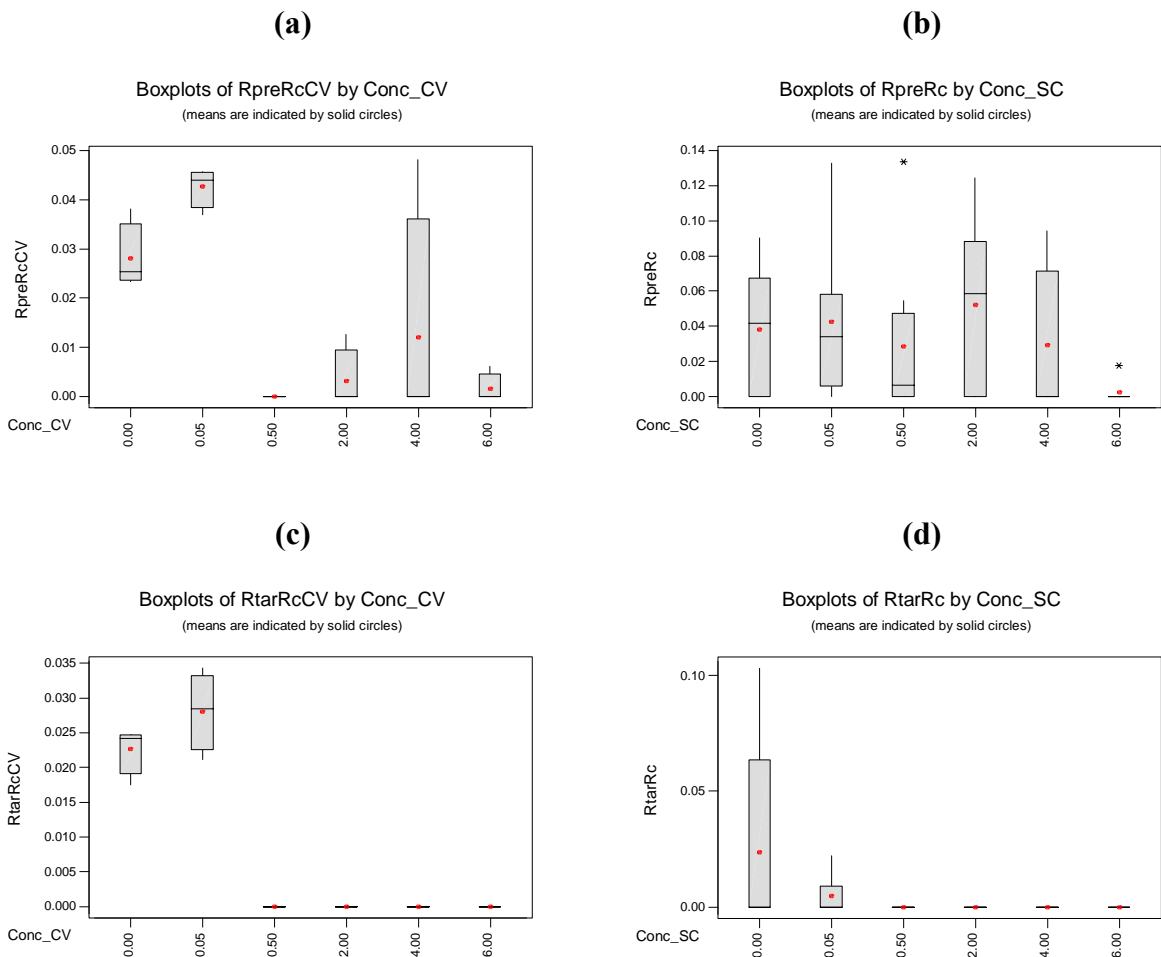
**Figura 52.** Biomassa radicular (a, b) plântulas de germinação precoce e (c, d) tardia. *Helianthus annuus* (Ha) em (a, c) germinador e (b, d) sala climatizada.



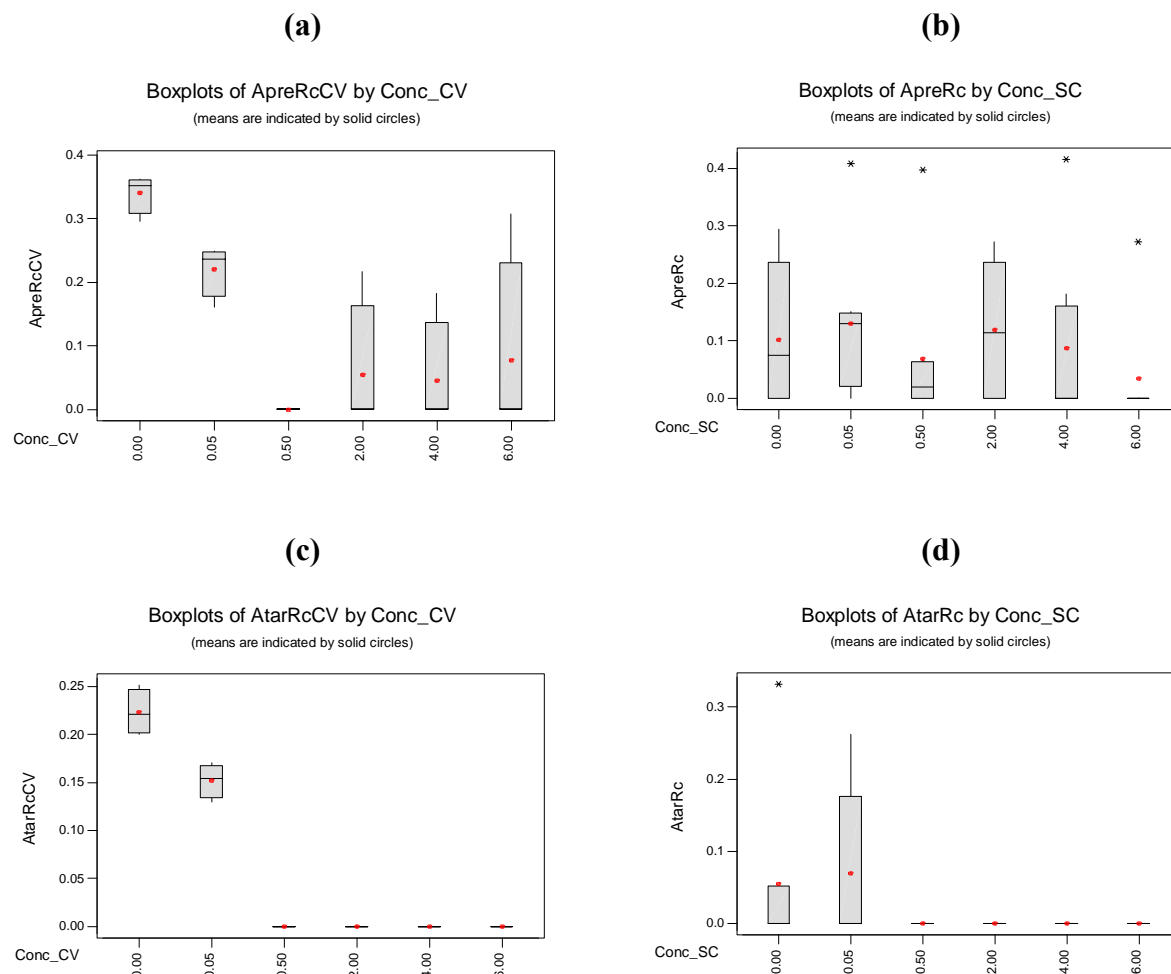
**Figura 53.** Biomassa aérea (a, b) plântulas de germinação precoce e (c, d) tardia. *Helianthus annuus* (Ha) em (a, c) germinador e (b, d) sala climatizada.



**Figura 54.** Taxa de germinação total da *Ricinus comunnis* (Rc) em sala climatizada (SC) e casa de vegetação (CV).



**Figura 55.** Biomassa radicular (a, b) plântulas de germinação precoce e (c, d) tardia. *Ricinus comunnis* (Rc) em (a, c) casa de vegetação e (b, d) sala climatizada.



**Figura 56.** Biomassa aérea (a, b) plântulas de germinação precoce e (c, d) tardia. *Ricinus comunnis* (Rc) em (a, c) casa de vegetação e (b, d) sala climatizada.

### 10.8.2 Efeitos dos dois óleos testados

A ausência de germinação tardia em concentrações a partir de 0,5% em casa de vegetação tanto para a mamona quanto para a leucena, poderia a princípio ser atribuída às características físico-químicas do óleo cru jovem e pesado utilizado (CP) tendo em vista que a mamona também testada na presença de óleo leve e envelhecido (AL) em sala climatizada apresentou tolerância até a concentração máxima testada (6%) tanto no tocante à germinação, quanto produção de biomassa.

Segundo Pezeshki *et al.* (2000) os óleos pesados têm menor efeito tóxico sobre as planta, comparados aos óleos leves que aparentemente penetram com maior facilidade na planta e impedem a regeneração das folhas e dos brotos. Entretanto, no presente estudo observou-se o contrário: o óleo pesado (CP) causou maior efeito tóxico sobre as sementes e plântulas que o

óleo leve (AL). A toxicidade superior do óleo CP não pôde ser atribuída às quantidades de BETEXT e HPAs medidas em cromatografia, já que o óleo AL apresentou teores superiores de BTEXT e HPAs. Tais efeitos podem estar mais relacionados às alterações causadas pelo óleo mais pesado no substrato, impedindo a infiltração de água do que efeitos sobre as sementes e plântulas e/ou aos teores nitidamente superiores de inorgânicos no óleo CP, segundo indicação do cromatograma (não identificados individualmente).

Outro fator a considerar é que a luminosidade maior na casa de vegetação devido à radiação solar, promove a foto-oxidação e transforma hidrocarbonetos do petróleo em formas mais tóxicas. Foi demonstrado que a toxicidade dos HPAs sobre microrganismos, animais e plantas aquáticas é aumentada com a ação da radiação (ORIS & GIESY, 1985).

O uso de cultivares distintas (no caso da mamona) poderia explicar parte das diferenças observadas nas duas condições experimentais testadas, ainda que a relevância dessa variável deva ser inferior aos aspectos acima mencionados. A alta toxicidade observada também em leucena em CV com o óleo pesado CP sugere baixa importância desse aspecto, o mesmo valendo para eventuais diferenças na qualidade dos lotes de sementes.

Outro fator que merece destaque para explicar a ausência de germinação tardia em concentrações a partir de 0,5% (sala climatizada e casa de vegetação) é o tempo de exposição da semente não germinada, permitindo a penetração do óleo cru através do tegumento da semente. Segundo Baker (1970), tal penetração provoca a morte ou asfixia do embrião, uma vez que impede a absorção de água pela semente. Apesar de sua característica hidrofóbica, a penetração do óleo através do tegumento pode estar relacionada à velocidade de absorção de água. Tal penetração segundo IPEF (2006) varia com a espécie, com o número de poros, disponibilidade de água, temperatura, pressão hidrostática, área de contato da semente com a água, forças intermoleculares, composição química e qualidade fisiológica da semente.

## 10.9 Resultados agregados

Os resultados das comparações através das análises estatísticas são agregados na Figura 57 e Figura 58.

Germinação total						
Espécie	Cond. Exp.	0.05%	0.5%	2%	4%	6%
<i>A. holosericea</i>	SC					
<i>B. brizantha</i>	SC					
	GE					
<i>G. max</i>	SC					
<i>H. annuus</i>	SC					↓
	GE					
<i>T. granulosa</i>	SC				↓	↓
<i>R. comunnis</i>	SC					
	CV		↓*	↓	↓	↓
<i>L. leucocephala</i>	CV		↓*	↓*	↓*	↓*

Germinação precoce						
Espécie	Cond. Exp.	0.05%	0.5%	2%	4%	6%
<i>A. holosericea</i>	SC					
<i>B. brizantha</i>	SC					↓
	GE					
<i>G. max</i>	SC					
<i>H. annuus</i>	SC					↓*
	GE	↑				
<i>R. comunnis</i>	SC					
	CV	↑	↓*	↓	↓	↓
<i>L. leucocephala</i>	CV		↓*	↓*	↓*	↓*

Germinação tardia						
Espécie	Cond. Exp.	0.05%	0.5%	2%	4%	6%
<i>A. holosericea</i>	SC					
<i>B. brizantha</i>	SC					
	GE					
<i>G. max</i>	SC					
<i>H. annuus</i>	SC					
	GE	↓	↓			
<i>R. comunnis</i>	SC		↓*	↓*	↓*	↓*
	CV		↓*	↓*	↓*	↓*
<i>L. leucocephala</i>	CV		↓*	↓*	↓*	↓*

**Figura 57.** Efeito do óleo sobre a germinação: espécies, condições experimentais, concentração e tipos de óleo (GE = Germinador; CV = Casa de Vegetação; SC = Sala Climatizada).

	Óleo da bacia de Alagoas
	Óleo da bacia de Macaé
↑	Acréscimo significativo
↓	Decréscimo significativo

\* Ausência de germinação.

Biomassa radicular de plântulas de germinação precoce						
Espécies	Cond. Exp.	0.05%	0.5%	2%	4%	6%
<i>A. holosericea</i>	SC					
<i>B. brizantha</i>	SC					
	GE					
<i>G. max</i>	SC	↑	↑			
<i>H. annuus</i>	SC		↑	↑	↑	↓*
	GE		↓			
<i>T. granulosa</i> **	SC					
<i>R. comunnis</i>	SC					
	CV		↓*	↓	↓	↓
<i>L. leucocephala</i>	CV		↓*	↓*	↓*	↓*

Biomassa radicular de plântulas de germinação tardia						
Espécie	Cond. Exp.	0.05%	0.5%	2%	4%	6%
<i>A. holosericea</i>	SC					
<i>B. brizantha</i>	SC					
	GE					
<i>G. max</i>	SC	↓	↓			↓
<i>H. annuus</i>	SC				↑	
	GE	↑	↓			
<i>R. comunnis</i>	SC		↓*	↓*	↓*	↓*
	CV		↓*	↓*	↓*	↓*
<i>L. leucocephala</i>	CV		↓*	↓*	↓*	↓*

Biomassa aérea de plântulas de germinação precoce						
Espécie	Con. Exp.	0.05%	0.5%	2%	4%	6%
<i>A. holosericea</i>	SC					
<i>B. brizantha</i>	SC		↓	↓	↓	↓
	GE					
<i>G. max</i>	SC					
<i>H. annuus</i>	SC					↓*
	GE					
<i>R. comunnis</i>	SC					
	CV	↓	↓*	↓	↓	
<i>L. leucocephala</i>	CV		↓*	↓*	↓*	↓*

Biomassa aérea de plântulas de germinação tardia						
Espécies	Cond. Exp.	0.05%	0.5%	2%	4%	6%
<i>A. holosericea</i>	SC					
<i>B. brizantha</i>	SC					
	GE					
<i>G. max</i>	SC					
<i>H. annuus</i>	SC	↓				
	GE	↓				
<i>R. comunnis</i>	SC		↓*	↓*	↓*	↓*
	CV	↓	↓*	↓*	↓*	↓*
<i>L. leucocephala</i>	CV		↓*	↓*	↓*	↓*

**Figura 58.** Efeito do óleo sobre a biomassa: espécies, condições experimentais, concentrações e tipos de óleo (GE= Germinador; CV= Casa de Vegetação; SC= Sala Climatizada).

\* ausência de biomassa devido à ausência de germinação; \* \* Biomassa total (radicular e aérea).

Baseando-se nos dados obtidos neste estudo e na literatura foi proposta uma árvore de decisão (**Anexo I**), com recomendações das espécies testadas para auxiliar no processo de seleção, acompanhado das fichas agronômicas das espécies estudadas (**Anexo II**). Devido à extensão das tabelas, somente uma parte das análises estatísticas (Intervalos de Confiança) é apresentada no **Anexo IV**. Um levantamento bibliográfico sobre espécies vegetais com potencial para fitorremediação é apresentado no **Anexo III**.



## 11. DISCUSSÃO

**Germinação:** Com relação à germinação em sala climatizada, o girassol e a quaresmeira, foram às únicas espécies que apresentaram redução significativa na taxa de germinação total nas concentrações de óleo de 6% (girassol) e 4%-6% (quaresmeira). Duas outras espécies (braquiária e mamona) apresentaram alteração significativa no padrão de germinação (precoce/tardia) que, no entanto, não afetou a taxa total de germinação. A braquiária teve taxa reduzida de germinação precoce na concentração de 6%. A mamona apresentou ausência total de germinação tardia a partir de 0,5% de óleo. Entretanto, ambas as espécies aparentemente compensaram tais reduções com aumento da germinação tardia (no caso da braquiária) e precoce (no caso da mamona).

No estudo realizado por Smith *et al.* (2005) com oleaginosas e gramíneas, o fato da germinação não ser afetada, mas haver redução do crescimento (biomassa) mostra que somente o teste de germinação não é suficiente para assegurar o desenvolvimento das plantas em áreas contaminadas. A produção de biomassa, portanto, complementa as análises.

**Redução de biomassa:** Com relação à produção de biomassa, a acácia e a mamona foram às espécies sem nenhuma alteração significativa em nenhuma das concentrações e tecido analisado, assim como a quaresmeira (biomassa total). Braquiária, soja e girassol em sala climatizada apresentaram em pelo menos uma das concentrações testadas, queda significativa de uma das biomassas analisadas (radicular ou aérea, precoce ou tardia).

Em sala climatizada (SC), a soja foi à única espécie com redução significativa na produção de biomassa radicular (apenas em plântulas de germinação tardia). O girassol que apresentou redução de biomassa radicular (precoce e tardia) na concentração máxima testada em germinador (0.5%), não sofreu redução significativa em sala climatizada (SC) em nenhuma das concentrações. É sabido que estresse no sistema radicular pode reduzir o crescimento da parte aérea (SMITH *et al.*, 1989). Em termos de biomassa aérea, em plântulas de germinação precoce a braquiária (conc. 0,5% a 6% de óleo) e nas plântulas de germinação tardia o girassol (conc. 0,05%) foram às espécies que apresentaram redução significativa.

O comportamento do sistema radicular na presença do óleo constitui-se uma variável importante a ser considerada na seleção de espécies com potencial para fitorremediação. Quando as raízes são afetadas, todo o metabolismo da planta é comprometido, bem como a produção de biomassa e seu desenvolvimento. Hernandez-Valencia & Mager (2003) observaram que a contaminação reduziu a biomassa longitudinal da raiz da *Brachiaria brizantha*, em consequência o volume de solo sob influência da rizosfera foi reduzido assim

como a profundidade onde ocorre efetivamente a fitorremediação desta espécie (MERKL *et al.*, 2004a).

As plântulas que cresceram no substrato contaminado e tiveram suas raízes afetadas, estão de acordo com os resultados anteriormente obtidos (GILL & NYAWUAME, 2006; HERNANDEZ-VALENCIA & MAGER, 2003; PEZESHKI *et al.*, 2000; XU & JOHNSON, 1995). Alguns destes autores observaram alterações morfológicas e anatômicas na raiz de plantas cultivadas em solos contaminados, onde houve o rompimento de células radiculares e de outros órgãos vegetais, ocasionando a perda do conteúdo celular, o bloqueio dos espaços intercelulares e redução dos transportes de metabólitos assim como das taxas de respiração e de fotossíntese. Eles também observaram a presença de uma película de óleo na região cortical e da epiderme da raiz, caule e folhas, igualmente observada no presente estudo na raiz e parte aérea do girassol cultivado em solo recentemente contaminado. Segundo Hernandez-Valencia & Mager (2003) a película de óleo pode cobrir as raízes afetando a absorção de água e nutrientes (HERNANDEZ-VALENCIA & MAGER, 2003) e a redução da biomassa pode ser atribuída à quantidade reduzida de assimilados transportados pelas raízes para seu crescimento.

Aumento de biomassa: Em sala climatizada, somente as espécies oleaginosas (soja, girassol) dentre as estudadas apresentaram melhoria significativa na produção de biomassa (radicular) na presença de óleo em determinadas concentrações, a saber:

- Germinação precoce: soja (0,05 e 0,5%) e girassol (0,5, 2 e 4%) em sala climatizada;
- Germinação tardia: girassol (0,05%) em germinador e (4%) na sala climatizada;

Além disso, a mamona apresentou aumento aparente (não significativo) na produção de biomassa radicular e aérea nas concentrações intermediárias de óleo (0,05% a 2%).

Tendo em vista tais similaridades na soja, girassol e mamona formula-se as hipóteses de que (i) a absorção e acumulação de óleo (não totalmente retirados pelo processo de secagem em estufa para cálculo de massa seca) ou (ii) o estímulo do óleo sobre a produção de biomassa pode ser propriedade das espécies oleaginosas. Para testar tais hipóteses, a comparação na produção de cinzas é indicada. Quando a germinação ou a produção de biomassa em plântulas cultivadas em substrato contaminado a baixas concentrações de óleo são superiores ao controle - hipótese (ii) anterior - tal fato também pode estar relacionado às alterações que o óleo promove no solo (GILL & NYAWUAME, 2006). Entretanto, isso não explicaria porque o grupo de oleaginosas foi particularmente favorecido.

Composição e dispersão do óleo: As diferenças originais intrínsecas aos dois óleos testados, acrescidas da grande diferença em termos de idade que certamente influenciou na composição química dos mesmos resultaram no fato de que os testes em casa de vegetação (CV) com o óleo da bacia de Campos, indicaram efeito tóxico maior do que os testes em germinador

(GE) e sala climatizada (SC). Para separar o efeito tóxico distinto dos dois óleos, das condições ambientais distintas (CV versus SC), recomenda-se no futuro testar as espécies, com óleo oriundo da bacia de Campos tanto em SC quanto em CV.

Entretanto, a diferença na composição química dos óleos e a idade dos mesmos deveriam permitir inferir sobre a diferença de toxicidade sobre plantas de um derrame recente (óleo jovem) e um derrame antigo (óleo envelhecido), caso a composição do óleo AL apresentasse menos BTEXT e HPAs voláteis do que o óleo CP, o que não ocorreu.

De acordo com Henner *et al.* (1999), a fitotoxicidade das áreas contaminadas por petróleo é causada pelos compostos mais voláteis e, portanto ela é maior quanto mais recente a contaminação. A ausência da inibição da germinação durante os testes com HPAs de alto peso molecular (HENNER *et al.*, 1999) reforça tal hipótese. Li *et al.* (1997) relataram que a redução do crescimento das plantas pode ser atribuída à fitotoxicidade dos hidrocarbonetos voláteis associados a diferentes condições experimentais utilizadas, tais como solos com contaminação recente ou solos envelhecidos em recipientes abertos ou fechados (SMITH *et al.*, 2005).

Os compostos voláteis, de baixo peso molecular e de mais fácil degradação ou volatilização desaparecem em áreas contaminadas há muito tempo, e somente os fortemente adsorvidos à matéria orgânica do solo e, portanto, com baixa biodisponibilidade devem estar presentes, permitindo prever toxicidade mais baixa, particularmente nas fases iniciais de desenvolvimento da planta.

No presente estudo, entretanto, os inorgânicos em quantidades superiores no óleo de CP comparado ao óleo AL podem estar respondendo pela toxicidade superior do primeiro.

Nos experimentos realizados foram observados dois processos de dispersão do óleo na areia: (i) quando o solo estava com baixa saturação hídrica o óleo penetrava pelos poros para camadas mais profundas, (ii), entretanto, em condições próximas à saturação hídrica, o óleo tendia a permanecer nas camadas superiores, formando uma película oleosa impermeabilizante próxima à superfície do solo, que impedia a infiltração adequada da água. Ou seja, a água ficava armazenada nas camadas mais profundas do substrato, e a camada próxima à superfície e a película, onde ficam as sementes permanecia seca. Gill & Nyawuame (2006) observaram que o óleo-cru provocou um efeito coagulatório do solo, formando blocos de partículas agregadas que afetaram a drenagem de água e a difusão de oxigênio e, portanto, o desenvolvimento das plantas.

Em um experimento de germinação, Merkl *et al.* (2004b) observaram dois mecanismos: (i) infiltração rápida da água pelos macroporos tornando a camada superior seca e (ii) retenção da água na camada superficial que infiltrava lentamente para as camadas mais superiores do solo. Este segundo efeito também pode ser explicado pela maior porosidade e heterogeneidade

da estrutura do solo depois da mistura da areia com o óleo, que resulta no aumento da agregação de partículas e na capacidade de armazenar água (PRADO *et al.*, 1994).

Diversidade de comportamento das espécies: Diversidade de comportamento das espécies e dos diferentes grupos taxonômicos na presença do óleo tem sido relatada. Smith *et al.* (2005) concluíram que o crescimento de espécies de leguminosas foi mais afetado que espécies de gramíneas pela presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). No presente estudo, entretanto, a leguminosa acácia e a mamona (oleaginosa) foram às únicas espécies que não sofreram nenhuma redução significativa (germinação ou biomassa) na presença do óleo em SC onde seis espécies foram comparadas. Apesar da gramínea testada (braquiária) e outra leguminosa (soja) não terem a germinação total afetada em nenhuma das concentrações de óleo, ambas tiveram efeito sobre produção de biomassa aérea precoce (braquiária) ou biomassa radicular tardia (soja). Não houve, portanto, um comportamento típico diferenciado de gramíneas e de leguminosas. Em termos de produção de biomassa, a quaresmeira (única espécie nativa) juntamente com a mamona e a acácia foram às únicas que não sofreram redução significativa de biomassa.

A sobrevivência das espécies vegetais em solo contaminado pode ser avaliada em casa de vegetação ou em germinador. Um processo simples de seleção foi previamente descrito (KULAKOW *et al.*, 2000), onde foi verificado que a condição experimental a ser adotada para o teste, depende da espécie vegetal que será testada, bem como suas exigências quanto a temperatura, foto-período e umidade.

Segundo Kulakow *et al.* (2000), as espécies que apresentarem melhor taxa de germinação e crescimento (produção de biomassa) em solo contaminado em experimentos preliminares para determinação de fitotoxicidade podem ser consideradas potencialmente úteis para uso na fitorremediação de áreas contaminadas. No entanto, tal teste não avalia a capacidade de fitorremediação, apenas a tolerância ao contaminante. Segundo Kyle (1998) o vigor das plantas na presença do contaminante não está necessariamente relacionado à capacidade de degradação de contaminantes, embora tal vigor seja condição necessária para o estabelecimento da planta no meio a ser tratado.

O presente estudo avaliou a tolerância das espécies testadas ao óleo durante a germinação e o estabelecimento das plântulas, considerada na literatura como a fase mais crítica do desenvolvimento (HERNANDEZ-VALENCIA & MAGER 2003). Espera-se, portanto, que plantas já estabelecidas apresentem conseqüentemente, maior tolerância.

Além disto, o experimento foi conduzido utilizando areia como substrato. Sabe-se que os hidrocarbonetos de alto peso molecular ficam adsorvidos preferencialmente na matéria orgânica do solo (JONER & LEYVAL, 2001) e na argila (HAMIDI, 2000). Como estes compostos não

estão presentes na areia, pode-se afirmar que os hidrocarbonetos que não volatilizaram estavam provavelmente bio-disponíveis. Adicionalmente, a areia foi contaminada, um dia antes da semeadura, ou seja, as plantas germinaram e cresceram na presença dos voláteis que são os compostos considerados os mais tóxicos as plantas (HENNER *et al.* 1999), particularmente no experimento em casa de vegetação onde óleo jovem foi utilizado.

Na germinação precoce, a redução significativa da germinação em algumas concentrações para determinadas espécies (ex: braquiaria) e a redução da biomassa aérea (ex: braquiária), poderiam estar associadas ao efeito tóxico de voláteis no meio recém-contaminado.

Na germinação tardia, a redução significativa ou ausência germinação em algumas concentrações para determinadas espécies pode estar associada à antecipação da germinação pela presença do óleo (ex: mamona). A redução da biomassa radicular tardia (ex: soja), por outro lado, pode estar associada principalmente ao efeito tóxico mais prolongado do óleo sobre as raízes, comprometendo suas funções (absorção e transporte de assimilados).

## 12. CONCLUSÕES

O presente estudo avaliou a tolerância de seis espécies vegetais em cinco concentrações de óleo, utilizando-se três diferentes condições experimentais e dois tipos de óleo.

Observou-se que a presença de óleo, dependendo: (1) da concentração no meio, (2) do tipo de óleo e da idade do mesmo, (3) da espécie vegetal e, (4) das condições experimentais/ambientais, pode ocasionar uma gama complexa de respostas, tais como: não ter qualquer efeito, inibir totalmente, adiar, antecipar ou até aumentar a taxa de germinação e/ou a produção de biomassa radicular e/ou aérea. A complexidade das respostas observadas reforça a hipótese de que não há somente um tipo de interação óleo-solo-plantas, tampouco uma condição ideal para experimentação ou uma espécie ideal para fitorremediação cujo desempenho superior às demais justifica a sua indicação. A seleção da espécie deve ser baseada, portanto, no comportamento da mesma nas condições e características específicas da área a ser remediada, tais como tempo de contaminação (“aging”) e composição e concentração do contaminante, entre outros.

Adicionalmente, fatores tais como disponibilidade hídrica, formato do recipiente utilizado, luminosidade e radiação solar, temperatura, qualidade do lote de sementes influenciam os resultados dos testes de toxicidade. Tais fatores, entre outros, devem ser cuidadosamente considerados na fase de planejamento de um experimento ou remediação em escala de campo.

Recomenda-se, portanto, que um “screening” em condições experimentais, utilizando o solo a ser remediado, com condições experimentais mais próximas o possível da área contaminada e as espécies mais promissoras, para a seleção final da espécie recomendada.

Naturalmente, a grande gama de respostas dependendo da combinação de variáveis não elimina o fato de que algumas espécies apresentam um potencial superior a outras, quando se trata de crescer e processar contaminantes. Daí, a grande importância de se construir árvores de decisão que reduzam o número de espécies a ser testado frente a uma situação real.

A redução da taxa de germinação e da produção de biomassa em algumas espécies investigadas no presente estudo pode ser atribuída à toxicidade do óleo, mas também à deficiência hídrica provocada pela formação de uma película de óleo, como foi observado, por exemplo, no presente estudo.

Adicionalmente, diferentes espécies apresentam demandas distintas quanto às condições de clima, solo e relevo e serão recomendadas ou não, também em função do uso do solo (urbano, agrícola, industrial), da localização da área a ser remediada (próxima a centros urbanos ou a áreas de proteção ambiental), o que pode determinar maior ou menor urgência. Por

exemplo, em um sítio contaminado próximo a uma área de proteção ambiental, o uso de espécies exóticas agressivas não é recomendado, devido ao risco de comprometer a biodiversidade nativa. Nesse caso, uma espécie como a quaresmeira de crescimento lento (nativa de Mata Atlântica), apesar da toxicidade do óleo na fase germinativa, poderia crescer em solo limpo e ser transplantada, já que sua biomassa não é afetada, segundo resultados do presente estudo. Igualmente, uma área que necessite sofrer um processo de remediação rápida – devido ao fato de estar próximo a centros urbanos, com riscos para a saúde humana - necessita de espécies com germinação precoce e crescimento de biomassa rápido. Tal estratégia objetiva acelerar o processo de remediação e nesses casos, plantas cultivadas melhoradas geneticamente (exóticas ou não) são as mais adequadas, tais como soja e girassol.

Observou-se no presente estudo que a incidência de fungos em sementes correlaciona-se positivamente com o aumento das concentrações de petróleo, o que está de acordo com dados da literatura que descrevem a capacidade de degradação de hidrocarbonetos apresentada por vários gêneros e espécies de fungo.

Uma vez que a tolerância ao contaminante na fase de germinação e produção inicial de biomassa não está obrigatoriamente relacionada à capacidade de degradação do mesmo, estudos adicionais devem ser realizados para avaliação do potencial de rizodegradação, fitoextração, fitoacumulação, fitodegradação e fitovolatilização das respectivas espécies durante todo o ciclo de desenvolvimento da planta.

São necessários mais estudos para avaliar os efeitos específicos dos óleos nos processos vegetais, bem como as diferenças de resposta da vegetação exposta ao óleo, saudáveis ou estressadas por outros fatores, como inundações, salinidade e deficiências nutricionais para melhor entendimento dos efeitos sinérgicos.

A partir dos testes realizados em sala climatizada (onde seis espécies foram submetidas às mesmas condições experimentais), o desempenho das espécies pode ser analisado com base nos seguintes critérios: 1º) ausência total de efeito do óleo sobre qualquer variável; 2º) ausência de redução da germinação total; 3º) ausência de redução da biomassa radicular; 4º) ausência de redução da biomassa aérea. Os melhores desempenhos obtidos foram na seguinte ordem: 1ª) acácia, 2ª) soja e braquiária; 3ª) mamona; 4º) girassol; 5º) quaresmeira.

### 13. PERSPECTIVAS E AÇÕES FUTURAS

A maioria dos estudos sobre a fitorremediação e experimentos de campo foram conduzidos até o presente momento em condições de clima temperado, com espécies que se adaptam a tais condições. Pouco se sabe sobre a capacidade fitorremediadora de espécies que se adaptam às condições tropicais e subtropicais, respostas de tolerância de espécies nativas na presença de contaminantes passíveis de remoção ou degradação através da fitorremediação, bem como os efeitos dos diferentes tipos de óleo. Igualmente, pouco se conhece a respeito da interação dos microorganismos da rizosfera, planta e solos tropicais contaminados por hidrocarbonetos de petróleo, ou outros contaminantes orgânicos.

Em seqüência ao estudo de tolerância aqui apresentado que é parte integrante do projeto de pesquisa da UERJ financiado pelo CNPq/CTPetro (*Biorremediação e fitorremediação de solos contaminados com Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos*), novos experimentos instalados em casa de vegetação, investigam a capacidade fitorremediadora de duas espécies selecionadas, dentre as testadas (*Brachiaria brizantha* e *Glycine max*) durante o ciclo de vida da planta. Nessa nova fase, estão sendo analisados os TPHs e os HPAs em solo contaminado, e variáveis biométricas (área foliar, biomassa radicular, aérea, entre outros) que evidenciam eventuais alterações no metabolismo vegetal na presença do óleo.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMOWICZ, D.A. Aerobic and anaerobic biodegradation of PCBs: a review. **Crit. Rev. Biotechnol.** v.10, n.3, p. 241-251, 1990.

ALCÂNTARA, P.B. & BUFARAH, G. **Plantas Forrageiras: gramíneas e leguminosas.** 4ª ed.rev. e ampliada. São Paulo, Nobel, 1988, 162p.

ALEXANDER, M. **Introduction to Soil Microbiology.** Ed. Jonh Wiley, New York, 2ª ed., pp. 423-437, 1977.

AMIR, S., HAFIDI, M., MERLINA, G., HAMDI, H., REVEL, J.C. Fate of polycyclic aromatic hydrocarbons during composting of lagooning sewage sludge. **Chemosphere**, v. 58, p.449-458, 2005.

ANDERSON, T.A., GUTHRIE E.A., WALTON B.T. Bioremediation in the rhizosphere: plant roots and associated microbes clean contaminated soil, **Environ. Sci. Technol.** n. 27, p. 2630–2636, 1993.

ANDRADE, J.C.M.E.; MAHLER, C.F. Soil Phytoremediation. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON ENVIRONMENTAL GEOTECHNICS, Rio de Janeiro. v. 2, p. 875-881, 2002.

ANKLEY, G. T., COLLYARD, S. A., MONSON, P. D., AND KOSIAN, P. A. Influence of ultraviolet light on the toxicity of sediment contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 13, p. 1791-1796, 1994.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Portaria nº 322, de 28 de julho de 1997 Disponível em < <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=293>> Acesso em 16 de junho de 2006.

API – AMERICAN PETROLEUM INSTITUTE. Disponível em: <[www.api.org](http://www.api.org)> Acesso em 24 de maio de 2006.

APRILL, W.; SIMS, R.C. Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment soils. **Chemosphere**, n. 20, p. 253-265, 1990.

ATLAS, R.M. Petroleum biodegradation and oil spill bioremediation. **Marine Pollution Bulletin**, v.31, p.178-182, 1995.

ATLAS, R.M.; BARTHA, R. Hydrocarbon biodegradation and oil spill bioremediation. **Advances in Microbial Ecology**, v.12, p.287-338, 1992.

ATLAS, R.M. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. **Microbiology Reviews**, v.45, p.180-209, 1981.

ATSDR - AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Total petroleum hydrocarbons**. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles>> Acesso em: 25 fev 2006.

BAKER, J. M. The effect of oils on plants. **Environ. Pollut.** v. 1, p. 27-44, 1970.

BANERJEE, D. K.; FEDORAK, P.M.; HASHIMOTO, A.; MASLIYAH, J.H.; PICKARD, M.A.; GRAY, M.R. Monitoring the biological treatment of anthracene-contaminated soil in a rotating-drum bioreactor. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 43, p. 521-528, 1995.

BARBER, D.A.; MARTIN, J.K. The release of organic substances by cereal roots into the soil. **New Phytol.**, v. 76, p. 68, 1976.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

BOS, R. P., THEUWS, J.L.G., LEIJDEKKERS, C.M., HENDERSON, P.T. The presence of the mutagenic polycyclic aromatic hydrocarbons benzo[a]pyrene and benz[a]anthracene in creosote. **P1. Mutat. Res.**, v.130, p. 153-158, 1984.

BOSSERT, I. D & BARTHA, R. Structure biodegradability relationships of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, v.37, p. 490-495, 1986.

BOSSERT, I., AND R. BARTHA. Plant growth on soils with a history of oily sludge disposal. **Soil Sci.**, v.140, n.1, 75-77, 1985.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.

BRAUNACK, M. V.; DEXTER, A. R. Soil aggregation in the seedbed: a review. II. Effect of aggregate sizes on plant growth. *Soil & Tillage Research*, Amsterdam, v. 14, p. 281-298. 1989.

BURKEN, J.G., SCHONOR, J.L. Phytoremediation: plant uptake of atrazine and role of plant exudates. **J. Environ. Eng.**, v. 122, n. 11, p. 958-963, 1996.

CASTILHO, A.M.C. Isolamento e seleção de micoparasitas de substrato contendo petróleo. Relatório de atividades para a UERJ, n. 1, 2006, 10 pp.

CARR, R.H. Vegetative growth in soils containing crude petroleum. **Soil Sci.**, v.8, p.67, 1919.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588p.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Solo. Disponível em:<[http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areas\\_contaminadas/relacao\\_areas.asp](http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areas_contaminadas/relacao_areas.asp)> Acesso em 16 de maio de 2006.

CHANEAU C.H., MOREL J.L., OUDOT J. Biodegradation of fuel oil hydrocarbons in the rhizosphere of maize. **Journal of Environmental Quality**, v.29, p.569–578, 2000.

CHANEAU, C.H., MOREL, J.L., OUDOT, J. Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. **Journal of Environmental Quality**, v.26, p.1478-1483, 1997.

CHURCHILL, S.A.; GRIFFIN, L.P.; JONES, L.P.; CHURCHILL, P.F. Biodegradation rate enhancement of hydrocarbons by an oleophilic fertilizer and rhamnolipid biosurfactant. **Journal of Environmental Quality**, v.24, p.19-28, 1995.

COOKSON, J.T. **Bioremediation Engineering: Design and Application**. McGraw Hill, New York, 1995.

COUTINHO, H. L.C. Avaliação da Biodiversidade do Solo através de Exame de DNA. Disponível em: < <http://www.cnps.embrapa.br/search/pesqs/tema2/tema2.html>> Data de publicação no site: 18/03/1999, acesso em 9 de set. de 2005.

CUNNINGHAM, S.D., ANDERSON, T.A., SCHWAB, P.A., HSU, F.C. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Adv. Agron.** v.56, p.55–114, 1996.

CURY, J.C. **Atividade microbiana e diversidades metabólica e genética em solos de mangue contaminado com petróleo**. Piracicaba, Dissertação de Mestrado ESALQ/USP, 2002, 84 p.

DENEF, K.; SIX, J.; BOSSUYT, H.; FREY, S.D.; ELLIOTT, E.T.; MERCKX, R.; PAUSTIAN, K. Influence of dry-wet cycles on the interrelationship between aggregate, particulate organic matter, and microbial community dynamics. **Soil Biology Biochemistry**, v. 33, p.1599-1611, 2001.

DIAS, L. E. et al. The use of nitrogen-fixing trees to revegetate bauxite and gold mined areas in the tropics: "Can trees substitute topsoil return?" In: BEIJING INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON LAND RECLAMATION (ISLR), 1999, Beijing. **Proceedings...** Beijing: China Coal Industry Publishing House, 1999. p. 317-325.

DINARDI, A.L.; FORMAGI, V.M.; CONEGLIAN, C.M.R.; BRITO, N.N.; SOBRINHO, G.D.; TONSO, S.; PELEGRINI, R. **Fitorremediação**. Em <<http://www.ceset.unicamp.br/lte/Artigos/3fec2407.pdf>> Acesso em 20 de set. de 2005.

DOMINGUEZ-ROSADO, E.; PICHTEL, J.; COUGHLIN, M. Phytoremediation of soil contaminated with used motor oil: I. enhanced microbial activities from laboratory and growth chamber studies. **Environmental engineering science**, v. 21, n<sup>o</sup>2, 2004a.

DOMINGUEZ-ROSADO, E.; PICHTEL, J. Phytoremediation of Soil Contaminated with Used Motor Oil: II. Greenhouse Studies. **Environmental Engineering Science**, v.21, n.2, 2004b

DONNELLY, J.R. & BETOWSKI, L.D. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Determination. **Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation**. MEYERS, R. (Ed.) NY - Willey & Sons, v. 6, p. 3831-3837, 1998.

DONNELLY, P.K.; HEDGE, R.S.; FLETCHER, J.S. Growth of PCB-degradin bacteria on compounds from photosynthetic plantas. **Chemosphere**, v.28, n.5, p. 981-988, 1994.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. 412 p.

EPA - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Introduction to phytoremediation. Disponível em <<http://www.clu-in.org/download/remed/introphyto.pdf>> Data de publicação no site: fev. de 2000, acesso em 13 de fev. de 2005.

FENNER, A.H.; KITAJIMA, K. Seed and seedling ecology. In: **Handbook of Functional Plant ecology**, PUGNAIRE, F.I.; VALLADARES, F. Eds. Marcel Dekker Inc. New York, p.589-621, 1999.

FERRO, A.M.; SIMS, R.C.; BUGBEE, B. Hycrest crested wheatgrass accelerates the degradation of pentachlorophenol in soil. **J. Environ. Qual.**, v.23, p. 272-281, 1994.

FIELD, J.A., THURMAN, E.M. Glutathione conjugation and contaminant transformation. **Envir. Sci. Technol.**, v.30, n. 5, p. 1413-1418, 1996.

FLATHMAN P.E., LANZA G.R. Phytoremediation: Current views on an emerging green technology. **J. Soil Contam.**, v.7, p. 415–432, 1998.

FLETCHER, J.S. Rhizosphere remediation of recalcitrant soil contaminants: an important component of long-term sustained biosystem treatment. In: State of the Science Conference. US Environmental Protection Agency report EPA/625/R-01/ 011b, held May 1-2, 2000, Boston, Massachusetts, pp. 139-147

FLETCHER, J.S.; HEGDE, R.S. Release of phenols by perennial plant roots and their potencial importance in bioremediation. **Chemosphere**, v. 31, n.4, p.3009-3016, 1995

FRANCO, A. A.; DIAS, L. E.; FARIA, S. M. Uso de leguminosas florestais noduladas e micorrizadas como agentes de recuperação e manutenção da vida do solo: um modelo tecnológico. In: SIMPÓSIO SOBRE ESTRUTURA, FUNCIONAMENTO E MANEJO DE ECOSISTEMAS, 1992, Rio de Janeiro. **Resumos...** Rio de Janeiro: UFRJ - Inst. de Biologia, 1992. p. 93.

FRANKENBERGER, W. T. The need for laboratory feasibility study in bioremediation of petroleum hydrocarbons. In: CALABRESE, E.; KOSTECKI, P. (Eds.). **Hydrocarbon contaminated soils and groundwater**. Chelsea, MI: LewisPublishers, v. 2, p. 237-293, 1992.

FRANZLUEBBERS, A. J. Soil organic matter stratification ratio as an indicator of soil quality. **Soil & Tillage Research**, v. 66, p. 95-106, 2002.

FREEZE, R.A. E CHERRY, J.A. **Groundwater**. Prentice Hall, 1979, 604 pp.

GALLEGOS MARTIJEZ, M., GOMEZ SANTOS, A., GONZALEZ CRUZ, L., MONTES DE OCA GARDA, M. A., YANEZ TRUJILLO, L., ZERMENO EGUIA LIZ, J. A., GUTIERREZ-ROJAS, M. Diagnostic and resulting approaches to restore petroleum-contaminated soil in a Mexican tropical swamp. **Wat. Sci. Tech.**, v. 42, p. 377-384, 2000.

GESAMP - Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution. **Review of Potentially Harmfull substances: Carcinogens**. Rep. Stud. GESAMP, n. 46, 1991, 56p.

GIBSON, D. T.; SUBRAMANIAN, V. Microbial degradation of aromatic hydrocarbons. Em GIBSON, D. T. (ed.). **Microbial degradation of organic compounds**. Marcel Dekker, New York, p. 181-252, 1984.

GILL, L.S.; NYAWUAME, H.G.K. Effect of crude oil on the growth and anatomical features of *Chromolaena odorata* (L.) K. & R. Em <<http://www.ehs.cdu.edu.au/chromolaena/pubs/oil.html>> Acesso em 03 de maio de 2006.

GIORDANI, C.; CECCHI, S.; ZANCHI, C. Phytoremediation of soil polluted by nickel using agricultural crops. **Environ Manage** n.36, v.5, p. 675-81, 2005.

GLASER, J.A. **Nutrient enhanced bioremediation of oil contaminated shoreline: the Valdez experience.** In: **On site Remediation Processes of Xenobiotic and Hydrocarbon Treatment.** HINCHEE, R.E.; OFFENBUTTEL, R.F. Ed. Butterworth-Heinemann, Stoneham, Massachusetts, pp. 366-384, 1991.

GÓES, R. C. S. **Toxicologia industrial:** um guia prático para prevenção e primeiros socorros. Rio de Janeiro, Revinter, 1997.

GRAMSS G.; RUDESCHKO O. Activities of oxidoreductase enzymes in tissue extracts and sterile root exudates of three crop plants, and some properties of the peroxidase component. **New Phytol.**, n. 138, p. 401–409, 1998.

GÜNTHER T.; DORNBERGER U.; FRITSCH W. Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil. **Chemosphere**, n. 33, p. 203–215, 1996.

GUSTAFSON, J. B.; TELL, J. G.; OREM, D. **Selection of representative TPH fractions based on fate and transport considerations.** Amherst, Massachusetts, Amherst Scientific, v.3, 1997.

HAMIDI, A. **Groundwater and Surface Water Pollution e Subsurface Site Investigation in Groundwater and Surface Water Pollution.** Eds. DAVID H.F. LIU & BÉLA G. LIPTÁK. Lewis Publishers, U.S.A., 2000, 150 pp.

HANS-HOLGER, L.; ALEXANDER, M. Rapid screening of plants promoting phenanthrene degradation. **Journal of Environmental Quality**, v.28, n.4, p.1376-1377, 1999.

HATZINGER P.B., ALEXANDER M. Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and extractability. **Environ. Sci. Technol.**, n.29, p.537–545, 1995.

HEINONSALO J.; JORGENSEN K.S.; HAAHTELA K.; SEN R. Effects of *Pinus sylvestris* root growth and mycorrhizosphere development on bacterial carbon source utilization and hydrocarbon oxidation in forest and petroleum-contaminated soils. **J. Microbiol.**, n. 46, p. 451–464, 2000.

HEITKAMP, M. A. & CERNIGLIA, C.E. The effects of chemical structure and exposure on the microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in freshwater and estuarine ecosystems. **Environ. Toxicol. Chem.**, n.6, p. 535-546, 1987.

HERNANDEZ-VAENCIA, I.; MAGER, D. Uso de *Panicum maximum* Y *Brachiaria brizantha* para fitorremediar suelos contaminados con un crudo de petróleo liviano. **Biagro**, n.15, v. 3, p. 149-155, 2003.

HENNER, P.; SCHIAVON, M.; DRUELLE, V.; LICHTFOUSE, E. Phytotoxicity of ancient gaswork soils. Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons (HPAs) on plant germination. **Organic Geochemistry**, n. 30, p. 963-969, 1999.

HSU T.S.; BARTHA R. Accelerated mineralization of two organophosphate insecticides in the rhizosphere. **Appl. Environ. Microbiol.**, n. 37, p. 36–41, 1979.

HUANG, X.-D., DIXON, D. G., AND GREENBERG, B. M. Impacts of UV radiation and photomodification on the toxicity of HPAs to the plant *Lemna gibba* (duckweed). **Environ. Toxicol. Chem.**, n. 12, p. 1067–1077, 1993.

HUTCHINSON, S.L., SCHWAB, A.P., BANKSA, M.K. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in the rhizosphere. In: MCCUTCHEON, S.C. e SCHONNOOR, J.L. **Phytoremediation**. John Wiley & Sons, New Jersey, 2003, p. 355.

HUTCHINSON, S.L.; BANKS, M.K.; SCHWAB, A.P. Phytoremediation of aged petroleum sludge: impact of inorganic fertilizer. **J. Environ. Qual.**, n.30, p. 395-403, 2001.

IPEF – Instituto de Pesquisa e estudos florestais. Fatores Externos (ambientais) que Influenciam na Germinação de Sementes. Disponível em: < <http://www.ipef.br/tecsementes/germinacao.asp>> Acesso em 11 de mai de 2006.

IPIECA. International Petroleum Industry Environmental Conservation Association. **Guia de Planificación para Contingencias de Derrames de Hidrocarburos en el Agua**. Disponível em: < [www.iecea.org](http://www.iecea.org)> Acesso em 11 de mai de 2006.



JONER E.J.; LEYVAL C. Influence of arbuscular mycorrhiza on clover and ryegrass grown together in a soil spiked with polycyclic aromatic hydrocarbons. **Mycorrhiza**, n.10, p. 155-159, 2001.

KEMPER, W. D.; ROSENAU, R. C. Aggregate stability and size distribution. In: KLUTE, A. (Ed.) **Methods of soil analysis**. Madison, WI: Soil Science Society of America, p. 425-442, 1986.

KNOX, R.C., SABATINI, D.A E CANTER, L.W. **Subsurface Transport and Fate Processes**. Lewis Publishers. Florida, USA, 1993, 430 pp.

KULAKOW, P.A.; SCHUAB, A.P.; BANKS, M.K. Sreening plant species for growth on weathred sediments contaminated with petroleum hydrocarbons. **Int. J. Phytoremed.**, n.2, v.4, p. 297-317, 2000.

KYLE, W.A. **Heritability of the alfafa cultivar Riley for the enhanced bioremediation of crude oil contaminated soil**. Manhattan, Dissertação de mestrado, Dept. of Agron., Kansas State University, 1998.

LEAHY, J.G.; COLWELL, R.R. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. **Microbiology Reviews**, n.3, v. 54, p. 305-315, 1990.

LEE, E. **The fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rizosphere of *Festuca arundinacea***. Manhattan, Dissertação de Pós-Doutorado, Dept. of Civil Engineering, Kansas State University, 1996.

LI, X.; FENG, Y.; SAWATSKY, N. Importance of soil water relations in assessing the endpoint of bioremediated soils. **Plant and Soil**, n. 192, p. 219-226, 1997.

LIN, Q.X.; MENDELSSOHN, I.A. The combined effects of phytoremediation and biostimulation in enhancing habitat restoration and oil degradation of petroleum contaminated wetlands. **Ecol. Eng.**, n. 10, p. 263-274, 1998.

LOPES, B. C. Laboratório de anatomia vegetal do Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, RJ. Comunicação verbal, 2006.

LUCCA, A.; REIS, M.S. Considerações sobre a influência do potencial hídrico e do condicionamento osmótico na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Informativo Abrates**, v.5, p.42-50, 1995.

MAHRO, B.G.; SCHAEFER, G.; KASTNER, M. Pathways of microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon in soil. In: **Bioremediation of Chlorinated and Aromatic Hydrocarbon Compound**. HINCHEE, R.E.; LEESON, A.; SEMPRINI, L.; ONG, S.K. Ed. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, pp. 203-217, 1994.

MARY, B.; RECOUS, S.; DARWIS, D.; ROBIN, D. Interaction between decomposition of plant residues and nitrogen and nitrogen cycling in soil. **Plant Soil**, n. 181, p.71-82, 1996.

MARCOS FILHO, J. Germinação de sementes. In: SEMANA DE ATUALIZAÇÃO EM PRODUÇÃO DE SEMENTES, 1. Piracicaba. **Trabalhos apresentados...** Campinas, Fundação Cargill, p.11-39, 1986.

MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S. M.; SILVA, W. R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba, FEALQ, 1987. 230 p.

MATTNEY COLE, G. **Assessment and Remediation of Petroleum Contaminated Sites**. Lewis Publishers, 1994, 360 pp.

MCCARTY, P.L. Bioengineering issues related to in situ remediation of contaminated soils groundwater. In: **Environmental Biotechnology**. OMENN, G.S. Ed. Plenum Press, New York, pp.143-162, 1987.

MCCUTCHEON, S.C. e SCHONOR, J.L. **Phytoremediation**. Published by John Wiley & Sons, New Jersey, p. 355, 2003.

MEHARG, A.; CAIRNEY, A. Ectomycorrhizas-extending the capabilities of rhizosphere remediation. **Soil Biol. Biochem.**, v. 32, p. 1475-1484, 2000.

MELO, I.S. **Biodegradação**. Jaguariúna, EMBRAPA Meio Ambiente, 2001.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; ARIAS, M. Influence of fertiliser levels on phytoremediation of crude oil with the tropical pasture grass *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf. **Int. J. Phytoremediat.** Impresso, 2005.

MERKL, N., SCHULTZE-KRAFT, R., INFANTE, C. Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils. **Water Air Soil Pollut.**, v. 165, Impresso, 2004a

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Phytoremediation in the tropics – The effect of Crude Oil on the Growth of Tropical Plants. **Bioremediation Journal**, v.8, p.177-184, 2004b

MICHELSEN A., SCHMIDT I.K., JONASSON S., QUARMBY C., SLEEP D. Leaf  $^{15}\text{N}$  abundance of subarctic plants provides field evidence that ericoid, ectomycorrhizal and non- and arbuscular mycorrhizal species access different sources of soil nitrogen. **Oecologia**, n. 105, p. 53–63, 1996.

MMA. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. Microrganismos e Biodiversidade de solos. Disponível em < <http://www.mma.gov.br/port/sbf/chm/doc/gtt10.pdf>> Acesso em 06 de setembro de 2005.

MORENO, F.N.; CORSEUIL, H.X. Fitorremediação de aquíferos contaminados por gasolina. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.6, n.1, 2001.

NEWSTED, J. L.; AND GIESY, J. P. Predictive models for photoinduced acute toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to *Daphnia magna*, Strauss (cladocera, Crustacea). **Environ. Toxicol. Chem.**, n. 6, p. 445–461, 1987.

NICOLOTTI G.; EGLI S. Soil contamination by crude oil: impact of the mycorrhizosphere and the revegetation potential of forest trees. **Environ. Pollut.**, n. 99, p. 37–43, 1998.

NORRIS, R. D. **Handbook of bioremediation**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1993. 257 p.

NOVEMBRE, A. D. L. C. **Estudo da metodologia para a condução do teste de germinação em sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) deslintadas mecanicamente.** Piracicaba, Tese de Doutorado em Agronomia, ESALQ/USP, 1994, 133 p.

NOVOTNY, C., ERBANOVA, P., CAJTHAML, T., ROTHSCHILD, N., DOSORETZ, C., SASEK, V. *Irpex lacteus*, a white-rot fungus applicable to water and soil bioremediation. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, n. 54, p. 850-853, 2000.

NULTSCH, W. **Botânica geral.** trad. Paulo Luiz de Oliveira. 10 ed. Porto Alegre, Artes Médicas Sul, 2000, 489pp.

O BRIEN M.J.P.; O BRIEN C.M. **Ecologia e modelamento de florestas tropicais.** Belém, FCPA, 1995.

ORIS, J. T.; GIESY, J. P. The photoinduced toxicity of anthracene to juvenile sunfish (*Lepomis* spp). **Aquatic Toxicol.**, n.6, p. 133–146, 1985.

OUDOT, J.; MERLIN, F.X.; PINVIDIC, P. Weathering rates of oil components in a bioremediation experiment in estuarine sediments. **Marine Environ. Res.**, v. 45, n. 2, p. 113-125, 1998.

PATIN, S.A. **Pollution and Biological Resources of the Oceans.** Butterworth Scientific, London, 1982, 287 pp.

PEDROZZO, M.F.M.; BARBOSA, E.M.; CORSEUIL, H.X.; SCHNEIDER, M.R.; LINHARES, M.M. **Ecotoxicologia e avaliação de risco do petróleo.** Salvador: Centro de Recursos Ambientais. Série Cadernos de Referência Ambiental, v.12, 2002, 246 p.

PEREIRA, L.T.C.P; LEMOS, J.L.S. Degradação de hidrocarbonetos de petróleo por *Aspergillus niger* e *Penicillium corylophilum*. Em: [http://www.cetem.gov.br/publicacao/serie\\_anais\\_XII\\_jic\\_2004/22Artigo%20JIC%202004%20Lucas%20Tupi%20e%20Judith%20Liliana.pdf](http://www.cetem.gov.br/publicacao/serie_anais_XII_jic_2004/22Artigo%20JIC%202004%20Lucas%20Tupi%20e%20Judith%20Liliana.pdf) Acesso em 4 de maio de 2006.

PETROBRAS - PETRÓLEO BRASILEIRO. Assessoria de Saúde Ocupacional do Serviço de Recursos Humanos. **Exposições ocupacionais a agentes potencialmente perigosos na**

**indústria do petróleo.** Rio de Janeiro: PETROBRAS/ SEREC/ASSAO, 1994. (Tema de saúde ocupacional, n. 25/94).

PEZESHKI, S. R.; HESTER, W.; LIN, Q.; NYMAN, J. A. The effects of oil spill and clean-up on dominant US Gulf coast marsh macrophytes: a review. **Environ. Poll.**, v. 108, p. 129-139, 2000.

PHYTOPET Database. Disponível em < [www.phytopet.usask.ca](http://www.phytopet.usask.ca) > Acesso em 7 de jun de 2005.

PLETSCH, M., CHARLWOOD, B.V., ARAUJO, B.S. Fitorremediação de águas e solos poluídos. **Revista de Biotecnologia**, v.11, 2000.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente.** Brasília, AGIPLAN, 1977. 289 p.

PONS, A.M.A.; OLIVEIRA, I.V.; ROSA, L.S.; COSTA, M.A.G.; CRUZ, A.S. Derramamentos de petróleo e conseqüências para o meio ambiente. Disponível em: < [http://www.arvore.com.br/artigos/htm\\_2003/ar1407\\_1.htm](http://www.arvore.com.br/artigos/htm_2003/ar1407_1.htm) >. Acesso em 04 de outubro de 2005.

POTTER T. L.; SIMMONS K. E. **Composition of petroleum mixtures.** Amherst, Massachusetts: Amherst Scientific, (Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series, v. 2), 1998.

PRADHAN S.P.; CONRAD J.R.; PATEREK J.R.; SRIVASTAVA V.J. Potential of phytoremediation for treatment of HPAs in soil at MGP sites. **J. Soil Contam.**, v. 7, p. 467–480, 1998.

PRADO, A.M.; LOPEZ, M. S.; BOISSIERE, J. Recuperacion de suelos contaminados por hidrocarburos mediante el uso de leguminosas inoculadas. **Vision Tecnológica**, v. 1, n.2, p. 22-29, 1994.

RASIAH, V.; VORONEY, R.P.; KACHANOSKI, R.G. Biodegradation of oily waste as influenced by nitrogen forms and sources. **Water, Air Soil Pollut.**, v.65, p. 143-151, 1992.

REICHARDT, K. **Processos de transferência no sistema solo-planta-atmosfera.** Piracicaba, Fundação Cargill, 4ª ed., 1985. 422 p.

REID, B. J.; JONES, K. C.; SEMPLE, K. T. Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments: a perspective on mechanisms, consequences and assessment. **Environ. Pollut.**, v. 108, p. 103-112, 2000.

REILLEY, K.; BANKS, M.K.; SCHWAB, A.P. Dissipation of polynuclear aromatic hydrocarbons in the rizosphere. **J Environ.Qual.**, v. 25, p. 212-219, 1996.

REIS, J. C. **Environmental Controfin Petroleum Engineering**. Gulf Publ., Houston, TX, 1996.

REN, L.; ZEILER, L.F.; DIXON, G.; GREENBERG, B.M. Photoinduced effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on *Brassica napus* (Canola) during germination and early seedling development. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 33, p. 73-80, 1996.

REN, L.; HUANG, X.-D.; MCCONKEY, B. J.; DIXON, D. G.; GREENBERG, B. M. Photoinduced toxicity of three polycyclic aromatic hydrocarbons (fluoranthene, pyrene, and naphthalene) to the duckweed *Lemna gibba* L. G-3. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 28, p. 160–171, 1994.

ROBSON, D.B.; GERMIDA, J.J.; FARREL, R.E.; KNIGHT, J.D. Hydrocarbon tolerance correlates with seed mass and relative growth rate. **Bioremediation Journal**, v. 8, p. 185-199, 2004.

ROMEIRO, S.; LAGÔA, A.M.M.A.; FURLANI, P.R.; ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; PEREIRA, F.F. Fitorremediação: Avaliação do potencial de *Ricinus comunnis* L.(mamona) e de *Helianthus annus* L. (girassol) na fitoextração de chumbo. Campinas, Tese de Mestrado, IAC, 2005.

ROOCKWOOD, D.L.; CARTER, D.R.; MA,L.;TU,C; ALKER, G.R. Phytoremediation of contaminated sites using wood biomass. **Florida Center for solid and hazardous waste management**. Gainesville, Fl, p. 67-78, 2001.

ROSATO, Y. B. Biodegradação do petróleo. In: **Microbiologia ambiental**. MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. Jaguariúna, EMBRAPA/CNPMA, p. 308-334, 1997.

ROVIRA, A.D.; FOSTER, R.C.; MARTIN, J.K. Origin, nature and nomenclature of the organic materials in the rizosphere. In: **The root-soil interface**. HARLEY, J.L.; RUSSEL, R.S. (Eds). Academic Press, London, p. 1-4, 1979.

SALERNO, A.R.; VETTERLE, C.P.; DESCHAMPS, F.C.; FREITAS, E.A.G. **Gramíneas forrageiras estivais perenes no Baixo Vale do Itajaí**. Florianópolis, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Santa Catarina, Boletim Técnico n. 49, 1990.

SALT, D.E.; SMITH, R.D.; RASKIN, I. Phytoremediation. **Plant Molec. Biol.**, v. 49, p. 643-668, 1998.

SALZER P., CORBIERE H., BOLLER T. Hydrogen peroxide accumulation in *Medicago truncatula* roots colonized by the arbuscular mycorrhiza- forming fungus *Glomus intraradices*. **Planta**, v. 208, p. 319–325, 1999.

SCHNOOR, J.L.; LICHT, L.A.; MCCUTCHEON, S.C.; WOLFE, L.N.; CARREIRA, L.H. Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. **Environ. Sci. And Technol.**, v.29, n.7, p. 318-23A, 1995.

SCHWAB, A.P.; BANKS, M.K.; ARUNUCHALAM, M. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in rizosphere soil. In: **Bioremediation of Recalcitrant Organics**. HINCHEE, R.E.; HOEPEL, R.H.; ANDERSON, D.B. Ed. Battelle Press, Columbus, Ohio, p. 23-29, 1995.

SCHWAB A.P., BANKS M.K. Biologically mediated dissipation of polyaromatic hydrocarbons in the root zone. In: **Bioremediation through rhizosphere technology**. ANDERSON T.A.; COATS J.R. (Eds.). Washington, American Chemical Society, p. 132–141, 1994.

SENESI, N. Organic Pollutant Migration in soils as affected by soil Organic Matter. Molecular and Mechanistic Aspects. In: **Migration and Fate of Pollutants in Soils and Subsoils**. DOMENICO, P.; FRIEDRICH, G.; HELFFERICH, N. (Eds). Berlin, Ecological Sciences, v. 32, p. 47-74, 1993.

SHUTTLEWORTH, K. L.; CERNIGLIA, C.E. Environmental aspects of HPA biodegradation. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, v. 54, p.291-302, 1995.

SICILIANO S.D.; GREER C.W. Plant-bacterial combinations to phytoremediate soil contaminated with high concentrations of 2,4,6- trinitrotoluene. **J. Environ. Qual.**, v. 29, p. 311–316, 2000.

SILVA, J.J.L.S. **Fitorremediação: Processos e Aplicações**. Rio de Janeiro, Monografia de Especialização em Engenharia Sanitária e Ambiental, DESMA/ UERJ, 2005. 68p.

SLOAN, N.A. Oil impacts on cold-water marine resources: a review relevant to Parks Canada's evolving marine mandate. Em: <[http://parkscanada.pch.gc.ca/library/Download/Documents/DocumentsArchive/occasional\\_paper11\\_e.PDF](http://parkscanada.pch.gc.ca/library/Download/Documents/DocumentsArchive/occasional_paper11_e.PDF)> Acesso em: 6 de setembro de 2005.

SMITH, M.J.; FLOWERS, T.H.; DUNCAN, H.J.; ALDER, J. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on germination and subsequent growth of grasses and legumes in freshly contaminated soil with aged PAHs residues. **Environmental Pollution**, n. 28, p. 1-7, 2005.

SMITH S.E.; READ D.J. **Mycorrhizal symbiosis**. San Diego, Academic Press, 1997, 605 p.

SMITH, B.; STACHOWISK, M.; VOLKENBURGH, E. Cellular processes limiting leaf growth in plants under hypoxic root stress. **J. Exptl. Bot.**, v. 40, p. 89-94, 1989.

SMRECZAK, B.; MALISZEWSKA-KORDYBACH, B. Seeds germination and root growth of selected plants in PAH contaminated soil. **Fresenius Environmental Bulletin**, n. 12, p. 946-949, 2003.

SPOSITO, G. **The chemistry of soils**. New York: Oxford University Press, 1989, 234 p.

STEGMANN, R.; BRUNNER, G.; CALMANO, W.; MATZ, W. **Treatment of contaminated soil: fundamentals, analysis, applications**. Springer, Berlin Heidelberg New York, 2001.

SUTHERLAND, J.B., RAFII, F., KHAN, A.A., CERNIGLIA, C.E. Mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbon degradation. In: **Microbial Transformation and degradation of toxic**



**organic chemicals.** YOUNG, L.Y. e CERNIGLIA, C.E. (Eds). Wiley-Liss, New York, p. 269-306, 1995.

TAVARES, S.R.L.; MAHLER, C.F; BARBOSA, M.C. Uso de leguminosas arbóreas de rápido crescimento para fitorremediação de hidrocarbonetos de petróleo. In: XXX CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO. Recife, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 1, p. 4-4, 2005.

THOMAS, J. E. (organizador). **Fundamentos de engenharia de petróleo.** Rio de Janeiro, Interciência, PETROBRAS, 2º ed., 2004.

UDO, E.J.; FAYEMI, A.A.A. The effect of oil pollution of soil on germination, growth and nutrient uptake of corn. **J. Environ. Quality.**, v. 4, p. 537-540, 1975.

US TECHNICAL LETTER N°1110-1-176. Bioremediation using landfarming system. Disponível em <[http://www.wbdg.org/ccb/ARMYCOE/COETEK/tl1\\_176.pdf](http://www.wbdg.org/ccb/ARMYCOE/COETEK/tl1_176.pdf)> Acesso em 23 de Março de 2006.

VAN DER MEER, J. R.; VOS, W.M.; HARAYAMA, S.; ZEHNDER, A.J.B. Molecular mechanisms of genetic adaptation to xenobiotic compounds. **Microbiol. Rev.**, v.56, p. 677-694, 1992.

VÁZQUEZ-YANES, C. & OROZCO-SEGOVIA, A. Patterns of seed longevity and germination in the rainforest. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 24, p. 69-87, 1993.

XU, J.G.; JONNISON, R.L. Root growth, microbial activity and phosphatase activity in oil-contaminated, remediated and uncontaminated soils planted to barley and field pea. **Plant Soil**, v. 173, p. 3-1, 1995.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. International Programme on Chemical Safety - IPCS. **Selected petroleum products.** Geneva, 1982 (Environmental Health Criteria, v. 20).

WILSON, E.O. **The diversity of life.** Boston, Harvard University Press, 1992.

YEN, K.M.; SERDAR, C.M. Genetics of naphthalene catabolism in pseudomonads. **Crit. Rev. Microbiol.**, v. 15, p. 247-268, 1988.

# ANEXO I – CHAVE DE DECISÃO NA ESCOLHA DA ESPÉCIE

## 1.1 Chave de decisão

### Lista das espécies

Pl. I *Acacia holosericea* (acácia) Fabaceae

Pl.II *Brachiaria brizantha* (braquiária) Poaceae

Pl.III *Glycine max* (soja) Fabaceae

Pl.IV *Helianthus annuus* (girassol) Compositae

Pl.V *Leucaena leucocephala* (leucena) Mimosaceae

Pl.VI *Ricinus communis* (mamona) Euphorbiaceae

Pl.VII *Tibouchina granulosa* (quaresmeira) Melastomataceae

## 1.2 Chave de identificação

1. Espécies tolerantes a solos contaminados com concentrações menores que 6% de petróleo

2. Áreas com restrições ao uso do solo, tais como Áreas de Proteção Ambiental (APAs), ou próximas, onde o uso de espécies exóticas não é recomendado.

*Tibouchina granulosa* Pl.VII

2. Áreas sem restrições de uso do solo, agricultáveis.

3. Regiões com clima de temperaturas amenas.

*Helianthus annuus* Pl.IV

3. Regiões com clima de altas temperaturas

*Leucaena leucocephala* Pl.V

1. Espécies tolerantes a solos contaminados com concentrações até 6% de petróleo

4. Áreas com solos degradados, improdutivos, com finalidade apenas de remediação.

*Acacia holosericea* Pl. I

4. Áreas com solos produtivos, com finalidade agrícola.

5. Espécie resistente a períodos de seca prolongada.

*Ricinus communis* Pl.VI

*Brachiaria brizantha* Pl.II

5. Espécie exigente em disponibilidade hídrica.

*Glycine max* Pl.III

## ANEXO II – FICHAS AGRONÔMICAS

### Planta I

**Nome comum:** Acácia

**Nome científico:** *Acacia holosericea*

**Família:** Leguminosae

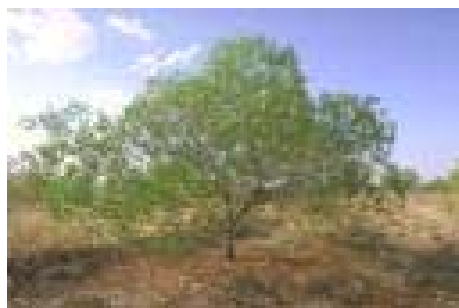
**Origem:** Austrália

**Ciclo/ desenvolvimento:** espécie leguminosa arbórea perene.

**Exigências:** Requer altas temperaturas, sensível a salinidade e alcalinidade do solo.

**Valor econômico:** apresenta qualidades importantes para programas de recuperação ambiental. Elevadas concentrações de matéria orgânica em substratos cultivados com *Acacia holosericea* refletem sua grande capacidade de produção de biomassa e, principalmente, produção de raízes, características desejáveis para espécies a serem utilizadas na revegetação de áreas degradadas (DIAS *et al.*, 1999; FRANCO *et al.*, 1992).

**Potencial para fitorremediação:** Tolerante a solos contaminados com até 6% de petróleo sem comprometimento da taxa de germinação e da produção de biomassa.



**Figura 59.** *Acacia holosericea*

## Planta II

**Nome comum:** Braquiária

**Nome científico:** *Brachiaria brizantha*

**Família:** Poaceae

**Origem:** África

**Ciclo/ desenvolvimento:** gramínea forrageira perene

**Exigências:** é considerada a mais resistente à seca e ao frio, desenvolvendo-se tanto em solos úmidos quanto secos e apresentando pouca exigência em fertilidade do solo (SALERNO *et al.* 1990, ALCÂNTARA & BUFARAH, 1988).

**Valor econômico:** Utilizada como forrageira, pastoreio e fenação.

**Potencial para fitorremediação:** Tolerante a solos contaminados com concentrações até 6% de petróleo.



**Figura 60.** *Brachiaria brizantha*

### **Planta III**

**Nome comum:** Soja

**Nome científico:** *Glycine max*

**Família:** Fabaceae

**Origem:** China

**Ciclo/ desenvolvimento:** é uma leguminosa de ciclo anual

**Exigências:** cultura com alta demanda pelo nutriente nitrogênio (N)

**Valor econômico:** A soja é um grão muito versátil que dá origem a produtos e subprodutos muito usados pela agroindústria, indústria química e de alimentos.

**Potencial para fitorremediação:** Tolerante a solos contaminados com concentrações de até 6% de petróleo.



**Figura 61.** *Glycine max*

## Planta IV

**Nome comum:** Girassol

**Nome científico:** *Helianthus annuus*

**Família:** Compositae

**Origem:** América do Norte

**Ciclo/ desenvolvimento:** dicotiledônea anual

**Exigências:** É pouco sensível a baixas temperaturas e a períodos de estiagem

**Valor econômico:** constituem-se em uma das quatro maiores fontes de óleo vegetal comestível do mundo.

**Potencial para fitorremediação:** Tolerante a solos contaminados com concentrações inferiores a 6% de petróleo. O girassol metabolizou o fenantreno transformando-o em fenols (LISTE & ALEXANDER, 1999). O consórcio de girassol com mostarda removeu 67% do óleo de motor usado contido no substrato (DOMINGUEZ-ROSADO & PICHTEL, 2004).



**Figura 62.** *Helianthus annuus*



## **Planta V**

**Nome comum:** Leucena

**Nome científico:** *Leucaena leucocephala*

**Família:** Mimosaceae

**Origem:** América Central

**Ciclo/ desenvolvimento:** dicotiledônea perene

**Exigências:** Resistentes a diferenças de luminosidade, salinidade do solo e variações na disponibilidade hídrica. No entanto, apresenta baixa resistência a solos ácidos, com alto teor de alumínio, a nodulação e seu crescimento são afetados, adversamente, abaixo do pH 5,5.

**Valor econômico:** Utilizada como forrageira, pastoreio e para adubação verde.

**Potencial para fitorremediação:** Tolerância a solos contaminados com concentrações baixas de petróleo até 0,5%.



**Figura 63.** *Leucaena leucocephala*

## Planta VI

**Nome comum:** Mamona

**Nome científico:** *Ricinus communis*

**Família:** Euphorbiaceae

**Origem:** Índia

**Ciclo/ desenvolvimento:** é uma planta de hábito arbustivo e perene.

**Exigências:** exigente em nutrientes devendo ser cultivada em solos férteis e profundos. É sensível à acidez sendo recomendável um pH próximo do neutro e exigente em calor e alta luminosidade, necessita de um mínimo de 850 mm anuais de chuva, bem distribuídas durante seu ciclo.

**Valor econômico:** principal produto é o óleo de mamona, também chamado óleo de rícino que contém 90% de ácido ricinoléico, o que representa uma fonte praticamente pura deste ácido graxo, fato raro na natureza. Este componente confere ao óleo de mamona ampla gama de aplicação industrial, inclusive como fonte alternativa de combustível.

**Potencial para fitorremediação:** Não apresentou resultados conclusivos. Pode-se afirmar com certeza que a espécie é tolerante a solos contaminados com baixas concentrações de petróleo, até 0,5%. A mamona foi considerada como boa armazenadora de níquel (GIORDANI et al. 2005). Segundo Romeiro *et al.* (2005) a mamona acumula chumbo.



**Figura 64.** *Ricinus comunnis*.

## Planta VII

**Nome comum:** Quaresmeira

**Nome científico:** *Tibouchina granulosa*

**Família:** Melastomataceae

**Origem:** Mata Atlântica no Brasil

**Ciclo/ desenvolvimento:** espécie vegetal arbórea perene.

**Exigências:** alto requerimento nutricional.

**Valor econômico:** Apresenta flores com tonalidades que vão do rosa ao roxo, por isso potencial para ser utilizada como planta ornamental.

**Potencial para fitorremediação:** Tolerante a solos contaminados com concentrações de até 6% de petróleo, desde que o plantio seja feito com mudas.



**Figura 65.** *Tibouchina granulosa*

### ANEXO III - LISTA DE ESPÉCIES COM POTENCIAL PARA FITORREMEDIAÇÃO

Nome comum (Inglês)	Nome comum (Português)	Nome científico	Potencial de fitorremediação	Família
Alfafa	Alfafa	<i>Medicago sativa L</i>	fitorremediador demonstrado	Fabaceae (Leguminosae)
Alpine bluegrass		<i>Poa alpina L</i>	tolerante a hidrocarboneto	Poaceae (Gramineae)
Alsike clover		<i>Trifolium hybridum L.</i>	tolerante a hidrocarboneto	Fabaceae (Leguminosae)
Arctic willow		<i>Salix arctica Dallas</i>	tolerante a hidrocarboneto	Salicaceae
Barley	Cevada	<i>Hordeum vulgare L</i>	tolerante a hidrocarboneto	Poaceae (Gramineae)
Bell rhodesgrass	Capim-Rhodes	<i>Chloris gayana</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Bering hairgrass		<i>Deschampsia beringensis</i>	tolerante a hidrocarboneto	Poaceae (Gramineae)
Bermuda grass	Coast cross	<i>Cynodon dactylon L</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Big bluestem		<i>Andropogon gerardi</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Big sagebrush		<i>Artemisia tridentata</i>	tolerante a hidrocarboneto	Asteraceae (Compositae)
Birdsfoot trefoil	Cornichão	<i>Lotus corniculatus</i>	tolerante a hidrocarboneto	Fabaceae (Leguminosae)
Black alder	Amieiro	<i>Alnus glutinosa</i>	tolerante a hidrocarboneto	Betulaceae
Black locust	Acácia-falsa	<i>Robinia pseudoacacia</i>	tolerante a hidrocarboneto	Fabaceae/Leguminosae
Black medick		<i>Medicago lupulina</i>	tolerante a hidrocarboneto	Fabaceae (Leguminosae)
Blue grama	Gramma-blue	<i>Bouteloua gracilis</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Bog bilberry		<i>Vaccinium uliginosum</i>	tolerante a hidrocarboneto	Ericaceae
Bog birch		<i>Betula glandulosa</i>	tolerante a hidrocarboneto	Betulaceae
Bog cranberry	Amora alpina	<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	tolerante a hidrocarboneto	Ericaceae
Boneset		<i>Eupatorium serotinum</i>	tolerante a hidrocarboneto	Asteraceae (Compositae)
Bush bean	Feijão	<i>Phaseolus vulgaris</i>	fitorremediador demonstrado	Fabaceae (Leguminosae)
Canada wild-rye		<i>Elymus canadensis</i>	fitorremediador suspeito	Poaceae (Gramineae)
Canela	Canela	<i>Pluchea purpurascens</i>	tolerante a hidrocarboneto	Asteraceae (Compositae)
	Nabo	<i>Brassica rapa</i>	tolerante a hidrocarboneto	Brassicaceae (Cruciferae)
Carrot	Cenoura	<i>Daucus carota</i>	fitorremediador demonstrado	Apiaceae (Umbelliferae)

Cattail	Taboa	<i>Typha latifolia</i>	tolerante a hidrocarboneto	Typhaceae
Chili pepper	Pimenta-malagueta	<i>Capsicum frutescens</i>	tolerante a hidrocarboneto	Solonaceae
Cordgrass	Capim praturá	<i>Spartina alterniflora</i>	tolerante a hidrocarboneto	Poaceae (Gramineae)
Crested wheatgrass		<i>Agropyron desertorum</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Crown vetch		<i>Coronilla varia</i>	tolerante a hidrocarboneto	Fabaceae (Leguminosae)
Deer tongue		<i>Panicum clandestinum</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Graminae)
Duckweed		<i>Lemna gibba</i>	fitorremediador demonstrado	Lemnaceae
Dwarf scouring-rush		<i>Equisetum scirpoides</i>	tolerante a hidrocarboneto	Equisetaceae
Eastern baccharis	Alecrim	<i>Baccharis halimifolia</i>	tolerante a hidrocarboneto	Asteraceae (Compositae)
Fababean	Fava forrageira	<i>Vicia faba</i>	tolerante a hidrocarboneto	Fabaceae (Leguminosae)
Field pea	Ervilha forrageira	<i>Pisum arvense</i>	tolerante a hidrocarboneto	Fabaceae (Leguminosae)
Giant ragweed	Gigante	<i>Ambrosia trifida</i>	tolerante a hidrocarboneto	Asteraceae (Compositae)
Goldenrod		<i>Solidago L</i>	tolerante a hidrocarboneto	Asteraceae (Compositae)
Green alder		<i>Alnus crispa</i>	tolerante a hidrocarboneto	Betulaceae
Hybrid willow	Chorão	<i>Salix L</i>	fitorremediador demonstrado	Salicaceae
Indiangrass		<i>Sorghastrum nutans</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Jack pine	Pinheiro	<i>Pinus banksiana</i>	tolerante a hidrocarboneto	Pinaceae
Kleingrass		<i>Panicum coloratum</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Graminae)
Labrador tea		<i>Ledum groenlandicum</i>	tolerante a hidrocarboneto	Ericaceae
Leek	Alho-poró	<i>Allium porrum</i>	tolerante a hidrocarboneto	Liliaceae
Little bluestem		<i>Schizachyrium scoparium</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Maize	Milho	<i>Zea mays</i>	tolerante a hidrocarboneto	Poaceae (Graminae)
Marsh horsetail	Erva-de-rato	<i>Equisetum palustre</i>	tolerante a hidrocarboneto	Equisetaceae
Mint	Poejo	<i>Mentha pulegium</i>	fitorremediador suspeito	Lamiaceae (Labiatae)
Mulberry	Amoreira	<i>Morus L</i>	tolerante a hidrocarboneto	Moraceae
Oat	Aveia	<i>Avena sativa</i>	tolerante hidrocarboneto	Poaceae (Gramineae)
Orchardgrass	Capim dos pomares	<i>Dactylis glomerata</i>	tolerante a hidrocarboneto	Poaceae (Graminae)
Pea	Ervilha	<i>Pisum sativum</i>	fitorremediador suspeito	Fabaceae (Leguminosae)
Poplar	Álamo	<i>Populus species</i>	fitorremediador demonstrado	Salicaceae

Prairie Buffalograss	Capim búfalo	<i>Buchloe dactyloides</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Quackgrass		<i>Agropyron repens</i>	tolerante a hidrocarboneto	Poaceae (Gramineae)
Ragwort		<i>Senecio glaucus</i>	tolerante a hidrocarboneto	Asteraceae (Compositae)
Red clover	Trevo vermelho	<i>Trifolium pratense</i>	tolerante a hidrocarboneto	Fabaceae (Leguminosae)
Red fescue	Capim do campo	<i>Festuca rubra</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Reed canary grass	Canária	<i>Phalaris arundinacea</i>	tolerante a hidrocarboneto	Poaceae (Gramineae)
Reed grass		<i>Phragmites australis</i>	tolerante a hidrocarboneto	Poaceae (Gramineae)
Rock sedge		<i>Carex rupestris</i>	tolerante a hidrocarboneto	Cyperaceae
Rubber rabbitbrush		<i>Chrysothamnus nauseosus</i>	tolerante a hidrocarboneto	Asteraceae (Compositae)
Ryegrass	Azevém perene	<i>Lolium perenne</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Ryegrass hybrid	Azevém anual	<i>Lolium multiflorum</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Salt meadow grass		<i>Spartina patens</i>	tolerante a hidrocarboneto	Poaceae (Gramineae)
Saskatoon		<i>Amelanchier alnifolia</i>	tolerante a hidrocarboneto	Rosaceae
Scurf pea		<i>Psoralea bituminosa</i>	tolerante a hidrocarboneto	Fabaceae (Leguminosae)
Seashore vervain	Erva-do-pai-caetano	<i>Verbena litoralis</i>	tolerante a hidrocarboneto	Verbenaceae
Side oats grama		<i>Bouteloua curtipendula</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Slender oat grass	Aveia-silvestre	<i>Avena barbata</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Slender wheatgrass		<i>Agropyron trachycaulum</i>	tolerante a hidrocarboneto	Poaceae (Gramineae)
Snow willow		<i>Salix reticulata</i>	tolerante a hidrocarboneto	Salicaceae
Sorghum	Sorgo	<i>Sorghum bicolor</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Southern crabgrass		<i>Digitaria adscendens</i>	tolerante a hidrocarboneto	Poaceae (Gramineae)
Soybean	Soja	<i>Glycine max</i>	fitorremediador demonstrado	Fabaceae (Leguminosae)
Sudangrass	Sorgo de guiné	<i>Sorghum vulgare</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Sugerberry		<i>Celtis laevigata</i>	tolerante a hidrocarboneto	Ulmaceae
Sunflower	Girassol	<i>Helianthus annuus</i>	tolerante a hidrocarboneto	Asteraceae (Compositae)
Sweet clover		<i>Melilotus altissima</i>	tolerante a hidrocarboneto	Fabaceae (Leguminosae)
Switchgrass		<i>Panicum virgatum</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Tall cotton-grass		<i>Eriophorum angustifolium</i>	fitorremediador demonstrado	Cyperaceae
Tall fescue	Festuca	<i>Festuca arundinacea</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)

Three-square bulrush		<i>Scirpus pungens</i>	tolerante a hidrocarboneto	Cyperaceae
Tilesy sage		<i>Artemisia tilesii</i>	tolerante a hidrocarboneto	Asteraceae (Compositae)
Umbrella sedge		<i>Cyperus L</i>	tolerante a hidrocarboneto	Cyperaceae
Umbrellaplant		<i>Eriogonum corymbosum</i>	tolerante a hidrocarboneto	Polygonaceae
Vasey grass	Capim-da-roça	<i>Paspalum urvillei</i>	tolerante a hidrocarboneto	Poaceae (Graminae)
Vicia tetrasperma		<i>Vicia tetrasperma</i>	tolerante a hidrocarboneto	Fabaceae (Leguminosae)
Wagner flat pea		<i>Lathyrus sylvestris</i>	fitorremediador demonstrado	Fabaceae (Leguminosae)
Water sedge		<i>Carex aquatilis</i>	tolerante a hidrocarboneto	Cyperaceae
Western wheatgrass		<i>Agropyron smithii</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae (Gramineae)
Wheat	Trigo	<i>Triticum aestivum</i>	tolerante a hidrocarboneto	Poaceae (Gramineae)
White clover	Trevo branco	<i>Trifolium repens</i>	tolerante a hidrocarboneto	Fabaceae (Leguminosae)
White lupine	Tremoço-branco	<i>Lupinus albus</i>	fitorremediador suspeito	Fabaceae (Leguminosae)
Woodland horsetail	Cavalinha	<i>Equisetum sylvaticum</i>	tolerante a hidrocarboneto	Equisetaceae
Yellow sweet-clover	Trevo-de-cheiro	<i>Melilotus officinalis</i>	tolerante a hidrocarboneto	Fabaceae (Leguminosae)
Zoysiagrass	Grama-esmeralda	<i>Zoysia japonica</i>	fitorremediador demonstrado	Poaceae
<b>FONTE: Phytomet Database (2005)</b>				

## ANEXO IV – TESTES KRUSKAL-WALLIS

### *Brachiaria brizantha* (Bb) Germidador (Ge)

#### Kruskal-Wallis Test on GPreBbGe

Conc_Ge	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.2000	5.3	-0.85
0.05	4	0.2800	8.3	1.19
0.50	4	0.2200	6.0	-0.34
Overall	12		6.5	

H = 1.50 DF = 2 P = 0.472  
H = 1.53 DF = 2 P = 0.465 (adjusted for ties)

#### Kruskal-Wallis Test on GTarBbGe

Conc_Ge	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.1000	6.8	0.17
0.05	4	0.1100	6.2	-0.17
0.50	4	0.1100	6.5	0.00
Overall	12		6.5	

H = 0.04 DF = 2 P = 0.981  
H = 0.04 DF = 2 P = 0.981 (adjusted for ties)

#### Kruskal-Wallis Test on GtotBbGe

Conc_Ge	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.3500	6.2	-0.17
0.05	4	0.3900	7.5	0.68
0.50	4	0.3300	5.7	-0.51
Overall	12		6.5	

H = 0.50 DF = 2 P = 0.779  
H = 0.52 DF = 2 P = 0.773 (adjusted for ties)

#### Kruskal-Wallis Test on RPreBbGe

Conc_Ge	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.011400	6.8	0.17
0.05	4	0.011400	7.6	0.76
0.50	4	0.009800	5.1	-0.93
Overall	12		6.5	

H = 0.99 DF = 2 P = 0.609  
H = 0.99 DF = 2 P = 0.608 (adjusted for ties)

#### Kruskal-Wallis Test on APreBbGe

Conc_Ge	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	8.00E-04	5.5	-0.68
0.05	4	1.35E-03	9.4	1.95
0.50	4	1.00E-03	4.6	-1.27
Overall	12		6.5	



H = 3.93 DF = 2 P = 0.140  
H = 3.97 DF = 2 P = 0.137 (adjusted for ties)

**Kruskal-Wallis Test on RTarBbGe**

Conc_Ge	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.01830	7.5	0.68
0.05	4	0.01955	8.5	1.36
0.50	4	0.01280	3.5	-2.04
Overall	12		6.5	

H = 4.31 DF = 2 P = 0.116

**Kruskal-Wallis Test on ATarBbGe**

Conc_Ge	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.002100	5.6	-0.59
0.05	4	0.002400	7.4	0.59
0.50	4	0.002400	6.5	0.00
Overall	12		6.5	

H = 0.47 DF = 2 P = 0.790  
H = 0.48 DF = 2 P = 0.787 (adjusted for ties)

***Helianthus annus* (Ha) Germinador (Ge)**

**Kruskal-Wallis Test on GPreHaGe**

Conc_Ge	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	8	0.7600	7.1	-2.63
0.05	8	1.0000	17.4	2.39
0.50	8	0.9400	13.0	0.24
Overall	24		12.5	

H = 8.47 DF = 2 P = 0.015  
H = 8.85 DF = 2 P = 0.012 (adjusted for ties) **Reject H0**

**Kruskal-Wallis Test on GTarHaGe**

Conc_Ge	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	8	1.80E-01	19.2	3.28
0.05	8	0.00E+00	9.6	-1.44
0.50	8	0.00E+00	8.8	-1.84
Overall	24		12.5	

H = 10.79 DF = 2 P = 0.005  
H = 12.35 DF = 2 P = 0.002 (adjusted for ties) **Reject H0**

**Kruskal-Wallis Test on GtotHaGe**

Conc_Ge	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	8	0.9700	10.7	-0.89
0.05	8	1.0000	15.6	1.50
0.50	8	0.9600	11.3	-0.61

Overall 24 12.5

H = 2.28 DF = 2 P = 0.320

H = 2.63 DF = 2 P = 0.269 (adjusted for ties)

Kruskal-Wallis Test on RPreHaGe

Conc_Ge	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	8	0.005935	15.5	1.47
0.05	8	0.005925	16.6	2.02
0.50	8	0.003790	5.4	-3.49
Overall	24		12.5	

H = 12.29 DF = 2 P = 0.002

Reject H0

Kruskal-Wallis Test on APreHaGe

Conc_Ge	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	8	0.04247	12.1	-0.18
0.05	8	0.04440	13.9	0.67
0.50	8	0.04214	11.5	-0.49
Overall	24		12.5	

H = 0.49 DF = 2 P = 0.785

Kruskal-Wallis Test on RTarHaGe

Conc_Ge	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	8	0.021390	13.5	0.49
0.05	8	0.049750	19.5	3.43
0.50	8	0.005830	4.5	-3.92
Overall	24		12.5	

H = 18.24 DF = 2 P = 0.000

Reject H0

Kruskal-Wallis Test on ATarHaGe

Conc_Ge	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	8	0.03376	13.1	0.31
0.05	8	0.03073	7.0	-2.69
0.50	8	0.03709	17.4	2.39
Overall	24		12.5	

H = 8.71 DF = 2 P = 0.013

Reject H0

### ***Leucaena leucocephala* (LI) Casa de Vegetação (CV)**

Kruskal-Wallis Test on GpreLlCV

ConcCV	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	1.73E-01	22.2	3.02
0.05	4	3.00E-02	18.7	1.94
0.50	4	0.00E+00	8.5	-1.24
2.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
4.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
6.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
Overall	24		12.5	

H = 15.85 DF = 5 P = 0.007  
H = 22.52 DF = 5 P = 0.000 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on GtarLlCV

ConcCV	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	1.23E-01	20.3	2.40
0.05	4	1.55E-01	20.8	2.56
0.50	4	0.00E+00	8.5	-1.24
2.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
4.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
6.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
Overall	24		12.5	

H = 15.37 DF = 5 P = 0.009  
H = 21.82 DF = 5 P = 0.001 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on GtotLlCV

ConcCV	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	2.60E-01	21.9	2.90
0.05	4	1.80E-01	19.1	2.05
0.50	4	0.00E+00	8.5	-1.24
2.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
4.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
6.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
Overall	24		12.5	

H = 15.66 DF = 5 P = 0.008  
H = 22.25 DF = 5 P = 0.000 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on RpreLlCV

ConcCV	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	2.95E-03	19.7	2.25
0.05	4	3.35E-03	21.2	2.71
0.50	4	0.00E+00	8.5	-1.24
2.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
4.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
6.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
Overall	24		12.5	

H = 15.45 DF = 5 P = 0.009  
H = 21.95 DF = 5 P = 0.001 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on ApreLlCV

ConcCV	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	2.95E-02	19.7	2.25
0.05	4	3.21E-02	21.2	2.71
0.50	4	0.00E+00	8.5	-1.24
2.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
4.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
6.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
Overall	24		12.5	

H = 15.45 DF = 5 P = 0.009  
H = 21.94 DF = 5 P = 0.001 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on RtarLlCV

ConcCV	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	4.95E-03	21.8	2.87
0.05	4	3.65E-03	19.3	2.09
0.50	4	0.00E+00	8.5	-1.24
2.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
4.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
6.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
Overall	24		12.5	

H = 15.61 DF = 5 P = 0.008

H = 22.16 DF = 5 P = 0.000 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on AtarLlCV

ConcCV	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	3.14E-02	21.5	2.79
0.05	4	2.99E-02	19.5	2.17
0.50	4	0.00E+00	8.5	-1.24
2.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
4.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
6.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
Overall	24		12.5	

H = 15.52 DF = 5 P = 0.008

H = 22.03 DF = 5 P = 0.001 (adjusted for ties) **Reject H0**

## ***Ricinus communis* (Rc) Casa de Vegetação (CV)**

Kruskal-Wallis Test on GpreRcCV

Conc_CV	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	3.63E-01	18.5	1.86
0.05	4	5.65E-01	22.5	3.10
0.50	4	0.00E+00	7.0	-1.70
2.00	4	0.00E+00	8.9	-1.12
4.00	4	0.00E+00	8.9	-1.12
6.00	4	0.00E+00	9.3	-1.01
Overall	24		12.5	

H = 16.25 DF = 5 P = 0.006

H = 19.33 DF = 5 P = 0.002 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on GtarRcCV

Conc_CV	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	3.70E-01	20.5	2.48
0.05	4	3.59E-01	20.5	2.48
0.50	4	0.00E+00	8.5	-1.24
2.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
4.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
6.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
Overall	24		12.5	

H = 15.36 DF = 5 P = 0.009

H = 21.81 DF = 5 P = 0.001 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on GtotRcCV

Conc_CV	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	6.25E-01	18.7	1.94
0.05	4	7.33E-01	22.2	3.02
0.50	4	0.00E+00	7.0	-1.70
2.00	4	0.00E+00	8.9	-1.12
4.00	4	0.00E+00	8.9	-1.12
6.00	4	0.00E+00	9.3	-1.01
Overall	24		12.5	

H = 16.10 DF = 5 P = 0.007

H = 19.14 DF = 5 P = 0.002 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on RpreRcCV

Conc_CV	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	2.53E-02	17.7	1.63
0.05	4	4.40E-02	21.2	2.71
0.50	4	0.00E+00	7.0	-1.70
2.00	4	0.00E+00	9.0	-1.08
4.00	4	0.00E+00	11.3	-0.39
6.00	4	0.00E+00	8.8	-1.16
Overall	24		12.5	

H = 12.98 DF = 5 P = 0.024

H = 15.42 DF = 5 P = 0.009 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on ApreRcCV

Conc_CV	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	3.52E-01	22.2	3.02
0.05	4	2.36E-01	17.0	1.39
0.50	4	0.00E+00	7.0	-1.70
2.00	4	0.00E+00	9.3	-1.01
4.00	4	0.00E+00	9.0	-1.08
6.00	4	0.00E+00	10.5	-0.62
Overall	24		12.5	

H = 13.79 DF = 5 P = 0.017

H = 16.38 DF = 5 P = 0.006 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on RtarRcCV

Conc_CV	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	2.42E-02	19.3	2.09
0.05	4	2.84E-02	21.8	2.87
0.50	4	0.00E+00	8.5	-1.24
2.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
4.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
6.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
Overall	24		12.5	

H = 15.61 DF = 5 P = 0.008

H = 22.16 DF = 5 P = 0.000 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on AtarRcCV

Conc_CV	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	2.21E-01	22.5	3.10
0.05	4	1.54E-01	18.5	1.86
0.50	4	0.00E+00	8.5	-1.24
2.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
4.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
6.00	4	0.00E+00	8.5	-1.24
Overall	24		12.5	

H = 16.00 DF = 5 P = 0.007

H = 22.72 DF = 5 P = 0.000 (adjusted for ties) **Reject H0**

### ***Acacia holosericea* (Ah) Sala Climatizada (SC)**

Kruskal-Wallis Test on GpreAh

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	2.91E-01	13.0	0.15
0.05	4	1.72E-01	13.0	0.15
0.50	4	1.58E-01	11.3	-0.39
2.00	4	3.61E-01	16.0	1.08
4.00	4	3.85E-01	16.5	1.24
6.00	4	0.00E+00	5.3	-2.25
Overall	24		12.5	

H = 6.63 DF = 5 P = 0.250

H = 6.69 DF = 5 P = 0.245 (adjusted for ties)

Kruskal-Wallis Test on GtarAh

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.4435	13.0	0.15
0.05	4	0.4109	11.3	-0.39
0.50	4	0.3213	8.5	-1.24
2.00	4	0.5853	15.0	0.77
4.00	4	0.4322	13.6	0.35
6.00	4	0.5080	13.6	0.35
Overall	24		12.5	

H = 2.13 DF = 5 P = 0.831

H = 2.13 DF = 5 P = 0.831 (adjusted for ties)

Kruskal-Wallis Test on GtotAh

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.6894	13.8	0.39
0.05	4	0.5000	11.6	-0.27
0.50	4	0.3773	9.0	-1.08
2.00	4	0.7361	16.8	1.32
4.00	4	0.6569	14.1	0.50
6.00	4	0.5080	9.8	-0.85
Overall	24		12.5	

H = 3.43 DF = 5 P = 0.634

H = 3.43 DF = 5 P = 0.634 (adjusted for ties)

Kruskal-Wallis Test on RpreAh

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	1.00E-04	11.8	-0.23
0.05	4	8.50E-04	17.7	1.63
0.50	4	1.50E-04	10.9	-0.50
2.00	4	3.00E-04	15.0	0.77
4.00	4	4.00E-04	13.3	0.23
6.00	4	0.00E+00	6.4	-1.90
Overall	24		12.5	

H = 6.01 DF = 5 P = 0.305  
H = 6.24 DF = 5 P = 0.284 (adjusted for ties)

#### Kruskal-Wallis Test on ApreAh

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	1.75E-03	10.8	-0.54
0.05	4	1.46E-02	17.2	1.47
0.50	4	6.30E-03	13.5	0.31
2.00	4	6.45E-03	15.3	0.85
4.00	4	3.80E-03	12.3	-0.08
6.00	4	0.00E+00	6.0	-2.01
Overall	24		12.5	

H = 6.12 DF = 5 P = 0.295  
H = 6.17 DF = 5 P = 0.290 (adjusted for ties)

#### Kruskal-Wallis Test on RtarAh

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	8.50E-04	16.5	1.24
0.05	4	3.00E-04	10.3	-0.70
0.50	4	2.50E-04	9.5	-0.93
2.00	4	6.00E-04	14.4	0.58
4.00	4	7.00E-04	15.5	0.93
6.00	4	2.00E-04	8.9	-1.12
Overall	24		12.5	

H = 4.46 DF = 5 P = 0.486  
H = 4.50 DF = 5 P = 0.479 (adjusted for ties)

#### Kruskal-Wallis Test on AtarAh

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.006550	15.5	0.93
0.05	4	0.003950	10.4	-0.66
0.50	4	0.003100	8.3	-1.32
2.00	4	0.005900	12.1	-0.12
4.00	4	0.007750	15.0	0.77
6.00	4	0.006550	13.8	0.39
Overall	24		12.5	

H = 3.16 DF = 5 P = 0.675  
H = 3.17 DF = 5 P = 0.674 (adjusted for ties)

## **Brachiaria brizantha (Bb) em Sala Climatizada (SC)**

Kruskal-Wallis Test on GpreBb

ConcSC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.52635	18.1	1.74
0.05	4	0.52665	19.1	2.05
0.50	4	0.42525	12.8	0.08
2.00	4	0.45035	11.3	-0.39
4.00	4	0.26975	11.3	-0.39
6.00	4	0.03030	2.5	-3.10
Overall	24		12.5	

H = 14.30 DF = 5 P = 0.014

H = 14.32 DF = 5 P = 0.014 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on GtarBb

ConcSC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.10440	10.6	-0.58
0.05	4	0.02275	5.3	-2.25
0.50	4	0.07555	9.9	-0.81
2.00	4	0.23610	16.9	1.36
4.00	4	0.17615	13.4	0.27
6.00	4	0.30235	19.0	2.01
Overall	24		12.5	

H = 10.01 DF = 5 P = 0.075

H = 10.06 DF = 5 P = 0.074 (adjusted for ties)

Kruskal-Wallis Test on GtotBb

ConcSC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.5765	16.5	1.24
0.05	4	0.5537	16.1	1.12
0.50	4	0.4579	11.8	-0.23
2.00	4	0.5871	15.4	0.89
4.00	4	0.4162	9.9	-0.81
6.00	4	0.3024	5.4	-2.21
Overall	24		12.5	

H = 7.65 DF = 5 P = 0.177

H = 7.66 DF = 5 P = 0.176 (adjusted for ties)

Kruskal-Wallis Test on RpreBb

ConcSC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.009100	11.3	-0.39
0.05	4	0.010250	14.0	0.46
0.50	4	0.010800	16.0	1.08
2.00	4	0.012300	18.9	1.98
4.00	4	0.007950	10.0	-0.77
6.00	4	0.003450	4.9	-2.36
Overall	24		12.5	

H = 9.69 DF = 5 P = 0.085

H = 9.70 DF = 5 P = 0.084 (adjusted for ties)



Kruskal-Wallis Test on ApreBb

ConcSC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	1.60E-03	20.9	2.59
0.05	4	1.55E-03	20.1	2.36
0.50	4	1.05E-03	12.1	-0.12
2.00	4	9.00E-04	11.0	-0.46
4.00	4	5.50E-04	7.9	-1.43
6.00	4	1.50E-04	3.0	-2.94
Overall	24		12.5	

H = 19.39 DF = 5 P = 0.002

H = 19.53 DF = 5 P = 0.002 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on RtarBb

ConcSC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.008200	15.8	1.01
0.05	4	0.005000	12.5	0.00
0.50	4	0.005050	11.4	-0.35
2.00	4	0.006550	10.5	-0.62
4.00	4	0.006850	9.9	-0.81
6.00	4	0.008150	15.0	0.77
Overall	24		12.5	

H = 2.32 DF = 5 P = 0.804

H = 2.33 DF = 5 P = 0.802 (adjusted for ties)

Kruskal-Wallis Test on AtarBb

ConcSC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	1.60E-03	13.6	0.35
0.05	4	1.70E-03	14.0	0.46
0.50	4	7.50E-04	10.4	-0.66
2.00	4	1.35E-03	12.5	0.00
4.00	4	1.10E-03	7.8	-1.47
6.00	4	1.80E-03	16.8	1.32
Overall	24		12.5	

H = 3.89 DF = 5 P = 0.565

H = 3.97 DF = 5 P = 0.553 (adjusted for ties)

## ***Helianthus annuus* (Ha) Sala Climatizada (SC)**

Kruskal-Wallis Test on GpreHa

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	6.43E-01	13.9	0.43
0.05	4	6.80E-01	14.6	0.66
0.50	4	6.96E-01	17.7	1.63
2.00	4	7.12E-01	18.0	1.70
4.00	4	5.16E-01	8.3	-1.32
6.00	4	0.00E+00	2.5	-3.10
Overall	24		12.5	

H = 14.58 DF = 5 P = 0.012

H = 14.67 DF = 5 P = 0.012 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on GtarHa

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.2889	16.1	1.12
0.05	4	0.1548	6.9	-1.74
0.50	4	0.2185	10.3	-0.70
2.00	4	0.2843	16.1	1.12
4.00	4	0.2328	13.6	0.35
6.00	4	0.2050	12.0	-0.15
Overall	24		12.5	

H = 5.16 DF = 5 P = 0.397  
H = 5.18 DF = 5 P = 0.395 (adjusted for ties)

Kruskal-Wallis Test on GtotHa

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.7619	15.8	1.01
0.05	4	0.7523	13.8	0.39
0.50	4	0.7792	17.7	1.63
2.00	4	0.7919	17.5	1.55
4.00	4	0.6453	7.8	-1.47
6.00	4	0.1397	2.5	-3.10
Overall	24		12.5	

H = 14.98 DF = 5 P = 0.010 **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on RpreHa

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	8.25E-02	7.0	-1.70
0.05	4	3.13E-01	12.3	-0.08
0.50	4	3.73E-01	16.0	1.08
2.00	4	4.19E-01	17.7	1.63
4.00	4	6.51E-01	19.5	2.17
6.00	4	0.00E+00	2.5	-3.10
Overall	24		12.5	

H = 17.53 DF = 5 P = 0.004  
H = 17.61 DF = 5 P = 0.003 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on ApreHa

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	1.16E+00	17.5	1.55
0.05	4	1.07E+00	13.5	0.31
0.50	4	1.12E+00	16.8	1.32
2.00	4	1.15E+00	17.0	1.39
4.00	4	9.51E-01	7.8	-1.47
6.00	4	0.00E+00	2.5	-3.10
Overall	24		12.5	

H = 14.95 DF = 5 P = 0.011  
H = 15.02 DF = 5 P = 0.010 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on RtarHa

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
---------	---	--------	----------	---

0.00	4	0.04045	14.3	0.54
0.05	4	0.01415	5.7	-2.09
0.50	4	0.02725	8.5	-1.24
2.00	4	0.03540	11.0	-0.46
4.00	4	0.21530	22.2	3.02
6.00	4	0.03770	13.3	0.23
Overall	24		12.5	

H = 13.00 DF = 5 P = 0.023

**Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on AtarHa

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.17140	17.2	1.47
0.05	4	0.03950	4.5	-2.48
0.50	4	0.06195	9.0	-1.08
2.00	4	0.05070	9.0	-1.08
4.00	4	0.08580	14.5	0.62
6.00	4	0.23225	20.8	2.56
Overall	24		12.5	

H = 14.65 DF = 5 P = 0.012

**Reject H0**

### ***Ricinus communis* (Rc) Sala Climatizada (SC)**

Kruskal-Wallis Test on GpreRc

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	7	4.35E-02	26.4	0.51
0.05	8	4.67E-02	29.6	1.26
0.50	8	2.00E-02	23.4	-0.13
2.00	8	4.55E-02	29.9	1.34
4.00	8	0.00E+00	20.1	-0.89
6.00	8	0.00E+00	14.9	-2.07
Overall	47		24.0	

H = 7.25 DF = 5 P = 0.203

H = 8.39 DF = 5 P = 0.136 (adjusted for ties)

Kruskal-Wallis Test on GtarRc

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	7	0.00E+00	27.9	0.81
0.05	8	0.00E+00	30.6	1.50
0.50	8	0.00E+00	21.5	-0.57
2.00	8	0.00E+00	21.5	-0.57
4.00	8	0.00E+00	21.5	-0.57
6.00	8	0.00E+00	21.5	-0.57
Overall	47		24.0	

H = 3.49 DF = 5 P = 0.626

H = 12.17 DF = 5 P = 0.033 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on GtotRc

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	7	4.35E-02	27.5	0.73

0.05	8	6.53E-02	30.2	1.42
0.50	8	2.00E-02	23.0	-0.23
2.00	8	4.55E-02	29.1	1.15
4.00	8	0.00E+00	19.8	-0.95
6.00	8	0.00E+00	14.8	-2.08
Overall	47		24.0	

H = 7.59 DF = 5 P = 0.180

H = 8.77 DF = 5 P = 0.119 (adjusted for ties)

Kruskal-Wallis Test on RpreRc

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	7	4.18E-02	26.5	0.52
0.05	8	3.43E-02	28.2	0.96
0.50	8	6.40E-03	22.9	-0.25
2.00	8	5.88E-02	29.6	1.26
4.00	8	0.00E+00	22.9	-0.24
6.00	8	0.00E+00	14.2	-2.22
Overall	47		24.0	

H = 6.52 DF = 5 P = 0.259

H = 7.52 DF = 5 P = 0.185 (adjusted for ties)

Kruskal-Wallis Test on ApreRc

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	7	7.41E-02	25.9	0.40
0.05	8	1.30E-01	30.1	1.39
0.50	8	1.90E-02	21.6	-0.54
2.00	8	1.14E-01	28.0	0.91
4.00	8	0.00E+00	22.3	-0.38
6.00	8	0.00E+00	16.2	-1.76
Overall	47		24.0	

H = 5.33 DF = 5 P = 0.377

H = 6.15 DF = 5 P = 0.292 (adjusted for ties)

Kruskal-Wallis Test on RtarRc

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	7	0.00E+00	28.6	0.97
0.05	8	0.00E+00	29.9	1.34
0.50	8	0.00E+00	21.5	-0.57
2.00	8	0.00E+00	21.5	-0.57
4.00	8	0.00E+00	21.5	-0.57
6.00	8	0.00E+00	21.5	-0.57
Overall	47		24.0	

H = 3.37 DF = 5 P = 0.644

H = 11.75 DF = 5 P = 0.038 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on AtarRc

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	7	0.00E+00	28.2	0.88
0.05	8	0.00E+00	30.3	1.43
0.50	8	0.00E+00	21.5	-0.57

2.00	8	0.00E+00	21.5	-0.57
4.00	8	0.00E+00	21.5	-0.57
6.00	8	0.00E+00	21.5	-0.57
Overall	47		24.0	

H = 3.42 DF = 5 P = 0.635

H = 11.94 DF = 5 P = 0.036 (adjusted for ties) **Reject H0**

### **Glycine max (Gm) Sala Climatizada (SC)**

Kruskal-Wallis Test on GpreGm

ConcSC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.5929	11.3	-0.39
0.05	4	0.7800	17.6	1.59
0.50	4	0.7436	17.4	1.51
2.00	4	0.5911	10.8	-0.54
4.00	4	0.6703	13.8	0.39
6.00	4	0.3555	4.2	-2.56
Overall	24		12.5	

H = 9.94 DF = 5 P = 0.077

H = 9.95 DF = 5 P = 0.077 (adjusted for ties)

Kruskal-Wallis Test on GtarGm

ConcSC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	4.05E-01	21.2	2.71
0.05	4	0.00E+00	8.4	-1.28
0.50	4	0.00E+00	8.6	-1.20
2.00	4	0.00E+00	10.6	-0.58
4.00	4	1.15E-01	12.5	0.00
6.00	4	1.39E-01	13.6	0.35
Overall	24		12.5	

H = 9.07 DF = 5 P = 0.106

H = 10.36 DF = 5 P = 0.066 (adjusted for ties)

Kruskal-Wallis Test on GtotGm

ConcSC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.7971	16.5	1.24
0.05	4	0.8042	15.5	0.93
0.50	4	0.7760	14.5	0.62
2.00	4	0.6552	9.5	-0.93
4.00	4	0.7913	13.8	0.39
6.00	4	0.5577	5.3	-2.25
Overall	24		12.5	

H = 7.37 DF = 5 P = 0.195

Kruskal-Wallis Test on RpreGm

ConcSC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.01770	5.7	-2.09
0.05	4	0.06420	19.3	2.09

0.50	4	0.06925	20.3	2.40
2.00	4	0.02455	12.0	-0.15
4.00	4	0.02375	9.5	-0.93
6.00	4	0.02345	8.3	-1.32
Overall	24		12.5	

H = 14.28 DF = 5 P = 0.014

**Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on ApreGm

ConcSC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.1961	14.3	0.54
0.05	4	0.1813	9.0	-1.08
0.50	4	0.1524	5.3	-2.25
2.00	4	0.1945	13.5	0.31
4.00	4	0.2322	17.5	1.55
6.00	4	0.2103	15.5	0.93
Overall	24		12.5	

H = 8.23 DF = 5 P = 0.144

Kruskal-Wallis Test on RtarGm

ConcSC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	4.81E-02	22.0	2.94
0.05	4	0.00E+00	8.6	-1.20
0.50	4	0.00E+00	9.1	-1.05
2.00	4	0.00E+00	9.9	-0.81
4.00	4	9.25E-03	12.0	-0.15
6.00	4	1.53E-02	13.4	0.27
Overall	24		12.5	

H = 9.97 DF = 5 P = 0.076

H = 11.38 DF = 5 P = 0.044 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on AtarGm

ConcSC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	2.21E-01	20.3	2.40
0.05	4	0.00E+00	8.4	-1.28
0.50	4	0.00E+00	8.6	-1.20
2.00	4	0.00E+00	9.4	-0.97
4.00	4	8.15E-02	12.8	0.08
6.00	4	1.74E-01	15.6	0.97
Overall	24		12.5	

H = 8.94 DF = 5 P = 0.112

H = 10.20 DF = 5 P = 0.070 (adjusted for ties)

### ***Tibouchina granulosa* (Tg) Sala Climatizada (SC)**

Kruskal-Wallis Test on GtotTb

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	0.7200	19.5	2.17
0.05	4	0.4500	14.3	0.54
0.50	4	0.6700	19.3	2.09

2.00	4	0.3600	12.1	-0.12
4.00	4	0.2300	6.1	-1.98
6.00	4	0.1200	3.7	-2.71
Overall	24		12.5	

H = 17.20 DF = 5 P = 0.004

H = 17.31 DF = 5 P = 0.004 (adjusted for ties) **Reject H0**

Kruskal-Wallis Test on BiomTb

Conc_SC	N	Median	Ave Rank	Z
0.00	4	2.00E-04	13.4	0.27
0.05	4	1.05E-04	12.4	-0.04
0.50	4	1.75E-04	13.5	0.31
2.00	4	2.45E-04	15.9	1.05
4.00	4	3.45E-04	15.8	1.01
6.00	4	1.50E-05	4.1	-2.59
Overall	24		12.5	

H = 7.51 DF = 5 P = 0.185

H = 7.56 DF = 5 P = 0.182 (adjusted for ties)

ANEXO V. Valores de  $p$  do teste Kruskal-Wallis ou  $p$  do teste Mann-Whitney.

Variável	%	Ge		CV			SC				Tg
		Bb	Ha	Ll	Rc	Ah	Bb	Ha	Rc	Gm	
Gpre	0.05	*	0.0081	0.0591	0.0284		0.7715	1.0000			
	0.5	0.465	0.0643	--	--	*	0.1939	0.5614	*	*	
	2.0			--	0.0256	0.245	0.0606	0.3123	0.136	0.077	
	4.0			--	0.0256		0.3094	0.3094			
	6.0			--	0.0256		0.0294	--			
Gtar	0.05	*	0.0050	0.8852	1.0000				0.5347		
	0.5	0.981	0.0036	--	--	*	*	*	--	*	
	2.0			--	--	0.831	0.074	0.395	--	0.066	
	4.0			--	--				--		
	6.0			--	--				--		
Gtot	0.05	*	*	0.1465	0.0591			0.6650			0.2454
	0.5	0.773	0.269	--	--	*	*	0.6650	*	*	0.8852
	2.0			--	0.0265	0.634	0.176	0.0606	0.119	0.195	0.0833
	4.0			--	0.0265			0.0606			0.0304
	6.0			--	0.0265			0.0304			0.0294
Rpre	0.05	*	0.9162	0.4678	0.0606			0.1124		0.0304	
	0.5	0.608	0.0100	--	--	*	*	0.0304	*	0.0304	
	2.0			--	0.0265	0.284	0.084	0.0304	0.185	0.1939	
	4.0			--	0.3005			0.0304		0.1939	
	6.0			--	0.0265			--		0.8852	
Rtar	0.05	*	0.0136	0.1939	0.1939			0.1124	1.000	0.0265	
	0.5	0.116	0.0009	--	--	*	*	0.1939	--	0.0265	
	2.0			--	--	0.479	0.802	0.4705	--	0.0545	*
	4.0			--	--			0.0304	--	0.0591	0.182
	6.0			--	--			0.8852	--	0.0304	
Apré	0.05	*		0.4705	0.0304		0.7702	0.4705			
	0.5	0.137		--	--	*	0.0294	0.8852	*	*	
	2.0			--	0.0265	0.290	0.0265	0.8852	0.292	0.144	
	4.0			--	0.0265		0.0304	0.0606			
	6.0			--	0.0545		0.0294	--			
Atar	0.05	*	0.0404	0.3123	0.0304			0.0304	0.7829		
	0.5	0.787	0.1275	--	--	*	*	0.1939	--	*	
	2.0			--	--	0.674	0.553	0.0606	--	0.070	
	4.0			--	--			0.4705	--		
	6.0			--	--			0.3123	--		

\* As células com asteriscos apresentam o valor  $p$  de Kruskal-Wallis, sempre que  $p$  foi igual ou superior ao  $\alpha$  (0.05) (Ver Anexo IV). Nesses casos, não houve diferença significativa entre os diversos tratamentos, para a variável em questão e a hipótese  $H_0$  é aceita.

As demais células (sem asteriscos) apresentam o  $p$  obtido pelo Mann-Whitney para cada tratamento comparado ao controle. Isso porque o teste Kruskal-Wallis apresentou  $p$  inferior a 0,05 (Ver Anexo IV), significando que pelo menos um dos tratamentos (ou concentrações) difere significativamente dos demais. Para saber qual tratamento difere do controle, o teste Mann-Whitney foi realizado (tratamento x controle), e o  $p$  obtido é apresentado na célula respectiva.

Valor  $p$  em vermelho: decréscimo significativo.

Valor  $p$  em azul: acréscimo significativo.

-- = ausência total de germinação/ ausência de biomassa.