

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro
Programa de Pós Graduação *Lato Sensu*
Especialização em Gestão Ambiental
Campus Nilópolis

Fabíola Vieira Gonçalves

**Potencial uso de *Crotalaria spectabilis* Roth (Fabaceae) em programas de
fitorremediação de solos contaminados com petróleo**

Nilópolis-RJ

2014

Fabiola Vieira Gonçalves

Potencial uso de *Crotalaria spectabilis* Roth (Fabaceae) em programas de fitorremediação de solos contaminados com petróleo

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Especialista em Gestão Ambiental.

Orientador: Prof^ª. Denise da Silva Martins

Nilópolis-RJ

2014

G635p Gonçalves, Fabíola Vieira

Potencial uso de *Crotalaria spectabilis* em programas de fitorremediação de solos contaminados com petróleo / Fabíola Vieira Gonçalves. – Nilópolis, RJ: IFRJ, 2014.

37 f.; 30 cm.

Orientadora: Denise da Silva Martins.

Trabalho de conclusão de curso (pós-graduação) - Instituto Federal do Rio de Janeiro - IFRJ, Pós-Graduação em Gestão Ambiental, 2014.

1. Gestão ambiental. I. Gonçalves, Fabíola Vieira. II. Instituto Federal do Rio de Janeiro. III. Título.

CDU 658:502

Fabíola Vieira Gonçalves

**Potencial uso de *Crotalaria spectabilis* Roth (Fabaceae) em programas de
fitorremediação de solos contaminados com petróleo**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos
requisitos para obtenção do título de Especialista em Gestão
Ambiental.

Data de Aprovação: _____

Prof^a. Msc. Denise da Silva Martins
(Orientadora)

Prof. DSc. Leonardo Oliveira Medici
(UFRRJ)

Prof. DSc. Carlos Alexandre Marques
(IFRJ)

Nilópolis-RJ

2014

DEDICATÓRIA

À minha mãe, Isabel e ao meu pai, Jander, por terem me ensinado valores que transcendem a formação acadêmica e que serviram de base pro meu desenvolvimento pessoal e profissional. Pelo sacrifício que tiveram; pelo incentivo e apoio nos momentos mais difíceis que passei. Enfim... Por todo amor dedicado a mim.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus por me permitir chegar ao fim de mais uma jornada.

À minha orientadora Denise da Silva Martins pelos ensinamentos transmitidos e por ter confiado em mim para a execução deste trabalho.

À UFRRJ por permitir que parte do trabalho fosse realizado em seu *Campus*.

Aos amigos da turma de Especialização em Gestão Ambiental 2012, pelos momentos que passamos juntos e pelo conhecimento compartilhado. Ressalto que foi um grande prazer estar ao lado de vocês ao longo destes “quase” dois anos.

Aos amigos Alex Santos e Aline de Azevedo, pela amizade e companhia no longo trajeto Seropédica-Nilópolis.

Às amigas Daniela Gomes e Aline Bhering sempre presentes em minha vida.

À minha família, especialmente irmãos e sobrinhos, por serem meu alicerce e meu refúgio dos momentos de incerteza.

Ao amigo, companheiro e também esposo Wilson Duarte, por ter estado ao meu lado, incentivando sempre, em todos os momentos dessa caminhada.

GONÇALVES, Fabíola Vieira. **Potencial uso de *Crotalaria spectabilis* Roth (Fabaceae) em programas de fitorremediação de solos contaminados com petróleo.** 37f. Trabalho de Conclusão de Curso. Programa de Pós-Graduação em Gestão Ambiental. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Nilópolis, RJ, 2014.

RESUMO

O presente estudo comparou o comportamento da espécie *Crotalaria spectabilis*, quando germinada em substrato com diferentes percentuais de petróleo, quanto a germinação e índice de velocidade de emergência (IVE); massa fresca total da plântula (MF), número de folhas (NF), comprimento da parte aérea, assim como variáveis de raiz, volume, área, comprimento e características anatômicas. Dessa forma as investigações realizadas neste trabalho, objetivaram dar suporte a outros estudos concomitantes, a cerca de espécies com potencial fitorremediador. Testou-se sete concentrações diferentes de petróleo (0,1, 2, 3, 4, 8, 10%). O experimento foi conduzido em casa de vegetação climatizada e as plântulas foram coletadas 18 dias após a semeadura. Os resultados indicaram que a crotalaria é afetada, ainda que de formas diferentes, em todos os níveis de contaminação, sendo o nível de 10% o mais severo, inibindo totalmente a germinação. Em níveis mais baixos 1 e 2% a espécie apresentou adaptações positivas, apresentando médias maiores para todos a variáveis mensuradas. Enquanto que para níveis maiores de contaminação 3, 4 e 8% apenas as características referentes aos pêlos tiveram variação positiva, excetuando-se o nível de 8%, para o qual as plântulas apresentaram número reduzido de pêlos estando os mesmos deformados. Além disso os cortes anatômicos indicaram a presença do óleo no interior do tecido radicular nos níveis de 3,4 e 8%, e também no caule para o nível de 8%. Com isso, pode-se inferir que a espécie em estudo, tem potencial para ser utilizada em áreas contaminadas com petróleo em níveis inferiores a 4%, já que a mesma possui mecanismos de adaptação, muito embora necessite de estudos mais aprofundados para verificar seu efetivo caráter fitorremediador.

Palavras chave: Leguminosae, Fitorremediação, Petróleo, *Crotalaria spectabilis*.

GONÇALVES, Fabíola Vieira. Potential use of *Crotalaria spectabilis* in phytoremediation of contaminated soils petróleo. 37f. Completion of course work. Graduate Program in Environmental Management. Federal Institute of Education, Science and Technology of the Rio de Janeiro (IFRJ), Nilópolis, RJ, 2014.

ABSTRACT

The present study compared the behavior of *Crotalaria spectabilis* Roth (Fabaceae) species, when germinated on substrate with different percentages of oil, for germination and emergence rate index (EVI), total fresh weight of seedlings (MF), number of leaves (NF), shoot length, and further root variables, volume, area and length. Thus the investigations carried out in this paper, aimed to support other concurrent studies, some species with phytoremediation potential. Was tested seven different concentrations oil (0, 1, 2, 3, 4, 8 and 10 %). The experiment was conducted in a greenhouse and the plants were collected 18 days after sowing. The results indicated that crotalaria is affected, though in different forms, at all levels of contamination, being the level of 10%, the most severe, completely inhibiting germination. At lower levels 1 and 2% species showed positive adaptations, with higher averages for all the variables measured, showing no structural differences in their tissues compared to control (0 %). While for higher contamination levels 3, 4 and 8 % only features pertaining to hair had positive growth, except for the level of 8 %, for which the seedlings, showed number reduced of hairs, being the same deformed. Thus, can inferred that the specie under study, should to be used in contaminated areas with oil levels below 4%, since the same has adaptation mechanisms, although further studies need to verify your character phytoremediation.

Keywords: Leguminosae, Phytoremediation, Oil.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1. Petróleo	2
2.2. Métodos de remediação de solos.....	6
2.2.1. Fitorremediação	7
2.3. Espécies da família Leguminosae utilizadas em fitorremediação	9
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
5. CONCLUSÃO	22
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

1. INTRODUÇÃO

O derramamento de petróleo no meio ambiente representa um fator de risco aos ecossistemas e a saúde humana, além de ser um dos maiores contaminantes de solos em todo o mundo (BANKS & SCHULTZ, 2005). Os hidrocarbonetos do petróleo, quando no solo, afetam de forma negativa o ecossistema (HUTCHINSON & FREEDMAN, 1978; HURTIG & SAN SEBASTION, 2002). A descontaminação de solos contaminados com petróleo pode ser por meio de métodos físico-químicos e/ou biológicos. As técnicas que aplicam métodos biológicos são denominadas de biorremediação, que são um processos, nos quais se utilizam de agentes biológicos capazes de modificar ou reduzir poluentes alvos (CUNNINGHAM *et al.*, 1996; HOLLINGER *et al.*, 1997; MARIANO, 2006). O uso de processos biotecnológicos vem sendo utilizado há vários anos em outros países e, em certos casos, apresenta menor custo (WATTS *et al.*, 2000) e maior eficiência na remoção dos contaminantes do que as técnicas físicas e químicas, sendo atualmente utilizada em escala comercial no tratamento de diversos resíduos e na remediação de áreas contaminadas (BANFORTH & SINGLETON, 2005). A atenuação dos poluentes, pelas técnicas da biorremediação, pode ser *in situ*, como atenuação natural, bioaugmentação, bioestimulação e fitorremediação, ou *ex situ*, como “landfarming”, compostagem e biorreatores.

Dentro da biorremediação, a fitorremediação é uma das técnicas mais estudadas (COUTINHO & BARBOSA, 2007). A fitorremediação é caracterizada pelo uso de plantas para direta ou indiretamente remover, degradar ou inativar contaminantes de solo presentes na área de atuação do sistema radicular. Dessa forma, todo o sistema de cultivo, desde a escolha das plantas ao manejo da irrigação e de adubação, visa maximizar o efeito da remediação (CUNNINGHAM *et al.*, 1996). Entretanto, de acordo com SANTOS *et al.* (2004), no Brasil, essa técnica é ainda incipiente, tendo seu uso difundido nos EUA e na Europa, principalmente na remediação de metais pesados; estudo esse que têm identificado algumas espécies de comprovada eficiência.

A maioria das pesquisas em fitorremediação estuda a utilização de plantas denominadas “hiperacumuladoras”, que têm a capacidade de estocar grandes quantidades de metais pesados sem uso aparente em seu metabolismo (WEIS & WEIS, 2004). Várias espécies de Poaceae, Fabaceae, Mimosaceae, e Caesalpiniaceae têm sido estudadas devido ao seu potencial de degradação do petróleo (BIZAO, 2012).

Embora já existam alguns estudos relativos ao potencial de uso da fitorremediação para a recuperação de solos contaminados com petróleo, ainda se tem um limitado número de espécies de plantas investigadas quanto ao impacto da contaminação do solo com petróleo na sua germinação, desenvolvimento e estabelecimento. Dessa forma, objetiva-se estudar o processo de germinação da espécie *Crotalaria spectabilis* Roth (Fabaceae) associada a diferentes percentuais de petróleo no substrato.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Petróleo

O petróleo, um combustível fóssil, pode ser encontrado naturalmente em determinadas camadas sedimentares conhecidas como “rochas reservatório”, resultantes da transformação e decomposição da matéria orgânica de plantas aquáticas e animais pré-históricos ao longo do tempo (PEDROZO *et al.*, 2002). O petróleo é, naturalmente, uma substância oleosa, inflamável, com cheiro característico e em geral, menos denso que a água, e com cor variando entre o negro e o castanho escuro.

A composição química e a natureza física do petróleo podem variar significativamente e a relação desses com a sua idade geológica não está, ainda, totalmente esclarecida. A composição natural do mesmo pode variar entre os diferentes reservatórios dos países produtores; em geral, é dada por uma mistura complexa de hidrocarbonetos e heterocompostos (não hidrocarbonetos) que se constituem de pequenas quantidades de compostos orgânicos contendo enxofre, nitrogênio e oxigênio, assim como baixas concentrações de compostos orgânicos metálicos, principalmente níquel e vanádio. Já os hidrocarbonetos são compostos formados exclusivamente de hidrogênio e carbono e representam mais de 90% da composição da maioria dos petróleos (ANDRADE *et al.*, 2010; PEDROZO *et al.*, 2002).

De forma geral, encontram-se três principais grupos de hidrocarbonetos no petróleo: parafínicos, naftênicos e aromáticos (PEDROZO *et al.*, 2002). Dentre esses, o grupo dos aromáticos é o que exige maior preocupação ambiental e que, normalmente, apresentam os principais compostos a serem identificados e quantificados antes e durante um processo de remediação. Esses compostos são definidos como hidrocarbonetos monoaromáticos, cujas

estruturas moleculares possuem como característica principal a presença do anel benzênico (ANDRADE *et al.*, 2010).

Esses compostos aromáticos são tóxicos tanto ao meio ambiente como ao ser humano, nos quais atuam como depressores do sistema nervoso central e apresentam toxicidade crônica mais significativa que os hidrocarbonetos alifáticos (também presentes no petróleo e derivados), mesmo em concentrações da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ (WATTS *et al.*, 2000). Os hidrocarbonetos de petróleo afetam as plantas química e fisicamente (PEZESHKI *et al.*, 2000).

De acordo com PEZESHKI *et al.* (2000) o efeito direto do óleo tende a ser mais severo sobre a parte aérea das plantas, agindo, frequentemente, na toxicidade dos tecidos ou inibindo as trocas gasosas (respiração, transpiração e fotossíntese). No solo, pode levar ao stress de oxigênio nas raízes, por reduzir as trocas gasosas entre o solo e a atmosfera, afetando a seletividade iônica das membranas, e ainda pode afetar a rebrota de novas plântulas, pela sensibilidade ao contato com o óleo à medida que emergirem.

O grau de impacto ambiental e persistência do petróleo no ambiente dependem de fatores como a estação do ano, o tipo e quantidade de óleo derramado, espécies de organismos atingidos, solo, condições hidrográficas e meteorológicas, clima, frequência e duração da exposição ao petróleo e práticas utilizadas na tentativa de contenção e descontaminação (BAKER, 1970; PEZESHKI *et al.*, 2000).

Atualmente existem leis que regulamentam a prevenção, o controle e a fiscalização da poluição causada pela exploração, refino, transporte e armazenamento do petróleo, sendo estas relacionadas de forma direta ou indireta com a conservação do Meio Ambiente.

Legislação

No Brasil, a publicação da Lei nº 6.938 (BRASIL, 1981), de 31 de agosto de 1981 (revisão de 12 de abril de 1990), com fundamento nos incisos VI e VII do art. 23 e no art. 235 da Constituição Federal, estabelece a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, constitui o Sistema Nacional do Meio Ambiente (Sisnama) e institui o Cadastro de Defesa Ambiental.

O Decreto nº 2.870 (BRASIL, 1998), de 10 de dezembro de 1998, promulga a convenção internacional sobre preparo, resposta e cooperação em caso de poluição por óleo,

assinada em Londres, em 30 de novembro de 1990. Este decreto define os procedimentos a serem adotados no que diz respeito a planos de emergência para poluição por óleo, aos relatórios sobre poluição por óleo, a colaboração das partes ao ser recebido relatório de um caso de poluição por óleo, à cooperação internacional na resposta à poluição, a incentivos à pesquisa e desenvolvimento e à cooperação técnica, bem como a elaboração de sistemas nacionais e regionais de preparo e resposta, trazendo ao país a obrigatoriedade de um plano nacional de contingência, que deve contemplar toda a infraestrutura necessária para responder adequadamente a essas ocorrências.

A Lei nº 9.966 (BRASIL, 2000), de 28 de abril de 2000, dispõe sobre a prevenção, o controle e a fiscalização da poluição causada por lançamento de óleo e outras substâncias nocivas ou perigosas, estabelecendo os princípios básicos a serem obedecidos na movimentação de óleo e outras substâncias nocivas ou perigosas em portos organizados, instalações portuárias, plataformas e navios em águas sob jurisdição nacional. Inferindo sobre os sistemas de prevenção, controle, combate da poluição, transporte, descarga de óleo e/ou substâncias nocivas ou perigosas e lixo. Dispondo ainda sob as infrações e sanções.

A Resolução CONAMA nº 269 (CONAMA, 2000), de 14 de setembro de 2000, determina que a produção, importação, comercialização e uso de dispersantes químicos para as ações de combate aos derrames de petróleo e seus derivados no mar somente poderão ser efetivados após a obtenção do registro do produto junto ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Ela condiciona, também, a utilização de dispersantes químicos em vazamentos, derrames e descargas de petróleo e seus derivados no mar aos critérios dispostos no regulamento anexo à mesma Resolução.

A Resolução CONAMA nº 293, de 12 de dezembro de 2001, dispõe sobre o conteúdo mínimo do Plano de Emergência Individual para incidentes de poluição por óleo, originados em portos organizados, instalações portuárias ou terminais, dutos, plataformas, bem como suas respectivas instalações de apoio, e orienta a sua elaboração.

O Decreto nº 4.136, de 20 de fevereiro de 2002, dispõe sobre a especificação das sanções aplicáveis às infrações às regras de prevenção, controle e fiscalização da poluição

causada por lançamento de óleo e outras substâncias nocivas ou perigosas em águas sob jurisdição nacional, prevista na Lei nº 9.966, de 28 de abril de 2000, e dá outras providências.

O Decreto nº 4871 (BRASIL, 2003), de 06 de novembro de 2003, colocou em vigor o Plano de Área, para a consolidação dos Planos de Emergência Individuais nas áreas de concentração sujeitas a riscos de poluição.

A Resolução CONAMA nº 398, de 11 de junho de 2008, Revoga a Resolução CONAMA nº 293/01 e dispõe sobre o conteúdo mínimo do plano de Emergência individual para incidentes de poluição por óleo em águas sob jurisdição nacional, originados em portos organizados, instalações portuárias, terminais, dutos, sondas terrestres, plataformas e suas instalações de apoio, refinarias, estaleiros, marinas, clubes náuticos e instalações similares, e orienta a sua elaboração.

Ainda sob este âmbito, inserem-se também as Cartas de Sensibilidade Ambiental a Vazamentos de Óleo - Cartas SAO. De acordo com o Ministério do Meio Ambiente & Secretaria de Qualidade Ambiental (2013), as Cartas de SAO constituem ferramentas essenciais e fonte primária de informações para o planejamento de contingência e para a implementação de ações de resposta a incidentes de poluição por óleo, permitindo identificar os ambientes com prioridade de proteção e as eventuais áreas de sacrifício, possibilitando o correto direcionamento dos recursos disponíveis e a mobilização adequada das equipes de contenção e limpeza. Além disto, as mesmas têm um enorme potencial para emprego no planejamento ambiental da zona costeira e marinha, reforçando os instrumentos políticos e administrativos de ordenamento territorial.

Sendo assim, as cartas de sensibilidade, ora especificadas, destinam-se à caracterização das áreas costeiras e marinhas sob jurisdição nacional, por meio da disponibilização de documentos cartográficos que sirvam como uma ferramenta crítica no planejamento e resposta a incidentes com derramamento de óleo. As cartas SAO auxiliam a reduzir as consequências ambientais de vazamentos de óleo e orientam os esforços de contenção e limpeza/remoção, pela identificação da sensibilidade dos ecossistemas costeiros e marinhos, de seus recursos biológicos e das atividades socioeconômicas que caracterizam a

ocupação dos espaços e o uso dos recursos costeiros e marinhos nas áreas representadas (Ministério do Meio Ambiente & Secretaria de Qualidade Ambiental, 2013)

A Lei Nº 9.966, de 28 de abril de 2000, atribuiu ao Ministério do Meio Ambiente responsabilidades na identificação, localização e definição dos limites das áreas ecologicamente sensíveis com relação à poluição causada por lançamento de óleo e outras substâncias nocivas ou perigosas em águas sob jurisdição nacional. Além disto, a Resolução CONAMA nº 398, de 11/06/2008, insere as Cartas SAO no conteúdo mínimo dos Planos de Emergência Individuais (PEI) para determinados empreendimentos. Por sua vez, o Decreto nº 4.871, de 06/11/2003, estabelece que os Planos de Área para o combate à poluição por óleo em águas sob jurisdição nacional deverão conter mapas de sensibilidade ambiental, conforme as especificações e normas técnicas para elaboração das Cartas SAO (Ministério do Meio Ambiente & Secretaria de Qualidade Ambiental, 2013).

2.2. Métodos de remediação de solos

Frequentes derramamentos de petróleo nos solos brasileiros vêm motivando o desenvolvimento de novas técnicas para o tratamento de descontaminação destes (ANDRADE *et al.*, 2010). Muitos processos físicos, químicos e biológicos estão sendo usados para remediar solos contaminados. Tais processos atuam removendo ou estabilizando o contaminante. A estabilização não reduz a quantidade do poluente, mas pode alterar suas propriedades químicas facilitando seu sequestro ou adsorção, reduzindo os riscos ao ambiente (CUNNINGHAM *et al.*, 1995).

As técnicas disponíveis para a remediação podem ser divididas em dois grupos, as técnicas *in situ* e as *ex situ*. As técnicas *ex situ*, devido a riscos ambientais que envolvem escavação, manipulação, transporte e armazenamento de materiais contaminados, têm sido preteridas em função das *in situ* (PROCÓPIO *et al.*, 2009). Nesse âmbito, o uso da fitorremediação, desponta por se tratar de uma técnica *in situ* e de baixo custo quando comparada a outras tecnologias da engenharia.

De acordo com PILON-SMITS (2005) a fitorremediação vem ganhando popularidade junto as agências governamentais e industriais nos últimos dez anos, baseada em parte ao relativo baixo custo, combinado com os limitados recursos financeiros disponíveis para limpeza ambiental.

2.2.1. Fitorremediação

Fitorremediação é definida como o uso de plantas e seus microrganismos associados para limpeza ambiental (RASKIN *et al.*, 1994; SALT *et al.*, 1995; SALT *et al.*, 1998). A fitorremediação de hidrocarbonetos de petróleo presume-se baseada na estimulação da degradação microbiana na rizosfera. As plantas podem melhorar a degradação microbiana por fornecimento de oxigênio na zona de raiz ao longo do sistema radicular e agregados de solo solto. É necessário oxigênio molecular para a oxidação do substrato que é a etapa inicial na degradação da maioria dos hidrocarbonetos (YEUNG *et al.*, 1997). Esse processo é de ocorrência natural, no qual plantas e microbiota da rizosfera degradam e sequestram poluentes orgânicos e inorgânicos, sendo considerada como uma tecnologia eficiente para uma variedade destes compostos (PILON-SMITS, 2005). As substâncias-alvos da fitorremediação incluem metais (chumbo, zinco, cobre, níquel, mercúrio e selênio) compostos inorgânicos (nitrato e amônio), elementos químicos radioativos (urânio, céσιο e estrôncio), hidrocarbonetos derivados de petróleo (benzeno, compostos aromáticos tolueno, etilbenzeno, xileno e voláteis tipicamente encontrado na produção de petróleo), pesticidas e herbicidas (atrazine, bentazona, compostos clorados e nitro aromáticos), explosivos, solventes clorados e resíduos orgânicos industriais (PILON-SMITS, 2005).

Em locais contaminados com petróleo, a fitorremediação pode ser aplicada a níveis de contaminação moderada ou após a aplicação de outras medidas de reparação como um passo de refinamento para degradar ainda mais hidrocarbonetos residuais e para melhorar a qualidade do solo (FRICK *et al.*, 1999).

Os mecanismos pelos quais as plantas podem afetar a massa de contaminantes no solo, sedimentos e água estão divididos dentro das seguintes nomenclaturas: fitoextração, fitovolatilização, fitoestabilização, fitodegradação, rizodegradação, rizofiltração e controle hidráulico; embora haja semelhanças e sobreposição entre eles.

Fitoextração

Refere-se a habilidade das plantas em remover e acumular em seus tecidos metais e outros compostos do subsolo, sem degradá-los (SUSARLA *et al.*, 2002; ANDRADE *et al.*, 2007).

Fitovolatilização

É a liberação de poluentes por parte das plantas para a atmosfera na forma de gás (PILON-SMITS, 2005). A volatilização pode ocorrer pela biodegradação na rizosfera ou após a passagem na própria planta. No caso da absorção do poluente pela planta, este pode passar por diversos processos metabólicos internos, sendo liberado a partir da superfície das folhas. (ANDRADE *et al.*, 2007).

Fitoestabilização

Aproveita as alterações induzidas pela presença da planta na química e na ecologia do solo. Essas alterações podem levar a imobilização de um contaminante no solo por meio de absorção, acumulação e adsorção em raízes, ou a precipitação dentro da zona radicular, assim como, prevenir a migração de contaminantes através do vento, da erosão hídrica, lixiviação, bem como evitando a dispersão do solo (U. S. EPA, 2000).

Fitodegradação

É a degradação de contaminantes absorvidos pelas plantas através de processos metabólicos em seu interior, ou a degradação de contaminantes externos à planta, por meio do efeito de compostos (tais como enzimas) produzidos por elas (U. S. EPA, 2000).

Rizodegradação

Refere-se à quebra de contaminantes no interior da zona radicular da planta, ou rizosfera (U. S. EPA, 2000).

Rizofiltração

Neste caso, o contaminante é removido da fase dissolvido e concentra-se no sistema de raízes. Rizofiltração é tipicamente explorada em águas subterrâneas, água de superfície, ou em águas residuais para a remoção de metais ou de outros compostos inorgânicos (U. S. EPA, 2000).

Entretanto é válido ressaltar que tecnologias não biológicas e bio/fitorremediação não são mutuamente excludentes, porque a distribuição e concentração de poluentes são heterogêneas para muitos locais. A solução de remediação mais eficiente e com melhor custo-

efetivo, pode ser uma combinação de diferentes tecnologias, tais como escavação dos pontos contaminados seguido por um polimento do local com o uso de plantas. Como uma remediação integrada, requer esforços multidisciplinares do conhecimento de uma equipe de cientistas (PILON-SMITS, 2005).

2.3. Espécies da família Leguminosae utilizadas em fitorremediação

Várias plantas foram identificadas por seu potencial para facilitar a fitorremediação de áreas contaminadas com hidrocarbonetos de petróleo (FLICK *et al.*, 1999). Na maioria dos estudos, gramíneas e leguminosas têm sido apontadas por seu potencial nesse sentido (APRILL & SIMS, 1990; GUNTHER *et al.*, 1996; REILLEY *et al.*, 1996).

As leguminosas possuem uma vantagem sobre as plantas não leguminosas na fitorremediação por causa de sua capacidade de fixar nitrogênio, ou seja, as leguminosas não têm que competir com microrganismos e outras plantas por reservas limitadas de nitrogênio disponível no solo, em locais contaminados com óleo (GUDIN & SYRATT, 1975 *apud* FRICK *et al.*, 1999).

Muitas espécies de plantas são consideradas sensíveis aos contaminantes do petróleo (HUANG *et al.* 2004). Entretanto, as leguminosas são apontadas por GUDIN & SYRATT (1975) *apud* ADAM & DUNCAN (2002) como as mais abundantes recolonizadoras de áreas contaminadas por hidrocarbonetos de petróleo.

LINDINO *et al.* (2012) estudaram a capacidade da espécie *C. spectabilis* em acumular cádmio (Cd) e chumbo (Pb), visando utilizá-la em programas de fitorremediação. Embora seus resultados não tenham demonstrado eficiência na absorção de Cd, a *C. spectabilis* apresentou capacidade de armazenar o metal pesado tóxico Pb nos tecidos vegetais dos órgãos aéreos, o que, segundo o autor, pode tornar esta espécie de grande importância para programas de fitorremediação de áreas contaminadas com esse metal.

Crotalaria spectabilis é uma planta de ciclo anual, da família Leguminosae, subfamília Papilionoideae, originária da Índia, que apresenta adaptação às regiões tropicais e subtropicais (PENTEADO, 2007). O gênero *Crotalaria* é um dos maiores da família Leguminosae, com aproximadamente 600 espécies (MONDIN, 2003), é conhecida como crotalária, guizo-de-cascavel e chocalho-de-cascavel (CALEGARI *et al.*, 1992).

Trata-se de uma espécie anual, de rápida germinação, porém de crescimento inicial lento. Possui raiz pivotante profunda, podendo romper camadas compactadas. É uma planta semi-arbustiva, de porte pequeno (0,60 m a 1,50 m) e ramificada. Apresenta bom comportamento nos diferentes tipos de textura de solo, inclusive nos solos relativamente pobres em fósforo (BARRETOS & FERNANDES, 2001).

Possui ampla utilização na agricultura como cobertura morta, para fixação de nitrogênio, pois forma nódulos de fixação de N em uma associação com bactérias do tipo *Rhizobium*. Além disso, é utilizada no controle de nematoides e na reciclagem de nutrientes (SILVEIRA & RAVA, 2004); sendo por isso, utilizada como planta melhoradora do solo. Suas fibras de celulose são de alta qualidade, próprias para a indústria de papel e outros fins (PENTEADO, 2007). ANDRADE & PONTE (1999) estudaram a possibilidade de controle do nematoide *Meloidogyne incognita* na cultura do quiabo, pelo uso da *C. spectabilis* na modalidade de plantio em camalhões ou consorciado, obtendo resultados positivos tanto no controle do *M. incognita*, assim como incrementos na produção.

É considerada a espécie mais tóxica de crotalária, só ingerida pelos animais na falta de outras forrageiras, pois possui o alcaloide monocrotalina, de efeito hepatotóxico (BARRETOS & FERNANDES, 2001).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em casa de vegetação climatizada com temperatura e umidade controladas, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro localizado, no município de Seropédica-RJ (Latitude 22°48'00''S; Longitude 43°41'00''W; Altitude de 33,0 m). De acordo com CARVALHO et al. (2006), o clima é do tipo Aw na classificação de Köppen.

O ensaio caracterizou-se por seis tratamentos, distinguindo-se entre eles pelas concentrações de petróleo de 0, 1, 2, 3, 4, 8, e 10% (p/v). O petróleo utilizado foi cedido pela Petrobras – Petróleo Tabit da Plataforma FPSO Cidade de Angra dos Reis/RJ, Brasil.

Foram utilizadas sementes comerciais (BRSeeds) de *Crotalaria spectabilis*, com as seguintes especificações: pureza de 99,2% e viabilidade de 60%. Utilizou-se como substrato a areia lavada na seguinte composição: 8,9% areia fina, 15,55 % areia media e 75,55 % areia grossa, esses percentuais foram obtidos por mensurações diretas através do uso de peneiras granulométricas com malhas correspondentes a cada classe de areia.

Nos tratamentos com petróleo, os percentuais de contaminação por petróleo foram calculados, considerando-se que 1% de petróleo corresponderia a 1mL para cada 100g de areia (p/v), sendo assim, a partir dessa relação calculou-se os demais percentuais. O petróleo foi então adicionado à areia e homogeneizado manualmente, com o auxílio de luvas para proteção das mãos.

Em cada recipiente foram semeadas 15 sementes a uma profundidade de aproximadamente 1,5 cm. Após a semeadura foi feita uma rega manual, aplicando-se 150 mL de água em cada recipiente.

As plântulas foram coletadas 18 dias após a semeadura, suas raízes foram lavadas para remoção da areia. Posteriormente foram realizadas as seguintes mensurações:

Massa fresca total - Cada plântula foi pesada individualmente em balança analítica.

Comprimento da parte aérea - Foram medidas diretamente por uma régua com precisão igual a 0,005 m.

Número de folhas - Contagem direta.

Comprimento, área de superfície, volume - Na coleta do experimento, as raízes foram lavadas em água corrente, separando-se três plântulas (quando existentes) representativas de cada concentração para as posteriores avaliações de comprimento (mm planta⁻¹), área de superfície (mm² planta⁻¹), volume (mm³ planta⁻¹) por meio de digitalização de imagens em scanner tridimensional, desenvolvido para este fim, acoplado a um computador dotado do Software WinRhizo versão 3.2, que utiliza como princípio a metodologia proposta por Tennant (1975).

Índices de germinação - Os efeitos de níveis de petróleo na germinação e índice de velocidade de emergência (IVE) em casa de vegetação foram avaliados 18 dias após semeadura (DAS) e, em seguida, as percentagens de plântulas emergidas foram calculados. Para a determinação do IVE, as plântulas com cotilédones completamente abertos foram contados diariamente. O cálculo do IVE foi baseado no teste de germinação adaptado de MAGUIRE's (1962) equação (Eq1):

$$\text{IVE} = \frac{E1}{N1} + \frac{E2}{N2} + \dots + \frac{En}{Nn} \quad (1)$$

Onde: E1, E2 ... En corresponde ao número de sementes emergidas, e N1, N2 ... Nn ao número de dias após o início do ensaio.

Anatomia da raiz - O material vegetal das plântulas germinadas em substrato contaminado com petróleo foi preservado em solução de etanol 70% em água (v/v) com 10% de glicerol.

Foram realizados cortes anatômicos à mão livre do material vegetal, manualmente com auxílio de lâminas de aço descartáveis. Os cortes mais finos sofreram descoloração ao hipoclorito de sódio comercial à 50% em água, seguido de neutralização com ácido acético. Em seguida foi feita a coloração usando-se corantes usuais em anatomia vegetal como safrablau (solução composta por dois tipos de corantes: o azul de astra 1% em água (9 partes), que cora paredes celulósicas em azul, e a safranina aquosa 1% em (1 parte), que cora paredes lignificadas, suberificadas e cutinizadas em vermelho), segundo BUKATSCH (1992); a fim de evidenciar os diferentes tecidos e estruturas anatômicas. O material corado foi utilizado na confecção de lâminas semi-permanentes, usando-se gelatina glicerinada como meio de montagem para posterior observação ao microscópio óptico (Olympus SC30) em diferentes

aumentos. Os materiais processados resultantes foram fotografados em câmera fotográfica digital acoplada ao microscópio.

As observações microscópicas foram realizadas no laboratório de Bioensaios do IFRJ *campus* Nilópolis.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Alterações nas características de germinação podem ser consideradas como um dos principais indicativos de tolerância ou susceptibilidade das plantas ao seu desenvolvimento e potencial fitorremediador em solos contaminados com petróleo. Diversos autores (BAKER, 1970; ADAM & DUNCAN, 2002; ACHUBA, 2006) relatam que componentes do óleo podem penetrar nas sementes e alterar reações metabólicas ou até mesmo matar o embrião. BANKS *et al.* (2005) encontraram uma correlação negativa entre percentuais de solo contaminado com petróleo e número de plantas germinadas. Entretanto, neste trabalho, *Crotalaria spectabilis* apresentou um comportamento diferenciado (Tabela 1), onde a concentração de 1% de petróleo parece favorecer a germinação, em detrimento do tratamento controle (0% de petróleo). O efeito negativo do óleo sobre a germinação aparece nas concentrações de 2, 8 e 10%, sendo que nesta última não foi observado a germinação de nenhuma plântula. As concentrações intermediárias apresentaram valores compatíveis com o observado para o controle. Esse efeito negativo pode estar relacionado com o fato do óleo ser capaz de formar uma camada hidrofóbica ao redor da semente, dificultando ou impedindo a absorção de água e oxigênio, que são essenciais para a germinação (BAKER, 1970; ADAM & DUNCAN, 2002; MERKL *et al.*, 2005). De modo geral, a presença de petróleo e óleo diesel pode gerar baixa germinação e baixa velocidade de germinação (ADAM & DUNCAN, 2002; MÉNDEZ NATERA *et al.*, 2004).

Nas condições de 1 e 2% de petróleo o índice de velocidade de germinação (IVE) (Tabela 1) foi superior aos demais tratamentos, sendo entretanto, o índice do tratamento controle superior aos de 3, 4 e 8%.

Tabela 1: Porcentagem de germinação e índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de *Crotalaria spectabilis* germinadas em areia contaminada com diferentes níveis de petróleo.

Tratamentos	Variáveis	
	Germinação (%)	IVE
0%	40	7,1554
1%	60	11,632
2%	23	11,182
3%	40	4,4945
4%	40	2,6082
8%	13	1,1035
10%	0	-

Com a relação ao desenvolvimento das plantas (Tabela 2) é válido ressaltar que os tratamentos com maior IVE, foram também aqueles que apresentaram maior comprimento de parte aérea e massa fresca total. BAMIDELE & AGBOGIDI (2000) e BAKER (1970) relataram que o petróleo bruto em determinadas concentrações pode estimular a síntese de substâncias reguladoras de crescimento, devido ao estresse causado por ele, favorecendo o crescimento das plantas. Isso explicaria o fato das plantas crescidas nas concentrações de 1 e 2% terem alcançado médias para massa fresca e comprimento da parte aérea superiores ao do controle. Quanto as que apresentaram médias inferiores para produção de biomassa, BOSSERT e BARTHA (1985) atribuem esse fenômeno à absorção de pequenas moléculas tóxicas do petróleo; que podem alterar a integridade da membrana plasmática das células (BAKER, 1970; REIS, 1996), e/ou estresse hídrico (TAIZ e ZEIGER, 1998; PEÑA-CASTRO, 2006). ASLI & NEUMANN (2010), em estudo com substâncias húmicas, que podem possuir caráter hidrofóbico (KAISER & ZECH, 2000) tal qual o petróleo; relacionaram a inibição do desenvolvimento da parte aérea ao acúmulo das mesmas na superfície da parede celular das células da epiderme; promovendo incrustação parcial dos poros da parede celular, o que levaria a reduções na condutividade hidráulica na raiz, crescimento de folhas, transpiração e resistência das plantas ao déficit hídrico.

A redução da biomassa foi também encontrada para *Panicum maximum* e *Brachiaria brizantha* em torno de 85 e 99 % respectivamente, em comparação com o tratamento controle,

por HERNÁNDEZ –VALENCIA E MAGER (2003) em solo contaminado com petróleo. Já MERKL *et al.* (2004), embora tenham relatado boas taxas de germinação e de crescimento para leguminosas sob condições de solo contaminado por petróleo; em um trabalho sequencial (MERKL *et al.* 2005) as mesmas espécies selecionadas previamente; não resistiram a um período entre 6 ou 8 semanas em solo contaminado. Os autores presumem três possíveis explicações; tempo de exposição ao óleo, superior ao testado previamente, forma do recipiente, desfavorecendo o arranjo das raízes em função da presença do óleo e o terceiro, fertilização, pelo excesso ou falta de nutrientes em função das características do solo.

Tabela 2: Desenvolvimento das plantas (médias dos valores de comprimento da parte aérea, NF - número de folhas e MF - massa fresca total) de plantas de *C. spectabilis* germinadas e crescidas em areia contaminada com diferentes níveis de petróleo.

Tratamentos	Comp. Parte aérea (mm)	NF (unidade)	MF (g)
0%	48,99	3,70	0,2136
1%	49,02	3,61	0,2467
2%	49,82	2,75	0,1873
3%	44,50	3,03	0,1699
4%	45,91	3,00	0,1648
8%	26,80	1,50	0,0918

Diversos autores, em estudo com as mais variadas espécies observaram uma maior ramificação nas raízes de plantas crescidas em solo contaminado por petróleo e óleo diesel (OLIVEIRA, 2004; ADAN & DUNCAN, 1999). NOGUEIRA et al. (2011) trabalhando com *Allophylus edulis*, encontraram maior comprimento radicular em plantas crescidas em solo contaminado por petróleo em relação a solo não contaminado. O maior crescimento das raízes em solo contaminado se deve ao fato de que o petróleo aderido nas mesmas, diminui a capacidade de absorção de água, criando um ambiente xerofítico (OLIVEIRA, 2004), onde o crescimento maior das raízes visa a busca por água por parte do vegetal.

Entretanto, neste trabalho, apenas a concentração de 1% parece ter estimulado o crescimento radicular (Tabela 3), superando para todas as variáveis (comprimento, área de superfície e volume de raízes); que apresentaram comportamento semelhante, o tratamento

controle. Esse comportamento pode ser um indicativo de que concentrações mais elevadas de petróleo possam ocasionar toxidez para essa espécie. Segundo ALKIO et al. (2005), em estudo com *Arabidopsis*, a absorção pela planta de fenantreno, um composto aromático presente no petróleo, pode ocasionar redução do crescimento das raízes, inibição do desenvolvimento de pêlos radiculares, diminuição do tamanho e do número de folhas, deformação dos tricomas e necrose foliar. A inibição do desenvolvimento de pêlos foi observada também neste trabalho, o que fica evidente nos cortes anatômicos de raiz (Figura 1).

Tabela 3: Médias das variáveis associadas as raízes de plântula de *Crotalaria spectabilis* avaliadas pelo Software WinRhizo crescidas em areia contaminada com diferentes níveis de petróleo.

Tratamentos	Variáveis de raiz		
	Comprimento (mm)	Área de superfície (mm ²)	Volume (mm ³)
0%	2402,1	121692,2	490587,0
1%	3114,1	148330,5	562226,9
2%	998,6	53490,5	228017,6
3%	1051,1	54774,3	227143,3
4%	752,7	49432,3	258346,2
8%	600,4	45853,1	293188,5

Com relação às estruturas anatômicas é possível observar alterações progressivas tanto para raiz como para o caule. A Figura 1 mostra em detalhes os pêlos radiculares. Nela, é possível identificar gotículas de óleo aderidas a superfície dos mesmos a partir da concentração de 2%, mais evidentes em 4%, conforme mostra a Figura 1c. Esse efeito é progressivo com o aumento das doses. As imagens referentes a concentração de 1% foram omitidas por não terem apresentado diferenças visíveis em relação ao tratamento controle (0%), o mesmo foi feito para o tratamento de 3%, pois o mesmo se assemelha ao de 4%. Outra característica interessante a ser ressaltada, é quanto as características dos pêlos, até a dose de 4% parece haver um tendência de aumento dos mesmos. NOGUEIRA, et al. (2011), acreditam que o maior desenvolvimento de pêlos radiculares em solo contaminado possa

minimizar o stress causado pela contaminação, devido à restrição de água e fósforo. Entretanto esse comportamento se inverte na dose de 8%, onde eles se tornam mais espaçados e com deformidades, principalmente o aparecimento de pelos mais curtos. A redução progressiva do número de pêlos também foi observada por ALKIO *et al.* (2005).

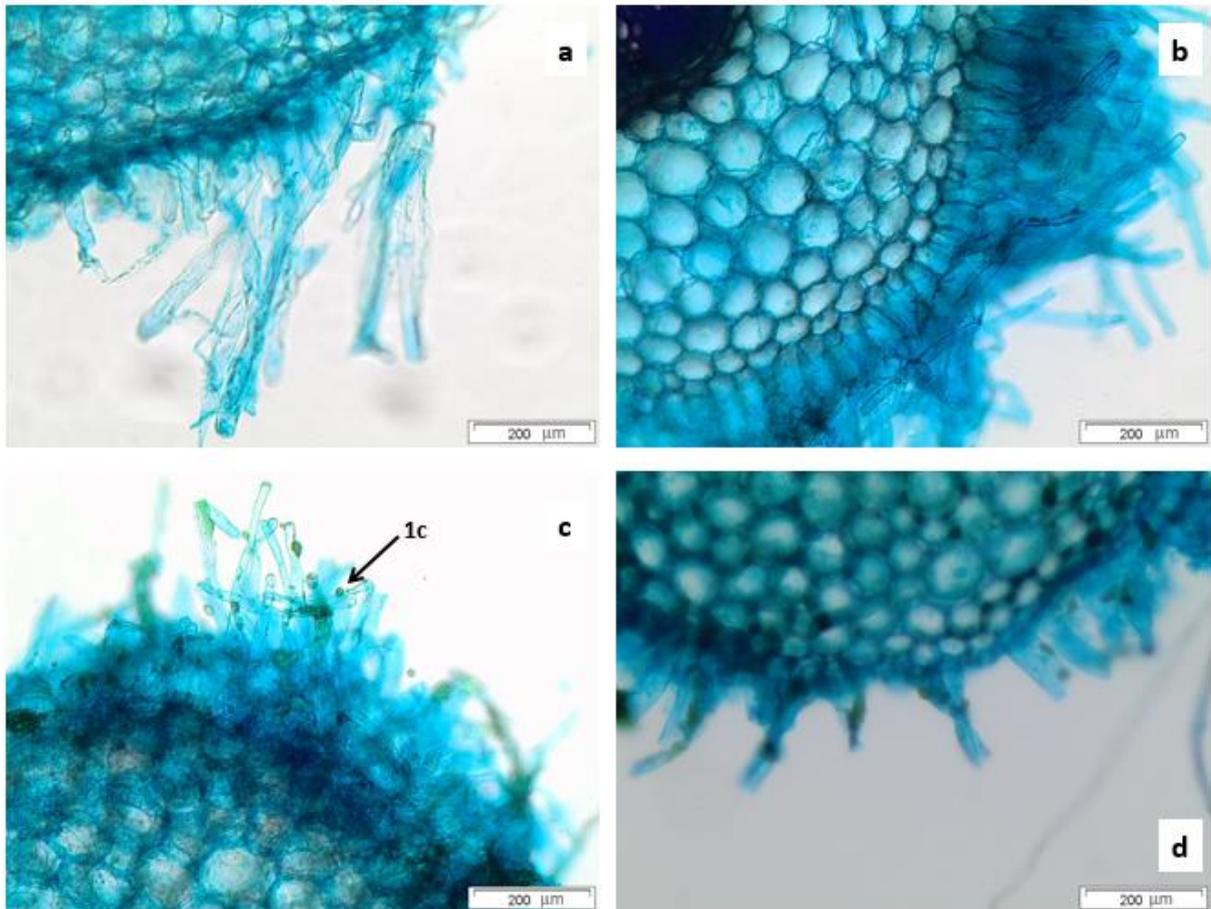


Figura 1: Corte transversal da raiz de plântulas de *Crotalaria spectabilis*, coletadas 18 dias após a semeadura a- substrato não contaminado (0%); b- substrato contaminado com 2% de petróleo; c- substrato contaminado com 4% de petróleo (1c- gotículas de óleo); d- substrato contaminado com 8% de petróleo.

A raiz de *C. spectabilis*; em corte transversal, apresenta estrutura anatômica típica de uma eudicotiledônea em crescimento primário, com arranjo tetrarco do cilindro vascular conforme mostrado na Figura 2.

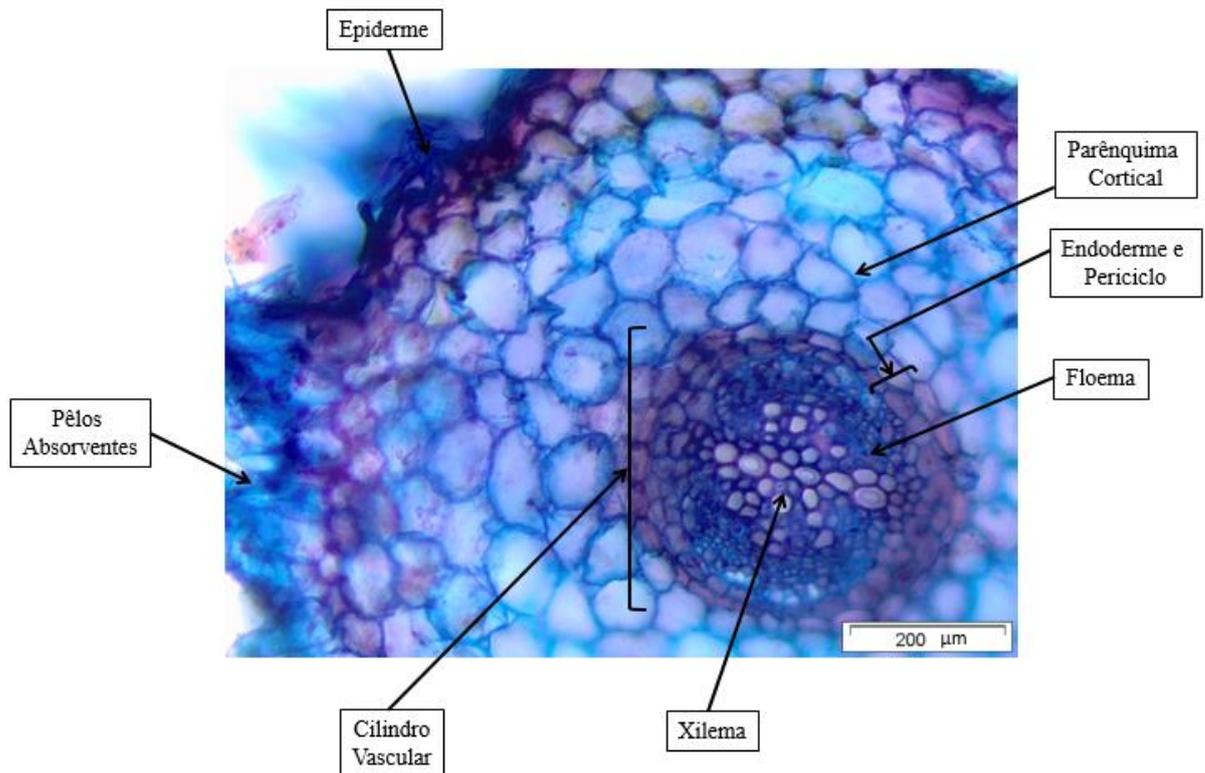


Figura 2: Corte transversal da raiz de plântulas de *Crotalaria spectabilis*, mostrando sua estrutura anatômica típica das famílias de Eudicotiledôneas, desenvolvidas em substrato não contaminado (4%).

Farias, *et al.* (2009) em estudo com *Erythrina crista-galli* L., da família leguminosae, em solo contaminado com diferentes níveis de petróleo, relataram o aparecimento de alterações na organização da epiderme, bem como para a forma e compactação das células que constituem o córtex. Os autores também relataram fortes alterações na estrutura do cilindro central; neste trabalho, em 8%, o cilindro vascular parece estar menos lignificado, entretanto essa alteração pode ser decorrente do menor desenvolvimento da plântula como um todo, e conseqüentemente da raiz, devendo ser considerado que este tratamento também apresenta o menor valor de IVE (Tabela 1), o que indica que trata-se de plantas mais jovens e portanto em estágio inicial de desenvolvimento (Figura 2). A ausência de modificações expressivas no cilindro central, neste trabalho, se deve possivelmente ao tempo de exposição ao óleo que no caso do trabalho desenvolvido por Farias *et al.* (2009), as plantas cresceram por 60 dias em solo contaminado, enquanto que neste trabalho o período foi apenas de 18

dias. Diferentemente deste estudo, NOGUEIRA *et al.* (2011) observaram deformações nas células epidérmicas.

A Figura 3, mostra em detalhes a entrada das gotículas de óleo no interior do tecido vegetal. Em 3 e 4%, o óleo pode ser visualizado na periferia do córtex, no apoplasto celular. Em 8% o córtex já aparece todo tomado pelo óleo, preenchendo tanto os espaços extracelulares (apoplasto) como os intracelulares (simplasto).

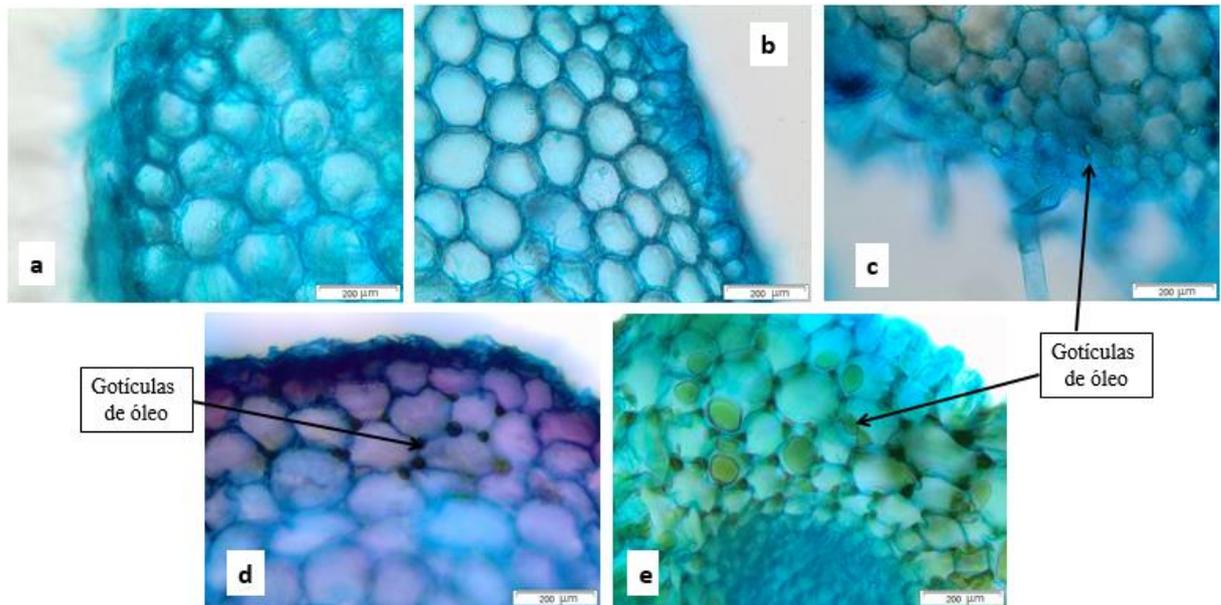


Figura 3: Corte transversal da raiz de plântulas de *Crotalaria spectabilis*, coletadas 18 dias após a semeadura a- substrato contaminado com 0% de petróleo; b- substrato contaminado com 2% de petróleo; c- substrato contaminado com 3% de petróleo; d- substrato contaminado com 4% de petróleo; e- substrato contaminado com 8% de petróleo

Nos cortes de caule a 4% (Figura 4) observa-se que o óleo ainda não está presente; entretanto a 8%, novamente é possível se observar a presença do óleo no apoplasto do parênquima cortical. A presença do óleo na parte aérea da planta indica que o mesmo atingiu o cilindro vascular da célula.

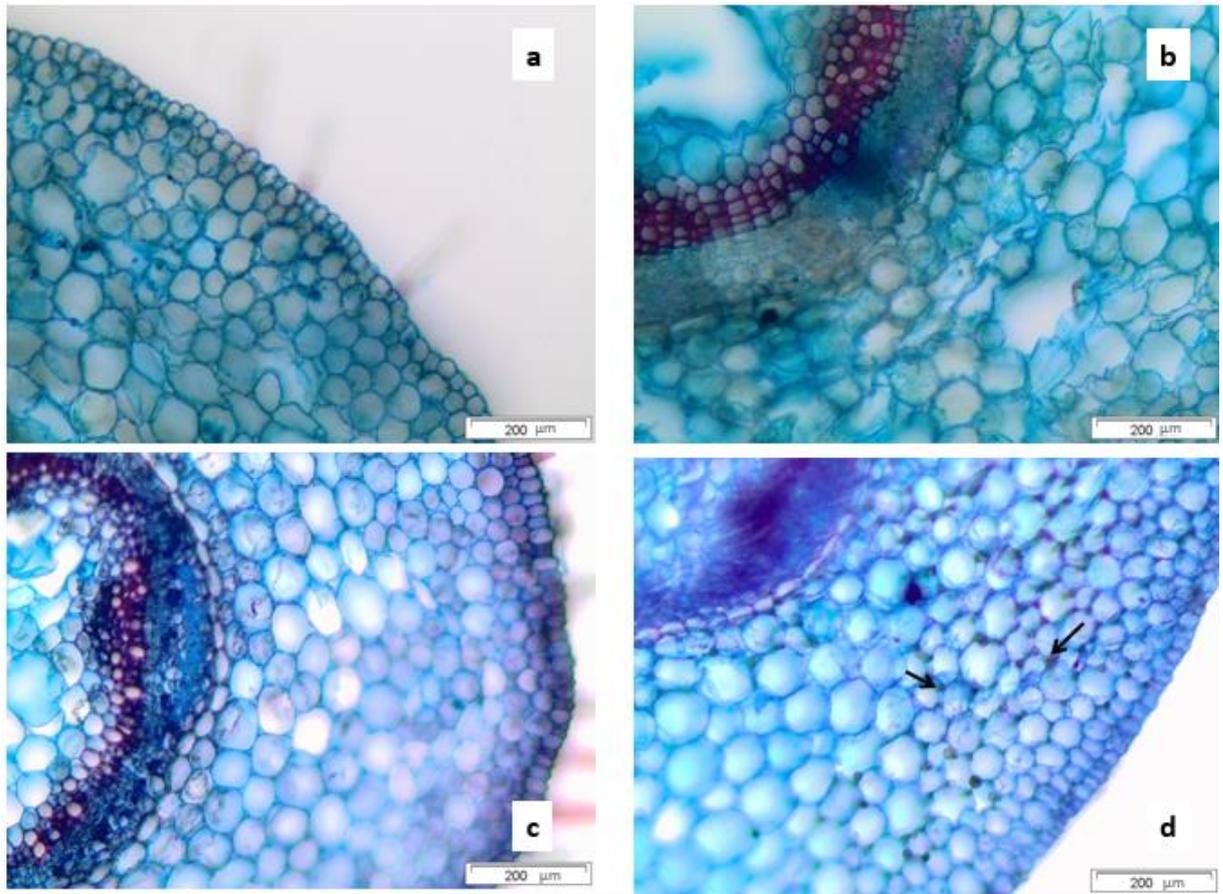


Figura 4: Corte transversal do caule de plântulas de *Crotalaria spectabilis*, coletadas 18 dias após a sementeira. a e b- substrato não contaminado (0%); c- substrato contaminado com 4% de petróleo; d- substrato contaminado com 8% de petróleo, onde se observa a presença de gotículas de óleo (seta) no parênquima.

5. CONCLUSÕES

A avaliação dos dados demonstra que a espécie *Crotalaria spectabilis* é sensível aos níveis de contaminação por petróleo, apresentando maior severidade no nível de 10%, com inibição total da germinação. Em 1 e 2% a espécie apresentou adaptações positivas, com médias maiores para todas as variáveis mensuradas. Nos níveis de 3, 4 e 8% de contaminação apenas as características referentes aos pêlos da epiderme tiveram variação positiva, excetuando-se o nível de 8%, para o qual as plântulas apresentaram número reduzido de pêlos estando os mesmos deformados.

Dessa forma pode-se inferir que a mesma tem possibilidades de germinar e se desenvolver em áreas contaminadas com petróleo com níveis inferiores a 4%, muito embora necessite de estudos mais aprofundados para verificar seu caráter fitorremediador.

6. BIBLIOGRAFIA

- ACHUBA, F. I. The effect of sublethal concentrations of crude oil on the growth and metabolism of Cowpea (*Vigna unguiculata*) seedlings. *Environmental*. 26, 17-20, 2006.
- ADAM, G.; DUNCAN, H. J. Effect of diesel fuel on growth of selected plant species. *Environmental Geochemistry Health*. 21, 353-357, 1999.
- ADAM, G.; DUNCAN, H. J. Influence on diesel fuel on seed germination. *Environmental Pollution*. 120, 363-370, 2002.
- ALKIO, M.; TABUCHI, T. M.; WANG, X.; COLÓN-CARMONA, A. Stress responses to polycyclic aromatic hydrocarbons in Arabidopsis include growth inhibition and hypersensitive response-like symptoms. *Journal of Experimental Botany*. 56 (421), 2983-2994, 2005.
- ANDRADE, J. C. M; TAVARES, S. R. L.; MAHLER, C. F. Fitorremediação: o uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental. *São Paulo, SP: Oficina de Textos*. 176p. 2007.
- ANDRADE, N. C.; PONTE, J. Efeito do sistema de plantio em camalhão e do consórcio com *Crotalaria spectabilis* no controle de *Meloidogyne icognita* em quiabeiro. *Nematologia brasileira*. 23(1), 1999.
- ANDRADE, J. A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I. C. S. F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. *Eclética Química*, 35 (3), 2010.
- APRILL, W.; SIMS, R. C. Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. *Chemosphere*. 20 (1-2), 253-265, 1990.
- ASLI, S.; NEUMANN, P. M. Rhizosphere humic acid interacts with root cell walls to reduce hydraulic conductivity and plant development. *Plant Soil*. 336:313–322, 2010.

BAKER, J. M. The effects of oils on plants. *Environmental Pollution*. 1 (1), 27-44. 1970.

BAMIDELE, J.F.; AGBOGIDI, O.M. Toxicity of odidi petroleum oil and its water soluble fraction on three aquatic macrophytes. *Nigerian Journal of Science and Environmental*. 2, 113-121, 2000.

BAMFORTH, S. M.; SINGLETON, I. Review Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 80, 723–736, 2005.

BANKS, M. K.; SCHULTZ, K. E. Comparison of plants for germination toxicity tests in petroleum-contaminated soils. *Water, Air, and Soil Pollution*. 167, 211–219, 2005.

BARRETOS, A. C.; FERNANDES, M. F. Recomendações técnicas para o uso da adubação verde em solos de tabuleiros costeiros. *Circular Técnica* 19. 2001.

BERNETH, L.; FIRTH, I.; MCALLISTER, P.; RHODES, S. Biotechnologies for remediation and pollution control in the mining industry. *Miner. Metall. Proc.*, 17, 105-111, 2000.

BIZAO, T. C. Utilização de *Echinochloa polystachya* (Kunth) Hitchc. (poaceae) na fitorremediação de solo contaminado com petróleo. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 61p. 2012.

BOSSERT, J., BARTHA, R. Plant growth in soils with a history of oily sludge disposal. *Soil Science*. 140 (1), 75-77. 1985.

CALEGARI, A.; ALCÂNTARA, P.B.; MIYASAKA, S.; AMADO, T.J.C. Caracterização das principais espécies de adubo verde. In: COSTA, M.B.B. Adubação verde no sul do Brasil. Rio de Janeiro: AS-PTA, 209-327, 1992.

CARVALHO, D.F.; SILVA, L.D.D.; FOLEGATTI, M.V.; COSTA, J.R.; CRUZ, F.A. Avaliação da evapotranspiração de referência na região de Seropédica-RJ utilizando lisímetro de pesagem. *Revista Brasileira Agrometeorologia*. 14 (1), 97-105, 2006.

COUTINHO, H. D; BARBOSA, A. R. Fitorremediação: Considerações Gerais e Características de Utilização. *Silva Lusitana*. 15(1), 103-117, 2007.

CUNNINGHAM, S. D.; BERTI, W. R.; HUANG, J. W. Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in Biotechnology*. 13, 393-397, 1995.

CUNNINGHAM, S. D.; OW, D. W. Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiology*. 110, 715-719, 1996.

FARIAS, V.; MARANHO, L. T.; VASCONCELOS, E. C.; CARVALHO FILHO, M. A. S.; LACERDA, L. G.; AZEVEDO, J. A. M.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. Phytodegradation Potential of *Erythrina crista-galli* L., Fabaceae, in Petroleum-Contaminated Soil. *Applied Biochemistry Biotechnology*. 157,10–22, 2009.

FRICK, C. M.; FARRELL, R. E.; GERMIDA, J. J. Assessment of Phytoremediation as an *In Situ* Technique for Cleaning Oil-Contaminated Sites. *Petroleum Technology Alliance of Canada*, Calgary. 1999.

GUDIN, C.; SYRATT, W. J. Biological aspects of land rehabilitation following hydrocarbon contamination. *Environmental Pollution* 8, 107–112, 1975.

GUNTHER, T.; DORNBERGER, U.; FRITSCH, W. Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil. *Chemosphere*. 33(2), 203-215, 1996.

HERNÁNDEZ-VALENCIA, I. & MAGER, D. El uso de *Panicum maximum* y *Brachiaria brizantha* para fitorremediar un suelo contaminado con crudo de petróleo liviano. *Bioagro* 15(3), 149-155, 2003.

HOLLIGER, C.; GASPARD, S.; GLOD, G.; HEIJMAN, C.; SCHUMACHER, W.; SCHWARZENBACH, R. P.; VAZQUEZ, F. Contaminated environment in the subsurface and bioremediation: organic contaminants. *FEMS Microbiology Review*, Amsterdam, 20 (4), 517-523, 1997.

HUANG X. D.; EL-ALAWI Y.; PENROSE D. M.; GLICK B. R.; GREENBERG B. M. A multi-process phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils. *Environmental Pollution*. 130, 465-476. 2004.

HUTCHINSON, T. C.; FREEDMAN, W. Effects of experimental crude oil spills on subarctic boreal forest vegetation near Norman Wells, N.W.T., Canada. *Canadian Journal of Botany* 56:2424-2433. 1978.

KAISER, K.; ZECH, W. Dissolved organic matter sorption by mineral constituents of subsoil clay fractions. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. v.163, n. 5, p. 531-535, 2000.

LINDINO, C. A.; TOMCZAK, A. P.; GONÇALVES JUNIOR, A. C. Fitorremediação de solos utilizando *Crotalaria spectabilis* para remoção de cádmio e chumbo. *Scientia Agraria Paranaensis*. 11(4), 25-32, 2012.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, Madison , 2(2), 176-177, 1962.

MARIANO, A. P. Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel. Tese (Doutorado) Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, 162p., 2006.

MÉNDEZ-NATERA, J. R.; ROQUE, C.; ZAPATA, K.; OTAHOLA-GÓMEZ, V. Efecto de la concentración y tiempo de contaminación de un suelo por petróleo en la germinación de semillas de maíz (*Zea mays L.*) cv. Himeca 95. *Revista UDO Agrícola*. 4(1), 66-71, 2004.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Assesment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils. *Water Air Soil Pollution*. 165, 195-209, 2005.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Phytoremediation in tropics- the effect of crude oil on the growth on tropical plants. *Biorremed Journal*. 8(3-4), 177-184, 2004.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE & SECRETARIA DE QUALIDADE AMBIENTAL. Normas e especificações técnicas para elaboração de cartas de sensibilidade ambiental para derramamentos de óleo. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/images/arquivo/80037/Cartas%20SAO/Metodologia/Normas%20e%20Especificacoes%20Cartas%20SAO.pdf> Acesso em: 13 de agosto de 2013.

MONDIN, M. Estudo da evolução cariotípica do gênero *Crotalaria* L. (Leguminosae – Papilionoideae) com emprego de técnicas de bandamento cromossômico e hibridação *in situ* fluorescente (FISH). 2003, 115p. Tese (Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

NOGUEIRA, L.; INCKOT, R. C.; SANTOS, G. O.; SOUZA, L. A.; BONA, C. Phytotoxicity of petroleum-contaminated soil and bioremediated soil on *Allophylus edulis*. *Rodriguésia* 62(3), 459-466. 2011.

OLIVEIRA, L. S. Influência do solo contaminado com petróleo na morfologia e fisiologia de *Schinus terebinthifolius Raddi* (Anacardiaceae). Dissertação (Mestrado em Botânica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 63f. 2004.

PEDROZO, M. F. M.; BARBOSA, E. M.; CORSEUIL, H. X.; SCHNEIDER, M. R.; LINHARES, M. M. Ecotoxicologia e avaliação de risco do petróleo. Série Cadernos de Referência Ambiental. Salvador, BA, 12, 2002.

PEÑA-CASTRO, J. M.; BARRERA-FIGUEROA, E. B.; FERNÁNDEZ-LINARES, L.; RUIZMEDRANO, R. Isolation and identification of up-regulate genes in bermuda grass roots

(*Cynodon dactylon L.*) grown under petroleum hydrocarbon stress. *Plant Science*. 170 (4), 724-731, 2006.

PENTEADO, S.R. Adubação verde e produção de biomassa: Melhoria e recuperação dos solos. Campinas: Livros Via Orgânica. 174p. 2007.

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

PILON-SMITS, E. Phytoremediation. *Annual Review Plant Biology*. 56, 15-39, 2005.

PROCÓPIO, S.O.; PIRES, F. R.; SANTOS, J. B.; SILVA, A. A. Fitorremediação de Solos com Resíduos de Herbicidas. Documentos 156 - Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009.

RASKIN, I.; KUMAR, P. B. A. N.; DUSHENKOV, S.; SALT, D. E. Bioconcentration of heavy metals by plants. *Current Opinion in Biotechnology*. 5, 285–90, 1994.

REILLEY, K. A.; BANKS, M. K.; SCHWAB, A. P. Organic chemicals in the environment: dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *Journal of Environmental Quality*. 25, 212-219, 1996.

SALT, D. E.; BLAYLOCK M.; KUMAR, PBA. N.; DUSHENKOV, V.; ENSLEY, B. D. et al. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology*. 13, 468–74, 1995.

SALT, D. E.; SMITH, R. D.; RASKIN, I. Phytoremediation. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 49, 643–68, 1998.

SANTOS, J.B., PROCÓPIO, S.O., SILVA, A.A., PIRES, F.R., RIBEIRO JÚNIOR, SANTOS, E.A., FERREIRA, L.R. Fitorremediação do herbicida Trifloxysulfuron Sodium. *Planta Daninha*. 22(2), 323-330, 2004.

SILVEIRA, P.M.; RAVA, C.A. Utilização de Crotalária no controle de Nematóides da raiz de feijoeiro. Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2004.

SUSARLA, S.; MEDINA, V. F.; McCUTCHEON, S. C. Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. *Ecological Engineering*. 18 (5), 647-658, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Plant Physiology. Sunderland: Sinauer Associates, Inc Publishers. 1998

U.S. EPA Introduction to Phytoremediation. EPA 600-R-99-107, Office of Research and Development. <http://clu-in.org/download/remed/introphyto.pdf>. 2004.

YEUNG, P. Y., JOHNSON, R. L. AND XU, J. G. Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons in Soil as Affected by Heating and Forced Aeration, *Journal of Environmental Quality*. 26,1511–1516, 1997.

WATTS, R. J.; HALLER, D. R.; JONES, A. P.; TEEL, A. L. A foundation for the risk-based treatment of gasoline-contaminated soils using modified Fenton s reactions. *Journal of Hazardous Materials B*. 76, 73–89, 2000.

WEIS, J.S.; WEIS, P. Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoriation. *Environment International*, Oxford, 30 (5), 685-700, 2004.