

**VI-044 - AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FITORREMEIADOR DAS ESPÉCIES  
*Brachiaria ruziziensis*, *Helianthus annuus*, *Panicum maximum* EM SOLO  
CONTAMINADO COM ÓLEO DIESEL**

**Maria Agripina Pereira Rebouças<sup>(1)</sup>**

Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Roraima. Mestre em Ciências Ambientais e Sustentabilidade da Amazônia pela Universidade Federal do Amazonas (CCA/UFAM). Professora-pesquisadora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte (IFRN). Doutoranda em Recursos Naturais pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG/PB).

**Dayanne dos Santos Ribeiro<sup>(2)</sup>**

Técnica em Controle Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte. Graduanda em Medicina pela Universidade Potiguar (UnP).

**Julio Vitorino de Andrade Neto<sup>(3)</sup>**

Técnico em Controle Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte. Graduando em Ciências e Tecnologia na Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN).

**Ana Carolina Grilo Souza<sup>(4)</sup>**

Técnica em Controle Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte.

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Av. Senador Salgado Filho, 1559 – Tirol – Natal – RN – CEP: 59015-000 - Brasil- Tel: (84) 4005-2636- e-mail: agripina.reboucas@ifrn.edu.br

## RESUMO

Este trabalho se propõe a avaliar o potencial fitorremediador das espécies *Helianthus annuus*, *Brachiaria ruziziensis* e *Panicum maximum*, através de uma simulação de derramamento de óleo diesel em solo coletado no município de Guamaré/RN. As etapas do projeto consistiram na contaminação do solo com óleo diesel em diferentes concentrações; germinação das sementes de *H. annuus* em sementeira e posterior transferência das mudas para os vasos; plantio das sementes de *P. maximum* e de *B. ruziziensis* em seus respectivos vasos e monitoramento do desenvolvimento das plantas. Como critérios de avaliação foram analisados os seguintes parâmetros: pH do solo, teor de clorofila, parte área, altura e o efeito tóxico aparente do diesel sobre as espécies. Os resultados obtidos através dos parâmetros analisados indicam que o *P. maximum* não se desenvolveu nos vasos contaminados, o *H. annuus* apresentou o aumento da biomassa com o aumento na concentração do contaminante e a *B. ruziziensis* mostrou baixo efeito tóxico aparente frente às demais espécies avaliadas. Diante de tal fato, foi possível observar que, entre as espécies utilizadas, a *H. annuus* e a *B. ruziziensis* são as que apresentam maior potencial fitorremediador na recuperação de áreas contaminadas por óleo diesel nas condições testadas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Contaminação do solo, Petróleo, Avaliação, Fitorremediação.

## INTRODUÇÃO

O petróleo é utilizado desde a antiguidade, contudo, naquela época, sua utilização se restringia à iluminação e pavimentação de estradas. Com o surgimento dos primeiros motores movidos por derivados do petróleo, no sec. XX, o setor petrolífero passou a se desenvolver e, conseqüentemente, ganhou uma infinidade de aplicações nos mais diversos campos. Aliado a isso, sua capacidade de substituir uma grande quantidade de matérias primas, fez com que o petróleo se tornasse a maior fonte energética de todo o mundo. O processo de refino do petróleo possibilita maior aplicabilidade do produto nas mais variadas áreas da indústria, que consiste na separação em diversas frações dos componentes que o constitui. Esse procedimento é considerado o coração da indústria petroquímica, uma vez que sem a separação dos seus diversos componentes, o petróleo possui pouca ou nenhuma utilidade (MARIANO, 2001).

O processo de refino do petróleo pode comprometer o meio ambiente e contaminar tanto o solo quanto a água. No solo, o petróleo começa a sofrer o processo de intemperismo pelo processo de degradação física, química e

biológica em função das ações do meio ambiente sobre ele. Com isso, a parte que apresenta menor ponto de ebulição volatiliza e a outra fica retida no solo, gerando assim a contaminação (PAVANELLI, 2007).

Para remediar a contaminação do solo por resíduos do petróleo, técnicas mitigadoras têm sido desenvolvidas pelas academias e empresas preocupadas com a questão ambiental. Dentre essas técnicas cita-se a fitorremediação, que consiste na utilização de espécies vegetais para a recuperação de áreas degradadas por poluentes orgânicos e inorgânicos. É uma técnica considerada economicamente viável, com a vantagem de ser realizada *in situ*, a aplicação é feita no local onde ocorreu a contaminação sem retirada do solo contaminado, conservando assim a estrutura original do solo do local facilitando sua recuperação.

A fitorremediação é o uso de plantas para remover, reter ou imobilizar elementos nocivos ao solo. Essa técnica, tem atraído a atenção de segmentos interessados em recuperação de áreas degradadas, tendo em vista à eficiência, adequação e aplicação, além das vantagens estéticas proporcionadas ao ambiente. Entretanto, a implantação desta técnica em áreas contaminadas depende da capacidade das plantas de resistirem aos efeitos tóxicos do poluente.

Diante do exposto, a relevância deste trabalho consiste em desenvolver estudos que poderão subsidiar ações efetivas para corrigir ou minimizar os impactos decorrentes da contaminação do solo por petróleo e/ou seus derivados tendo como ponto de partida um estudo de caso, a Refinaria Potiguar Clara Camarão (RPCC), localizada no município Guamaré (RN). O estudo teve como base, coleta do solo na região do município próximo à refinaria citada, com a simulação de um derramamento de óleo diesel, produto produzido na RPCC. A importância deste trabalho é justificada pelo fato de que atualmente ainda existem poucos estudos sobre a técnica de fitorremediação aplicada à recuperação de áreas degradadas por hidrocarbonetos de petróleo em países de clima tropical.

A escolha dos vegetais para o estudo foi baseada na literatura existente e nas características gerais das espécies selecionadas para a avaliação do potencial fitorremediador, sendo elas a Braquiária (*Brachiaria ruziziensis*), o Girassol (*Helianthus annuus*) e a Mombaça (*Panicum maximum*).

## REVISÃO DE LITERATURA

Para uma reflexão sobre o tema proposto por esse trabalho, optou-se como suporte teórico a definição dos componentes que contaminam o solo, no caso o petróleo, mais especificamente o óleo diesel, a definição de solo e sua composição, o processo de fitorremediação e espécies utilizadas na simulação da realidade como objeto de estudo, a fim de situar o leitor acerca do desenvolvimento do trabalho ora apresentado.

## PETRÓLEO

O petróleo é uma mistura complexa de compostos orgânicos, formado a partir da decomposição da matéria orgânica animal e vegetal sob condições de elevada temperatura e pressão, originadas pelo soterramento contínuo das depressões onde essa matéria se depositou.

Nesse processo, a composição química da matéria orgânica se altera drasticamente, podendo originar tanto o petróleo como o gás natural, ambos constituídos basicamente por átomos de carbono e hidrogênio, apesar de também existirem, em proporções pequenas e variáveis de átomos de enxofre, oxigênio e nitrogênio.

Os hidrocarbonetos que constituem o petróleo se dividem em saturados, insaturados e aromáticos. Os saturados são os mais simples, sendo constituídos por carbono e hidrogênio através de ligações simples. Já os insaturados apresentam pelo menos uma ligação dupla ou tripla entre átomos de carbono, enquanto que os aromáticos apresentam pelo menos um anel benzênico na sua estrutura. Entre esses, existem os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs), que apresentam dois ou mais anéis aromáticos interligados, sendo, portanto, os hidrocarbonetos de maior complexidade e, conseqüentemente, os que apresentam maior toxicidade para os seres vivos e maior dificuldade de degradação no meio ambiente.

Em termos gerais, o petróleo apresenta características específicas, como a alta viscosidade, a insolubilidade em água, o caráter inflamável e a cor variando entre o negro e o castanho claro (MORAES, 2005). Porém, essas

características podem sofrer variações em função de sua localização geográfica e das condições físico-químicas e biológicas que o originaram (TELHADO et al, 2010). Um exemplo dessa variação está relacionado à viscosidade e à coloração, uma vez que o petróleo encontrado em locais mais profundos apresenta menor viscosidade e coloração avermelhada, devido à alta temperatura a que está submetido e o petróleo de locais rasos é mais viscoso e apresenta uma cor mais escura (MORAES, 2005).

## **ÓLEO DIESEL**

O óleo diesel é um combustível originado a partir do refino do petróleo, sendo, portanto, composto principalmente por hidrocarbonetos e, em baixas concentrações, por oxigênio, nitrogênio e enxofre. O diesel é um produto inflamável, volátil, apresenta caráter tóxico, odor forte e característico e sua fórmula é proveniente da mistura de outros componentes derivados do petróleo, como por exemplo, a nafta (PETROBRAS, 2009).

A proporção dos diversos componentes que formam o diesel permite determinar os diversos tipos do óleo existentes. No Brasil, o responsável por essa determinação é o Departamento Nacional de Combustíveis (DNC), que classifica o combustível em 4 tipos a partir, principalmente, da concentração de enxofre máxima encontrada. O óleo diesel tipo A é utilizado em motores de carros, ônibus e caminhões e possui concentração máxima de 1% de enxofre. Os tipos B e C são utilizados com a mesma finalidade e diferem do tipo A apenas pela concentração de enxofre, sendo encontrados 0,5% e 0,3% de concentração, respectivamente. Já o tipo D é utilizado em embarcações marítimas e apresenta concentração próxima a 1% de enxofre. Também é encontrado no mercado o óleo diesel aditivado, no qual ocorre a adição de aditivos químicos com o objetivo de melhorar o seu desempenho, aumentar a vida útil do motor e minimizar a geração de poluentes (ANENG, 2011).

## **SOLO**

O solo é uma matriz complexa e heterogênea formada a partir do desgaste da rocha de origem através de processos químicos, físicos e biológicos, nos quais diversos fatores atuam sobre a rocha-mãe, ocasionando o seu desgaste e a formação de frações menores que vão compor o solo (LEPSCH, 2002). Esse processo de formação demora milhares de anos para ocorrer e a participação dos diversos fatores influi direta e indiretamente na formação das características de cada tipo de solo.

O clima é o fator que atua de forma direta no desgaste físico e nas reações químicas ocorridas na rocha de origem através da precipitação e da oscilação da temperatura. Os organismos vivos também contribuem diretamente para a formação do solo na medida em que pequenas plantas, microrganismos e animais passam a colonizar fendas abertas no material de origem, ocasionando a sua degradação de forma mais acelerada. Já o material de origem é um fator passivo, que ao ser exposto se desgasta de formas diferentes, dependendo de sua estrutura e composição mineral. O relevo também atua de forma indireta, sendo responsável pela distribuição e velocidade do escoamento superficial das águas pluviais. Outro fator indireto é o tempo, que atua na velocidade do processo de formação do solo variando de acordo com a ação dos outros fatores (CAMPAGNA et al, 2010).

Uma vez formado, o solo representa um dos recursos naturais mais importantes para a manutenção da vida na Terra, uma vez que possibilita o crescimento e desenvolvimento das espécies vegetais através da disponibilização de substâncias e nutrientes essenciais ao seu desenvolvimento.

## **CONTAMINAÇÃO DO SOLO POR HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO**

De forma natural o solo apresenta inúmeras substâncias que são essenciais para o desenvolvimento e crescimento de espécies vegetais. Entretanto, as atividades antrópicas desenvolvidas ao longo do tempo originaram uma série de compostos que não ocorrem naturalmente no meio ambiente, aos quais se denomina substâncias xenobióticas (AGUIAR, 2006). Nesse contexto destacam-se os hidrocarbonetos de petróleo no solo, substâncias originadas a partir da atividade petrolífera por meio de vazamentos ou derramamentos acidentais. Esses poluentes contaminam o meio e interferem no desenvolvimento da vegetação e da microfauna da região afetada.

O principal impacto decorrente da presença desse tipo de resíduo no solo é a diminuição de sua permeabilidade e de sua capacidade de retenção de água, decorrentes do caráter hidrofóbico apresentado pelo petróleo e seus derivados. Outros impactos associados são o efeito tóxico apresentado sobre o ecossistema, que dependerá da profundidade alcançada; a elevação da temperatura do solo, ocasionando uma maior deficiência hídrica e redução no desenvolvimento dos vegetais; e condições de anaerobiose, que dificultam a degradação dos hidrocarbonetos (ANDRADE, 2008).

## FITORREMEDIAÇÃO

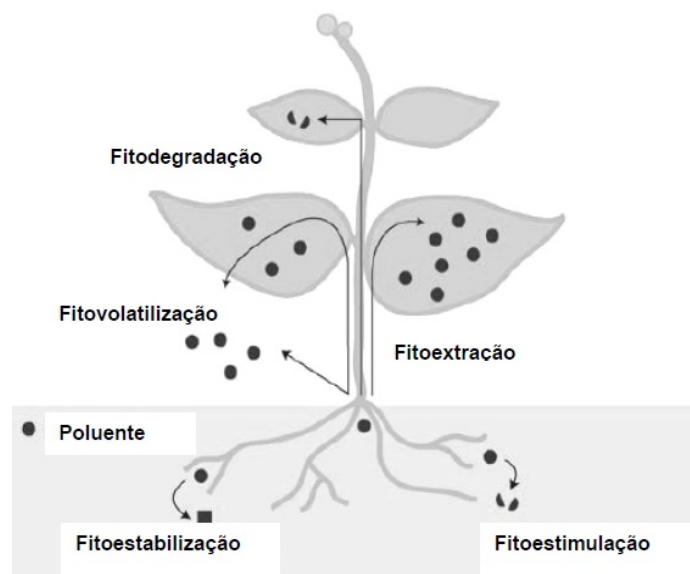
A fitorremediação é uma das técnicas de biorremediação que utiliza espécies vegetais e os microorganismos associados para degradar, reter ou imobilizar substâncias xenobióticas ao meio, a fim de evitar a propagação do contaminante e recuperar a área afetada. Essa técnica abrange cinco mecanismos básicos que variam de acordo com a espécie vegetal utilizada, sendo eles a fitoextração, a fitodegradação, a fitovolatilização, a fitoestimulação e a fitoestabilização, conforme ilustra a Figura 1.

A fitoextração é o mecanismo no qual os vegetais absorvem o contaminante do meio e o acumula em seus tecidos. Normalmente, as plantas utilizadas possuem caráter hiperacumulador e por esse motivo o vegetal deve receber uma destinação final adequada a fim de evitar uma nova contaminação.

Na fitodegradação, as plantas absorvem o contaminante e o metaboliza, transformando-o em compostos menos tóxicos. Esse mecanismo é indicado, principalmente, para a remediação de áreas contaminadas por compostos orgânicos.

Em relação à fitovolatilização, o contaminante do meio é removido através das plantas e os microorganismos a elas associados, sendo liberado na atmosfera em forma de gás. Esse método torna-se vantajoso devido ao fato de remover o contaminante do ecossistema, entretanto a liberação de grande quantidade de gás pode representar um risco para a atmosfera.

A fitoestimulação é o método através do qual a planta libera substâncias que estimulam a degradação dos poluentes por meio dos microorganismos a ela associados. As plantas liberam substâncias que nutrem os microorganismos, facilitando a decomposição do poluente e gerando compostos menos tóxicos que o original. Na fitoestabilização o sistema solo-planta promove a imobilização do contaminante, diminuindo, assim, sua disponibilidade no meio. Devido a esse fato, esse mecanismo torna-se pouco eficaz, possibilitando ao contaminante permanecer na área afetada (ANDRADE; MAHLER; TAVARES, 2007).



**Figura 1: Esquemática dos possíveis caminhos do contaminante nos diversos mecanismos. Fonte: SANTOS (2006).**

A fitorremediação apresenta uma série de vantagens em relação a outras técnicas convencionais de recuperação de solos. Além de ser economicamente viável e útil em locais onde existe uma elevada quantidade de solo a ser descontaminado, esse tipo de remediação é realizado *in situ*, portanto, tem o potencial de preservar as características e propriedades do solo. Além disso, as plantas auxiliam no controle do processo erosivo, utilizam apenas energia solar para realizar seus processos e apresentam uma maior facilidade no que diz respeito ao monitoramento (OLIVEIRA *et al.* 2006).

No entanto, esse processo também apresenta limitações, sendo estas relacionadas principalmente ao clima da região, que pode interferir no desenvolvimento das espécies fitorremediadoras, e a área contaminada, uma vez que para garantir a eficácia da técnica, o poluente deve estar ao alcance da zona radicular, ou seja, em uma profundidade máxima de 5m da superfície (OLIVEIRA *et al.* 2006). Contudo, essas limitações podem ser solucionadas com um simples estudo prévio do local onde se deseja empregar a técnica, sendo assim, apesar das limitações a fitorremediação consiste em uma técnica promissora que vem gradativamente sendo estudada e desenvolvida no campo científico.

## CARACTERIZAÇÃO DAS ESPÉCIES VEGETAIS

### ***Brachiaria ruziziensis***

A *Brachiaria ruziziensis* é uma espécie de gramínea originária da África que apresenta ciclo vegetativo perene, ou seja, se desenvolve durante vários anos. Essa espécie apresenta tamanho variável entre 1 e 1,5 m, crescendo de forma sub-ereta. Ela apresenta a base decumbente e radicante, ou seja, ela se deita sobre o solo mantendo a extremidade erguida e cria raízes em vários pontos. As folhas dessa planta são compridas, estreitas e de largura uniforme, apresentam forma de lança com coloração verde amarelada e possuem sua superfície coberta por pelos finos. A sua inflorescência é caracterizada por apresentar o eixo principal maior que os secundários, sendo formada por ramos onde se prendem as flores. A sua reprodução se dá através de sementes que são transportados pela ação dos ventos (EMBRAPA, 2011).

Essa espécie tem um alto poder de adaptação, podendo se instalar em vários tipos de solos, desde arenosos até os argilosos, e em áreas de terreno ondulado ou montanhoso. Ela possui um bom desenvolvimento em áreas de sombra e promove alta proteção ao solo contra a erosão. Porém essa espécie possui exigências quanto à fertilidade, à drenagem do solo e à temperatura do ambiente, uma vez que ela não se desenvolve bem em solos pouco férteis ou em solos mal drenados ou ainda em temperaturas muito baixas, sendo a temperatura ideal entre 28°C e 33°C (VILELA, 2009).

### ***Helianthus annuus***

*Helianthus annuus* é uma planta originária da América do Norte comumente conhecida por girassol. Essa planta possui formato exótico e tom amarelo-alaranjado intenso, apresenta resistência tanto ao frio quanto ao calor e produz flores na primavera e no verão, mas que podem florescer o ano todo sob temperaturas entre 18° e 30°C.

A espécie *Helianthus annuus* possui caule ereto, geralmente não ramificado, com altura média variando entre 1 e 1,75 m. Sua raiz profunda chega a medir quase um metro e meio de profundidade e a planta em sua totalidade pode chegar a 3 m. Suas flores são sésseis, ou seja, não apresentam suporte ou haste de sustentação e estão inseridas em um ápice dilatado, reunidas em uma inflorescência chamada de capítulo, na qual as flores ficam inseridas em um eixo comum, muito próximas entre si. O local onde fica o capítulo é chamado de receptáculo floral e pode ser côncavo, convexo ou plano, sendo mais comum a forma plana. Outra característica importante dessa planta é o heliotropismo, a partir do qual a sua inflorescência é direcionada de acordo com a posição do sol, permitindo ao pedúnculo da planta receber a energia solar por mais tempo, o que é importante na produção de hormônios (ARAGUAIA, 2011).

### ***Panicum maximum***

O *Panicum maximum* é uma espécie de capim originado na África que possui um ciclo de vida longo. Seu cultivo requer um solo de média a alta fertilidade e suas sementes devem ser plantadas com uma profundidade de 2 a 4 cm. Essa planta foi introduzida no Brasil na época da escravidão e expandiu-se por todo o território,



excetuando-se as regiões mais frias onde a temperatura é relativamente baixa. Atualmente, ela é bastante cultivada, principalmente em áreas de pastoreio, em virtude da enorme quantidade de massa verde que produz, durante todo o ano.

Essa espécie é comumente conhecida por mombaça e sua altura pode variar entre 1e 2 m. Caracteriza-se por possuir folhas quebradiças, longas, finas e estreitas que envolvem todo o caule e por apresentar pêlos espalhados por toda sua extensão. O caule possui uma coloração levemente arroxeadada e apresenta-se na forma de colmos cilíndricos simples ou ramificados. A inflorescência dá-se através de pequenos ramos que brotam na base dos colmos e seu fruto apresenta formato elíptico, com cerca de 2 mm de comprimento e menos de 1 mm de largura, sendo levemente achatados de um lado. As sementes são facilmente dispersadas por meio do vento, da água e de algumas aves, o que contribui para que ela se multiplique rapidamente (INSTITUTO HÓRUS, 2005).

### **CARACTERIZAÇÃO DO MUNICÍPIO DE GUAMARÉ/RN**

O município de Guimarães está localizado na Microrregião salina do estado do Rio Grande do Norte (RN), limitando-se ao Norte com o Oceano Atlântico, ao Sul, Leste e Oeste com os municípios de Pedro Avelino, Galinhos e Macau, respectivamente. A cidade possui área total equivalente a 0,52% da superfície estadual, apresentando coordenadas geográficas 5° 06' 27" Sul e 36° 19' 13" Oeste (IDEMA, 2008).

Tratando-se dos aspectos físicos, o município apresenta clima semiárido, com temperatura média anual de 26,8 °C com amplitudes médias mensais de 3,2 °C, e média de precipitação pluviométrica de 711,4 mm. A cobertura vegetal predominante no município é a caatinga, havendo, no entanto, a presença de mangues e restingas na área litorânea. O solo apresenta fertilidade natural baixa, textura arenosa, drenagem excessiva e relevo plano.

Em relação aos aspectos econômicos é relevante destacar que a principal fonte de renda do município está no processamento do petróleo produzido nos campos de terra e mar dos municípios produtores no Rio Grande do Norte (RN), incluindo a própria cidade, sendo este processamento realizado na Refinaria Potiguar Clara Camarão (RPCC), pertencente ao grupo Petrobras.

A Refinaria foi implantada com a adequação das instalações já existentes do Pólo Industrial de Guimarães, que antes produzia gás liquefeito de petróleo (GLP), diesel e querosene de aviação (QAV). Com a conclusão das obras, a refinaria ampliou sua capacidade e implantou unidade para produzir também gasolina e diesel, agora com qualidade internacional (PETROBRAS, 2009).

### **MATERIAIS E MÉTODOS**

A pesquisa, como atividade básica da ciência, vincula pensamento e ação, constituindo-se num procedimento racional e sistemático, cujo objetivo é responder a um problema inicialmente proposto, a metodologia é, pois aqui compreendida como o caminho do pensamento revelado na escolha da melhor maneira de abordar o problema, tal como indicam os estudos de Laville e Dione (1999), Minayo (2000) e Silva e Menezes (2001).

### **NATUREZA E CARÁTER DA PESQUISA**

Do ponto de vista da natureza, esta pesquisa pode ser classificada como qualitativa e descritiva. É qualitativa porque consiste do fato da coleta de dados não requerer o uso de técnicas estatísticas, pois se preocupa com uma realidade que não pode ser traduzida em números. Segundo Minayo a investigação qualitativa requer a flexibilidade, a capacidade de observação e a interação com o objeto pesquisado. Além disso, o processo pode ser readaptado durante o desenvolvimento do trabalho visando às finalidades da investigação (RODRIGUES, 2007). Quanto ao caráter descritivo, os fatos são observados, registrados, analisados e classificados, através da observação sistemática, ou seja, a partir técnicas padronizadas de coleta de dados.

## PREPARAÇÃO E CONTAMINAÇÃO DO SOLO

O solo utilizado como substrato para o experimento foi coletado em uma área próxima a Refinaria Potiguar Clara Camarão (RPCC), localizada no município de Guamaré/RN e transportado para casa de vegetação localizada nas dependências do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte (IFRN) campus Natal-Central. Posteriormente o substrato foi homogeneizado, seco sob a ação do ambiente (sol e vento), peneirado em malha nove mm e distribuído em 36 vasos com 5 kg de solo cada.

As culturas avaliadas foram dispostas em três níveis de contaminação diferentes, com três repetições para cada nível de contaminação por espécie (*H. annuus*, *B. ruziziensis* e *P. maximum*), com a finalidade de melhor expressar a realidade investigada. Cada vaso foi contaminado por diferentes concentrações de diesel, de acordo com a Tabela 1. Ao mesmo tempo, essas espécies também foram cultivadas em solo não contaminado, servindo como controle na comparação do desenvolvimento das mesmas.

**Tabela 1: Concentração em gramas de massa de diesel para cada quilograma de solo.**

Níveis de contaminação	Concentração (g/Kg)
CONTROLE	0
I	5
II	10
III	20

Fonte: Os Autores (2012).

O solo contaminado foi revolvido para estabelecer um caráter homogêneo; em seguida, os vasos permaneceram em repouso por 30 dias para volatilização dos componentes mais leves. Após esse período, foram inseridas as espécies vegetais nos vasos com solo contaminado e nos vasos controle (sem contaminante).

## CULTIVO DAS ESPÉCIES VEGETAIS

As espécies vegetais utilizadas no estudo são: girassol (*H. annuus*), braquiária (*B. ruziziensis*) e mombaça (*P. maximum*).

As sementes do *H. annuus* (girassol) foram semeadas em sementeiras de isopor, utilizando o solo recolhido em Guamaré/RN, para adaptação das mesmas ao solo utilizado no desenvolvimento do estudo. Depois de 15 dias, as mudas foram transplantadas para seus respectivos vasos, sendo distribuídas duas mudas por cada vaso.

A *B. ruziziensis* (braquiária) e a *P. maximum* (mombaça) foram plantadas diretamente nos vasos, pelo fato das mudas das espécies gramíneas serem muito pequenas, o que inviabilizaria seu transplante. Antes da germinação, o solo contaminado e o solo do vaso controle foram molhados e revolvidos, em seguida as sementes de ambas as espécies foram adicionadas em seus respectivos vasos e monitoradas até o seu crescimento.

Cada espécie avaliada foi distribuída de forma que existissem três níveis de contaminação e um controle, com três amostras cada, resultando em doze vasos por espécie, conforme mostra a Tabela 2.

**Tabela 2: Distribuição das espécies por nível de contaminação.**

Níveis de contaminação	<i>H. annus</i>	<i>B. ruziziensis</i>	<i>P. maximum</i>
Controle	Amostra 1	Amostra 1	Amostra 1
	Amostra 2	Amostra 2	Amostra 2
	Amostra 3	Amostra 3	Amostra 3
I	Amostra 1	Amostra 1	Amostra 1
	Amostra 2	Amostra 2	Amostra 2
	Amostra 3	Amostra 3	Amostra 3
II	Amostra 1	Amostra 1	Amostra 1
	Amostra 2	Amostra 2	Amostra 2
	Amostra 3	Amostra 3	Amostra 3
III	Amostra 1	Amostra 1	Amostra 1
	Amostra 2	Amostra 2	Amostra 2
	Amostra 3	Amostra 3	Amostra 3

Fonte: Os Autores (2012).

## MONITORAMENTO

Essa etapa do estudo consiste no acompanhamento do desenvolvimento das espécies vegetais durante o estudo proposto.

## ALTURA

O monitoramento desse parâmetro ocorreu a partir da observação do desenvolvimento das plantas. A altura foi medida na região compreendida entre o solo e a base da área foliar, somente para a espécie *H. annus*, uma vez que as espécies *B. ruziziensis* e *P. maximum*, são gramíneas e, portanto, não apresentam crescimento considerável do caule. Sendo assim, para essas espécies a avaliação desse parâmetro ocorreu através de observação *in locu*. Essa fase foi monitorada uma vez por semana, durante cinco semanas registradas em tabelas para análise dos resultados.

## EFEITO TÓXICO APARENTE DO DIESEL

O efeito tóxico do diesel sobre as espécies vegetais foi avaliado a partir da observação visual das características fisiológicas das plantas. Essa observação foi baseada em uma comparação entre o desenvolvimento das culturas nos vasos contaminados e o desenvolvimento nos vasos controles, durante um intervalo de tempo de quatro semanas.

## TEOR DE CLOROFILA

O parâmetro teor de clorofila foliar foi analisado com todas as espécies cultivadas, sendo feita semanalmente no laboratório físico-químico do IFRN seguindo a metodologia proposta por WINTERMANS e DE MOTTS (1965). Esse parâmetro foi medido durante três semanas, visto que antes desse período as espécies não possuíam área foliar suficiente para a realização dessa prática. Com o auxílio de um perfurador de papel manual, foram retirados 10 discos das folhas das plantas de cada espécie em cada nível de contaminação de forma aleatória, para permitir que o resultado obtido fosse o mais representativo possível. Os discos foram transferidos para o almofariz contendo álcool etílico absoluto (99,8%), onde foram macerados para extração da clorofila. O líquido extraído foi filtrado e em seguida, feita a análise no espectrofotômetro visível modelo T60, nos comprimentos de onda 665 e 649 nm.



## BIOMASSA

Ao final do experimento, a parte aérea das plantas foi retirada para medição do peso fresco na balança analítica. Em seguida, as plantas foram encaminhadas para estufa, onde secaram por setenta e duas horas a uma temperatura de 65° C. Após esse período, as culturas foram pesadas novamente a fim de obter os valores do peso seco.

## pH DO SOLO

A análise do pH do solo foi realizada em duplicata. Cada amostra continha 10 g de solo, pesada em balança analítica, na qual foram adicionadas 100 ml de água. Essas amostras foram encaminhadas ao agitador magnético durante 10 minutos; em seguida, foi realizada a medição do pH no pHmetro digital. Esse procedimento foi realizado ao início e ao fim do experimento para comparar os resultados obtidos .

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

### ALTURA

Durante o desenvolvimento do experimento, observou-se que a presença do diesel interferiu significativamente no crescimento do *H. annuus* (girassol), visto que existe uma grande diferença entre a altura das plantas do vaso controle e a dos vasos que continham o contaminante, conforme ilustrado na Figura 2. Entretanto, notou-se que a concentração do diesel não foi o determinante para o mau desenvolvimento da cultura analisada, pois as plantas dos vasos com contaminante apresentaram desenvolvimento semelhante, independentemente da concentração de diesel a qual estavam expostas.

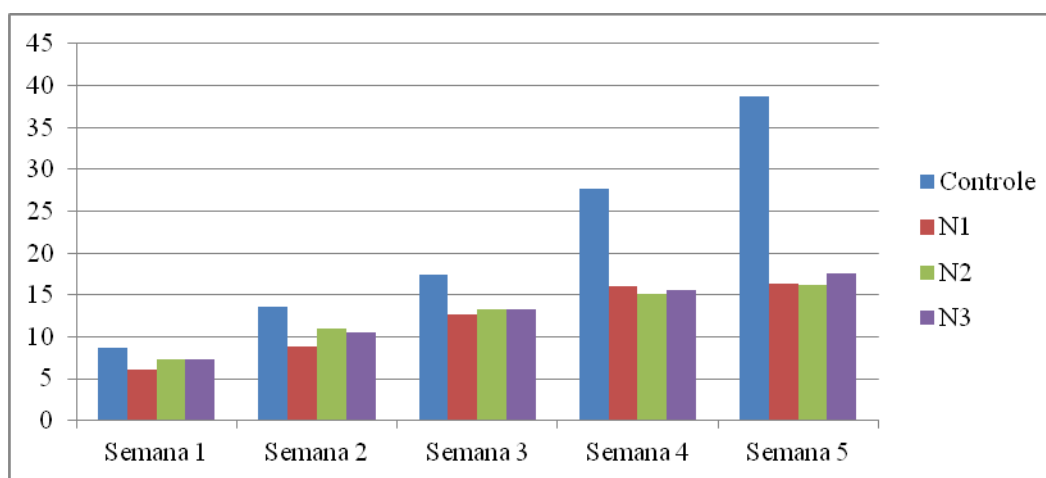


Figura 2: Crescimento semanal médio do *H. annuus*. Fonte: Os Autores (2012).

### EFEITO TÓXICO APARENTE DO DIESEL

Durante as semanas que duraram a avaliação do efeito tóxico aparente do diesel foram percebidas algumas alterações nas características fisiológicas das três espécies avaliadas.

#### *H. annuus*

Na observação do *H. annuus* constatou-se que as plantas dos vasos controle permaneceram viçosas e apresentaram desenvolvimento satisfatório, revelando boa adaptação da espécie, como mostra a Figura 3.



**Figura 3:** *H. annuus* do vaso controle na terceira semana de observação. Fonte: Os Autores (2012).

Na primeira semana, os vegetais que estavam inseridos nos vasos contaminados apresentaram manchas escuras nas pontas das folhas, sendo mais perceptível nas plantas do nível três. Na segunda semana de observação, as pontas das folhas dos vegetais presentes nos vasos com contaminantes, antes escurecidas, estavam secas. Na semana seguinte, notou-se que as plantas não apresentavam um bom desenvolvimento foliar, uma vez que as folhas estavam pequenas e apresentavam uma tonalidade amarelada em todos os níveis de contaminação. Na última semana de observação, os efeitos do contaminante eram bem visíveis, visto que todos os sinais notados na semana anterior agravaram-se de forma que algumas plantas estavam atrofiadas, os caules finos e as folhas lesionadas, como mostra a Figura 4.



**Figura 4:** *H. annuus* do nível três na terceira semana de avaliação. Fonte: Os Autores (2012).

### ***P. maximum***

Para a espécie *P. maximum*, a presença do contaminante no solo interferiu diretamente no seu desenvolvimento, sendo a espécie que apresentou mais sensibilidade ao diesel, principalmente nos níveis de contaminação mais elevados (nível 2 e nível 3). Fato que não ocorreu nos vasos controle, em que foi percebido desenvolvimento satisfatório das plantas e um bom índice de germinação das sementes, conforme mostrado na Figura 5.



Figura 5: *P. maximum* do vaso controle na terceira semana de observação. Fonte: Os Autores (2012).

De modo geral, durante o período de avaliação, notou-se que em todos os níveis de contaminação houve pouca germinação e as sementes que conseguiram se desenvolver originaram plantas que permaneceram pequenas durante todo o período de observação, como pode ser percebido na Figura 6.



Figura 6: *P. maximum* do nível um na terceira semana de avaliação. Fonte: Os Autores (2012).

### ***B. ruzizensis***

A espécie *B. ruzizensis* mostrou uma boa adaptação ao solo utilizado, apresentando no vaso controle um bom índice de germinação e um bom desenvolvimento durante todo o monitoramento, conforme ilustrado na Figura 7.



**Figura 7:** *B. ruziense* do vaso controle na terceira semana de observação. Fonte: Os Autores (2012).

Em relação aos vasos com contaminante, as plantas apresentaram um desenvolvimento lento quando comparado aos vasos controle. Percebeu-se que essas espécies reagiram negativamente aos efeitos tóxicos do óleo diesel, a julgar pela presença de folhas amareladas, como mostra a Figura 8.



**Figura 8:** *B. ruziense* do nível três na terceira semana de avaliação. Fonte: Os Autores (2012).

Diante desses resultados, pode-se supor que o fator que comprometeu diretamente o desenvolvimento natural das culturas avaliadas foi a impermeabilização do solo. A presença do óleo diesel pode ter dificultado a absorção tanto da água quanto dos nutrientes necessários ao crescimento dos vegetais, causando um déficit hídrico. Em resposta a isso, a área foliar foi muito afetada, o que explica a baixa quantidade de folhas, principalmente no *H. annuus*, bem como as raízes, que com o déficit hídrico tendem a se aprofundar em busca de uma maior disponibilidade de água, o que foi bastante observado nos níveis mais altos de contaminação, principalmente na espécie *P. maximum* (TAIZ e ZEIGER, 2004). A presença das folhas amareladas foi um sintoma que afetou todas as espécies que estavam expostas ao contaminante, por esse motivo, pode-se concluir que essa tonalidade adquirida pelas folhas das plantas foi um efeito causado pelo diesel, visto que nenhuma das plantas dos vasos controle apresentou tais sintomas.



## TEOR DE CLOROFILA

### *H. annuus*

Durante o período de monitoramento do *H. annuus*, notou-se que o teor de clorofila sofreu oscilações nos diferentes níveis de concentração do contaminante no decorrer das três semanas de estudo. Na primeira semana, as amostras revelaram desenvolvimento regular para todos os níveis de contaminação, inclusive para as amostras controle.

Na segunda semana, de acordo com as Figuras 9, 10 e 11, observa-se que nos níveis 1 e 2, o teor de clorofila decresce, voltando a subir na semana seguinte, contudo, isso também ocorre nas amostras controle, revelando comportamento normal dessa espécie. Entretanto, nota-se que o nível três apresentou um aumento gradativo no teor de clorofila percebido em todas as semanas estudadas. Esse diferencial do nível três pode ter sido ocasionado pela presença de algum componente do diesel que estimulou a atividade fotossintética da planta.

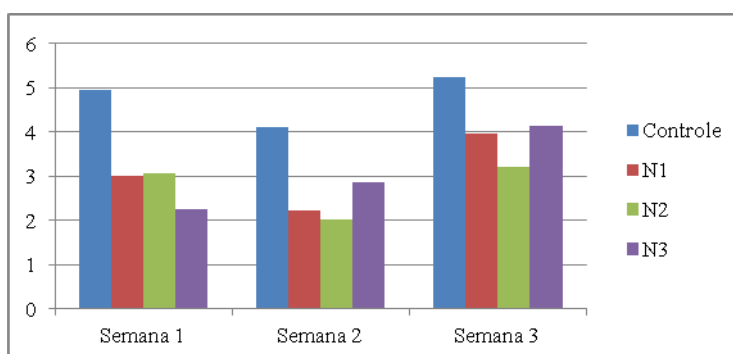


Figura 9: Teor de clorofila a do *H. annuus*. Fonte: Os Autores (2012).

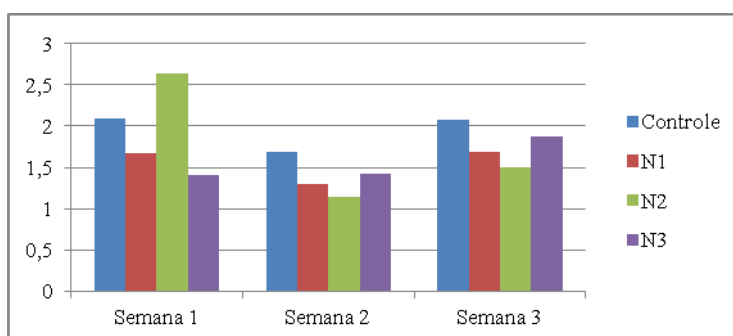


Figura 10: Teor de clorofila b do *H. annuus*. Fonte: Os Autores (2012).

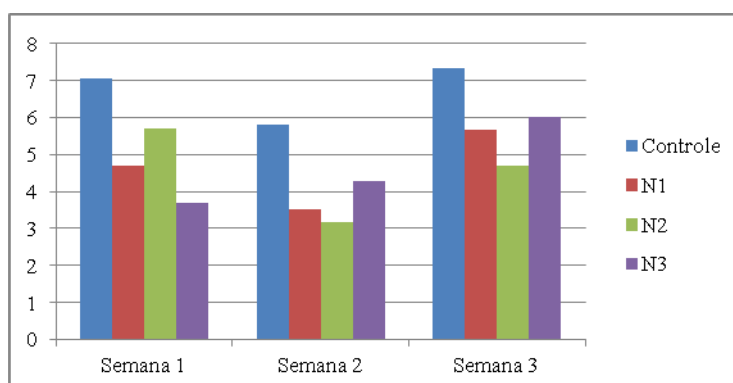
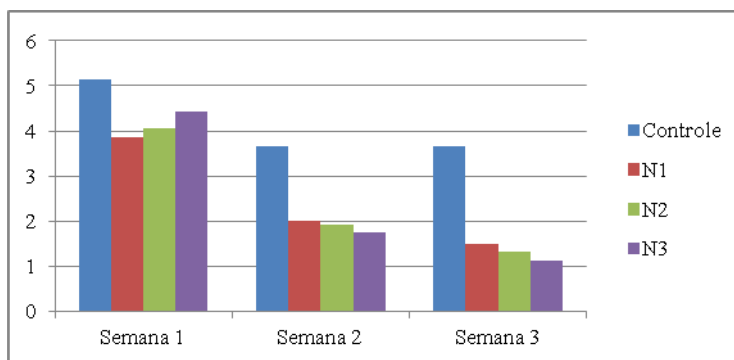


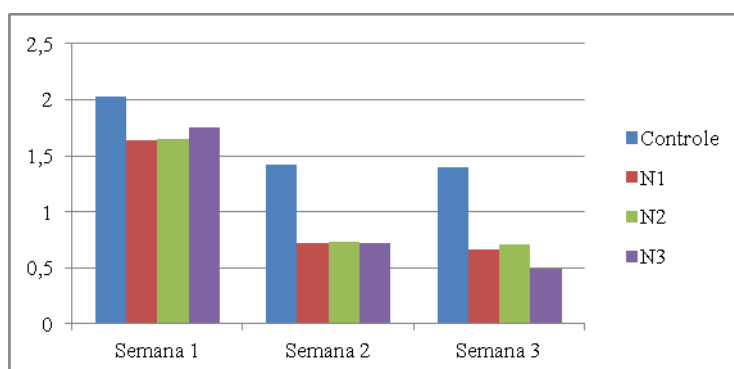
Figura 11: Teor de clorofila total do *H. annuus*. Fonte: Os Autores (2012).

### ***B. ruzizensis***

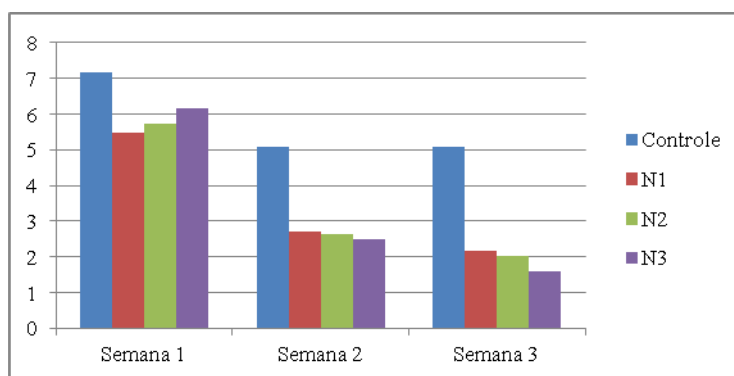
Durante todo o experimento foi observado que o contaminante interferiu na atividade fotossintetizante da *B. ruzizensis*, visto que o teor de clorofila apresentado pelas plantas nos vasos contaminados foi significativamente menor que o apresentado nos vasos controle. Além disso, notou-se que ao decorrer das semanas, o teor de clorofila foi diminuindo gradativamente, como representados nas Figuras 12, 13 e 14. Isso pode ter sido causado pela presença do contaminante em diferentes concentrações, visto que à medida que a concentração do poluente aumenta, o nível de clorofila diminui.



**Figura 12: Teor de clorofila a da *B. ruzizensis*. Fonte: Os Autores (2012).**



**Figura 13: Teor de clorofila b da *B. ruzizensis*. Fonte: Os Autores (2012).**



**Figura 14: Teor de clorofila total da *B. ruzizensis*. Fonte: Os Autores (2012).**

### ***P. maximum***

Na primeira semana, o teor de clorofila avaliado para a espécie *P. maximum*, foi realizada a partir da plântula retirada do vaso, devido ao pouco desenvolvimento da mesma. Em decorrência a isso, não foi possível avaliar o mesmo parâmetro nas semanas seguintes, tendo em vista a insuficiência de área foliar. Entretanto, observou-se que as plantas pertencentes ao vaso controle apresentaram uma boa adaptação ao solo utilizado,



apresentando um bom desenvolvimento da área foliar e um aumento considerável no teor de clorofila, conforme ilustra as Figuras 15, 16 e 17, o que sugere que esta espécie não oferece potencial fitorremediador.

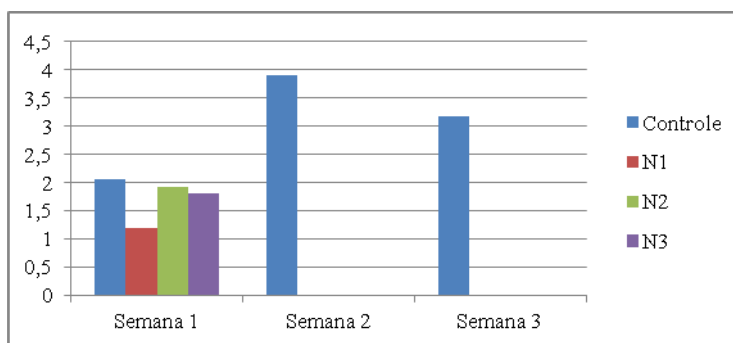


Figura 15: Teor de clorofila a do *P. maximum*. Fonte: Os Autores (2012).

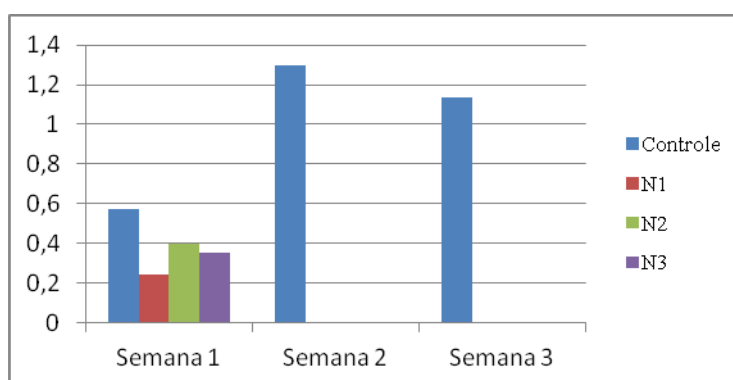


Figura 16: Teor de clorofila b do *P. maximum*. Fonte: Os Autores (2012).

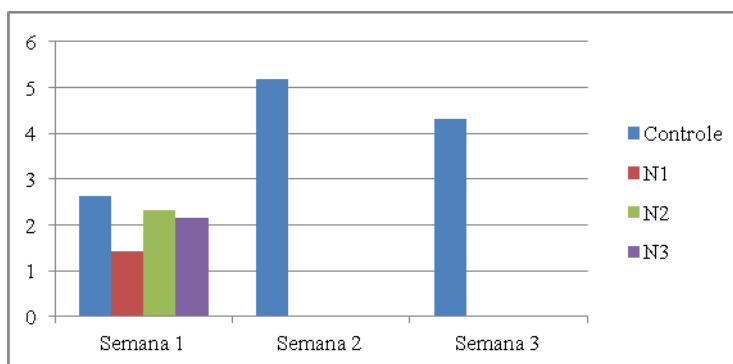


Figura 17: Teor de clorofila total do *P. maximum*. Fonte: Os Autores (2012).

## BIOMASSA

Na análise da biomassa, percebeu-se que a presença do óleo diesel no solo interferiu na produção desse componente em todas as espécies avaliadas, uma vez que o peso fresco e seco das plantas dos vasos controle foi maior que o dos vegetais que estavam nos vasos contaminados, conforme mostram as tabelas 3 e 4. Além disso, verificou-se que o aumento do nível de concentração provocou diferentes efeitos sobre as culturas. O *P. maximum* apresentou diminuição na produção de biomassa com o aumento da concentração do contaminante presente no solo, o que indica um forte efeito tóxico do poluente sobre esta espécie. Para a *B. ruziziensis*, a produção de biomassa não apresentou grandes alterações com a variação do nível de contaminação e para o *H. annuus* houve aumento na massa com a elevação da concentração do poluente, o que sugere que algum componente do diesel estimulou o desenvolvimento dessa espécie.

**Tabela 3: Peso fresco das espécies avaliadas por nível de contaminação**

Vaso	<i>P. maximum</i>	<i>B. ruziziensis</i>	<i>H. annus</i>
Controle	2,420 g	6,960 g	26,816 g
N1	0,151 g	1,831 g	2,905 g
N2	0,049 g	1,602 g	3,030 g
N3	0,010 g	1,692 g	3,652 g

Fonte: Os Autores (2012).

**Tabela 4: Peso seco das espécies avaliadas por nível de contaminação**

Vaso	<i>P. maximum</i>	<i>B. ruziziensis</i>	<i>H. annus</i>
Controle	0,797 g	1,107 g	3,571 g
N1	0,045 g	0,063 g	0,682 g
N2	0,018 g	0,088 g	0,739 g
N3	0,005 g	0,133 g	0,781 g

Fonte: Os Autores (2012).

## pH DO SOLO

O pH do solo antes da contaminação era de 9,03, dado considerado normal para solos de regiões de clima semiárido, que apresentam variação de neutro a alcalino (LEPSCH, 2002). Após a inserção das culturas e do contaminante observou-se que esse valor não sofreu grandes alterações, como ilustrado na tabela 5. Dessa forma, pode-se perceber que a presença do contaminante e das plantas não provocaram alteração significativa no pH do solo.

**Tabela 5 - Valores do pH do solo ao final do experimento**

	<i>P. maximum</i>	<i>B. ruziziensis</i>	<i>H. annus</i>
Controle	8,55	8,85	8,76
N1	8,87	8,84	8,78
N2	8,79	8,84	8,75
N3	8,89	8,78	8,70

Fonte: Os Autores (2012).

## CONCLUSÕES

A partir da avaliação dos vegetais escolhidos, pode-se concluir que as espécies que apresentaram melhor potencial para fitorremediar o solo estudado, contaminado por óleo diesel, foram o *H. annus* e a *B. ruziziensis*. Essa observação foi baseada principalmente nos resultados obtidos nas análises do teor de clorofila, da biomassa e do efeito tóxico aparente do diesel.

O *H. annus* apresentou melhor desempenho no que diz respeito ao teor de clorofila e à biomassa, uma vez que o aumento da concentração do poluente provocou um estímulo ao desenvolvimento dessa espécie. A *B. ruziziensis* pode ser considerada uma espécie com potencial fitorremediador devido ao seu bom desempenho na produção da biomassa e o menor efeito tóxico aparente entre as espécies avaliadas. A espécie *P. maximum* não apresentou potencial para ser utilizada na técnica de fitorremediação, visto que esse vegetal não conseguiu se desenvolver nos vasos com contaminante, revelado pela baixa produção de biomassa.

Para a comprovação do potencial fitorremediador das espécies indicadas como as mais adequadas para o processo de fitorremediação, recomenda-se a realização de testes específicos que avaliem a redução da quantidade do contaminante presente no solo, gerando assim, resultados mais precisos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGUIAR, C. R. C. Desempenho de soja e braquiária na fitorremediação de solos contaminados com petróleo. 2006. 123 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, RJ, 2006.
2. ANDRADE, J. C. M.; TAVARES, S. R. L.; MAHLER, C. F. Fitorremediação: o uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental. São Paulo: Oficina de Textos, 2007.
3. ANDRADE, M. M. Utilização da turfa *Sphag Sorb* no tratamento de solo contaminado com petróleo: avaliação físico-química e espectroscópica. 2008. 84 f. Dissertação (Mestrado em Química dos Recursos Naturais) – Programa de Pós-Graduação em Química dos Recursos Naturais, Universidade Estadual de Londrina, PR, 2008.
4. ANTONIOLLI ENGENHARIA. Óleo diesel. Disponível em: <[http://www.aneng.com.br/index.php?option=com\\_content&view=article&id=16:oleo-diesel&catid=12:artigos&Itemid=15](http://www.aneng.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=16:oleo-diesel&catid=12:artigos&Itemid=15)>. Acesso em: 15 jan. 2012.
5. BENTO, R. A. Simbioses radiculares e a fitorremediação de solo contaminado por resíduos oleosos de refinaria de petróleo. Rio de Janeiro: UFRJ, 2008.
6. BIBLIOTECA VIRTUAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. Petróleo. Disponível em: <[www.bibliotecavirtual.sp.gov.br/pdf/temasdiversos-petroleo.pdf](http://www.bibliotecavirtual.sp.gov.br/pdf/temasdiversos-petroleo.pdf)>. Acesso em: 22 jun. 2011.
7. BLANCO, R. A. Girassol: a flor do sol. Disponível em: <<http://www.jardimdeflores.com.br/floresefolhas/A08girassol.htm>>. Acesso em: 14 mai. 2011.
8. CAMPAGNA, A. F. *et al.* Recursos naturais: solo. Disponível em: <<http://educar.sc.usp.br/ciencias/recursos/solo.html>>. Acesso em: 15 jan. 2012.
9. CENTRO DE ENSINO E PESQUISA APLICADA. Composição do petróleo. Disponível em: <<http://cepa.if.usp.br/energia/energia1999/Grupo1A/composicao.html>>. Acesso em: 07 jun. 2011.
10. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Gramíneas forrageiras do gênero *Brachiaria*. Disponível em: <<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/ct/ct01/04especies.html#4.5>>. Acesso em: 18 mai. 2011.
11. EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solo. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997. 212 p. il. ISBN 85-85864-03-6.
12. GRIGIO, A. M. Aplicação de sensoriamento remoto e sistema de informação geográfica na determinação da vulnerabilidade natural e ambiental do município de Guamaré (RN): Simulação de risco às atividades da indústria petrolífera. Natal: UFRN, 2003. 253 f. Dissertação (Mestrado em Geodinâmica) – Programa de Pós-Graduação em Geodinâmica e Geofísica, Universidade Federal de Educação do Rio Grande do Norte, RN, 2003.
13. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Cidades@: Guamaré-RN. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>. Acesso em: 28 set. 2011.
14. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Cidades@: Rio Grande do Norte. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/cidadesat/ufs/download/rn\\_mapa\\_e\\_municipios.pdf](http://www.ibge.gov.br/cidadesat/ufs/download/rn_mapa_e_municipios.pdf)>. Acesso em: 01 fev. 2012.
15. INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL E MEIO AMBIENTE. Aspectos físicos. Disponível em: <<http://www.idema.rn.gov.br/governo/secretarias/idema/perfilrn/Aspectos-fisicos.pdf>>. Acesso em: 21 fev. 2011.
16. INSTITUTO HÓRUS DE DESENVOLVIMENTO E CONSERVAÇÃO AMBIENTAL. Panicum maximum. Disponível em: <[http://www.institutohorus.org.br/download/fichas/Panicum\\_maximum.htm](http://www.institutohorus.org.br/download/fichas/Panicum_maximum.htm)>. Acesso em: 24 abr. 2011.
17. LAVILLE, C.; DIONNE, J. A construção do saber: manual de metodologia da pesquisa em ciências humanas. Porto alegre: Aartes Médicas Sul; Belo Horizonte: UFMG, 1999.
18. LEPSCH, I. F. Formação e conservação dos solos. São Paulo: Oficina de Textos, 2002.
19. MARIANO, J. B. Impactos ambientais do refino de petróleo. Rio de Janeiro: UFRJ, 2001. 216 f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Planejamento Energético) – Programa de Pós-Graduação de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, 2001.
20. MINAYO, M. C. S. O desafio do conhecimento: pesquisa qualitativa em saúde. 7 ed. São Paulo: Hucitec; Rio de Janeiro: Abrasco, 2000.
21. MORAES, N. A. Análise comparativa entre extratantes utilizados na determinação da eficiência de separação óleo/água em um extrator líquido-líquido à inversão de fases através do método espectrofotométrico. Natal: UFRN, 2005.
22. OLIVEIRA, D. M. *et al.* Fitorremediação: o estado da arte. Rio de Janeiro: CETEM, 2006.

23. PASSOS, M. A. A.; FERREIRA, R. L. C. Influência da cobertura de semeio na emergência e desenvolvimento inicial da algaroba. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 13, n. 2, p. 151-153, 1991.
24. PAULA, A. M.; SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S. Contaminação do solo com antraceno e creosoto e o crescimento vegetal e a colonização micorrízica pelo *Glomus etunicatum*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, vol. 31, n. 4, p. 805-811, ago. 2007.
25. PAVANELLI, A. G. Fitorremediação de solo contaminado com petróleo utilizando a *Typha latifolia*. 2007. 77 f. Dissertação (Mestrado em Química dos Recursos Naturais) – Programa de Mestrado em Química dos Recursos Naturais, Universidade Estadual de Londrina, PR, 2007.
26. PETROBRAS. Petrobras implanta refinaria no Rio Grande do Norte. Disponível em: <<http://fatosedados.blogspot.com.br/2009/11/19/petrobras-implanta-refinaria-no-rio-grande-do-norte/>>. Acesso em: 28 set. 2011.
27. ROSA, G. S. Avaliação do potencial de espécies vegetais na fitorremediação de solos contaminados por petróleo. Rio de Janeiro: UERJ, 2006. 144 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, RJ, 2006.
28. SANTOS, G. O. Crescimento, nutrição e estrutura do lenho juvenil de três espécies florestais com potencial de fitorremediação em solos contaminados com petróleo. Curitiba: UFPR, 2006. 194 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, PR, 2006.
29. SILVA, E. P. Avaliação preliminar do potencial de aplicação da tecnologia de biopilhas para a biorremediação do solo de Guamaré-RN. Natal: UFRN, 2004. 92 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, RN, 2004.
30. SILVA, E. L.; MENEZES, E. M. Metodologia da Pesquisa e Elaboração de Dissertação. 3. ed. Florianópolis: Laboratório de Ensino a Distância da UFSC, 2001.
31. TELHADO, M. C. S. C. L. *et al.* Avaliação da biodisponibilidade de contaminantes orgânicos em solo contaminado. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2010. 131 p., il. (Série Tecnologia Ambiental, 56).
32. VILELA, H. Série gramíneas tropicais: gênero *Brachiaria*. Disponível em: <[http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos/artigos\\_gramineas\\_tropicais\\_brachiaria\\_ruzizensis.htm](http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos/artigos_gramineas_tropicais_brachiaria_ruzizensis.htm)>. Acesso em: 20 mai. 2011.
33. WINTERMANS, J. F. G. M.; DE MOTTS, A. Spectrophotometric characteristics of chlorophyll and their pheophytins in ethanol. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.109, n.2, p.448-453, 1965.