

MARCELLE ALMEIDA DA SILVA

**EFEITO DO SOLO CONTAMINADO POR ÓLEO DIESEL NA GERMINAÇÃO E
FISIOLOGIA DE *Hymenaea courbaril* L e *Jatropha curcas* L.**

RECIFE
Pernambuco – Brasil
Janeiro – 2016

MARCELLE ALMEIDA DA SILVA

EFEITO DO SOLO CONTAMINADO POR ÓLEO DIESEL NA GERMINAÇÃO E
FISIOLOGIA DE *Hymenaea courbaril* L e *Jatropha curcas* L.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências Florestais da Universidade Federal Rural de
Pernambuco, para a obtenção do título de Doutor em
Ciências Florestais, Área de concentração: Silvicultura.

Orientadora:

Prof(a) Dr(a) REJANE JUREMA MANSUR CUSTÓDIO NOGUEIRA / UFRPE

Co-orientadores:

Prof(a) Dr(a) MARÍLIA REGINA COSTA CASTRO LYRA/IFPE

RECIFE
Pernambuco – Brasil
Janeiro – 2016

Ficha Catalográfica

S586e Silva, Marcelle Almeida da
Efeito do solo contaminado por óleo diesel na germinação
e fisiologia de *Hymenaea courbaril* L e *Jatropha curcas* L. /
Marcelle Almeida da Silva. – Recife, 2016.
91 f. : il.

Orientador(a): Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira.
Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciências
Florestais) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Engenharia Florestal, Recife, 2015.
Referências.

1. Fisiologia vegetal 2. Fotossíntese 3. Pigmentos
fotoprotetores 4. Ajustamento osmótico 5. Mecanismos de
tolerância 6. Diesel I. Nogueira, Rejane Jurema Mansur
Custódio, orientadora II. Título

CDD 634.9

MARCELLE ALMEIDA DA SILVA

**EFEITO DO SOLO CONTAMINADO POR ÓLEO DIESEL NA GERMINAÇÃO E
FISIOLOGIA DE *Hymenaea courbaril* L e *Jatropha curcas* L.**

APROVADA em 13/11/2015

Banca Examinadora

Prof. Dr. Manoel Bandeira de Albuquerque – UFCG

Prof. Dra. Ana Lúcia Figueiredo Porto – UFRPE

Prof. Dra. Suzene Izídio da Silva – UFRPE

Prof. Dra. Lúcia de Fátima de C. Chaves – UFRPE

Orientadora:

Prof. Dra. Rejane J. Mansur C. Nogueira – UFRPE

**RECIFE-PE
Janeiro/2016**

“Seja muito grato às adversidades que aparecem na sua vida. Elas lhe ensinarão a tolerância, a simpatia, o autocontrole, a perseverança, e outras qualidades que, sem adversidades, você jamais conhecerá”

DEDICO

Ao meu avô José Almeida (in memoriam) e a minha mãe Sílvia Almeida, que dignamente fez de mim tudo que sou hoje, com muita honestidade, determinação e acima de tudo, persistência.

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora da Conceição, por nunca me abandonarem e sempre mostrarem em todos os momentos o quanto me amam.

A minha Mãe Silvia que com dignidade, honestidade, paciência e determinação, sempre me apoiou em todos os momentos da minha vida, me amando incondicionalmente e me guiando com toda sua sabedoria pelo caminho do bem. Mainha! Eu te amo.

A meus avôs José Almeida e Maria de Jesus e ao meu Pai Mário (*in memoriam*), que me mostraram com toda sua sabedoria o tipo de pessoa que quero ser e a importância que devemos dá a nossa família. Enquanto eu viver, sentirei saudades de vocês.

Ao meu marido Manoel “Valter” que sempre esteve ao meu lado, me apoiando, me dando força, superando os obstáculos comigo e nunca me deixando cair. Amor! Te amo.

A minha Irmã Danielle, meu cunhado Gilson e meu sobrinho João Mário, que promoveram descontração nos bons momentos e alívio e conforto nos maus momentos.

A minha orientadora, a professora Rejane Mansur “*mãe científica*” que me fez esta profissional de garra e determinação, por seus ensinamentos e confiança em mim depositados, fundamentais para minha formação.

Em especial a professora Suzene Izídio da Silva, minha 1^a “*mãe científica*” onde encontrei apoio e muitos ensinamentos e valores nas primeiras etapas desta longa viagem que é o mundo acadêmico.

A Manoel Bandeira, mais que um amigo, um irmão em todos os momentos.

As Professoras Ana Porto, Margareth Sales e Lúcia de Fátima, meu imenso agradecimento pelos excelentes conselhos e contribuições para melhoria da minha tese.

A minha co-orientadora, Marília Regina (IFPE) e ao Professor Aleixo, pela ajuda e força para conclusão deste trabalho.

A Cinthya, Cibele, Natália, Elaine, Rafaela, Hugo Henrique, Marcelo, David, Hugo Bentzen, Clarissa e Fernanda (velhota), por me ajudarem em todas as etapas deste árduo trabalho. Sem vocês eu não conseguiria. Para vocês minha eterna gratidão.

A minha amiga e confidente, Elizamar Ciriaco, que mesmo distante esta sempre presente na minha vida e com quem aprendi a ser responsável e tolerante.

A Cinthya “minha filhota”, pela amizade e por estarmos juntas em todos os momentos mais.
Pequena, você é muito sábia e com você eu aprendi uma das lições mais importantes dessa
jornada chamada “vida”, amizade acima de tudo.

A meu pai postiço, o professor Gileno Xavier! Pai, obrigada pela força e fé a mim dispensadas.

Você mora no meu coração.

A minha família petrolinense: Leonardo Barros (Léo), Virginia Svedese (Maga), Diego César
(Pacificador) e Jhynny Clene (Sabereta). Gente! Tenho um imenso carinho e amor por todos
vocês.

A todos que fazem o Colegiado de Ciências Biológicas: Andrea Leal (Sorriso), Daniel Pifano,
Marco Aurélio (Pelicano), Patrícia Nicola, Benoit Jahyny, José Jorge (JJ), Jane Eyre, Kyria
Bortoleti, Michely Diniz, Renato Garcia, Vinina Ferreira, Rebeca Barreto, Draulio Costa, Marlos
Martins, Clébio Pereira e Luiz César, pelos maravilhosos momentos de descontração.

Ao ex-secretário, Douglas Menezes, pela incontestável eficiência em tudo que faz, e por sempre
torce por mim.

A atual secretária, Juliane por sua paciência nos momentos estressantes desta odisséia.

Em particular, gostaria de agradecer a Professora Lúcia de Fátima do Programa de Pós-
Graduação em Ciências Florestais. A senhora foi um anjo enviado por Deus que acreditou em
mim e me deu a oportunidade de concluir minha tese.

A Professora Cláudia Helena Dezótti por me fazer acreditar, quando nem eu mesma mais
acreditava que conseguiria concluir mais essa etapa da minha vida acadêmica.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco que foi durante 14 anos minha segunda casa.

E por fim, a Capes pela concessão da bolsa

SILVA, MARCELLE ALMEIDA, Efeito do solo contaminado por óleo diesel na germinação e fisiologia de *Hymenaea courbaril* L e *Jatropha curcas* L. 2016. Orientadora: Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira. Co-orientadora: Marília Regina Costa Castro Lyra.

RESUMO

Objetivou-se neste estudo, analisar o efeito do solo contaminado por óleo diesel na germinação e fisiologia de *Hymenaea courbaril* L. e *Jatropha curcas* L. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação do Laboratório de Fisiologia Vegetal - UFRPE. Para a montagem dos experimentos foram utilizadas sementes e plantas propagadas sexuadamente. O experimento de germinação avaliou: a porcentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG) e Tempo Médio de Germinação (TMG). O delineamento experimental foi em esquema fatorial (2x3), 2 espécies (*H. courbaril* e *J. curcas*) e 3 tratamentos, T30 (solo contaminado após 30 dias), T60 (solo contaminado após 60 dias) e T0 (solo sem contaminação), com 3 repetições. O segundo experimento utilizou plantas de *H. courbaril* e *J. curcas* e avaliou, as trocas gasosas (Fotossíntese – A; Transpiração – E; Condutância Estomática – gs); relações hídricas (Potencial Hídrico Foliar - Ψ_w ; Teor Relativo de Água – TRA); pigmentos fotossintéticos (Clorofila a; b; total e carotenóides); índice de clorofila-SPAD; danos protoplasmáticos e solutos orgânicos (carboidratos, aminoácidos, proteína e prolina). O delineamento experimental foi em esquema fatorial (2x3x2), 2 espécies (*H. courbaril* e *J. curcas*); 3 tratamentos: T0 (100% da capacidade máxima de retenção de água no solo – sem contaminação); T1 (50% da capacidade máxima de retenção de água no solo + adição de 23mL de óleo diesel por kg de solo) e T2 (50% da capacidade máxima de retenção de água no solo + 46,2mL de óleo diesel por kg de solo); e 2 avaliações (3horas e 192horas após contaminação), com 5 repetições. A %G, IVG e TMG de sementes de *H. courbaril* L. e *J. curcas* L. foram afetados, não ocorrendo germinabilidade para nenhuma das espécies em nenhum dos tratamentos com contaminação. Já para as sementes do T0 (*H. courbaril* L. e *J. curcas*), estes apresentaram %G de 84,51% e 82,29%, índice de velocidade de germinação de 17,29 e 12,02 (plântula/dia) e tempo médio de germinação de 1,41 e 3,04 (dia), respectivamente. Para as plantas de *H. courbaril* e *J. curcas*, estas apresentaram diferenças após 3h de imposição ao estresse para as trocas gasosas (A, E e gs), com percentuais de 127% e 169%; 96,24% e 190%; 401,5% e 651,87% para T1 e T2, respectivamente, quando comparados ao T0. O Ψ_w apresentou reduções após 3h para *H. courbaril* e *J. curcas* com médias: -2,63 MPa, -2,75 MPa e -2,3MPa; -1,35 MPa, -2,05 MPa e -2,53MPa para T0, T1 e T2, respectivamente. Após 192h ambas as espécies recuperaram seu *status* hídrico e aumentaram seu Ψ_w com médias: -1,05MPa e -1,5MPa; -1,16 MPa e -0,65 MPa, para os tratamentos T1 e T2 para *H. courbaril* e *J. curcas*, respectivamente. Os solutos demonstrando que as espécies apresentaram mecanismos de tolerância após 3h e fechamento estomático com o prolongamento do estresse. Os pigmentos fotossintéticos e índice de clorofila-SPAD, apresentaram acréscimo após 192h. Os danos protoplasmáticos também apresentaram aumentos, sendo mais pronunciando nas plantas de *J. curcas* após 192h. Diante do exposto, sugere-se utilizar plantas ao invés de sementes em áreas contaminadas por óleo diesel.

Palavras chave: Fotossíntese, pigmentos fotoprotetores, ajustamento osmótico e mecanismos de tolerância.

SILVA, MARCELLE ALMEIDA, Effect of soil contaminated by diesel oil in the germination and physiology *Hymenaea courbaril* L. and *Jatropha curcas* L. 2016. Orientadora: Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira. Co-orientadora: Marília Regina Costa Castro Lyra.

ABSTRACT

The object of this study was to analyze the effect of soil contaminated by diesel oil in the germination and physiology of *Hymenaea courbaril* L. and *Jatropha curcas* L. The experiments were conducted in a greenhouse of the Plant Physiology Laboratory - UFRPE. For the assembly of the experiments were used seeds and plants propagated sexually. The germination experiment evaluated: germination percentage (%G), germination speed index (GSI) and mean time germination (MTG). The experimental design was a factorial (2x3), two species (*H. courbaril* and *J. curcas*) and 3 treatments, T30 (contaminated soil after 30 days), T60 (contaminated soil after 60 days) and T0 (without soil contamination), 3 replications. The second experiment used plants of *H. courbaril* and *J. curcas* and evaluated, gas exchange (photosynthesis - A; Transpiration - E; Stomatal Conductance - gs); water relations (Potential Hydride Leaf - Ψ_w ; Relative Water Content - RWC); photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, *b*, total and carotenoids); index chlorophyll-SPAD; protoplasmic damage and organic solutes (carbohydrates, amino acids, protein and proline). The experimental design was in a factorial design (2x3x2), 2 species (*H. courbaril* and *J. curcas*); 3 treatments: T0 (100% of the maximum water holding capacity of the soil - without contamination); T1 (50% of maximum water holding capacity of the soil + addition of 23 mL of diesel per kg of soil) and T2 (50% of maximum water holding capacity of the soil + 46,2mL of diesel per kg of soil); and 2 times (3hours and 192hours after contamination), 5 repetitions. The %G, IVG and TMG *H. courbaril* and *J. curcas* in seed were affected, germination does not occur for any of the species in no of contamination treatments. For the seeds of T0 (*H. courbaril* and *J. curcas*), they presented %G 84.51% and 82.29%, germination speed index of 17.29 and 12.02 (seedling / day) and mean germination time of 1.41 and 3.04 (day), respectively. For *H. courbaril* plants and *J. curcas*, they show differences 3h after application to stress to gas exchange (A, E and gs), with percentages of 127% and 169%; 96.24% and 190%; 401.5% and 651.87% for T1 and T2, respectively, when compared to T0. The Ψ_w showed reductions after 3h in *H. courbaril* and *J. curcas* with average: -2.63 MPa and -2.75 MPa -2,3MPa; -1.35 MPa to -2.05 MPa and -2,53MPa T0, T1 and T2, respectively. After of 192h, both species recovered their water status and increased their Ψ_w with average: -1,05MPa and -1,5MPa; -1.16 MPa and -0.65 MPa for the T1 and T2 treatments for *H. courbaril* and *J. curcas*, respectively. The solutes demonstrated that the species showed tolerance mechanisms after 3h and stomatal closure with stress prolonged. Photosynthetic pigments and chlorophyll index-SPAD showed an increase after 192h. Protoplasmic damage also showed increases, being more pronounced in *J. curcas* plants after 192h. Given the above, it is suggested to using plants instead of seeds in contaminated areas with diesel oil.

Key-words: Photosynthesis, photoprotective pigments, osmotic adjustment and tolerance mechanisms

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE AS ESPECIES ESTUDADAS	16
2.1.1 <i>Hymenaea courbaril</i> L.....	16
2.1.2 <i>Jatropha curcas</i> L.....	18
2.2 GERMINAÇÃO	20
2.3 PETROLÉO	23
2.4 ÓLEO DIESEL	25
2.5 O ESTRESSE ANTROPOGÊNICO	26
2.6 EFEITOS DA CONTAMINAÇÃO POR PETRÓLEO E SEUS DERIVADOS NA FISIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO	28
2.7 FITORREMEDIAÇÃO	31
3. MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1 Experimento I: Efeito do solo contaminado com óleo diesel na germinação de sementes de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) e pinhão-manso (<i>Jatropha curcas</i> L.). O experimento foi realizado entre os meses de julho a setembro de 2012.....	34
3.1.1 Local de Estudo.....	34
3.1.2 Beneficiamento das Sementes.....	35
3.1.3 Preparo do Solo, Montagem e Condução do Experimento.....	35
3.1.4 Análise da Germinação (%G, IVG e TMG).....	38
3.1.5 Análise Estatística.....	39
3.2 Experimento II: Caracterização Fisiológica e Bioquímica no desenvolvimento inicial de plantas jovens de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) e pinhão-manso (<i>Jatropha curcas</i> L.) submetidas à déficit hídrico e contaminação com óleo diesel.....	39
3.2.1 Curso Diário das Trocas Gasosas.....	41
3.2.2 Descrição as Variáveis Fisiológica.....	41
3.2.3 Trocas Gasosas.....	42
3.2.4 Medidor Portátil de Clorofila (MPC) – SPAD.....	42
3.2.5 Potencial Hídrico Foliar.....	42
3.2.6 Teor Relativo de Água.....	42
3.2.7 Determinação dos Pigmentos Fotossintéticos.....	43
3.2.8 Danos na Membrana (vazamento de eletrólitos).....	44
3.2.9 Solutos Orgânicos.....	44
3.2.10 Análise Estatística.....	45
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 Experimento I: Efeito do solo contaminado por óleo diesel na germinação de sementes de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) e pinhão-manso (<i>Jatropha curcas</i> L.).....	45
4.1.1 Análises Morfo-biométricas.....	46
4.1.2 Análise da Germinação.....	47
4.2 Experimento II: Caracterização Fisiológica e Bioquímica no desenvolvimento inicial de plantas jovens de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) e pinhão-manso (<i>Jatropha curcas</i> L.) submetidas a diferentes dosagens com óleo diesel.....	51
4.2.1 Condições climáticas na ocasião das coletas.....	51
4.2.2 Análise das Variáveis Fisiológicas.....	51

4.2.3	Avaliação das Trocas Gasosas.....	51
4.2.4	Estimativa de Pigmentos Fotossintéticos – SPAD.....	56
4.2.5	Concentração dos Pigmentos Fotossintéticos.....	58
4.2.6	Danos Protoplasmáticos – Percentual de Vazamento de Eletrólitos (VE).....	63
4.2.7	Avaliação das Relações Hídricas.....	65
4.2.8	Quantificação dos Solutos Orgânicos.....	69
5.	CONCLUSÕES	76
6.	REFERÊNCIAS	77

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. Mecanismos envolvidos no processo de fitorremediação.....	33
Figura 2. Preparo do solo para montagem do experimento de germinação. (A) solo seco, (B) solo sendo umedecido com 50% CMRA, (C) solo sendo umedecido com óleo diesel e (D) solo coberto com plástico para manter o solo úmido até momento da sementeira.....	36
Figura 3. Transplântio de mudas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) e pinhão-manso (<i>Jatropha curcas</i> L.). Em A e B, avaliações biométricas das mudas; e em D, replântio das mudas em local determinado.....	40
Figura 4. Curso diário da taxa fotossintética de plantas jovens de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) e Pinhão-Manso (<i>Jatropha curcas</i> L.) cultivadas em casa de vegetação.....	41
Figura 5. Germinação acumulada de sementes de Jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) e Pinhão-Manso (<i>Jatropha curcas</i> L.) em solo sem contaminação com óleo diesel.....	49
Figura 6. Taxas fotossintéticas em mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> L. (A) e <i>Jatropha curcas</i> L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.....	53
Figura 7. Taxas transpiratórias em mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> L. (A) e <i>Jatropha curcas</i> L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.....	54
Figura 8. Condutância Estomática em mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> L. (A) e <i>Jatropha curcas</i> L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.....	55
Figura 9. Índice de clorofila SPAD (medidor portátil de clorofila-MPC) em mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> L. (A) e <i>Jatropha curcas</i> L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.	57

Figura 10. Teores de clorofila <i>a</i> em mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> L. (A) e <i>Jatropha curcas</i> L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.	59
Figura 11. Teores de clorofila <i>b</i> em mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> L. (A) e <i>Jatropha curcas</i> L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.	60
Figura 12. Teores de clorofila total em mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> L. (A) e <i>Jatropha curcas</i> L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.	61
Figura 13. Teores de carotenoides em mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> L. (A) e <i>Jatropha curcas</i> L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.	62
Figura 14. Percentual de vazamento de eletrólitos em mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> L. (A) e <i>Jatropha curcas</i> L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.....	64
Figura 15. Potencial hídrico foliar em mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> L. (A) e <i>Jatropha curcas</i> L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.	66
Figura 16. Teor relativo de água em mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> L. (A) e <i>Jatropha curcas</i> L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.	68

Figura 17. Concentrações de carboidratos solúveis totais em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey. 70

Figura 18. Concentrações de aminoácidos livres em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey..... 71

Figura 19. Concentrações de prolina livre em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey..... 72

Figura 20. Concentrações de proteína livre em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey..... 73

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
Tabela 1. Concentração típica e tempo de residência de poluentes atmosféricos.....	27
Tabela 2. Características físicas e químicas do solo antes da contaminação com óleo diesel. O solo foi coletado em uma profundidade de 0-20 cm da Estação Experimental de Cana-de-Açúcar - EECAC fazenda Carpina / UFRPE localizados na cidade Carpina, Zona da Mata Norte de Pernambuco, Brasil.....	37
Tabela 3. Dados biométricos de sementes de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L) e pinhão-manso (<i>Jatropha curcas</i> L.) com as médias, desvios padrão e amplitude máximos e mínimos dos comprimentos longitudinal, distal e peso.....	46
Tabela 4: Valores médios de percentual de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG) de sementes de <i>Hymenaea courbaril</i> e <i>Jatropha curcas</i> , submetidas a diferentes épocas após contaminação do solo com óleo diesel.....	48

1. INTRODUÇÃO

A revolução industrial transformou o mundo, modificando a economia, a política, a sociedade, a cultura e o ambiente. O homem avançou com novas invenções e tecnologias e como consequência desta industrialização houve um aumento da poluição que se origina principalmente da queima de combustíveis fósseis, que é até o presente, a alavanca da economia mundial (OLIVEIRA, 2004).

No século XX, com a expansão do setor petroquímico ocorreu o aumento na produção de compostos químicos, compreendendo os combustíveis e diversos outros derivados do petróleo muito utilizados na indústria moderna (ROSA, 2006).

O petróleo e seus derivados, dentre eles o óleo diesel, são os combustíveis mais usados na atualidade, devido à intensidade de suas aplicações, sendo utilizados para movimentar automóveis e também unidades propulsoras de energia. Contudo, repetidos acidentes que ocorrem durante a condução do petróleo e seus derivados têm sido uma das principais causas de poluição ambiental nos últimos tempos (SILVA, 2006).

A indústria petrolífera possui atividades que apresentam perigo para o meio ambiente, pois pode originar a contaminação dos meios terrestre, aquático e atmosférico, por vários compostos orgânicos ao longo de sua cadeia produtiva (ROSA, 2006).

Kinako (1981) já chamava a atenção para a contaminação por petróleo e seus derivados, por causarem efeitos negativos nos ecossistemas e colaborarem indiretamente em vários outros aspectos para o desgaste do habitat. Após um vazamento, a superfície do solo fica exposta a vários agentes físicos, químicos e biológicos, e isto prejudica o estabelecimento da cobertura vegetal que os protege.

Neste contexto, tecnologias que visam à descontaminação dessas áreas tornaram-se de suma importância. Inicialmente, a descontaminação era realizada através de vários métodos, tais como, escavação, incineração, extração com solvente, oxidorredução, dentre outros bastantes onerosos. Porém, segundo Dinardi et al. (2003), algumas dessas técnicas deslocam o material para locais afastados, ocasionando riscos de contaminação secundária e aumentando os custos para o tratamento. Por isso, em anos recentes, passou-se a dar primazia por métodos que alterem menos o ambiente e que sejam mais econômicos.

A fitorremediação e/ou biorremediação surgiram a partir dos anos 90 e despontaram como alternativas promissoras para agregar um conjunto de tecnologias ambientais e financeiramente viáveis (MONTEIRO, 2003). A fitorremediação utiliza sistemas vegetais e sua microbiota para extrair, conter, imobilizar ou degradar contaminantes da água e do solo (MCCUTCHEON; SCHNOOR, 2003), podendo também estar associada à biodegradação, estimulando o crescimento e a atividade dos microrganismos capazes de degradar compostos no âmbito da rizosfera das plantas. O uso de sistemas baseados em plantas para a remediação de solos contaminados transformou-se em uma intensa área de pesquisas científicas e nos últimos anos, vem sendo potencializada em nosso meio (ANSELMO; JONES, 2005).

Os elementos e compostos alvos da fitorremediação são os metais pesados: chumbo, zinco, cobre níquel, mercúrio e selênio (Pb, Zn, Cu, Ni, Hg, Se); compostos inorgânicos (NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-}); elementos químicos radioativos, tais como: urânio, céσιο e estrôncio (U, Cs, Sr); hidrocarbonetos derivados do petróleo – BTEX (benzeno, tolueno, etil-benzeno e os xilenos); pesticidas e herbicidas (atrazine, bentazona, compostos clorados e nitro-aromáticos); explosivos trinitrotolueno e 2,4 dinitrotolueno (TNT, DNT); solventes clorados, como tricloroetano e tetra-cloro-etileno (TCE e PCE); e resíduos orgânicos industriais, como pentaclorofenol e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PCP, PAHs), entre outros (JIAN et al., 2013).

O desempenho da fitorremediação pode ser afetado de diversas formas, e isso compreende as propriedades do solo, as constituintes físico-químicas do poluente e a espécie vegetal que será utilizada. Desse modo, é imprescindível o estudo mais aprofundado dessa tecnologia em regiões tropicais, com enfoque no ajustamento às condições edafoclimáticas, bem como o seu controle no crescimento e metabolismo dos vegetais e microrganismos.

O Brasil possui um grande potencial para o desenvolvimento dessas técnicas, em virtude da grande quantidade de fenogênótipos que podem ser testados e por atualmente existirem mais de 250.000 espécies de plantas superiores catalogadas (NULTSCH, 2000), que se dividem em um número maior das quais apenas uma pequena porcentagem foi pesquisada até o momento, e levando-se em conta que mais 170.000 espécies estão presentes nos trópicos e subtrópicos, o emprego dessa tecnologia em países de clima tropical é muito apropriado devido a nossa biodiversidade vegetal e de microrganismos (ROSA, 2006).

Contudo, a existência de diversas lacunas para o entendimento dos mecanismos envolvidos nos processos fisiológicos e bioquímicos das plantas em áreas contaminadas com petróleo e/ou seus derivados, associados ao processo de germinação e caracterização quantitativa e qualitativa ao longo desenvolvimento das plântulas, são de suma importância, pois irão contribuir para a sustentabilidade dos programas de conservação e recuperação da biodiversidade vegetal.

Diante do exposto, a presente pesquisa teve por objetivo, avaliar o efeito do solo contaminado por óleo diesel na germinação e na fisiologia de plantas jovens de *Hymenaea courbaril* L. e *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes tempos de exposição ao contaminante.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE AS ESPÉCIES ESTUDADAS

2.1.2 *Hymenaea courbaril* L.

O jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) é uma espécie pertencente à família Fabaceae e a subfamília Caesalpinioideae; caracteriza-se por ser uma árvore semidecídua de caráter oportunista (heliófila ou esciófita), seletiva e xerófila. No Brasil, a *Hymenaea courbaril* possui uma distribuição ampla, ocorrendo desde a floresta amazônica até a floresta estacional semidecidual no sudeste do país, sob a forma de diversas variedades, sendo *Hymenaea courbaril* var. *altissima*, *Hymenaea courbaril* var. *courbaril*, *Hymenaea courbaril* var. *longifolia*, *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*, *Hymenaea courbaril* var. *subsessilis*, *Hymenaea courbaril* var. *villosa*, as mais comuns (CASTELLEN, 2005).

É considerada uma árvore de grande porte, podendo ultrapassar os 30m de altura, dotada de copa ampla e densa, com troncos retos, mais ou menos cilíndricos podendo chegar a 2m de diâmetro, com casca cinza prateada. Possui folhas alternas, compostas de textura coriácea e inflorescência em panículas terminais. Seus frutos são vagens curtas, lenhosas, indeiscentes em formato cilíndrico (ovoides a oblongos); duros, de cor verde quando imaturos e marrom-escuros após maturação, suas sementes são duras, e germinam entre 12 a 18 dias, apresentando de 2 a 6 sementes, que estão em envoltas por uma farinha comestível de grande valor nutritivo,

consumida pelo homem e por animais, como alimento, principalmente roedores. (LORENZI, 1998; CARVALHO FILHO et al., 2003; GORCHOV et al., 2004)

Sua floração ocorre durante a estação seca ou na fase de transição para chuvosa. Para uma boa germinação devem ser semeadas em canteiros contendo substrato argiloso e cobertas com mais ou menos 1 cm de terra. Como se trata de sementes grandes podem ser semeadas diretamente em recipientes individuais, como saco de polietileno ou formas alternativas. O desenvolvimento das mudas é rápido, ficando prontas para serem plantadas no campo em menos de 6 meses (LORENZI, 2002). Souza et al. (1996) acrescentam que as árvores podem alcançar a altura de 8 metros em cinco anos.

Possui dispersão zoocórica, ocorrendo em virtude da agilidade de roedores e outros mamíferos que, em busca de sua polpa farinácea adocicada, com sabor e odor peculiares (ALMEIDA et al., 2005), quebram as vagens e ingerem as sementes, sendo estas escarificadas pelos ácidos e enzimas presentes em seu sistema digestivo (MOREIRA et al., 2011).

A germinação é epígea, sendo o primeiro par de folhas, denominadas eófilos, unifoliolado e oposto, diferente das folhas subsequentes, também é característica dessa espécie a presença de um colar entre a base do hipocótilo e a raiz, junto ao solo (MELO et al., 2004).

Segundo Rizzini et al. (1997), o gênero *Hymenaea* possui madeira de boa qualidade e suas cascas possuem muito tanino. Sua resina é bastante útil para fabricação de vernizes, sua extração é realizada por meio de um processo de “sangria” através do tronco ou por escavação do solo. Após produção da resina, esta pode converter-se em âmbar, através de processos químicos durante longos anos. Seu chá da casca também é um excelente medicamento para a próstata, podendo ser ingerido várias vezes ao dia, e a resina pode ser aplicada em forma de emplastro sobre as partes doloridas do corpo.

De acordo com Bontempo (2000), a casca em cozimento é aconselhada para combater hemoptises, hematúria (emissão de urina com sangue), diarreia, disenteria, cólicas ventosas, e acrescenta que o vinho de jatobá retirado do caule é um poderoso fortificante.

Na medicina popular os nativos na Amazônia costumam retirar a seiva dessa grande árvore e bebê-la para tratamento das afecções pulmonares, devendo, entretanto, fazê-lo em pequenas doses, pois como é adstringente, causa obstipação intestinal (MARTINS, 1989); o autor ainda acrescenta que da casca, pode ser feito chá pelo método de decocção para lavar ferimentos e para irritações vaginais.

Sua madeira possui diversas utilizações: obras hidráulicas, carroçarias, postes, tonéis, dormentes, construções variadas, móveis, laminados, esteios, tacos, mourão e estaca de cerca, especialmente em localidades onde a espécie é abundante (ALVINO et al., 2005).

2.1.3 *Jatropha curcas* L.

A espécie *Jatropha curcas* L. (pinhão-mansão), pertence à família Euforbiaceae, conhecida popularmente como pinhão-do-paraguai, purgueira, pinha-de-purga, grão-de-maluco, pinhão-de-cerca, pinhão-bravo, figo-do-inferno, pinhão-das-barbadas, dentre outros (GUSMÃO, 2010). O gênero *Jatropha* possui 175 espécies distribuídas na América Tropical, Ásia e África (AUGUSTUS et al., 2002). Acredita-se que *Jatropha curcas* L. proceda da América do Sul, possivelmente originária do Brasil, foi introduzida por navegadores portugueses, em fins do século XVIII, nas ilhas de Cabo Verde e em Guiné, de onde mais tarde foi difundida pelo continente africano (ARRUDA et al., 2004).

Embora seja uma planta conhecida e cultivada no continente americano desde a época pré-colombiana, e esteja distribuída em todas as regiões tropicais e até em algumas temperadas, o pinhão-mansão é uma espécie que ainda se encontra em processo de “domesticação” e, segundo Sato et. al. (2009), somente nos últimos 30 anos é que esta começou a ter seus aspectos agrônômicos pesquisados.

O pinhão-mansão é uma planta arbustiva, de crescimento rápido, que pode atingir até 5m de altura com diâmetro do tronco de 20 cm. Suas raízes são tipo pivotantes, curtas e pouco ramificadas; seu caule é liso, possui lenho mole e medúla desenvolvida com xilema pouco resistente e floema com longos canais que se estendem até as raízes (OPENSHAW, 2000).

As folhas são de coloração verde-brilhante, largas e alternadas, com três a cinco lóbulos e pecioladas. As nervuras são esbranquiçadas e salientes na face inferior. Possui estômatos distribuídos na face abaxial e adaxial, sendo uma espécie do tipo anfiestomática. É uma planta monóica, isto é, possui flores de sexo separado, porém na mesma planta. As flores são pequenas de coloração amarelo-esverdeadas, pentâmeras, unissexuais em panículas terminais ou axilares. As flores masculinas são em maior número, estando localizadas nas extremidades superiores das ramificações, enquanto que as flores femininas são em menor número, e se encontram nas ramificações (ARRUDA et al., 2004). O fruto de pinhão-mansão é uma cápsula ovoide com

diâmetro de 1,5cm a 3,0cm, trilocular com uma semente escura em cada loco, que inicialmente é esverdeada, passando à coloração amarela, em seguida castanha e, por fim, preto, quando atinge o estágio de maturação. É formado por um pericarpo ou casca dura e lenhosa, lisa, dentro das quais se encontra uma amêndoa branca e rica em óleo (BRASIL, 1985).

As culturas destinadas à produção de energia, de modo geral, podem ser classificadas em três grupos, de acordo com o tipo de matéria-prima energética que delas pode ser obtida: 1) Etanol: derivado da fermentação de culturas ricas em celulose, açúcar e amido; 2) Biomassa: oriunda de espécies com alta produção de matéria seca, usada em processos como combustão, pirólise e gaseificação; e 3) Biodiesel: baseado em culturas vegetais, principalmente, oleaginosas das quais se extrai o óleo e o transesterifica (VENTURI e VENTURI, 2003).

Plantas de *Jatropha curcas* são consideradas opção agrícola para áreas áridas, semi-áridas e na recuperação de áreas degradadas, promovendo a integração do acesso à produção com renda (venda do óleo das sementes para fins combustíveis); suprimento de energia (o óleo pode ser utilizado em motores e máquinas para a geração de eletricidade); contribui no desenvolvimento rural (com o emprego da mão-de-obra familiar), com consequente fixação do homem no campo; segurança alimentar, pois permite o uso de culturas anuais alimentícias em consórcio; além de melhorias ambientais, como a formação de um microclima que favorece o desenvolvimento de outras culturas nas entrelinhas (SATO et al., 2009).

Todas as partes da planta têm utilização econômica: na medicina tradicional, para a produção de sabão, iluminação através de lamparinas, geradores de eletricidade, combustível para fogões, extratos da semente como molusquicida, inseticida e nematicida. É considerada planta melífera, podendo ser utilizada como cerca-viva de pastagens e campos agrícolas, pois não é palatável, mourões de cerca “vivos”, suporte para plantas trepadeiras, como no caso da baunilha (*Vanilla aromatica* (SATO et al., 2009).

A torta é rica em nitrogênio, sendo utilizada como adubo orgânico, podendo também ser utilizada como ração animal, porém, devido à sua toxidez (não só a torta, mas a planta toda apresenta diversos compostos tóxicos, tanto para os animais como para o homem), esta se torna inviável. No entanto, estudos sobre a desintoxicação estão sendo realizados em vários países, como é o caso do Brasil, em trabalho realizado por Ávila et al. (2006). A madeira do pinhão-manso pode ser utilizada como material carburante de fornalhas, assim como as cascas dos

frutos, porém o uso mais difundido na atualidade é do óleo extraído da semente para fins combustíveis (ARRUDA et al., 2004).

2. GERMINAÇÃO

A germinação é uma sequência de eventos fisiológicos influenciada por fatores externos (ambientais) e internos (dormência, inibidores e promotores da germinação) às sementes: cada fator pode atuar por si ou em interação com os demais (IPEF, 2010).

A germinação é um fenômeno biológico que pode ser considerado pelos botânicos como a retomada do crescimento do embrião, com o subsequente rompimento do tegumento pela radícula. Entretanto, para os tecnólogos de sementes, a germinação é definida como a emergência e o desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, manifestando a sua capacidade para dar origem a uma plântula normal, sob condições ambientais favoráveis (IPEF, 2010).

Para que todo este fenômeno ocorra, a germinação se divide em quatro estágios: 1) embebição da semente; 2) alongamento das células; 3) divisão celular e, 4) diferenciação das células em tecidos. Entretanto, para que todos estes eventos aconteçam, alguns pré-requisitos devem ser atendidos, como por exemplo, a semente deve estar viável, a semente deve estar livre de dormência, as condições abióticas (água, temperatura, luz e oxigênio) devem estar adequadas e o ambiente deve estar ausente de organismos patogênicos (LABOURIAU, 1983).

Considerando que a germinação compreende uma série de reações bioquímicas, que envolvem processos funcionais catalisados por reações enzimáticas e estruturais, em particular de bio-membranas, torna-se simples entender a importância da temperatura desde sua ação sobre a velocidade de absorção de água, porcentagem de sementes germinadas, uniformidade e velocidade do processo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; SILVEIRA et al., 2004).

Para uma boa germinação, a temperatura ótima para as sementes da maioria das espécies está entre 15°C e 30°C (COPELAND; MCDONALD, 1985). Com relação às espécies arbóreas tropicais e subtropicais, a germinação tem acontecido com maior eficácia na faixa de 20°C a 30°C (BORGES; RENA, 1993). As espécies florestais apresentam desempenho mutável para a germinação com relação à sensibilidade à luz. Porém, de modo geral, acompanham o padrão das

demais sementes, podendo ser influenciadas positiva ou negativamente, ou ainda, apresentarem desempenho indiferente (OLIVEIRA et al., 2003).

Segundo Carvalho e Nakagawa (2000) apesar de ser um fator fundamental para a germinação, visto que a atividade respiratória é uma das primeiras alterações ocorridas a partir da embebição das sementes, o oxigênio é exigido em baixas quantidades quando comparados com os níveis em que ocorre na atmosfera.

Dentre os fatores abióticos já citados, a água é o que mais influencia o procedimento de germinação. Com a entrada de água, por embebição, ocorre a reidratação dos tecidos e, conseqüentemente, o aumento da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, que decorrem do fornecimento de energia e nutrientes necessários para a retomada do crescimento por parte do eixo embrionário (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Entretanto, quando ocorre a contaminação do solo com petróleo e/ou seus derivados, este se torna hidrofóbico, reduzindo a disponibilidade de água presente no ambiente. O decréscimo do potencial hídrico do meio pode retardar ou diminuir a taxa de germinação de diversas espécies, pois intervêm na embebição e no alongamento celular do embrião (RACINE, 1994). Em contrapartida, o excesso de umidade, em geral, provoca redução na germinação, visto que impede a penetração do oxigênio e diminui todo o processo metabólico resultante (IPEF, 2010).

Assim sendo, o movimento da água para o interior da semente é devido tanto ao processo de capilaridade quanto de difusão e ocorre do sentido do maior para o menor potencial hídrico. Desta maneira, a embebição é fundamentalmente um processo físico relacionado às características de permeabilidade do tegumento e das propriedades dos colóides que constituem as sementes, cuja hidratação é uma de suas primeiras conseqüências (IPEF, 2010).

O processo de germinação estabelece a fase do ciclo de vida que origina a distribuição dos vegetais, e o estudo sobre a ecologia desse processo e o conhecimento sobre a biologia das sementes pode ser de grande importância para a compreensão das fases do desenvolvimento das comunidades vegetais, sua sobrevivência e regeneração natural (VÁZQUEZ-YANES; OROZCO-SEGOVIA, 1993), pois, segundo Rezende (2006) a revegetação de áreas degradadas depende diretamente do banco de sementes presente em seu solo.

Rosa (2006) avaliando o efeito do solo contaminado por petróleo na germinação e estabelecimento de plântulas observou que o contaminante pode atrasar a revegetação por décadas.

Rezende (2006) trabalhando com germinação de *Schinus terebinthifolius* em solo contaminado com óleo diesel oriundo de Araucária-PR, local de ocorrência natural da espécie e classificado como gleissolo melânico (solo que apresenta, em alguns casos, acúmulo superficial de matéria orgânica), realizou um experimento por um período de 30, 90, 180 dias (T30, T90, T180) após contaminação e solo sem contaminação (T0). Os resultados obtidos mostraram que o óleo diesel causou redução na germinação das sementes apenas no tratamento T30. O número de sementes germinadas nos tratamentos T180, T90 e T0 foram semelhantes. A germinabilidade (%G) foi maior no tratamento T0 (53,6%), seguida do tratamento T90 (53,2%) e T180 (50%) e foi menor no tratamento T30 (29,6%). O índice de velocidade de germinação foi maior no tratamento T90 (12,77), seguido por T0 (12,48) e T180 (12,18) e foi menor no tratamento T30 (6,82).

Efeito do solo, contaminado com óleo usado, na germinação, altura e biomassa de seis espécies de plantas herbáceas (*Medicago truncatular*, *Mermis bromous* *Triticum sativa*, *Agropyron deserterum*, *Secal seral* e *Linum ussitasimum*), foi investigado, por meio da realização de um experimento, onde foi realizado o teste de fitotoxicidade e inibição do crescimento. Neste estudo, utilizou-se um solo artificial com uma textura leve incluindo 85% de areia, 10% silte e 5% de argila. A exposição ao solo contaminado foi realizada utilizando-se quatro concentrações (25, 50, 75, 100 g de óleo usado por kg de solo). Os resultados apresentados apontaram declínio na germinação, altura e biomassa seca para todas as espécies quando comparadas ao tratamento controle com efeitos mais inibitórios e mais negativos para a espécie *Medicago truncatular* e menor efeito inibitório para *Linum ussitisimum* (SHARIFI et al., 2007). Deve-se levar em consideração que áreas atingidas por derramamento de óleo também irão depender diretamente do banco de sementes presente naquele solo.

Vavrek e Campbell (2000) iniciaram seu estudo quantificando a importância do banco de sementes para recuperação de uma área contaminada por óleo diesel. Na área de estudo foi encontrado um banco de sementes de 24 espécies diferentes. Ao analisar a germinação constatou-se que 50% das espécies tiveram sua germinação atrasada pelo óleo. Isso mostra que o banco de sementes de áreas contaminadas sofre com o derramamento, mas, contribui potencialmente para sua regeneração após um derramamento de óleo.

3. PETRÓLEO

De forma simplificada, podemos definir petróleo como uma mistura complexa de hidrocarbonetos, contaminantes orgânicos e impurezas inorgânicas como água, sais e sedimentos. O petróleo é uma mistura líquida e oleosa, insolúvel em água e menos denso que ela. Sua coloração varia entre pardo-escuro e negro e é encontrado em jazidas no subsolo da crosta terrestre. É uma mistura complexa de inúmeros compostos orgânicos, com predominância quase absoluta de hidrocarbonetos. Sua composição química varia de acordo com sua procedência. O petróleo líquido é também chamado “óleo cru” para distingui-lo do óleo refinado, produto comercial mais importante. Seus subprodutos são utilizados para a fabricação de tecidos sintéticos, borracha sintética, sabões, detergentes, tinta, plásticos, medicamentos, inseticidas, fertilizantes, dentre outros (PORTAL SÃO FRANCISCO, 2010).

Classificado em três grupos, de acordo com o tipo predominante de hidrocarboneto presente em sua constituição: parafínicos (predominância de alcanos normais e ramificados com 1 a 42 átomos de carbono), naftênicos (predominância de cicloalcanos) e aromáticos (predominância de anel benzênico) (PERISSÉ, 2007). Apesar das diferenças, existe uma composição elementar média do petróleo.

São frequentemente divididos em fração alifática (cerca de 60%), fração aromática (20 a 45%), fração polar e asfaltenos (0 a 40%). A fração alifática contém uma série dominante de hidrocarbonetos saturados lineares, mas também contém hidrocarbonetos ramificados e vários hidrocarbonetos cíclicos e policíclicos (naftenos) (PAVANELLI, 2007). Os compostos aromáticos são o segundo grupo constituinte mais representativo. A fração aromática contém hidrocarbonetos aromáticos alquilados desde um ou dois anéis conjugados até os poliaromáticos (HPAs). A fração polar é um complexo contendo muitos anéis aromáticos heterocíclicos que constituem derivados de porfirina e compostos alifáticos contendo nitrogênio e enxofre (NICODEM et al., 2001).

Os hidrocarbonetos presentes no petróleo estão classificados como aromáticos, parafínicos, naftênicos e olefínicos de acordo com as formas de ligação dos seus átomos de carbono (Meirelles, 2014), todas essas substâncias presentes no petróleo encontram-se em proporções que variam de acordo com o tipo do petróleo. Há ainda uma quantidade de gases e sólidos dissolvidos ou dispersos nesta mistura líquida, composto principalmente por metano,

etano e propano. Os sólidos são hidrocarbonetos que contém acima de 18 átomos de carbono além das resinas e asfaltenos que se decompõe antes de vaporizar. Impurezas ou contaminantes são encontrados no petróleo, derivam de elementos como enxofre (sulfetos, dissulfetos, benzotiofenos e mercaptanas), oxigênio (ácidos naftênicos), nitrogênio (piridina e pirrol), e metais (ferro, zinco, cobre, chumbo, molibidênio, cobalto, arsênio, manganês, cromo, sódio, níquel e vanádio). Outras impurezas inorgânicas importantes são água, sais, argila, areia e sedimentos (TORRES; GAMA, 2005).

Entretanto, a constituição do petróleo pode ser modificada consideravelmente de acordo com o local, tipo de óleo e o tempo. A indústria petrolífera caracteriza o petróleo especialmente por suas composições físicas e químicas gerais (NICODEM et al., 2001).

Antes do estabelecimento da atividade poluidora humana no planeta, já havia possibilidade de extravasamento natural do petróleo nos oceanos, praias, solos e corpos d'água continentais, pois, devido a sua origem nas bacias, o mesmo tende a subir sob a forma líquida à superfície terrestre ou serem liberados no fundo dos oceanos. A poluição por hidrocarbonetos obteve um aumento volumétrico desde o início da expansão do petróleo para as mais diversas finalidades (MENDONÇA FILHO et al., 2003).

Há alguns anos a indústria do petróleo vem apresentando problemas relacionados à ampliação em seu setor, que vem causando prejuízos irreparáveis ao ambiente, ou que exigem um elevado investimento para reparar e consertar as injúrias causadas ao meio ambiente (MENDONÇA FILHO et al., 2003).

O cenário apresentado após um acidente mostra que o óleo que é derramado começa a sofrer a ação do ambiente, e como consequência a ação dos efeitos físicos, químicos e biológicos. O procedimento automático da degradação é chamado de intemperismo (GUEDES *et al.*, 2003). Essa degradação constitui elementos que apresentam diferentes pressões de vapor e taxas de volatilização para cada elemento que irá ser definido. Após estes processos, os constituintes mais voláteis irão se espalhar pelos poros do solo e os não voláteis permanecerão no solo, originando a contaminação (FINE et al., 1997).

Dentro deste contexto, os Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) apresentam alta volatilidade. Contudo, a volatilidade deste constituinte diminui com o aumento do peso molecular, ou seja, HPAs de pesos moleculares mais baixos são mais voláteis e possuem maiores pressões de vapor que os mais pesados. Para o meio atmosférico a consequência ocasionada por

estas propriedades, fazem com que estas substâncias (HPAs), sejam encontradas tanto na forma gasosa quanto adsorvidas no material particulado. Cada componente possui uma concentração em ambas as fases, isso em função de sua volatilidade e afinidade pelas superfícies das partículas atmosféricas (NETTO et al., 2000).

4. ÓLEO DIESEL

O óleo diesel é um combustível derivado do petróleo, constituído por hidrocarbonetos (compostos orgânicos que contém átomos de carbono e hidrogênio), parafínicos, oleofínicos e aromáticos e por substâncias que possuem em sua fórmula átomos de enxofre, nitrogênio, metais, oxigênio, em menores qualidades (SILVA, 2006).

Os HPAs são compostos que possuem duplas e simples ligações que se alternam em dois ou mais anéis com seis átomos de carbono, ou seja, anéis de benzeno. Ao contrário dos compostos insaturados, o benzeno é estável e devido ao seu odor, todos os compostos formados por ele são conhecidos como hidrocarbonetos aromáticos. Compostos formados por dois ou mais anéis de benzeno são mais resistentes a biodegradação, pois ficam intimamente adsorvidos nos sedimentos, resistindo por muitos anos no ambiente (ROSA, 2006).

Alguns exemplos mais comuns de HPAs presentes no petróleo e derivados, considerados prioritários pela United States Environmental Protection Agency -USEPA, devido aos efeitos sobre o bem estar humano, são: naftaleno, acenaftileno, acenafteno, antraceno, fenantreno, fluoreno, benzo-antraceno, criseno, fluoranteno, pireno, benzo-pireno, benzo-fluoranteno, benzo-fluoranteno, dibenzo-antraceno, benzo-perileno e indeno-pireno.

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) foram os primeiros compostos observados, por serem considerados poluentes orgânicos prioritários em estudos ambientais. Estes contaminantes orgânicos são os mais comuns e abundantes no meio ambiente e por seus efeitos biológicos em termos de potencial carcinogênico, mutagênico, teratogênico e demais efeitos tóxicos que estes causam a saúde no geral (AZEVEDO et al., 2013).

As fontes naturais mais comuns de HPAs compreendem: carvão, petróleo bruto, vulcões e incêndios. Os HPAs não são potencialmente tóxicos apenas nas suas formas naturais, mas também podem produzir produtos cancerígenos após reagirem com outras substâncias

atmosféricas, como, por exemplo, o óxido de nitrogênio formando os nitro-HPAs (AZEVEDO et al., 2013).

Geralmente, os HPAs encontram-se no solo adsorvido no material constituinte e ficam aderidos nas camadas superficiais. Estes compostos possuem as meias vidas relativamente elevadas em função de seu peso molecular. Tal fato indica que sua degradação é lenta. Devido a essas propriedades físico-químicas e da abundante distribuição ambiental, o risco de contaminação para o meio ambiente é bastante significativa (NETTO et al., 2000).

Para a vegetação que esta sofrendo com os efeitos tóxicos provocados por estes hidrocarbonetos, em especial pelos HPAs, os sintomas mais comuns são: reduções no crescimento do caule e raiz, tricomas deformados, redução nos pelos radiculares, degradação na clorofila, retardamento na floração e surgimento de pontos brancos que se manifestam em lesões e necrose. A nível celular, as plantas apresentam estresse oxidativo, como produção de espécies reativas de oxigênios (ROS) até a morte celular (ALKIO et al., 2005).

Smith et al. (1981) em seu estudo em uma área contaminada, já apontava que uma excelente forma de avaliar os sintomas ocasionados por contaminação com petróleo e/ou seus derivados é, medir a taxa de crescimento, a fixação de CO₂ e a redução da produtividade das comunidades vegetais.

5. O ESTRESSE ANTROPOGÊNICO

O sol, o ar, a água e o solo, fornecem em conjunto, a energia, os nutrientes e o meio necessário para a sobrevivência das plantas. Entretanto, ao mesmo tempo, o habitat contém substâncias fitotóxicas em concentrações capazes de causar danos. Alguns dos elementos químicos e componentes normalmente presentes na natureza são potencialmente perigosos para as plantas, como SO₂ (dióxido de enxofre) proveniente de emissões vulcânicas, o gás H₂S (ácido sulfídrico) em áreas pantanosas, os óxidos de nitrogênio produzidos pelo processo de desnitrificação microbiana nos solos e de descarga elétricas nas tempestades, bem como os sais e as partículas de poeira transportadas pelo ar (LARCHER, 2006).

Tabela 1. Concentração típica e tempo de residência de poluentes atmosféricos. Segundo Freedman (1989), Lahmann (1990), Legge e Krupa (1990), Kuttler (1991). Valores muito divergentes de residência são encontrados na literatura. Retirado do Livro de Ecofisiologia vegetal de Larcher (2006)

Compostos químicos	Concentração típica (ppm)		Tempo de residência médio na atmosfera
	Ar limpo	Ar poluído	
CO ₂	340	400	2-6 anos
CO	0,1	40-70	2-6 meses
SO ₂	0,0002	0,2	1-10 dias
H ₂ S	0,0002		0,5-2 dias
NH ₃	0,01	0,1	2-14 dias
N ₂ O	0,25		4-10 anos
NO	<0,002	1-2	3-6 dias
NO ₂	<0,004	0,2	5-10 dias
O ₃	0,02	0,5	Dias-meses
CH ₄	1-1,7	3	4-10 anos
Outros Hidrocarbonetos	<0,02	0,3	Aprox. 2 dias

Atualmente como resultado da atividade humana, as plantas são expostas mais que no passado a quantidades enormes de substâncias potencialmente danosas. A situação tornou-se mais séria desde o momento em que estas substâncias se apresentaram como substâncias estranhas para as plantas (xenobióticas) e, até o momento, as plantas não possuem respostas adequadas para esta nova situação (**Tabela 1**). Uma grande variedade de substâncias fitotóxicas entram na atmosfera, na água e no solo como consequência de processos indústrias, do tráfego, do uso de agentes químicos na agricultura e de uso doméstico e, especialmente por meio do excessivo consumo de combustíveis fósseis. Além desses tipos de injúria, a vegetação pode ser exposta à excessiva aplicação de biocidas e fertilizantes, os quais causam eutrofização do solo e da água e a entrada de NH₃ (amônia) e metano na atmosfera – como resultado da criação intensiva e em larga escala de animais. O crescimento sem precedentes do tráfego comercial, o rápido crescimento das atividades de recreação, os acidentes catastróficos (com reatores

nucleares e tanque de óleo) e os conflitos bélicos apresentam consequências degenerativas muito mais extensas que no restrito local onde acontecem, alastrando-se para todo ecossistema, para o continente e, finalmente, atingindo uma escala global (LARCHER, 2006).

Um dos elementos mais nocivos e abundantes na atmosfera são os HPAs. Ao longo das décadas as partículas em suspensão aumentaram consideravelmente devido as ações antropogênicas. Estas ações tornaram a identificação e o monitoramento destes contaminantes orgânicos, outrora citados, uma função prioritária, especialmente os contaminantes do tipo HPAs (AZEVEDO et al., 2013), que como visto, são de grande risco para a saúde humana e o meio ambiente como um todo.

6. EFEITOS DA CONTAMINAÇÃO POR PETRÓLEO E SEUS DERIVADOS NA FISIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO

As plantas respondem a essas mudanças no ambiente, sendo desta maneira um termômetro para averiguar a qualidade do nosso meio (LARCHER, 2000). A maior parte das plantas não tolera a contaminação com petróleo, o que leva a diminuição da diversidade das espécies vegetais em regiões contaminadas (XIONG et al., 1997).

As plantas, na maior parte das vezes, são os organismos que primeiro são atingidos pelo vazamento de óleo (MALALLAH et al., 1996). Segundo, Baker (1970), as consequências ocasionadas pela poluição nas plantas podem variar de acordo com o tipo, quantidade de óleo envolvido, a idade da planta, a época do ano e as espécies atingidas.

O acúmulo de óleo pode causar efeitos crônicos ou agudos, e promover interferência na fisiologia das plantas. Essa interferência, agregada as condições anaeróbicas e hidrofóbicas, vem a ser o efeito danoso mais importante em relação à germinação de sementes e ao desenvolvimento das plantas (RACINE, 1994).

Para algumas espécies, os elementos podem ser absorvidos somente até certo limite (TAYLOR, 1978). Em outras, os elementos se acumulam na raiz, com pequeno transporte para o caule. Ainda, em outros casos, tanto a raiz quanto o caule acumulam uma quantidade mais elevada destes elementos, podendo de certa maneira, conviver com eles. Estas representam as verdadeiras espécies tolerantes (SILVA, 2006).

Segundo Wachowicz e Carvalho (2002), além da diferença entre as espécies, outros fatores como disponibilidade hídrica, regulação estomática, macronutrientes, micronutrientes e condições do solo podem influenciar certas variáveis como teor de clorofila, capacidade fotossintética e alocação de biomassa.

Algumas espécies de plantas possuem capacidade de crescer e se desenvolver em solos contaminados, adquirindo desta forma, meios capazes de desintoxicação, onde os efeitos do acúmulo de substâncias tóxicas (metais) podem ser mitigados através de certas estratégias tolerância desenvolvidos pelas plantas (ERNST, 1975).

Uma forma de se avaliar os sintomas causados pelo petróleo e seus constituintes e verificar o grau de injúrias gerados por estes contaminantes é, analisar a taxa de fixação de CO₂ e a diminuição na produtividade das plantas (SMITH et al., 1981). Sabe-se que a poluição ambiental altera a composição de proteínas em algumas espécies (TAIZ; ZEIGER, 2004).

De acordo com Green et al. (1996), a concentração de óleo diesel no solo tem grande capacidade de conexão entre a percentagem de mortalidade e flacidez das plantas após uma semana de sua semeadura. Em pesquisa realizada pelos autores acima citados, com *Tradescantia* uma planta da família Commelinaceae de estrato herbáceo, que se encontrava em solo com concentrações muito altas de poluente, não houve emissão de flores ou gemas, além de haver uma redução na concentração dos teores de clorofila. Estas mesmas reduções nos teores de clorofila também foram observadas em *Vicia faba* (herbácea) pertencente à família Fabaceae, excelente indicadora de poluição por hidrocarbonetos (MALALLAH et al., 1996). A redução na concentração de pigmentos fotossintéticos em plantas crescidas em solo com poluentes foi relatada por diversos autores (GREEN et al., 1996; MALALLAH et al., 1996).

Estes mesmos autores desenvolveram uma pesquisa averiguando a espécie *Vicia faba* como bioindicadora de poluição, onde verificaram níveis mais elevados de açúcar, fenóis, proteínas e aminoácidos livres nas plantas que se desenvolveram bem em solo contaminado.

Estudos realizados sobre os efeitos do petróleo em *Salix interior* (herbácea) pertencente à família Salicaceae, indicaram uma grande redução nas trocas de CO₂ associada com cloroses e necroses foliares (GOUDEY et al., 1985).

Trabalhos com plantas aquáticas como a macrófita *Spartina alterniflora* da família Poaceae mostraram que houve tolerância à contaminação com petróleo, mesmo havendo uma

pequena redução na taxa fotossintética e na biomassa seca (DELAUNE et al., 1979; SMITH et al., 1981).

Diversos são os trabalhos realizados com gramíneas e herbáceas, porém, árvores da família Salicaceae (álamo e salgueiro em particular) são frequentemente utilizados como fitorremediadoras (Schnoor, 1995), pois, essas árvores possuem rápido crescimento, boa capacidade de enraizamento e alta habilidade de transpirar grandes quantidades de água.

Para as espécies arbóreas, *Campomanesia xanthocarpa* (Myrtaceae) e *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae) a contaminação por petróleo aumentou o teor de clorofila e não alterou a matéria seca das plantas (MAYER et al., 2003; OLIVEIRA, 2004). Já para as espécies de *Eucalyptus* cultivadas em solo com altas concentrações de chumbo, destacaram-se com potencial para plantas fitorremediadoras (NALON, 2008).

O processo de fitorremediação do solo está correlacionado especialmente com espécies vegetais (estratos arbustivo, herbáceo e arbóreo) tolerantes a contaminação, pois, estas desenvolvem mecanismos de manutenção para tolerar e/ou promover em suas raízes um local propício para abrigar decompositores que irão auxiliar no processo através de um consorcio entre as raízes e os microorganismos (KRUGER et al., 1997).

Segundo Pandey et al. (2016) existem várias culturas energéticas no mundo, as quatro culturas energéticas mais promissoras são: *Miscanthus*, *Ricinus*, *Jatropha* e *Populus*, e são consideradas nesta revisão como promissoras para alcançar a demanda de energia com a seu potencial fitorremediador. Essas quatro culturas energéticas também atuam como potencial de sumidouros de carbono e oferecer um lucro adicional de créditos carbono.

De acordo com Silva (2006) poucas são as informações de como as sementes e as plantas jovens de espécies nativas arbóreas se comportam em solo contaminado com petróleo e seus derivados, e também ainda são pouco conhecidos os impactos causados sobre a vegetação ao longo do tempo, pois as pesquisas botânicas mostram em sua maioria os efeitos iniciais do vazamento.

Tal fato sugere que pesquisas sobre o desempenho de espécies nativas nascidas em solo contaminado com óleo diesel, desde a germinação até o desenvolvimento da planta, serão de grande importância ecológica, podendo indicá-las para planos de recuperação através da semeadura direta.

Diante do contexto, estudos que avaliem o comportamento de plantas nativas e pioneiras resistentes a ambientes poluídos devem ser realizadas para fornecerem dados que aperfeiçoem a recuperação destas áreas degradadas.

7. FITORREMEDIAÇÃO

A fitorremediação tem por alicerce o uso de plantas e seus microrganismos integrados, técnicas agrônômicas e de manejo do solo para extrair ou tornar menos tóxicos os contaminantes no solo (WHITE Jr. et al., 2006). Segundo Moreno e Courseuil (2001), a biomassa vegetal representa 99% da massa viva do planeta, sendo assim, é natural que as plantas estejam envolvidas em inúmeras situações que têm relação com o destino de resíduos químicos descartados no ambiente.

Ainda que a relação entre o desempenho agrônômico e o potencial de remediação tenha sido particularmente determinada, um melhor desenvolvimento da planta certamente deve melhorar o processo de fitorremediação (WILTSE et al., 1998). De acordo com os mecanismos que envolvem o processo de fitorremediação, a ação sobre os compostos poluentes pode ser direta da planta com remoção ou captura dos contaminantes seguido de degradação (fitoextração *in planta*), ou *ex planta*, onde as raízes da planta podem liberar compostos que estimulem a atividade microbiana na rizosfera (CARMAN et al., 1998; SALT et al., 1998).

Naturalmente a fitorremediação é uma das táticas de gerenciamento que tem sido aplicada na recuperação de locais contaminados por substâncias inorgânicas e/ou orgânicas. Essa biotecnologia vem apresentando bons resultados para metais pesados, hidrocarbonetos de petróleo, agrotóxicos, explosivos, solventes clorados e subprodutos tóxicos da indústria (PEDROTI, 2007). Esse mecanismo está fundamentado em tecnologias naturais de amortecimento tais como: diluição, dispersão, adsorção, e biodegradação, que podem dependendo das condições do local restringir e diminuir consideravelmente a extensão do contaminante (MORENO E CORSEUIL, 2001).

Entretanto, a fitorremediação tem suas limitações como qualquer outra técnica. Plantas são organismos vivos que necessitam de oxigênio, água e nutrientes. E dentro deste contexto, o tipo de substrato, o pH, a salinidade e a concentração do poluente devem estar dentro dos limites, para que as plantas sobrevivam a estes ambientes (CUNNINGHAM et al., 1995).

Muitas pesquisas envolvendo o processo de fitorremediação de solos estão sendo realizadas e direcionadas para identificação de espécies de plantas e de microorganismos com potencial fitorremediador (PAVANELLI, 2007).

Assim, para que uma espécie seja selecionada como fitorremediadora, características como, adequação da espécie ao solo selecionado e às condições climáticas do local, além da finalidade da área a ser remediada, outras características também devem ser consideradas, tais como: ciclo de vida da planta, sistema radicular, potencial de formação de simbiose com microorganismos e resistência (ROSA, 2006).

Com relação ao ciclo de vida, as espécies perenes possuem crescimento radicular regular proporcionando aos microrganismos da rizosfera que continuem ativos. Por possuírem prática simplificada, sem necessidade de semeadura a cada ciclo como ocorre com as espécies anuais sua utilização é bastante vantajosa, pois, em áreas propensas a erosão isto poderia ser um prejuízo (HUTCHINSON et al., 2003). Para as espécies arbóreas, estas proporcionam uma diversidade de atividades ambientais como seqüestro de carbono atmosférico (créditos de carbono), acréscimo da biodiversidade, promove à estética e associada a isso à remediação da área ao qual irá favorecer seu uso na fitorremediação (ROOCKWOOD et al., 2001; ROSA, 2006)

Contudo, as espécies de ciclo curto, são mais rápidas na produção da biomassa e por isso, se destacam em projetos de fitorremediação devido a urgência de descontaminação da área, por exemplo, próximo a centros urbanos onde os riscos à saúde humana assumem caráter prioritário.

Embora as plantas tenham a capacidade de degradar ou sequestrar muitos compostos tóxicos, elas são sensíveis a muitos outros. Os herbicidas, por exemplo, são, por definição, tóxicos às plantas, geralmente mesmo em baixas concentrações. Muitos contaminantes apresentam toxicidade específica, inibindo a ação de enzimas metabólicas (DAVIS et al., 2002).

Dependendo da técnica a ser empregada, a fitorremediação pode ser classificada, de acordo com a natureza química e propriedades do poluente. Os vegetais podem remediar os solos contaminados utilizando os seguintes mecanismos: fito-extração, fito-estabilização, rizofiltração, fitodegradação, fito-estimulação e fitovolatilização (MORENO E CORSEUIL, 2001). A imagem a seguir (**Figura 1**) ilustra os mecanismos envolvidos no processo de fitorremediação.

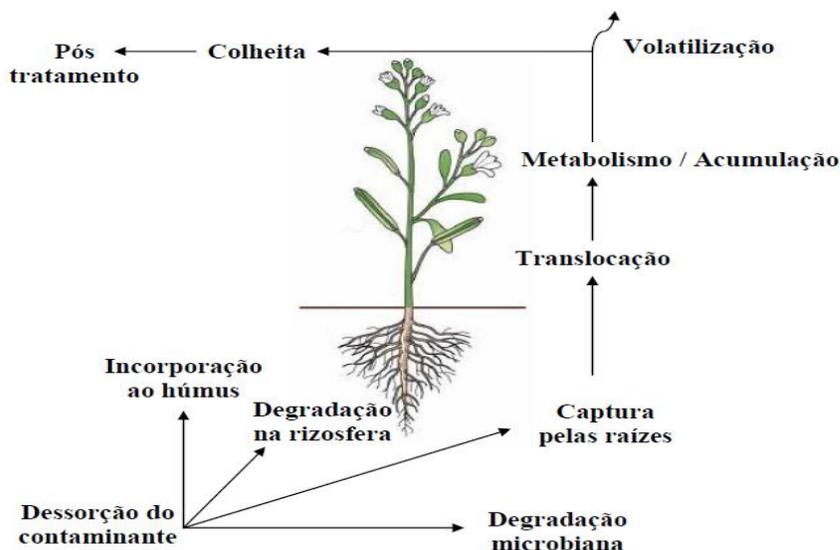


Figura 1 - Mecanismos envolvidos no processo de fitorremediação. **Fonte:** Cunningham *et al.*, 1995.

A **fitoextração** ou **fitoacumulação** é a absorção do metal contaminante pelo sistema radicular das plantas e translocação para a parte aérea. É utilizada normalmente para metais pesados (Cd, Ni, Cu, Zn, Pb), e também para outros compostos inorgânicos (Se) e orgânicos (MCGRATH, 1998)

A **fitoestabilização** utiliza plantas para restringir a mobilidade e bio-disponibilidade dos metais. As plantas que são empregadas devem possuir a capacidade de tolerar elevados níveis de metais e retê-los no solo (CARL MA et al., 1997).

A **rizofiltração** é um procedimento que usa plantas terrestres para absorver, concentrar e precipitar os contaminantes particularmente metais pesados ou elementos radiativos, através do seu sistema radicular em ambiente aquático (GLASS, 1998).

A **fitodegradação** é o processo no qual as plantas possuem a habilidade de degradar poluentes orgânicos. Em certos casos, os poluentes se transformam em moléculas simples que são usadas para o crescimento das plantas, (CARL MA et al., 1997).

A **fitoestimulação** utiliza as raízes em crescimento (extremidades e ramificações laterais) para causar a propagação de microrganismos degradadores na rizosfera, que usam os metabólitos liberados das plantas como fonte de carbono e energia. Além disso, as plantas podem expelir enzimas biodegradativas (POMPÊO, 1996).

A **fitovolatização** é um método que envolve a introdução nas plantas do gene bacteriano associado à reductase do íon de mercúrio, que reduz o cátion ao metal (Hg), o qual é volátil à temperatura ambiente (BROOKS, 1998).

Os contaminantes que ficam adsorvidos no solo podem sofrer transformações metabolicamente pela ação de enzimas ou por microrganismos (colônias de bactérias ou fungos micorrízicos) ligados simbioticamente com as raízes (MORENO & CORSEUIL, 2001), mostrando que a rizodegradação e fitoacumulação são os tipos de fitorremediação mais conhecidos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas, sementes e mudas jovens de Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) e Pinhão-Manso (*Jatropha curcas* L.) procedentes do município de Areia localizado na microrregião do Brejo Paraibano e campo experimental do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas – UFAL, respectivamente. O solo para montagem dos experimentos foi oriundo do Campus Avançado da UFRPE - Estação Experimental de Cana-de-açúcar do Carpina (EECAC/UFRPE), localizada no município de Carpina, Zona da Mata Norte de Pernambuco. O poluente (óleo diesel) utilizado foi adquirido por meio de compra em posto de gasolina próximo a UFRPE.

3.1 Experimento I: Efeito do solo contaminado com óleo diesel na germinação de sementes de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) e pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). O experimento foi realizado entre os meses de julho a setembro de 2012.

3.1.1 Local de Estudo

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação do Laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE, no período de julho de 2012 a Janeiro de 2013.

3.1.2 Beneficiamento das Sementes

Após a aquisição das sementes para desenvolvimento dos experimentos iniciou-se as medidas biométricas de 250 sementes por espécie: comprimento longitudinal e comprimento distal com um paquímetro da marca DIGIMESS, com precisão de 0,002 mm. O peso foi realizado em balança de precisão de 0,0001g. Para a mensuração do comprimento longitudinal das sementes, fixou-se uma das faces do paquímetro, numa extremidade longitudinal da semente e a outra na extremidade oposta. O comprimento distal também foi mensurado no sentido transversal, com as faces do paquímetro nas duas extremidades da parte mediana das sementes. Após a realização das medidas as sementes de *H. courbaril* foram submetidas a tratamento com ácido sulfúrico concentrado no período de meia hora com a finalidade de quebrar a dormência tegumentar e homogeneizar a germinação, sendo as sementes lavadas posteriormente em água corrente por 20 minutos (CARVALHO, 1994). Para as sementes de *Jatropha curcas* não foi necessário nem tipo de procedimento de quebra de dormência, essas foram apenas higienizadas com hipoclorito de sódio a 5% por um período de 3 minutos visando à diminuição de microrganismos patogênicos no ambiente onde foram coletadas, minimizando desta forma, a probabilidade de infecções por patógenos.

3.1.3 Preparo do Solo, Montagem e Condução do Experimento

O solo para montagem do experimento foi seco ao ar, peneirado, homogeneizado e colocado em bandejas com capacidade para 8 kg. O solo foi umedecido com 100% de sua capacidade máxima de retenção de água (CMRA) após drenagem livre, para posterior aplicação do tratamento almejado, segundo metodologia descrita por Souza et al. (2000). Foi utilizado para este experimento 50% da CMRA, adotando por base os trabalhos de Rezende (2006) e Silva (2006), que também utilizaram 50% da CMRA, tomando por base os trabalhos de Muratova et al. (2003) e Li et al. (1997) que utilizaram 40% e 70% de CMRA, respectivamente. Para a quantidade de óleo diesel por kg de solo, esta também foi determinada com base no trabalho de Rezende (2006) e Silva (2006), que após umedecer o solo com 50% da CMRA, obteve como resultado 92,4 mL de óleo diesel por kg de solo, sendo essa a capacidade máxima de retenção de óleo diesel no solo. Para o experimento de germinação tomando como base os períodos de

contaminação (30, 90 e 180 dias e 210, 120 e 60 dias após contaminação do solo com óleo diesel) utilizados pelos autores supracitados foi determinado que fosse adicionado metade do valor encontrado (92,4 mL), ou seja, para cada 1 kg de solo foi adicionado 46,2 mL de óleo diesel. Em seguida, as bandejas foram cobertas com plástico para manter o ambiente úmido até o momento da sementeira.

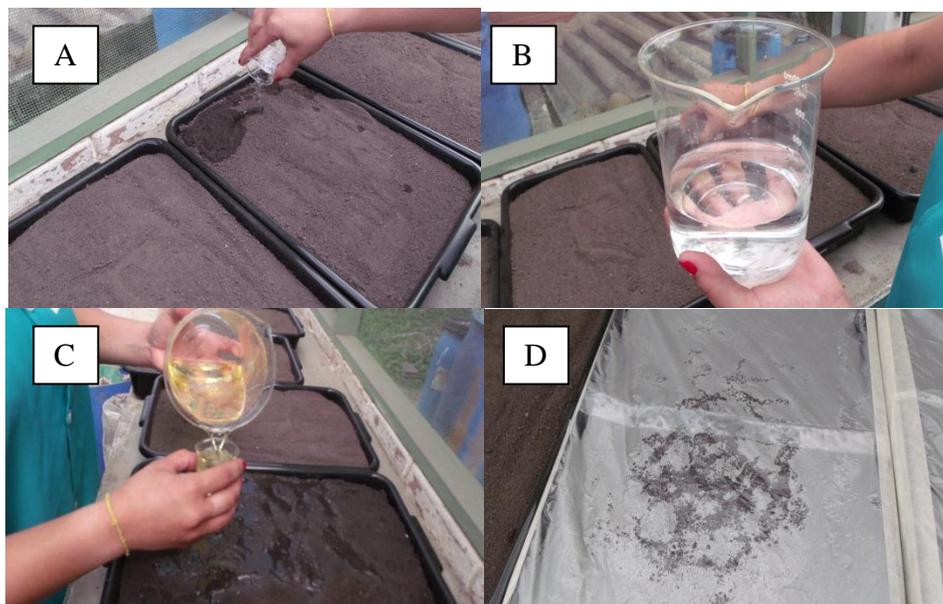


Figura 2: Preparo do solo para montagem do experimento de germinação. (A) solo seco, (B) solo sendo umedecido com 50% CMRA, (C) solo sendo umedecido com óleo diesel e (D) solo coberto com plástico para manter o solo úmido até momento da sementeira.

Antes da contaminação com o óleo diesel amostras de solo foram coletadas e submetidas a análises químicas e físicas (**Tabela 2**). A análise foi realizada pela Empresa de Análises e Controle de Qualidade LTDA (Laboratório de Análises Agropecuárias – AGROLAB), localizada em Recife-PE. O delineamento experimental foi composto por 2 espécies (*H. courbaril* e *J. curcas*), 3 tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos diferiram pelo tempo de contaminação, ou seja, tratamento controle (T0) - solo sem contaminação (SSC), 30 (T30) e 60 (T60) dias antes do plantio. A sementeira das sementes foi feita em julho de 2012 para todos os tratamentos ao mesmo tempo. Para cada repetição (bandeja) foram plantadas 28 sementes de *H. courbaril* totalizando um $n = 84$ sementes por tratamento e para as sementes de *J. curcas* foram plantadas 32 sementes por bandeja, totalizando um $n = 96$ sementes por tratamento. O experimento foi

analisado de acordo com um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), em esquema fatorial 2x3.

Tabela 2. Características físicas e químicas do solo antes da contaminação com óleo diesel. O solo foi coletado em uma profundidade de 0-20 cm da Estação Experimental de Cana-de Açúcar - EECAC fazer Carpina / UFRPE localizados na cidade Carpina, Zona da Mata Norte de Pernambuco, Brasil.

Análises	Profundidade do solo 0-20 cm
Química	
Condutividade elétrica	0.83 dS m ⁻¹
pH	4.0
Ca ²⁺	0.81 cmolc kg ⁻¹
Mg ²⁺	0.41 cmolc kg ⁻¹
Na ⁺	0.32 cmolc kg ⁻¹
N	1.80 g kg ⁻¹
P	41 mg kg ⁻¹
K ⁺	0.06 cmolc kg ⁻¹
Al ³⁺	3.10 cmolc kg ⁻¹
Matéria Orgânica	38.27 g kg ⁻¹
Física	
Porosidade Total	45%
Densidade Aparente	1.42 g cm ³
Densidade Real	2.58 g cm ³
Areia	69.1%
Silte	10.4%
Argila	20.5%
Classificação Textural	Franco-Argilo-Arenoso
Curva de Retenção da Umidade	
Umidade em 1.5 MPa	14%
Umidade em 0.03 MPa	18.9%
Água útil	4.9%

3.1.4 Análise da Germinação (%G, IVG e TMG)

As bandejas foram regadas diariamente com a finalidade de manter os 50% da CMRAS. Após a sementeira, a avaliação da germinação foi feita diariamente durante 30 dias consecutivos. A germinação foi avaliada mediante contagem diária do número de plântulas emergidas, usando-se como critério botânico o surgimento do epicótilo na superfície da bandeja. Depois de 30 dias da sementeira foram feitas as seleções de 60 plântulas (30 plântulas de *H. courbaril* e 30 plântulas de *J. curcas*), nessa mesma data avaliaram-se a porcentagem de germinação (número de sementes emergidas em relação ao número das sementes) e o índice de velocidade de emergência (IVE), conforme Vieira e Carvalho (1994): em que, E1, E2, ... En são os números de plântulas emergidas, computadas na primeira, segunda e última contagem e N1, N2, ... Nn são os números de dias da sementeira à primeira, segunda e última contagem, respectivamente.

$$IVE = \frac{E1}{N1} + \frac{E2}{N2} = \dots \frac{En}{Nn}$$

O Tempo médio de germinação foi obtido através de contagens diárias das sementes germinadas até o trigésimo dia após a sementeira e calculado através da fórmula abaixo, proposta por Labouriau (1983), sendo os resultados expressos em dias.

$$TMG = \sum (ni * ti) / \sum ni, \text{ em que:}$$

TMG = tempo médio de germinação (dias),

ni = número de sementes germinadas no intervalo entre cada contagem;

ti = tempo decorrido entre o início da germinação e a décima

contagem.

Diariamente, foram tomadas medidas da temperatura do ar (Tar °C) e umidade relativa do ar (UR%) no interior da casa de vegetação com o auxílio de um datalogger da marca ONSET.

3.1.5 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey com nível de probabilidade a 5% com o auxílio do software Assistat versão 7.5 beta (2008).

3.2 Experimento II: Caracterização Fisiológica e Bioquímica no desenvolvimento inicial de plantas jovens de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) e pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas à déficit hídrico e contaminação com óleo diesel

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação do Laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Para o desenvolvimento deste experimento foram utilizadas as mesmas espécies (*H. courbaril* e *J. curcas*) e o mesmo solo para montagem do experimento de germinação. Foram selecionadas as plântulas mais uniformes do tratamento controle (T0) do experimento de germinação. As mudas de *H. courbaril* e *J. curcas* tinham 2 meses de idade e foram selecionadas quanto à sanidade e altura, com aproximadamente 22 cm e 17 cm, respectivamente.

As plantas foram transferidas para vaso de polietileno, uma planta por vaso, com capacidade para 3 kg de solo. Durante o período de aclimação de 60 dias, os vasos foram mantidos na capacidade de pote (100%) determinada previamente pelo método gravimétrico, segundo metodologia descrita por Souza et al. (2000). O solo para montagem do experimento foi o mesmo utilizado para o experimento de germinação. Também se tomou como base os trabalhos de Rezende (2006) e Silva (2006), tanto para percentual de água retida (50% CMRA) como quantidade de óleo por kg de solo (46,2 mL).

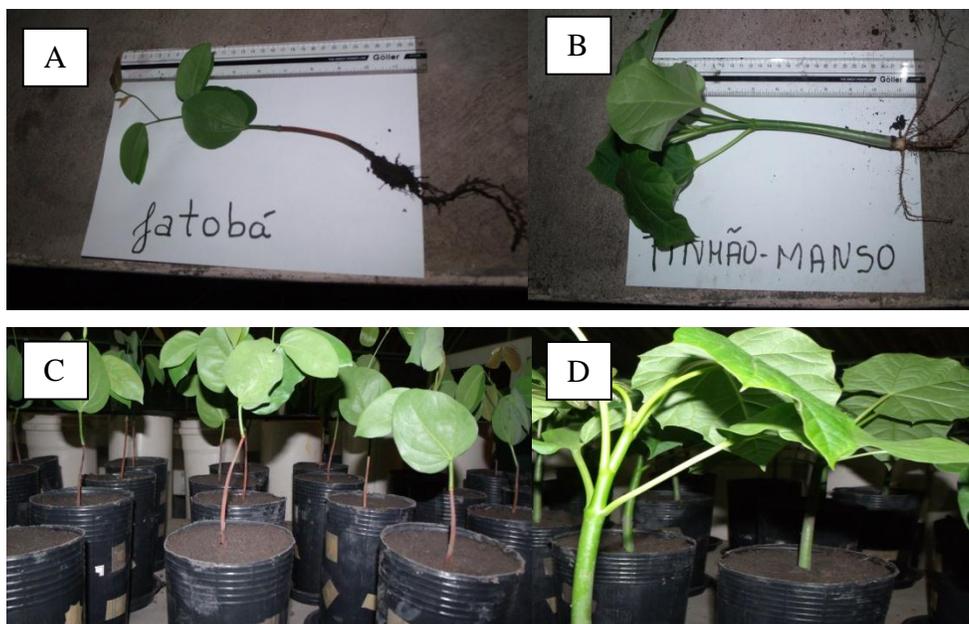


Figura 3: Transplântio de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) e pinhão-mansô (*Jatropha curcas* L.). Em A e B, avaliações biométricas das mudas; e em D, replântio das mudas em local determinado.

Após esse período foram realizadas as diferenciações dos tratamentos. O delineamento experimental utilizado foi em esquema fatorial, constituído de 2 espécies (*H. courbaril* e *J. curcas*), 3 tratamentos T0 – controle (100% da capacidade máxima de retenção de água no solo – solo isento de contaminação), T1 (50% da capacidade máxima de retenção de água no solo + adição de 23 mL de diesel por kg de solo) e T2 (50% da capacidade máxima de retenção de água no solo + 46,2 mL de diesel por kg de solo) e 2 épocas de avaliação (3 e 192h após contaminação do solo) com 5 repetições, totalizando 60 unidades experimentais.

A superfície dos vasos foi coberta com circunferências de plástico branco para minimizar a perda de água do solo por evaporação. Foi feita a reposição da água evapotranspirada diariamente através do método da pesagem dos vasos. Para esse procedimento foi utilizada uma balança da marca Filizola com capacidade para 15 kg.

Diariamente, foram tomadas medidas da temperatura do ar (Tar °C) e umidade relativa do ar (UR%) no interior da casa de vegetação com um datalogger da marca ONSET.

3.2.1 Curso Diário das Trocas Gasosas

Antes da diferenciação dos tratamentos foi realizada a avaliação da taxa de fotossíntese líquida realizada a cada 2h (09:00h, 11:00h, 13:00h, 15:00h e 17:00h). Após avaliação do curso diário foi determinado que as avaliações fossem feitas entre 11:00h e 13:00h, horário onde se constatou uma maior abertura estomática (Figura 5), utilizando-se um analisador portátil de CO₂ a infravermelho (IRGA, ADC modelo LCi Pro, Hoddesdon, UK).

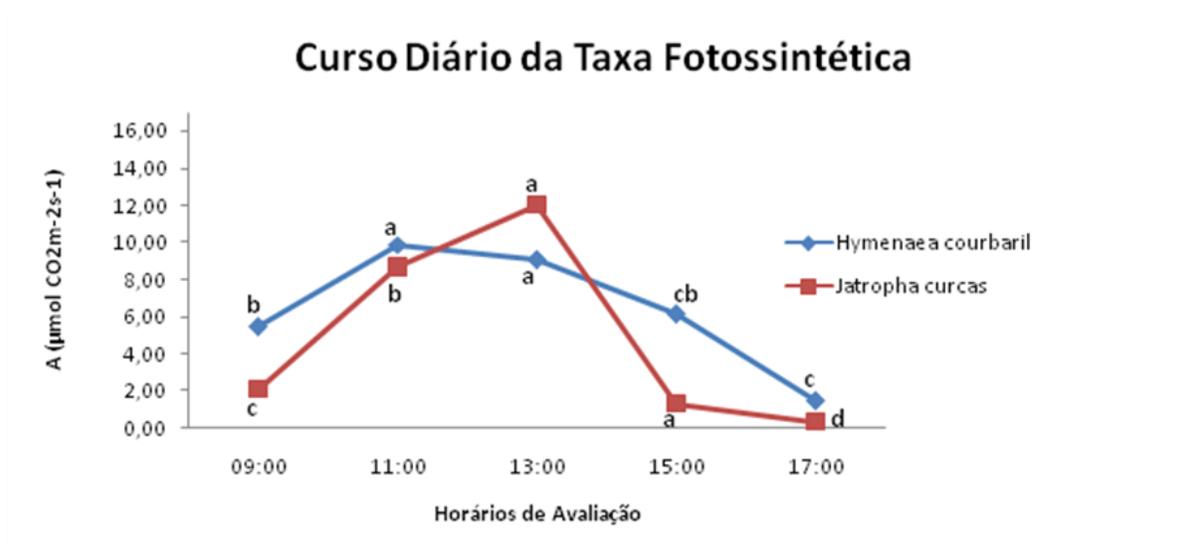


Figura 4. Curso diário da taxa fotossintética de plantas jovens de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) e Pinhão-Manso (*Jatropha curcas* L.) cultivadas em casa de vegetação. Letras minúsculas e iguais comparam as espécies dentro dos tratamentos (horário de avaliação). Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.

3.2.2 Descrição as Variáveis Fisiológica

Todas as variáveis fisiológicas e bioquímicas descritas a seguir foram realizadas às 3h e 192h após contaminação do solo com óleo diesel. As épocas escolhidas obedeceram como critérios o estresse inicial e o tardio, ou seja, quando as plantas ainda não apresentavam e quando apresentavam sintomas visíveis de toxicidade. A diferenciação dos tratamentos foi feita no dia 8 de janeiro às 09:00h da manhã e o final do período experimento foi dia 16 de janeiro.

3.2.3 Trocas Gasosas

As trocas gasosas foram realizadas entre 11:00h e 13:00h, horário previamente determinado com sendo o de maior abertura estomática determinado após realização do curso diário das trocas gasosas (**Figura 4**). Foram avaliadas a fotossíntese (A), transpiração (E) e a condutância estomática (gs) em folhas maduras e completamente expandidas, localizadas no terço médio superior das plantas, utilizando-se o medidor portátil de CO₂ a infravermelho descrito anteriormente. Simultaneamente foram registrados no interior da casa de vegetação os valores de temperatura do ar (Tar) e umidade relativa do ar (UR), registrados por um termohigrômetro digital da marca Incoterm (modelo 7429).

3.2.4 Medidor Portátil de Clorofila (MPC) – SPAD

O índice de clorofila das folhas foi estimado meia hora antes da realização das trocas gasosas entre 11:30 e 12:00 horas, com o Medidor Portátil de Clorofila, modelo SPAD-502 “Soil Plant Analyser Development” (Minolta, Japão). Foram realizadas dez leituras nas mesmas partes das folhas utilizadas na avaliação das trocas gasosas.

3.2.5 Potencial Hídrico Foliar

As folhas para determinação do potencial hídrico foliar (Ψ_{wf}) foram coletadas após realização das trocas gasosas entre 12:00h e 13:00h. As mesmas folhas utilizadas para a realização das medidas com o IRGA foram destacadas, envolvidas em filme plástico e armazenadas em recipiente refrigerado para a determinação do potencial hídrico foliar (Ψ_{wf}), utilizando-se a câmara de pressão de Scholander, segundo metodologia descrita por Scholander et al., (1965).

3.2.6 Teor Relativo de Água

O Teor Relativo de Água (TRA) foi determinado em folhas laterais às folhas usadas para as avaliações das trocas gasosas e do potencial hídrico. Foram retirados seis discos do limbo

foliar sem a nervura central, com diâmetro de 1,0 cm. Os discos foram imediatamente pesados para obtenção do peso da matéria fresca (PF). Em seguida, foram acondicionados em placas de Petri, com papel filtro, contendo 5 ml de água deionizada, as quais foram mantidas em geladeira por um período de 24 horas.

Após esse período, o excesso da água foi retirado com papel absorvente e os discos foram novamente pesados para obtenção do peso da matéria túrgida (PT), em seguida estes foram colocados em saco de papel e posteriormente levados à estufa de circulação forçada de ar a 65°C, até atingirem peso constante, obtendo-se assim o peso da matéria seca (PS). De posse desses dados, o TRA foi calculado utilizando-se a fórmula descrita em Cairo (1995) como segue:

$$TRA = \frac{PF - PS}{PT - PS} \times 100$$

3.2.7 Determinação dos Pigmentos Fotossintéticos

Clorofila a, Clorofila b, Clorofila total e Carotenoides

Para determinação das concentrações dos pigmentos fotossintéticos foram utilizadas as mesmas folhas onde foram realizadas as medidas com o IRGA. As folhas coletadas foram postas em sacos plásticos e condicionadas em isopor com gelo. No laboratório, as mesmas foram rapidamente lavadas para remover poeira e outras sujeiras, secas em papel absorvente, em seguida foram separadas e pesados em balança analítica cerca de 100 mg de matéria fresca do limbo foliar. Os limbos foliares separados e pesados foram picotados em pequenos fragmentos e acondicionados em tubos de ensaio, na sequência foram adicionados em cada tubo 10 mL do extrator escolhido (acetona pura). Para evitar reações do material com a luz, os tubos foram previamente envoltos em papel alumínio e permanecerem em local escuro e refrigerado (geladeira).

Após um período de 24 horas quando os fragmentos estavam completamente despigmentados, as amostras foram retiradas da geladeira e conduzidas para realização das leituras em espectrofotômetro nos devidos comprimentos de onda de 662, 645 e 470 nm, para a determinação da clorofila *a*, *b* e carotenóides, respectivamente, de acordo com a metodologia

descrita por Lichtenthaler e Buschmann (2001) e os valores estimados de acordo com as seguintes fórmulas:

$$Cl_a \text{ (mg/l)} = 11,24 \times A_{661.6} - 2,04 \times A_{644.8}$$

$$Cl_b \text{ (mg/l)} = 20,13 \times A_{644.8} - 4,19 \times A_{661.6}$$

$$Cl_{total} \text{ (mg/l)} = 18,1 \times A_{644.8} + 7,1 \times A_{661.6}$$

$$\text{Carotenóides (mg/l)} = (1000 \times A_{470} - 1,90 [Cl_a] - 63,14 [Cl_b])/214$$

3.2.8 Danos na Membrana (vazamento de eletrólitos)

O grau de integridade das membranas foi estimado pela análise de vazamento de eletrólitos (ALVES et al., 2009, com modificações). Foram coletadas dez amostras de folhas localizadas abaixo das folhas onde foram realizadas as avaliações das trocas gasosas, com área de 0,5 cm² (0,5 cm base x 1,0 cm altura) de cada repetição, essas amostras foram colocadas em tubo de ensaio com 10 mL de água destilada e incubada em banho-maria a 25°C por 24h.

Após o período de incubação foi determinada a condutividade elétrica do extrato (C1) com condutivímetro (PHTEK CD 203), expresso em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Em seguida, as mesmas amostras foram colocadas em banho-maria a 100°C por 1h. Após resfriamento até temperatura ambiente foi realizada a leitura da condutividade elétrica do extrato (C2). O percentual de vazamento de eletrólitos, proporcional principalmente aos danos na membrana plasmática, foi estimado pela seguinte fórmula:

$$\%DM: (C1/C2) \times 100$$

3.2.9 Solutos Orgânicos

Carboidratos solúveis totais, Aminoácidos livres, Prolina livre e Proteínas Solúveis

Para a quantificação dos solutos orgânicos, foram coletadas 1 g de matéria fresca do limbo foliar, que foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e posteriormente conservadas em freezer -80 °C. Para o preparo dos extratos, as amostras foram maceradas em

cadinho de porcelana com pistilo, em nitrogênio líquido, até a obtenção de um pó fino onde foi adicionado 4 mL de solução tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0 contendo EDTA a 0,1 mM. O material foi filtrado em um tecido de musselina, colocado em eppendorfs e centrifugado a 15000 rpm por 10 min, em centrífuga marca Minispin. O precipitado foi descartado e o sobrenadante utilizado para as análises dos teores de carboidratos solúveis totais, prolina livre e aminoácidos livres.

Os carboidratos solúveis totais foram determinados pelo método do fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) utilizando-se D-(+)-glucose como padrão, fazendo leitura em espectrofotômetro a 490 nm. A concentração de prolina livre foi determinada pelo método da ninhidrina e ácido fosfórico a 520 nm, segundo a metodologia de Bates (1973), utilizando-se a prolina como padrão. Os aminoácidos livres analisados pelo método da ninhidrina (YEMM; COCKING, 1955), utilizando-se glicina ou leucina como padrão, com as leituras realizadas na faixa de 570 nm. Quanto aos teores de proteína, estes foram quantificados, aplicando-se a metodologia da ligação ao corante *coomassie brilliant blue* (BRADFORD, 1976), utilizando albumina sérica bovina como padrão.

3.2.10 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey com nível de probabilidade a 5% com o auxílio do software Assistat versão 7.5 beta (2008).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento I: Efeito do solo contaminado por óleo diesel na germinação de sementes de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) e pinhão-mansó (*Jatropha curcas* L.).

Os resultados estão apresentados de forma a discutir em primeiro lugar os dados biométricos, porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação e tempo médio de germinação de sementes de Jatobá (*Hymenaea courbaril*) e Pinhão-Mansó (*Jatropha curcas*).

Durante o período experimental foram monitoradas as condições ambientais no interior da casa de vegetação (médias da temperatura e umidade relativa do ar) medidas com um datalogger, aproximadamente 96 medidas ao dia e estas variaram de 27,69°C a 30,39 e de 58% a 78%, respectivamente (Figura 7).

4.1.1. Análises Morfo-biométricas

Na biometria das sementes de *H. courbaril* e *J. curcas*, foi verificado que os comprimentos longitudinal, distal e pesos obtiveram médias de 25,04 mm, 17,50 mm e 4,68 g e 17,46 mm, 10,82mm e 0,671g respectivamente (**Tabela 3**). Estes resultados caracterizam uma alta variabilidade biométrica entre as sementes de ambas as espécies. Essa distinção quanto ao comprimento, largura e peso são muito relevantes, pois refletem a qualidade fisiológica das sementes e sua eficiência germinativa (SARUKHDN, 1984).

Tabela 3. Dados biométricos de sementes de jatobá (*Hymenaea courbaril* L) e pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) com as médias, desvios padrão e amplitude máximos e mínimos dos comprimentos longitudinal, distal e peso.

Sementes de <i>Hymenaea courbaril</i>			
Variáveis	Médias	Desvio Padrão	Amplitude de Variação
Comprimento Longitudinal (mm)	25,04	±1,92	21,10 - 28,90
Comprimento Distal (mm)	17,50	±1,56	14,56 - 21,66
Peso (g)	4,68	±0,67	2,91 - 5,97
Sementes de <i>Jatropha curcas</i>			
Variáveis	Médias	Desvio Padrão	Amplitude de Variação
Comprimento Longitudinal (mm)	17,46	±0,84	15,61 – 19,88
Comprimento Distal (mm)	10,82	±0,48	9,35 – 12,27
Peso (g)	0,67	±0,11	0,355 – 0,849

Segundo Oliveira (2007), o tamanho da semente, em muitas espécies, é indicativo de sua qualidade fisiológica, e as sementes pequenas, dentro de um mesmo grupo, apresentam menor taxa de germinação e vigor do que as medianas e grandes. Essas características biométricas demonstram sua habilidade para desenvolver funções vitais, compreendendo germinação, vigor e longevidade. Assim, sementes com maior peso e tamanho, frequentemente, foram mais bem nutridas durante o seu desenvolvimento, possuindo embriões mais bem formados e com maior quantidade de substâncias de reserva, sendo, conseqüentemente, mais vigorosos (CARVALHO E NAKAGAWA, 2000).

4.1.2. Análise da Germinação

A germinabilidade de sementes de *H. courbaril* e *J. curcas* foram totalmente inibidas pelo solo contaminado com óleo diesel para ambos os tratamentos (T30) e (T60) (**Tabela 4**). Apesar de muitos estudos relatarem que houve redução da germinabilidade (ADAM; DUNCAN, 2002; BAEK et al., 2004; REZENDE, 2006 e INCKOT, 2007), em solo contaminado por petróleo e seus derivados, estes não apresentaram ausência na germinação como ocorreu no presente estudo. Tal fato pode estar atrelado às espécies escolhidas e ao tipo de solo utilizado, pois resultados podem diferir de acordo com a espécie, o tipo de solo a concentração e o tipo de contaminante utilizado (ADAM; DUNCAN, 2002; MERKL et al., 2004). Muitos foram os trabalhos desenvolvidos com sementes pertencentes a diferentes grupos: nativas, exóticas, oleaginosas com potencial de produção de biodiesel, gramíneas e florestais (*Schinus terebinthifolius* – Aroeira-da-praia, *Ricinus communis* - Mamona, *Helianthus annuu* - Girassol, *Glicine max* - Soja, *Acacia holosericea* - Acácia, *Brachiaria brizantha*, *Tibouchina granulosa* - Quaresmeira, *Typha latifolia* – Tabúa, *Sebastiania commersoniana*, dentre outras), que obtiveram êxito no processo germinativo, porém não foi verificado na literatura trabalhos de germinação com contaminação por petróleo e ou seus derivados para as espécies de *Hymenaea courbaril* e *Jatropha curcas*. Desta forma, os resultados aqui observados indicam intolerância germinativa das espécies à contaminação do solo utilizado (solo franco-argilo-areoso) por um período de incubação de 30 e 60 dias.

Tabela 4: Valores médios de percentual de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG) de sementes de *Hymenaea courbaril* e *Jatropha curcas*, submetidas a diferentes épocas após contaminação do solo com óleo diesel

Sementes de <i>Hymenaea courbaril</i>			
Tratamentos	Germinabilidade (%)	IVG (plântula/dia)	TMG (dia)
T0 (SSC)	84,51	17,29	1,407
T30	0	0	0
T60	0	0	0
Sementes de <i>Jatropha curcas</i>			
Tratamentos	Germinabilidade (%)	IVG (plântula/dia)	TMG (dia)
T0 (SSC)	82,29	12,02	3,037
T30	0	0	0
T60	0	0	0

Para as sementes de *Hymenaea courbaril* e *Jatropha curcas* no tratamento controle, como podemos verificar a germinação ocorreu entre o 15º e 4º dia após semeadura (**Figura 8**), respectivamente. Diante da germinabilidade das sementes do tratamento sem aplicação do óleo diesel podemos afirmar que as sementes encontravam-se em perfeitas condições de sanidade e vigor, pois o tratamento sem contaminação apresentou percentual de germinação (%G) de 84,51% e 82,29%, índice de velocidade de germinação (IVG) de 17,29 e 12,02 (plân/dia) e tempo médio de germinação (TMG) de 1,407 e 3,037 (dia) (Tabela 5). Estas médias de %G, IVG e TMG encontrados no presente estudo para as espécies em condições ótimas, corroboram com as médias encontradas por diversos autores (VANZOLINI 2010; BRAGA 2010; DOURADO, 2009; SILVA, 2008; CARPANEZZI; MARQUES, 1981; CRUZ et al., 2001; CARVALHO, 2000), que avaliando o comportamento germinativo das sementes observaram os mesmos valores das variáveis aqui analisadas.

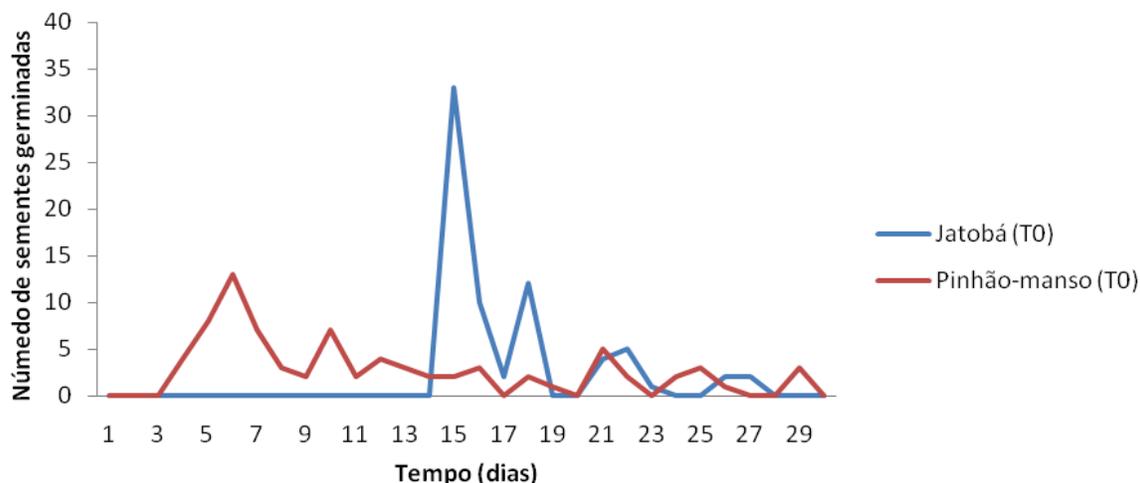


Figura 5: Germinação acumulada de sementes de Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) e Pinhão-Manso (*Jatropha curcas* L.) em solo sem contaminação com óleo diesel.

A literatura reporta que a toxicidade causada por hidrocarbonetos no processo germinativo de sementes foi verificada por diversos autores (BAKER, 1970, ADAM & DUNCAN, 2002, REZENDE, 2006, SILVA, 2006, INCKOT, 2007). A forte inibição causada pelo óleo na germinação pode estar atrelada a morte do embrião em virtude da penetração do óleo na semente, ou pela diminuição da absorção de água e oxigênio devido à impermeabilidade superficial causada pelo óleo em volta da semente (BAKER, 1970).

Segundo Amakiri e Onofeghara (1984) citado por Silva (2006), em sementes de dicotiledôneas, o óleo pode penetrar via micrópila (pequenos orifícios que atravessam a membrana do óvulo para permitir a fecundação ou alimentação) ou através de algum dano causado no tegumento. O revestimento tegumentar das sementes varia muito entre as espécies denotando uma característica de resistência muito importante que confere proteção a diversos tipos de injúrias que podem ocasionar distúrbios as células do embrião não permitindo a germinação.

Segundo Adam e Duncan (2002) a composição do óleo diesel contém componentes voláteis (hidrocarbonetos leves), com capacidade de penetração através do protoplasma das células. As pequenas moléculas de hidrocarbonetos que entram nas plantas acarretam efeitos nocivos, explicando ausência e/ou atraso na germinação dependendo da espécie envolvida.

Em seu estudo com *Schinus terebinthifolius*, Rezende (2006) e *Sebastiania commersoniana*, Silva (2006), observaram que os solos contaminados que ficaram por períodos

de 180 e 90 e 120 e 210 dias, respectivamente, encubados em estufa volatilizaram uma maior quantidade de hidrocarbonetos de baixo peso molecular, esclarecendo o motivo de um maior número de sementes germinadas, %G e IVG mais altos em relação aos tratamentos T30 e T60, respectivamente, que obtiveram um menor percentual de germinação. Uma possível explicação para a germinação das espécies supracitadas pode esta relacionada ao tipo de solo que foi utilizado, solo da Região de Araucaria-PR do tipo gleissolos melânicos, caracterizado por possuir textura argilosa, sendo encontrado em relevo plano de várzeas. Este tipo de solo possui teor de matéria orgânica relativamente alta e, em consequência, a capacidade de troca de cátions também é alta. Apresentam baixo teor de fósforo natural (REZENDE, 2006; FASOLO et al., 2002).

Como podemos verificar mesmo usando metade da quantidade de óleo diesel utilizada por Rezende (2006) e Silva (2006), os períodos de incubação de 30 e 60 dias não foram suficientes para uma maior volatilização dos hidrocarbonetos do solo. Tal fato pode esta relacionada ao tipo de solo utilizado por estes autores.

Outra possível explicação para ausência da germinação para os tratamentos (T30 e T60) do presente estudo pode esta aliada com a barreira física ocasionada pelo óleo diesel. Os tratamentos T30 e T60, por terem tido um curto espaço de tempo entre a contaminação e a semeadura e sendo o óleo diesel hidrofóbico, pode ter recoberto as sementes, acarretando com isso um obstáculo à entrada de água e oxigênio para o interior da semente (REZENDE, 2006). Sabe-se que para que ocorra a germinação, a semente deve passar pelas fases de embebição e troca de gases (Labouriau, 1983), indicando que a ausência da germinação apresentada pelas espécies nos tratamentos T30 e T60 foram significativamente afetadas pelo tempo de aplicação do contaminante.

4.2 Experimento II: Caracterização Fisiológica e Bioquímica no desenvolvimento inicial de plantas jovens de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) e pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a diferentes dosagens com óleo diesel.

4.2.1 Condições climáticas na ocasião das coletas

Após diferenciação dos tratamentos T0 (controle), T1 (23 mL de diesel por kg/solo) e T2 (46,2 mL por kg/solo) verificou-se que a Tar média no momento da primeira (3h) e segunda coletas (192h) nos horários entre 11:00 e 13:00h foram de: 37,26°C e 39,24 °C variando de 32,62°C a 39,34°C e 36,1°C e 40,7°C, respectivamente. A UR média nas mesmas condições foi de 44% e 40% variando de 38% a 57% e 36% a 48%, respectivamente. Estes valores de elevadas temperaturas e baixa umidade, refletem as condições das altas intensidades luminosas e elevada demanda evaporativa.

4.2.2 Análise das Variáveis Fisiológicas

De maneira geral todos os parâmetros estudados foram afetados significativamente pela contaminação do solo com óleo diesel.

4.2.3 Avaliação das Trocas Gasosas

Fotossíntese (A), Transpiração (E) e Condutância Estomática (gs)

Avaliando conjuntamente as variáveis das trocas gasosas para as plantas de *H. courbaril* e *J. curcas*, a fotossíntese – A, transpiração - E e condutância estomática- gs apresentaram após 3h de imposição do estresse comportamentos similares, ou seja, as primeiras horas após aplicação do óleo diesel promoveu um elevado incremento para essas variáveis nos tratamentos T1 e T2, onde as plantas de *H. courbaril* e *J. curcas* aumentaram suas taxas em: 127% e 169%; 96,24% e 190% e 401,5% e 651,87%, respectivamente, em relação ao tratamento controle (T0). No entanto, apesar das plantas apresentarem tão elevadas taxas de A, E e gs nas primeiras horas após a aplicação do estresse, o fechamento estomático foi inevitável (condutância estomática = 0

mol H₂O.m⁻².s⁻¹) ocorrendo após 192h para os mesmos tratamentos. Os valores obtidos para as espécies de *H. courbaril* e *J. curcas* foram de: 0,1797 e 0,4477; 0,6602 e 0,3495 μmol de CO₂. m⁻¹.s⁻¹ para a fotossíntese, 0,3395 e 0,1764; 0,2016 e 0,2155 mmol de H₂O.m⁻¹.s⁻¹ para transpiração, respectivamente (**Figura 6A e B, 7A e B e 8A e B**).

Um fato que merece destaque são as plantas do tratamento controle (T0) que apresentaram reduções drásticas das trocas gasosas em relação aos demais tratamentos na primeira avaliação. Essas reduções possivelmente estão atrelado as condições climáticas, temperatura e umidade relativa do ar (37,26°C e 44%), respectivamente, no momento das avaliações.

Em condições naturais e agriculturáveis, as plantas estão frequentemente expostas às flutuações climáticas. Alguns fatores dessa natureza, como a temperatura e a umidade do ar podem se tornar estressantes em poucos minutos; enquanto outros como a disponibilidade de água no solo, podem levar dias ou até mesmo semanas para se manifestar ou ainda, fatores tais como, a deficiência nutricional no solo que necessita de meses para ser visualizada (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Uma possível explicação para as elevadas taxas fotossintéticas nas primeiras horas após aplicação do óleo diesel pode esta relacionada com as elevadas concentrações dos hidrocarbonetos presentes em sua composição. Por ser um combustível derivado do petróleo, constituído basicamente por hidrocarbonetos, átomos de carbono, hidrogênio e em baixas concentrações por enxofre, nitrogênio e oxigênio e por seu caráter hidrofóbico, o óleo diesel pode ter tornado as moléculas de água mais disponíveis para as plantas nas primeiras horas, promovendo um obstáculo entre a interface solo/ar. Este fato proporcionou as plantas uma momentânea disponibilidade hídrica, onde era de se esperar que as trocas gasosas não fossem inicialmente afetadas.

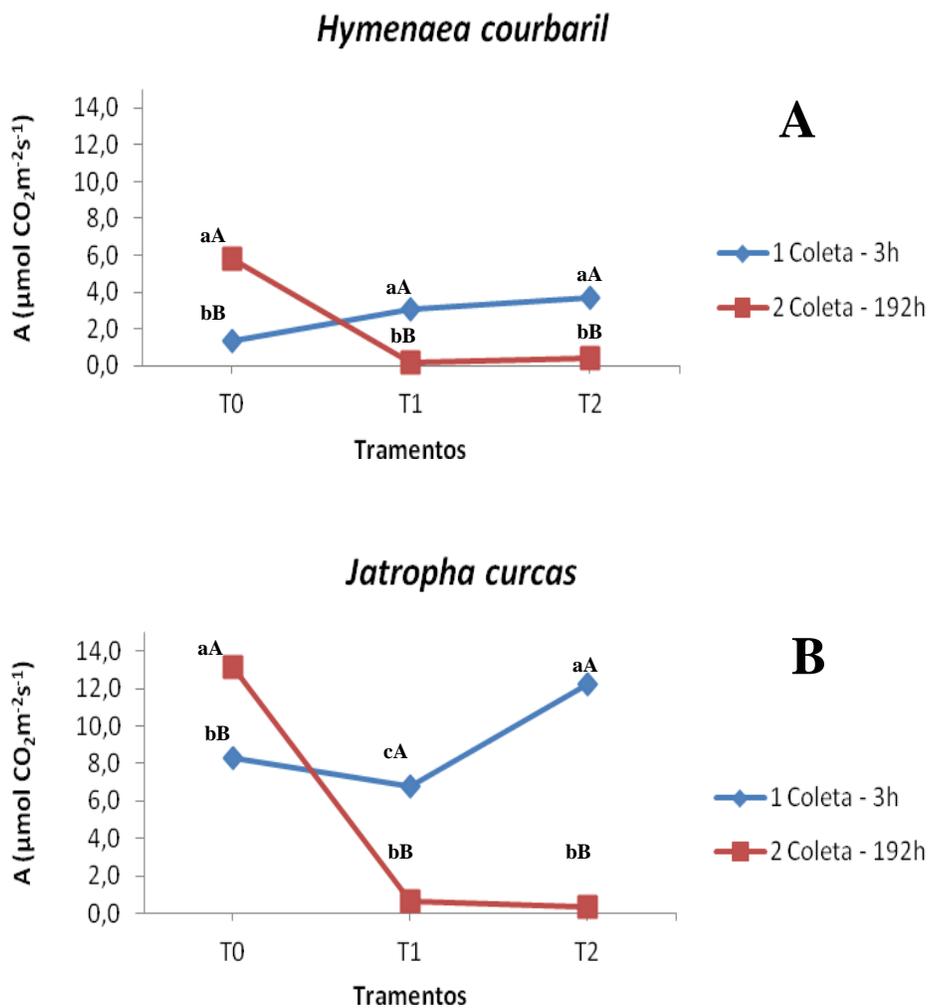


Figura 6: Taxas fotossintéticas em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L. (B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.

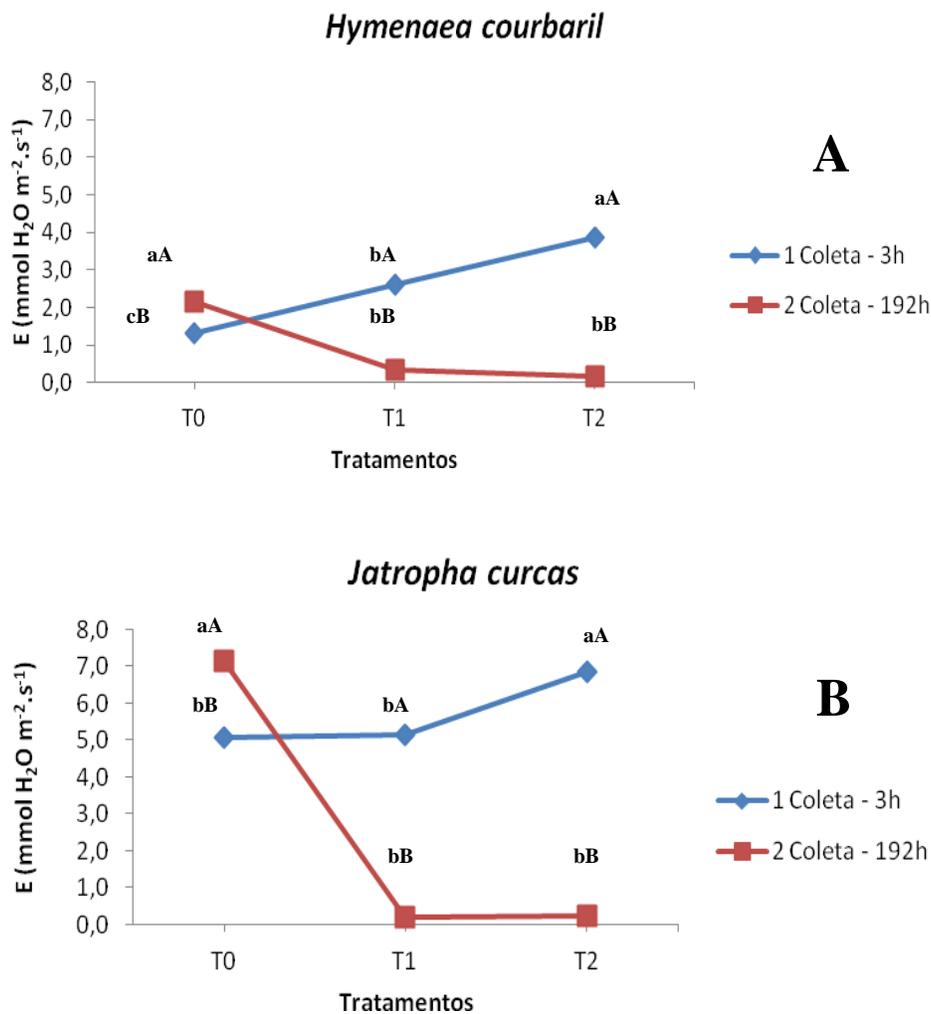


Figura 7: Taxas transpiratórias em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.

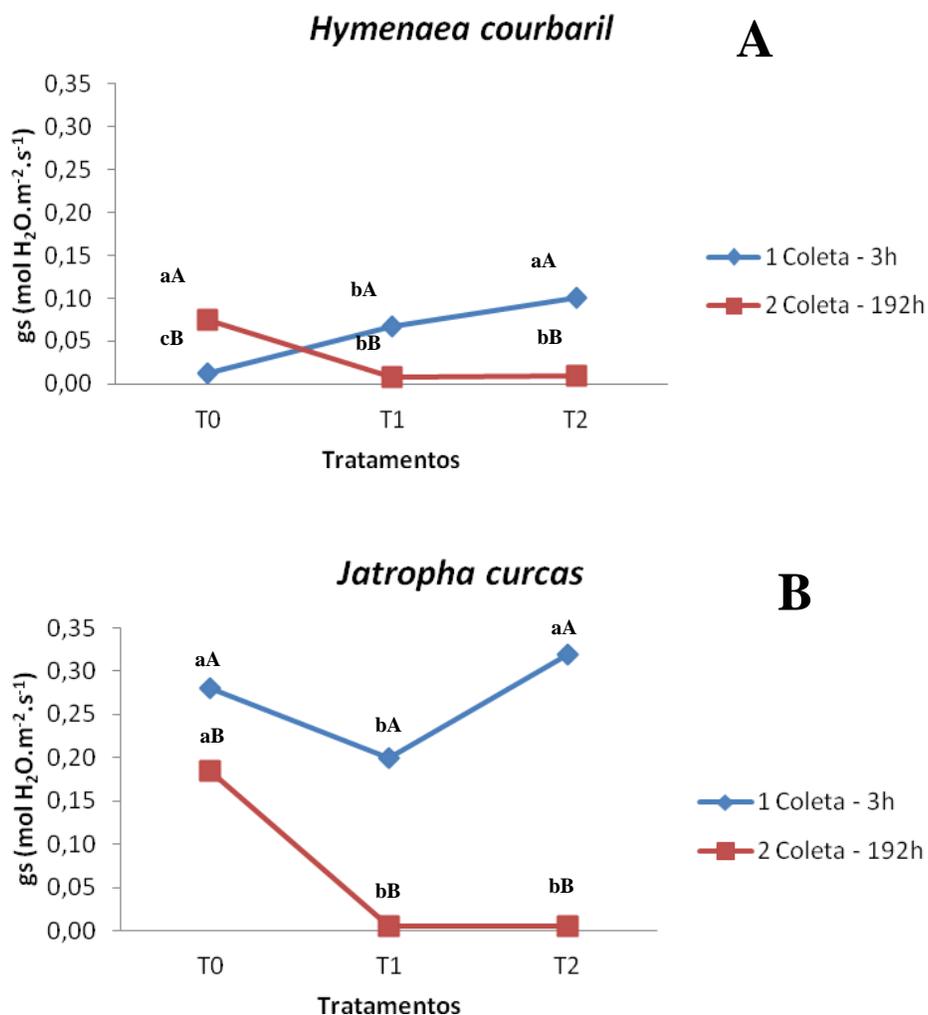


Figura 8: Condutância Estomática em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.

Entretanto, com o prolongamento do estresse, os hidrocarbonetos foram adsorvidos aos pêlos radiculares e a superfície de absorção de água pelas raízes, foi suprimida acarretando, deficiência hídrica, respiratória e nutricional as plantas (BAKER, 1970). Segundo Larcher (2006) quando a disponibilidade de água no solo é menor que a exigida pela planta, todos os processos

metabólicos do vegetal são comprometidos, ocorrendo decréscimo da pressão de turgor e como consequência provocando a murcha das folhas, paralisando a ação mecânica da água para o interior da célula que iria proporcionar a redução do volume celular. Este efeito causado pela baixa disponibilidade hídrica sobre o desenvolvimento dos vegetais vai depender da magnitude e duração do estresse, bem como da capacidade genética das plantas em responderem às mudanças ambientais (SILVA; NOGUEIRA, 2003).

4.2.4 Estimativa de Pigmentos Fotossintéticos

Medidor portátil de clorofila (MPC) – SPAD

De acordo com os resultados obtidos, pode-se observar que após 3h e 192h de aplicação do estresse, foram verificadas diferenças significativas no índice de clorofila (**Figura 9**). Após 3h de exposição ao óleo diesel as plantas de *H. courbaril* no tratamento T1 apresentou a melhor média para o teor de clorofila, 49,03, enquanto nos tratamentos T0 e T2 foram observadas as menores médias, 44,26 e 41,30, respectivamente (**Figura 9A**), uma redução aproximada de 10% e 16% na estimativa do índice de clorofila dessas plantas em relação às plantas do T1. Para plantas de *J. curcas* não foram verificadas diferenças significativas para as primeiras 3h após imposição do estresse (**Figura 9A e B**).

O contrário foi visto após 192h, quando as plantas de *H. courbaril* e *J. curcas* apresentaram aumentos significativos em relação a seus índices de clorofila. Para as plantas de *H. courbaril* foi verificado um aumento na ordem de 22,12% para o tratamento T2 em relação às plantas do tratamento T0 (**Figura 9A**).

Já para plantas de *J. curcas* diferenças significativas foram verificadas para as plantas do tratamento T1 (39,06) e T2 (39,10) em relação ao tratamento controle que obteve a menor média (30,50) (**Figura 9B**).

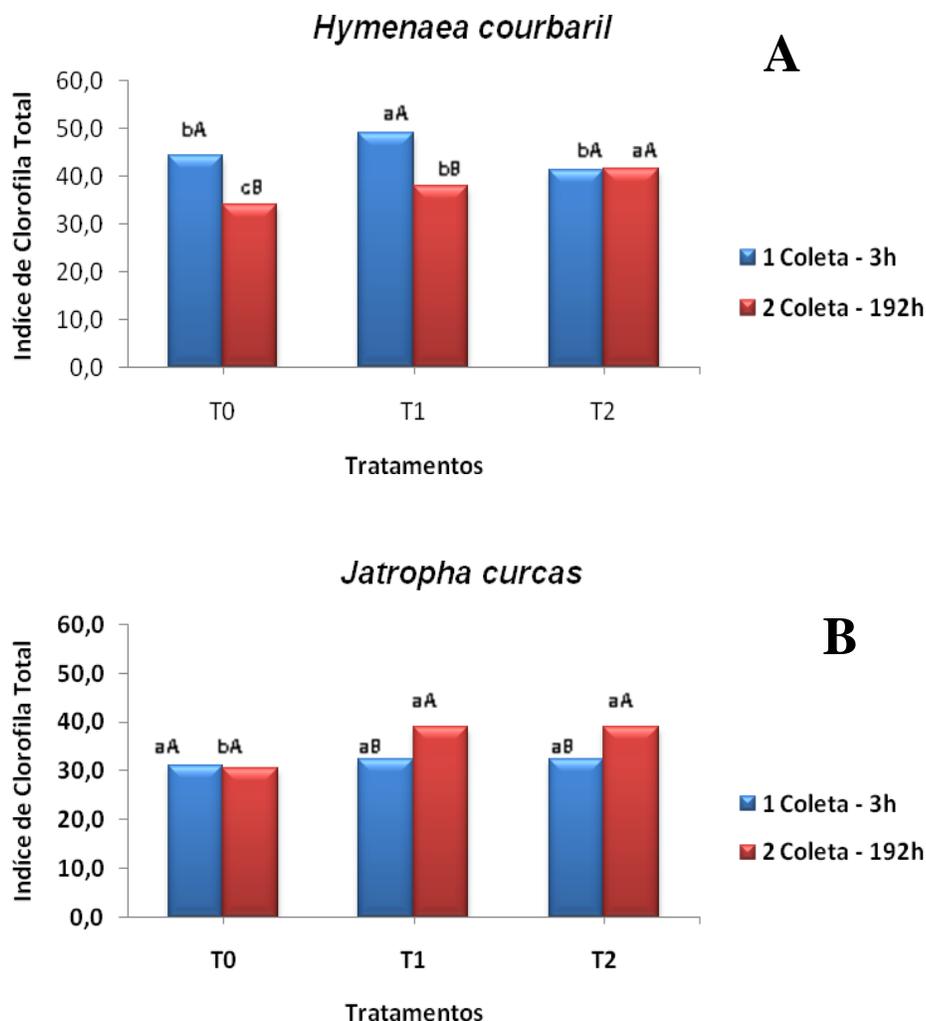


Figura 9: Índice de clorofila SPAD (medidor portátil de clorofila-MPC) em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.

A avaliação do índice de clorofila da folha é uma característica bastante importante para os estudos da fisiologia vegetal, pois pode ser indicadora de senescência foliar (Noodén et al., 1997), teor de nitrogênio nas folhas (Esposti et al. 2011), além de poder ser alterada em resposta aos estresses ambientais (NEUFELD et al., 2006). Técnicas empregadas para avaliação do teor de clorofila demandam destruição das folhas, o que é desvantajoso em pesquisas que buscam determinar o efeito da ontogênese das folhas no grau de coloração verde, além de serem técnicas demoradas e de alto custo (CARVALHO, 2012). Por isso o MPC esta sendo bastante utilizado,

pois fornece leituras que podem ser relacionadas com o teor de clorofila presente na folha sem destruí-las, com medições rápidas e práticas a um baixo custo (SINGH et al., 2010).

Com os resultados obtidos pode-se perceber nas avaliações com MPC, que as plantas não sofreram com deficiência de nitrogênio (N), elas fecharam os estômatos para impedir a saída do vapor de água (transpiração), em virtude da indisponibilidade de absorção da mesma pelas raízes. Por possuir em sua composição nitrogênio, a aplicação do óleo diesel aumentou à concentração deste elemento no solo, sendo este absorvido pela planta. O nitrogênio é um elemento essencial (N), requerido em maior concentração pelas plantas e constituinte de muitos compostos, inclusive proteínas e ácidos nucleicos e que possui uma grande mobilidade dentro da planta, além de fazer parte da composição do anel porfírico das clorofilas, este anel é composto por uma molécula de magnésio (Mg) rodeada por moléculas de nitrogênio (N). Observou-se que à medida que as folhas foram ficando velhas, sintomas como clorose (amarelecimento das folhas velhas) e necrose foram evidenciadas com consequente abscisão foliar, esses sintomas indicam deficiência de nitrogênio (LACERDA, 2002), e como as avaliações eram realizadas sempre nas folhas do terço médio superior não foi constatado declínio no índice de clorofila pelo MPC, devido a esta eficiente mobilidade desse elemento em migrar das folhas velhas para as folhas jovens.

4.2.5 Concentração dos Pigmentos Fotossintéticos

Clorofila a, Clorofila b, Clorofila Total e Carotenóides

Para os teores de clorofila *a*, após 3h de imposição do estresse não foram verificadas diferenças significativas para nenhuma das espécies em nenhum dos tratamentos. De forma contrária, após 192h, observou-se que plantas de *H. courbaril* aumentaram seus teores de clorofila *a* para o tratamento T2 com incrementos na ordem de 150% em relação ao tratamento T0 (**Figura 10A e B**).

Já para a clorofila *b* e clorofila total apenas as plantas de *H. courbaril* após 3h de aplicação do estresse apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Foram verificados incrementos na ordem de 87,93% e 81,91% para o tratamento T2, respectivamente, em comparação aos tratamentos T0. Após 192h foi verificado que plantas de *H. courbaril* e *J. curcas* aumentaram em 111,71% e 122,52% e 54,27% e 26% as concentrações de clorofila *b* e

clorofila total, respectivamente para o tratamento T2 em relação aos tratamentos T0 (**Figura 11A e B e Figura 12A e B**).

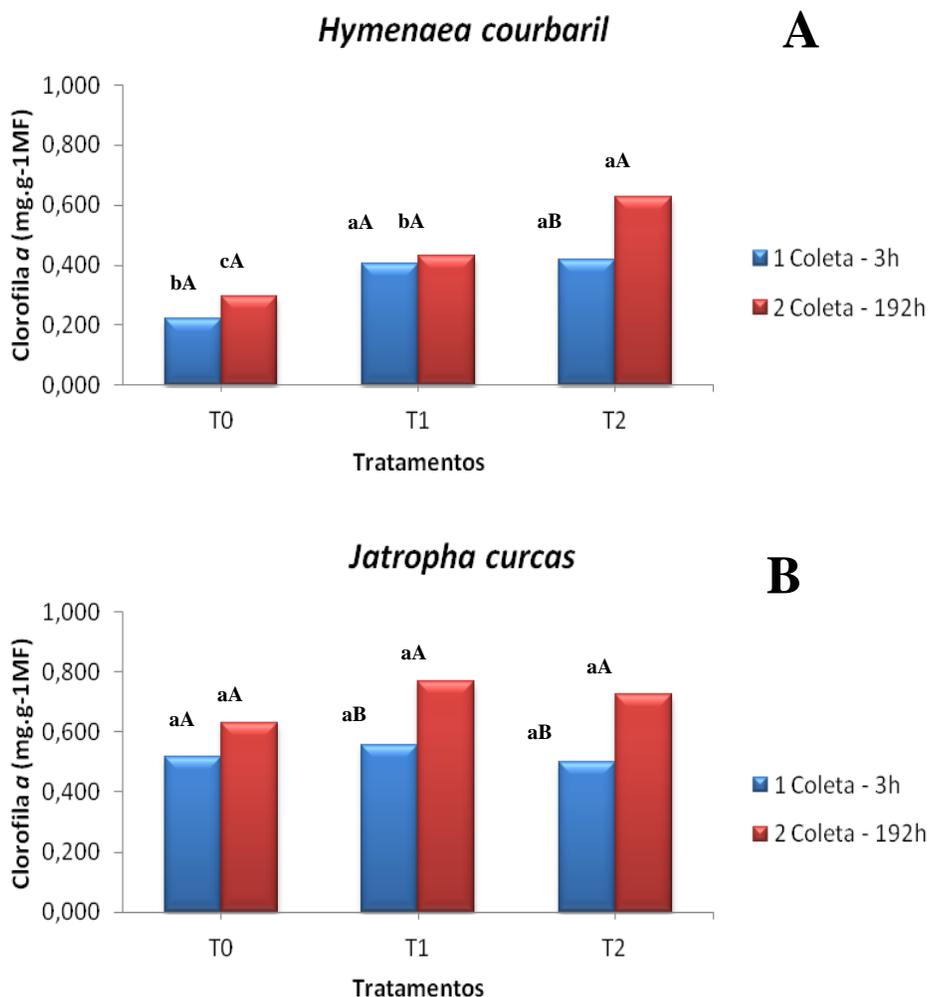


Figura 10: Teores de clorofila *a* em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.

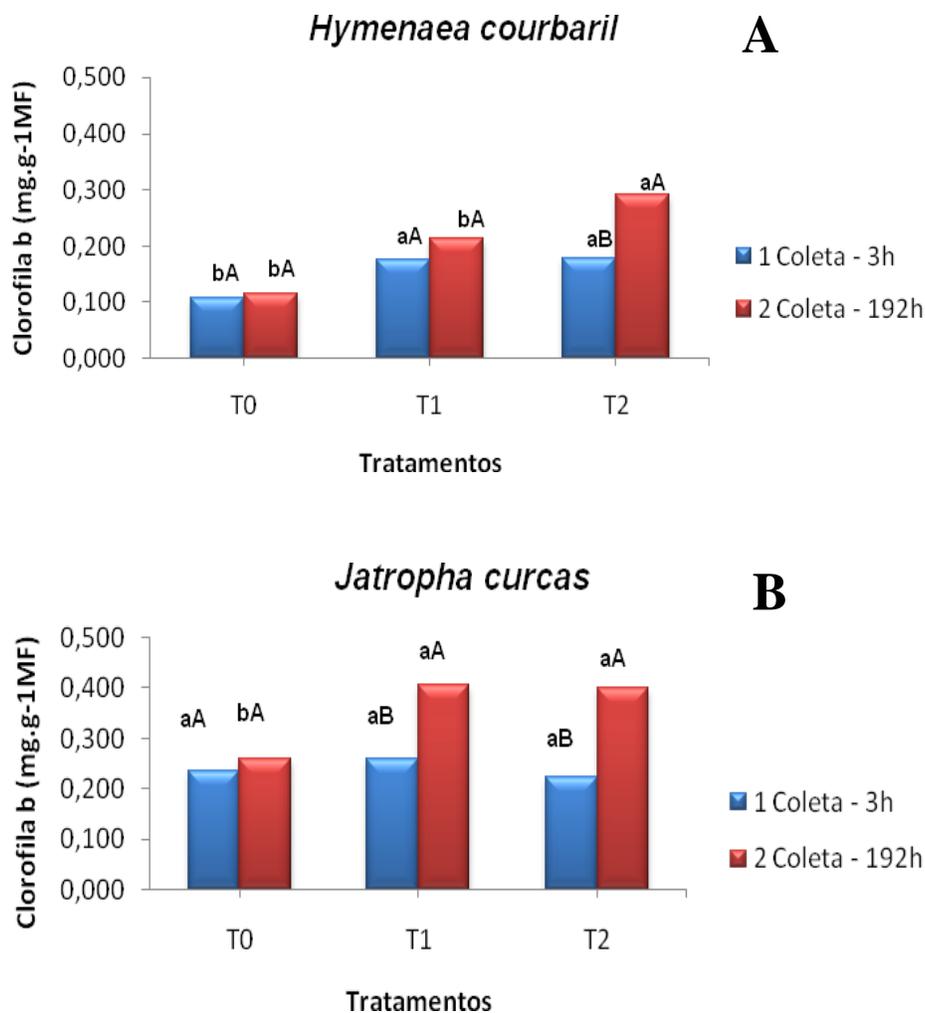


Figura 11: Teores de clorofila *b* em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.

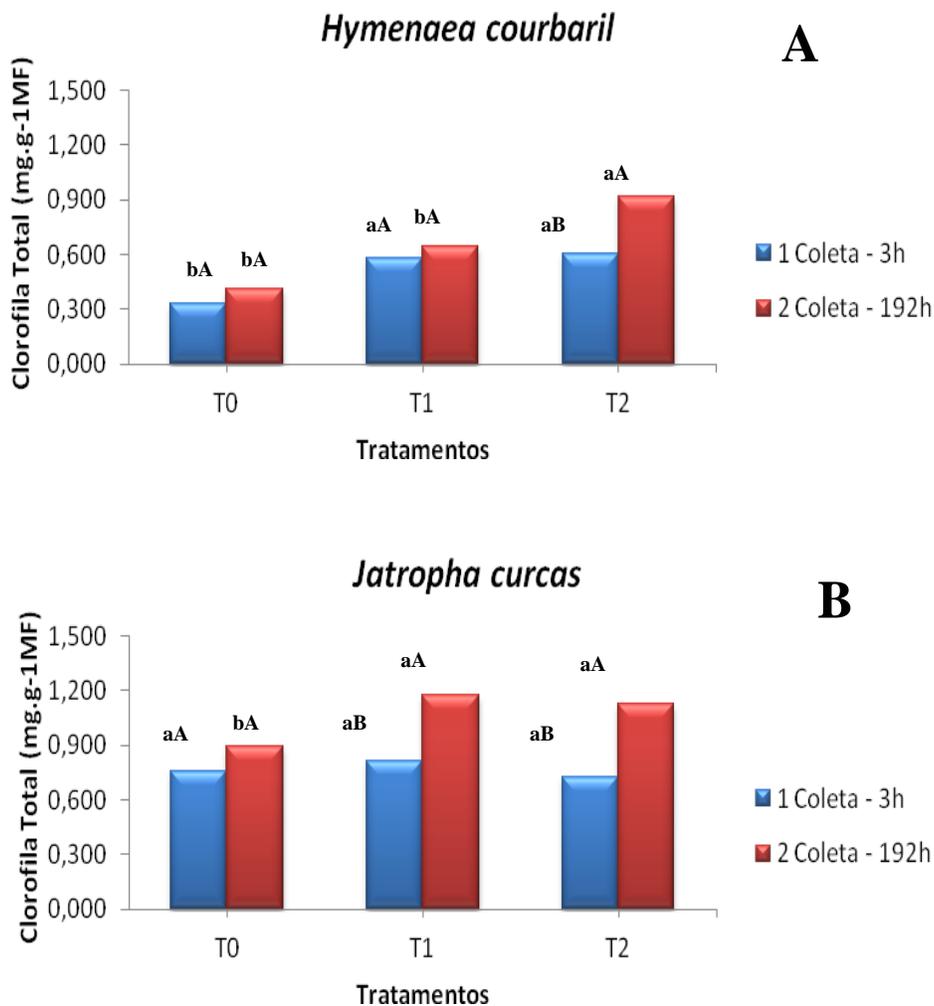


Figura 12: Teores de clorofila total em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.

Para os carotenóides diferenças significativas só foram verificadas para as plantas de *H. courbaril*. Estas diferenças foram observadas às 3h e 192h de imposição ao estresse com incrementos na ordem de 142,20% e 81,64% para o tratamento T2 em comparação ao tratamento T0 (**Figura 13A e B**). Comparando as épocas (3h e 192h) em relação à clorofila *a* (**Figura 10A e B**), clorofila *b* (**Figura 11A e B**), clorofila total (**Figura 12A e B**) e carotenóides (**Figura 13A e B**) dentro dos tratamentos verificou-se diferença significativa para o tratamento T2 em plantas de *H. courbaril* e para os tratamentos T1 e T2 em *J. curcas* que elevaram seus teores de clorofila *a*

em 62,54% e 38,01% e 45,54%, respectivamente, em relação à primeira avaliação. Para a clorofila *b* e clorofila total estas se comportaram de forma semelhante. Foi verificado para o tratamento T2 um incremento na ordem de 49,17% e 53,15 para plantas de *H. courbaril* e de 57,26% e 78,29% e 44,13% e 55,70% para plantas de *J. curcas* para os tratamentos T1 e T2, respectivamente. Com relação aos carotenóides apenas plantas de *H. courbaril* apresentaram diferenças significativamente para as épocas dentro dos tratamentos com percentuais de 97,34%, 55,82% e 48% para os tratamentos T0, T1 e T2, respectivamente.

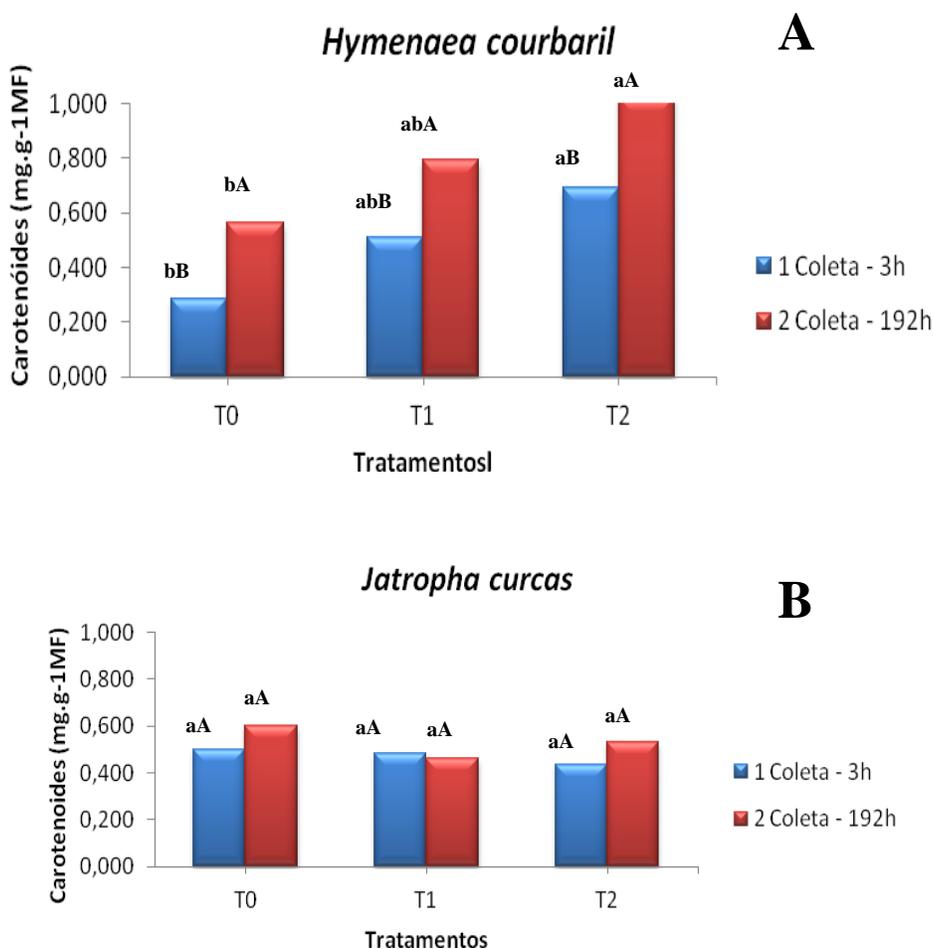


Figura 13: Teores de carotenóides em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L. (B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.

Os resultados demonstram que as plantas não apresentaram degradação dos pigmentos fotossintéticos. Tal comportamento pode ser explicado pelo curto período experimental. O decréscimo na concentração de clorofila em plantas que se desenvolveram em solo contaminado por petróleo e derivados foi relatado por diversos autores (GREEN et al., 1996; MALALLAH et al., 1996). Entretanto, plantas de *H. courbaril* e *J. curcas* apresentaram aumentos em seus teores de clorofila *a*, *b*, total e carotenoides.

Comportamento similar ao obtido na presente pesquisa foi observado por Oliveira (2008), trabalhando com *Schinus terebinthifolius* com solo de uma área onde houve derramamento de aproximadamente 4 milhões de litros de petróleo, dos quais 2 milhões e 700 mil litros penetraram no solo. A autora observou aumento nos teores de clorofilas *a*, *b* e total nas plantas em solo contaminado com petróleo. Resultados semelhantes para o teor de clorofila *a*, *b* e total também foram relatados por Mayer (2004) para *Campomanesia xanthocarpa* e Malallah et al. (1998) para *Launaea mucronata* e *Picris babylonica*, com solo contaminado por petróleo.

4.2.6 Danos Protoplasmáticos – Percentual de Vazamento de Eletrólitos (VE)

Após 3h de exposição ao estresse por óleo diesel as espécies avaliadas não apresentaram diferenças significativas de percentual para vazamentos de eletrólitos em relação ao tratamento T0, apesar das plantas do tratamento T1 para ambas as espécies apresentarem médias mais elevada, estas não foram significativas (**Figura 14A e B**). Com o prolongamento do estresse diferenças estatísticas só foram verificadas para plantas de *J. curcas* que apresentaram aumentos de 90,90% e 54,48% para os tratamentos T1 e T2 em relação ao T0 (**Figura 14B**), respectivamente. Quando comparamos as épocas, percebemos que os tratamentos elevaram seus percentuais de vazamento de eletrólitos com o prolongamento do estresse. Estes percentuais foram na ordem de 111,36% e 149,45%, respectivamente para plantas de *J. curcas*. Um fato curioso que merece destaque é para as plantas de *H. courbaril* que mesmo não diferindo estatisticamente apresentaram valores mais elevados para percentual de vazamento de eletrólitos nas primeiras 3h após aplicação do óleo diesel. Com o aumento da imposição do estresse (192h) esses valores decresceram evidenciando um possível mecanismo de tolerância tardia da planta (**Figura 14A**).

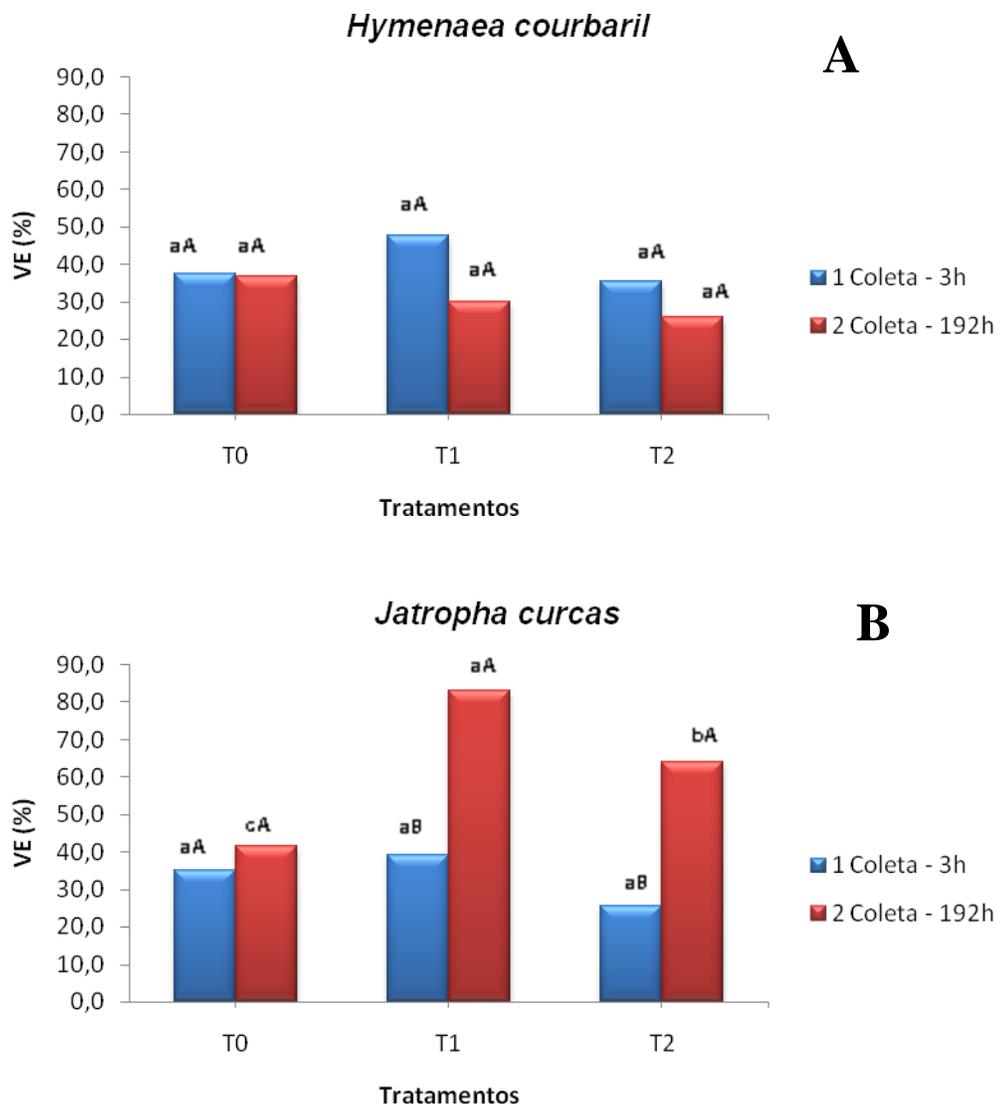


Figura 14: Percentual de vazamento de eletrólitos em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.

O vazamento de eletrólitos está ligado diretamente à morte celular, pois este é desencadeado pela toxicidade iônica que acarreta desestabilização da membrana plasmática e o consequente vazamento de eletrólitos citoplasmáticos (MENGEL e KIRKBY, 2001). Tal fato pode explicar o motivo das plantas de *J. curcas* terem sofrido com sintomas visuais (pontuações enegrecidas e posterior necrose) mais bem mais expressivos que as plantas de *H. courbaril*.

4.2.7 Avaliação das Relações Hídricas

Potencial Hídrico foliar (Ψ_{wf})

De modo geral, observou-se que para o potencial hídrico foliar nas primeiras 3h após imposição do estresse as espécies estudadas reduziram bastante seu potencial hídrico foliar. Para as plantas de *H. courbaril* e *J. curcas* estes valores foram de -2,63 MPa, -2,75 MPa e -2,3 MPa e -1,35 MPa, -2,05 MPa e -2,53MPa para os tratamentos T0, T1 e T2, respectivamente. Com o prolongamento do estresse as espécies conseguiram recuperar o *status* hídrico e aumentaram seu potencial alcançando valores de -1,2 MPa, -1,05 MPa e -1,5MPa e -1,16 MPa e -0,65 MPa, para os tratamentos T0, T1 e T2 para plantas de *H. courbaril* e T1 e T2 para plantas de *J. curcas* (**Figura 15A e B**). Apenas o tratamento controle das plantas de *J. curcas* não conseguiram se recuperar com o prolongamento do estresse, fato comprovado pelos altos valores das trocas gasosas (**Figura 15B**). Se formos comparar em termos percentuais as espécies (*H. courbaril* e *J. curcas*) recuperam em 54,37%, 61,81% e 34% e 43,41% e 74,38%, para os tratamentos T0, T1 e T2 e T1 e T2, respectivamente.

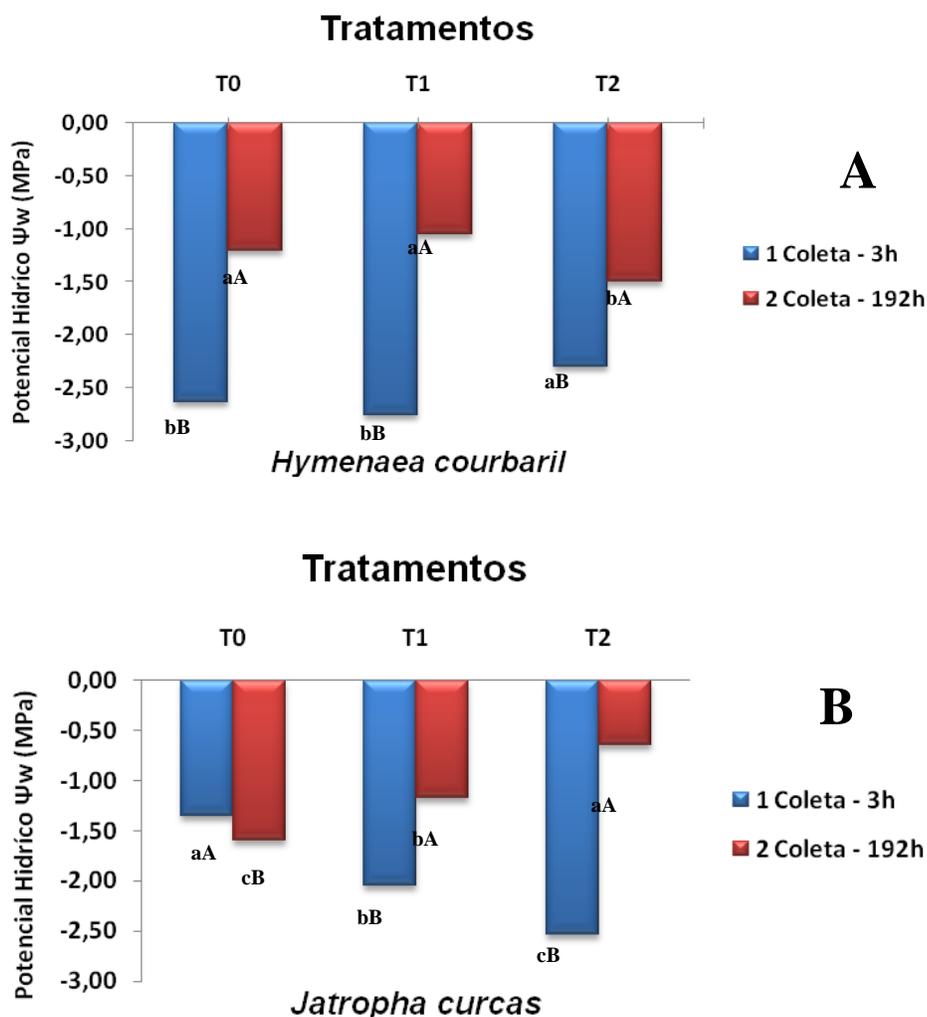


Figura 15: Potencial hídrico foliar em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L. (B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.

Correlacionando os dados de potencial hídrico foliar com os dados das trocas gasosas, pode-se perceber que as plantas submetidas à imposição do estresse obtiveram os menores valores de potencial nas primeiras 3h de imposição do estresse, corroborando com o fato das plantas estarem com os estômatos abertos e transpirando normalmente, como foi constatado pelos elevados valores das trocas gasosas (A, E) nas primeiras 3h de aplicação de óleo diesel no solo (**Figura 6A e B e Figura 7A e B, respectivamente**). Com o prolongamento do estresse

ocorreu fechamento estomático, mecanismo utilizado pelas plantas para minimizar a perda de água na forma de vapor (transpiração), promovendo com isto, o restabelecimento do potencial hídrico das plantas (**Figura 15A e B**). Este mecanismo confere as espécies estudadas eficiente mecanismo de tolerância à baixa disponibilidade hídrica, independente do tipo e do grau de estresse a que esta sendo submetida.

A baixa disponibilidade hídrica causada pela adição de óleo diesel ao solo foi observada por diversos autores (SILVA, 2006; REZENDE, 2006; OLIVEIRA, 2008) que trabalhando como *Sebastiania commersoniana* e *Schinus terebinthifolius*, constataram que o óleo diesel promoveu a impermeabilização da raiz, submetendo a planta a uma condição de estresse hídrico e também uma provável condição de hipóxia. Esses autores analisaram desde a germinação até a análise morfo-anatômica das plantas jovens e comprovaram que o estresse hídrico é o principal fator relacionado às alterações decorrentes da poluição, pelo fato da redução na germinação e baixo crescimento, bem como de pêlos radiculares.

Teor Relativo de Água (TRA)

Com relação ao teor relativo de água, verificou que após 3h de imposição do estresse apenas as plantas de *J. curcas* apresentaram diferenças significativas (**Figura 16B**). Essas diferenças foram observadas para os tratamentos T1 (91,38%) que obteve a melhor média em relação ao T2 (84%) que apresentou a menor média. Após 192h de exposição, reduções foram verificadas para ambas às espécies no tratamento T2 em relação ao tratamento T0, com percentuais de decréscimo na ordem de 10,03% e 9,72% para as plantas de *H. courbaril* e *J. curcas*, respectivamente (**Figura 16A e B**). Confrontando as épocas de avaliação, verificou-se que apenas o tratamento T2 para plantas de *H. courbaril* apresentou diferença significativa com redução entre a primeira e a segunda avaliação de 13,79%. Para as plantas de *J. curcas*, estas apresentaram diferenças significativas com aumento de 7,11% para o T0 e redução de 11,44% para o T1.

Pode-se verificar com os resultados obtidos que após 3h de exposição ao estresse, plantas *H. courbaril* e *J. curcas*, apresentaram para os tratamentos com adição de óleo diesel (T1 e T2), aumento na sua pressão de turgescência, tal fato pode ser explicado pelas elevadas taxas de fotossíntese e transpiração e baixos valores de potencial hídrico. De forma contrária, após 192h,

o conteúdo de água nas folhas foi reduzido para os mesmos tratamentos e as taxas fotossintéticas e transpiracionais cessaram por completo (**Figura 6A e B e Figura 7A e B, respectivamente**) com restabelecimento do potencial hídrico (**Figura 15A e B**). Os resultados verificados na presente pesquisa evidenciam que as plantas buscaram mecanismos fisiológicos de tolerar a situação imposta com baixo e alto potencial hídrico.

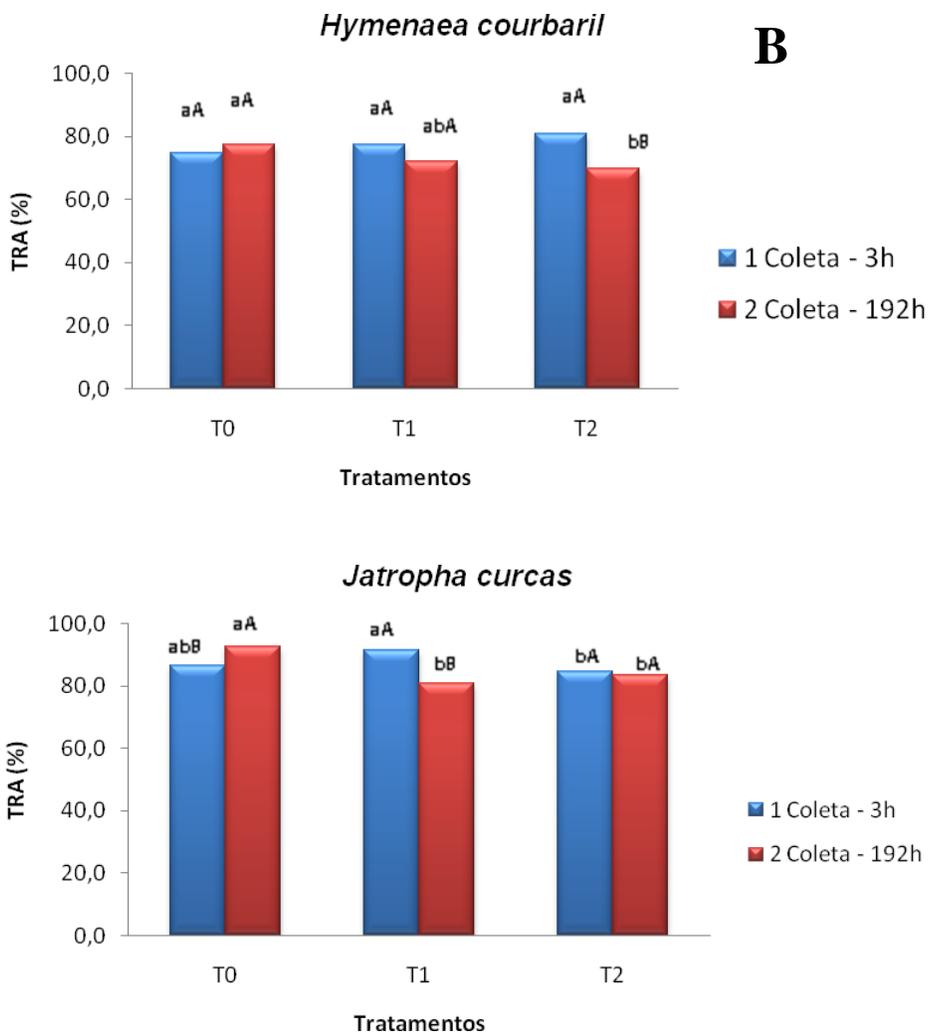


Figura 16: Teor relativo de água em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L. (B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.

Explicando os mecanismos utilizados pelas plantas para os períodos de aplicação do óleo diesel (3h e 192h), estas toleraram com baixo potencial hídrico (3h) utilizando-se de acúmulos de solutos de baixo peso molecular (carboidratos, proteína, prolina e aminoácidos) para captar água do solo. Com o prolongamento do estresse (192h), o óleo aderido às raízes diminuiu a capacidade de absorção de água, criando um ambiente xerofítico. Diante tais circunstâncias as plantas utilizaram-se do mecanismo de fechamento estomático para impedir a saída da água, buscando manter seu *status* hídrico e tolerando com altos potenciais a situação imposta (PIMENTEL, 2004 e NOGUEIRA et al., 2005). Como podemos perceber as variáveis potencial hídrico foliar e teor relativo de água muda muito com as flutuações de umidade do solo e do ar, devendo ser entendida como um indicativo do grau de turgescência celular, enquanto o potencial hídrico dá uma ideia de fluxo energético da água (CAIRO, 1995).

4.2.8 Quantificação dos Solutos Orgânicos

Carboidratos solúveis totais (CHO), Aminoácidos livres (AA), Prolina livre (PROL) e Proteína Solúveis (PRO)

De forma geral, observou-se um aumento considerável nas concentrações de carboidratos, aminoácidos e prolina nas folhas para as duas espécies após 3h de aplicação do diesel, quando comparados com os valores após 192h (**Figura 17A e B**). Avaliando o estresse em curto prazo (3h) diferenças significativas só foram verificadas para plantas de *J. curcas*, entre os tratamentos T1 (67,95 $\mu\text{mol/gMF}$) e T2 (79,15 $\mu\text{mol/gMF}$) que não diferiram estatisticamente do T0 (69,33 $\mu\text{mol/gMF}$) (Figura 19B). Após 192h de exposição ao estresse foram às plantas de *H. courbaril* que apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Como se pode verificar o tratamento T1 obteve a maior concentração de carboidratos e este aumento foi na ordem de 23,% e 40,77% em relação os tratamentos T0 e T2, respectivamente (**Figura 17A**). Avaliando-se as épocas dentro dos tratamentos verificaram-se aumentos das concentrações de carboidratos após 3h e redução após 192h para todos os tratamentos em ambas as espécies. Estes incrementos foram na ordem de 31,80%, 12,99% e 45,98% e 18,18%, 32,40% e 44,92%, para os tratamentos T0, T1 e T2 em plantas de *H. courbaril* e *J. curcas*, respectivamente (**Figura 17A e B**).

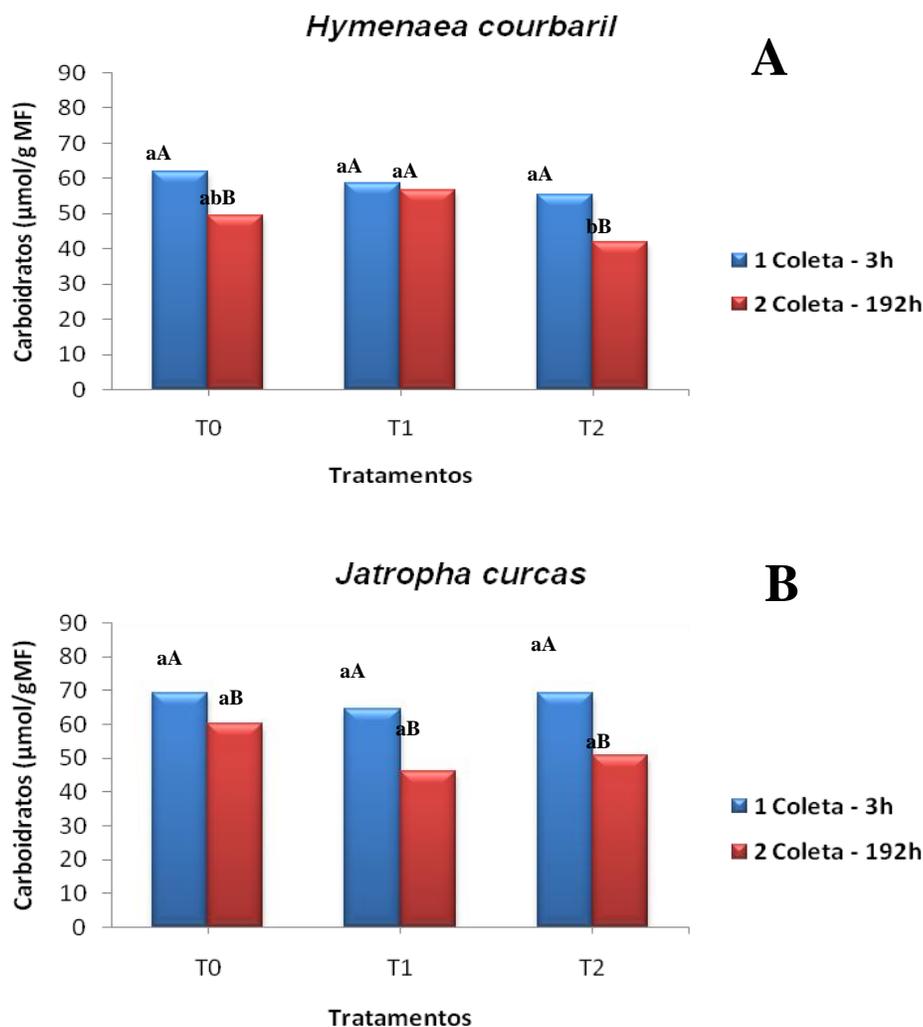


Figura 17: Concentrações de carboidratos solúveis totais em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.

Para os teores de aminoácidos, após 3h de aplicação do diesel pode-se constatar que as espécies (*H. courbaril* e *J. curcas*) apresentaram aumentos consideráveis em suas concentrações para o tratamento T2 em relação ao tratamento T0. Em termos percentuais este incremento foi na ordem de 48,79% e 36,59%, respectivamente (**Figura 18A e B**). Já para a segunda avaliação (192h) diferenças só foram verificadas para plantas de *H. courbaril* entre os mesmos tratamentos com aumentos na ordem de 62,04%, respectivamente (**Figura 18A**). Avaliando as épocas (3 e

192h) dentro dos tratamentos, apenas as plantas de *H. courbaril* apresentaram diferenças significativas. Este comportamento assemelha-se aos encontrados para os carboidratos na mesma espécie para as mesmas condições (Figura 19A). Em termos percentuais estas reduções após 192h de exposição ao estresse foram na ordem de 48,79%, 60,66% e 44,23% para os tratamentos T0, T1 e T2, respectivamente (**Figura 18A**).

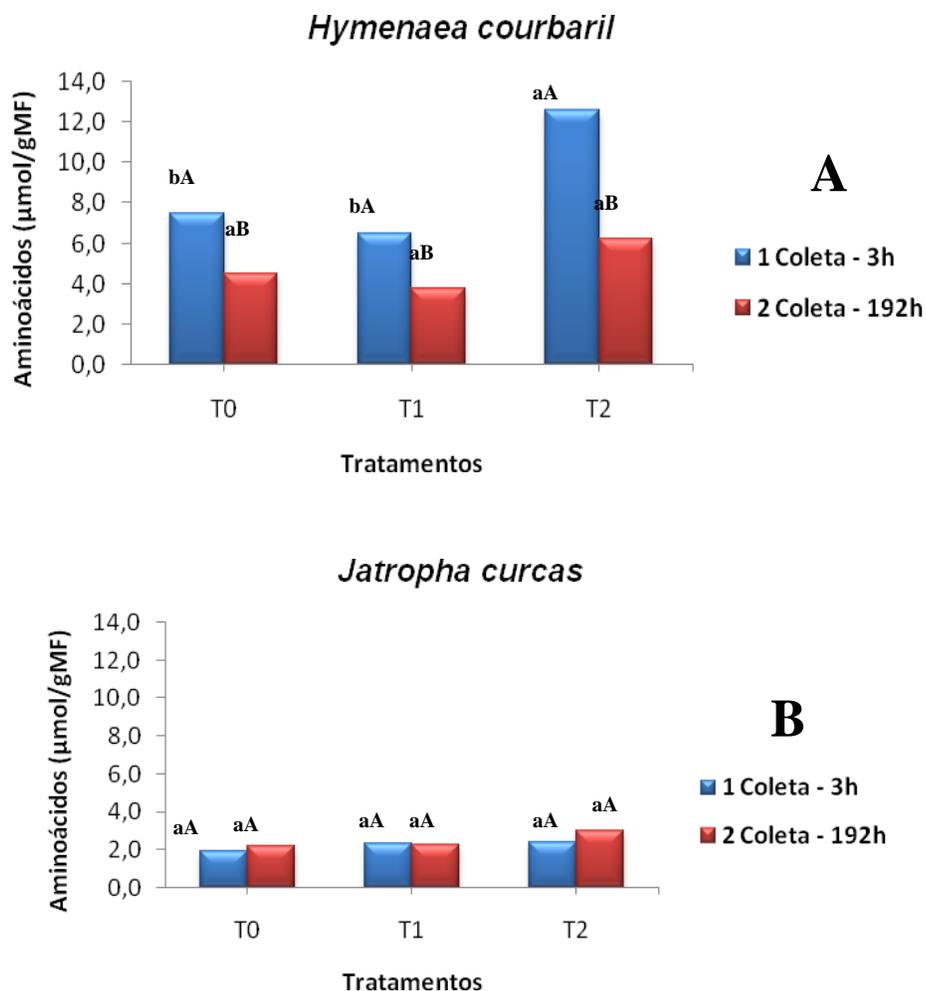


Figura 18: Concentrações de aminoácidos livres em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.

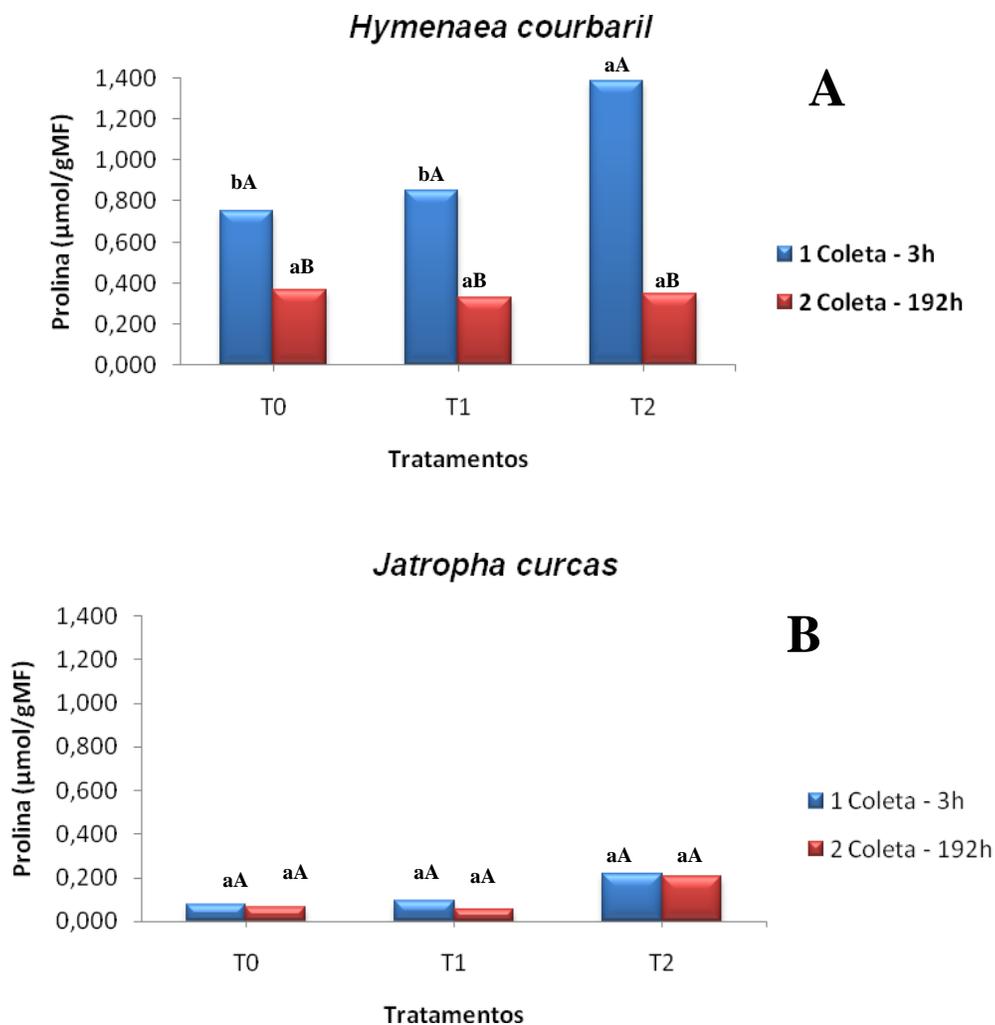


Figura 19: Concentrações de prolina livre em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.

As concentrações de prolina livre também apresentaram aumentos nas primeiras horas após aplicação do estresse com consequentes reduções com o prolongamento do mesmo. Tanto

as plantas de *H. courbaril* como *J. curcas* apresentaram elevados incrementos para os tratamentos com contaminação por óleo diesel após 3h e estas diferenças foram verificadas para o tratamento T2 em relação ao tratamento T0. Estes aumentos foram na ordem de 83,75% e 204%, respectivamente. Comparando-se as épocas dentro dos tratamentos verificou-se que com o prolongamento do estresse as concentrações de prolina foram reduzidas e estas foram na ordem de 70,97%, 73,56% e 78,40% e 40,25%, 57,68% e 40,59% para os tratamentos T0, T1 e T2 para plantas de *H. courbaril* e *J. curcas*, respectivamente (**Figura 19A e B**).

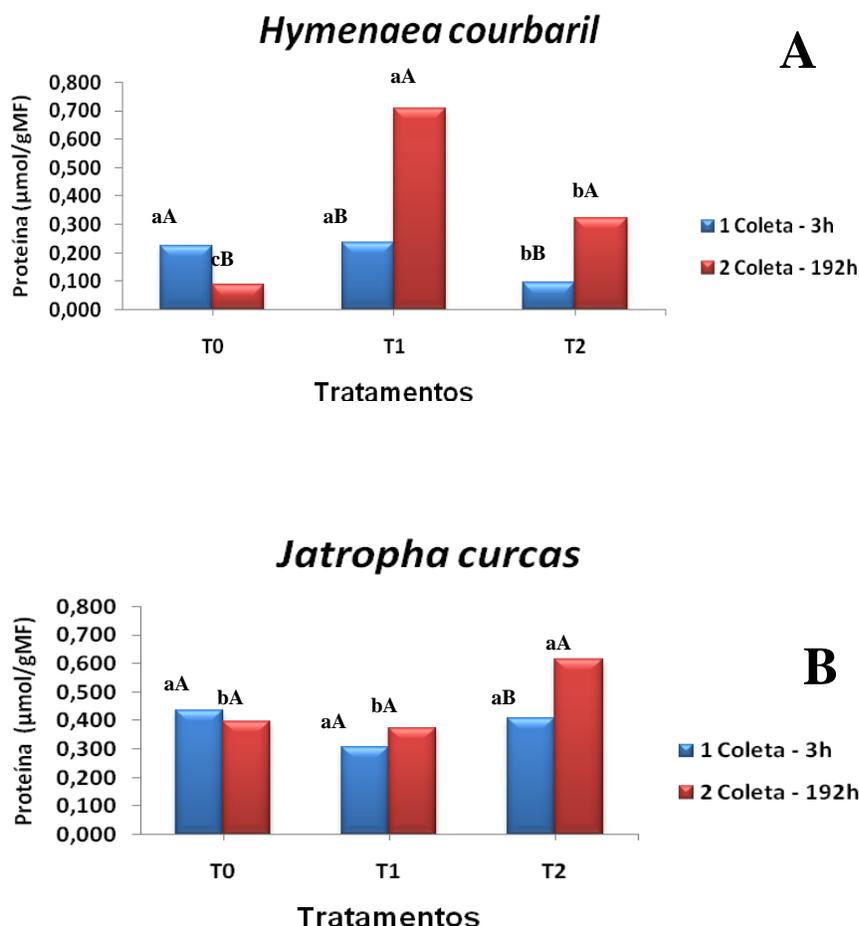


Figura 20: Concentrações de proteína livre em mudas de *Hymenaea courbaril* L. (A) e *Jatropha curcas* L.(B) submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel no solo. Letras minúsculas e iguais comparam os tratamentos e letras maiúsculas e iguais comparam as épocas (3h e 192h) após contaminação com óleo diesel. Medias seguida de mesma letra não diferem entre si, a 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey.

Com relação às proteínas solúveis verificou-se que as plantas de *H. courbaril* e *J. curcas* apresentaram diferenças significativas com a aplicação do contaminante (**Figura 20A e B**). Para as plantas de *H. courbaril* após 3h de imposição do estresse diferença significativa só foram verificadas para o tratamento T2, com decréscimo na de 58% quando comparados aos tratamentos controle e o T1 que obtiveram médias semelhantes (**Figura 20A**). Após 192h, as diferenças tornaram bem mais destacadas. Os Tratamentos T1e T2 apresentaram um elevado acréscimo nas concentrações de proteínas solúveis quando comparados ao tratamento controle (T0). Em termos percentuais, estes incrementos foram na ordem de 87,5% e 75,1%, respectivamente (**Figura 20A**). Pode-se verificar que com o prolongamento do estresse, o tratamento T2 investiu recursos para síntese de proteínas. Quando analisamos as épocas de avaliação (3h e 192h) dentro do mesmo tratamento, verificamos que com a extensão do período de estressante, as plantas dos tratamentos com adição do poluente investiram na síntese de proteínas, evidenciando um possível mecanismo de regulação (**Figura 20A**).

Para as plantas de *J. curcas*, após 3h de imposição ao estresse não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos. Entretanto, após 192h, diferenças só foram apresentadas para o tratamento T2 com incrementos nas concentrações de proteínas na ordem de 35% quando comparado aos tratamentos controle (T0) e o T1 que não diferiram significativamente. Analisando as épocas de avaliação (3h e 192h) dentro do mesmo tratamento, só foi verificada diferença significativa para o tratamento T2, que obteve aumento com o prolongamento do estresse.

Estes resultados sugerem que as espécies estudadas tentaram um mecanismo de regulação se ajustando osmoticamente com aumento dos solutos (carboidratos, aminoácidos e prolina) nas primeiras horas após imposição do estresse, confirmando os elevados valores das trocas gasosas e a redução no potencial hídrico, utilizando-se do mecanismo de tolerância com baixo potencial.

Diversos autores (HOPKINS, 1995; 2001; LARCHER, 2004; PIMENTEL, 2004) relatam ajustamento osmótico em espécies submetidas a baixa disponibilidade hídrica . Essa peculiaridade proporciona um aumento na capacidade de tolerar pequenos períodos de seca, pois viabiliza a absorção de água do solo, por diferença de concentração, conservando as células turgidas e os estômatos abertos para a realização das trocas gasosas mesmo em ambientes com deficiência hídrica (PIMENTEL, 2004; TAIZ e ZEIGER, 2004; LACHER, 2006).

Já a síntese de proteínas (**Figura 20**) fez o inverso, decresceu nas primeiras horas (3h) e aumento com o prolongamento do estresse. Isso pode ser evidenciando pelos pigmentos fotossintéticos, que apresentaram aumentos significativos após 192h de aplicação do estresse. Tal fato pode estar atrelada ao complexo coletor e transportador de elétrons onde iremos encontrar várias proteínas responsáveis pela proteção e transferências de elétrons e moléculas através da maquinaria fotossintética.

5 CONCLUSÕES

O óleo diesel impediu a germinação de sementes de *Hymenaea courbaril* e *Jatropha curcas*. O tempo após a contaminação do solo inviabilizou a germinação para os tratamentos T30 e T60 (solo contaminado 30 e 60 dias após aplicação óleo diesel), demonstrando que estas espécies são suscetíveis à contaminação por óleo diesel pelos períodos empregados;

Hymenaea courbaril e *Jatropha curcas* mostraram mecanismos de tolerância à contaminação por óleo diesel, apresentando alterações significativas em todos os parâmetros correlatos: trocas gasosas, relações hídricas e solutos orgânicos, com elevação das médias após 3h de adição do diesel para os tratamentos (T1 e T2), e posterior declínio com o prolongamento do estresse (192h);

O solo contaminado com óleo diesel aumentou os teores de pigmentos fotossintéticos e o índice de clorofila (MPC) nas plantas dos tratamentos T1 e T2 após 192h de imposição do estresse, tal fato sugere que o aumento da concentração de proteínas solúveis após 192h de aplicação do estresse estejam correlacionados ao aumento nos teores de clorofila *a*, *b*, total e carotenoides;

Plantas de *Hymenaea courbaril* são mais tolerantes, por terem sofrido menos injurias visíveis que plantas de *Jatropha curcas*;

Sugere-se que se utilizem plantas jovens ao invés de sementes em área contaminadas por óleo diesel.

6 REFERÊNCIAS

ADAM, G.; DUNCAN, H.J. Influence of diesel fuel on seed germination. **Environmental Pollution**, v.120, n.2, p.363-370, 2002. Disponível em: <http://eprints.gla.ac.uk/430/1/AdamDuncan2002.pdf>. Acesso em: 10 out. 2015.

ALKIO, M. et al. A. Stress responses to polycyclic aromatic hydrocarbons in *Arabidopsis* include growth inhibition and hypersensitive response-like symptoms. **Journal of Experimental Botany**, v.56, n.421, p.2983-2994, 2005. Disponível em: <http://jxb.oxfordjournals.org/content/56/421/2983.full>. Acesso em 9 set. 2015.

ALMEIDA, S.M.Z. et al. Alterações morfológicas e alocação de biomassa em plantas jovens de espécies florestais sob diferentes condições de sombreamento. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v.35, n.1, p.62-68, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782005000100010>

ALVES, F.A.L. Mecanismos fisiológicos envolvidos com a diminuição de K⁺ em raízes de cajueiro causada por NaCl. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza-CE, v.40, n.4, p. 588-595. 2009. Disponível em: <http://ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/315/386>. Acesso em: 07 jun. 2014.

ALVINO, P.O.; SILVA, M.F.F.; RAYOL, B.P. Potencial de uso das espécies arbóreas de uma floresta secundária, na Zona Bragantina, Pará, Brasil. **Acta amazonica**, Manaus, v.35, n.4, p.413-420. 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672005000400005>

ANDREONI, V. et al. Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils. **Chemosphere**, v.57, n.5, p.401-412, 2004. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Lucia_Cavalca/publication/8381574_Bacterial_communities_and_enzyme_activities_of_PAHs_polluted_soils/links/0f317530de1e227a07000000.pdf. Acesso em: 12 jun. 2014.

ANSELMO, L.F.A.; JONES, C.M. Fitorremediação de solos contaminados – O estado da arte. In: ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 25., 2005, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: ENEGEP, 2005. p.5273-5280..

ARRUDA, F.P. et al. Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curca* L.) como alternativo para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v.8, n.1, p.789-799, 2004. Disponível em: <http://www.almanaquedocampo.com.br/imagens/files/cultivo%20Pinh%C3%A3o%20manso%20publica%C3%A7%C3%A3o.pdf>. Acesso em: 09 de set. 2013.

AUGUSTUS, G.D.P. S.; JAYABALA, N.M.; SEILERB, G. J. Evaluation and bioinduction of energy components of *Jatropha curcas*. **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v.23, n.3, p.161-164, 2002. Disponível em: <https://www.deepdyve.com/lp/elsevier/evaluation-and-bioinduction-of-energy-components-of-jatropha-curcas-TYew8y5ZqX>. Acesso em: 15 abr. 2014.

ÁVILA, S. Métodos para desintoxicação de tortas de oleaginosas. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 1, 2006, Brasília. **Anais...** Brasília: MCT/ABIPTI, 2006. p.34-37.

AZEVEDO, J.A.H.; ARAÚJO, R.S.; SILVA, G.M.M. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos Atmosféricos de Fontes Automotivas: Uma Breve Revisão. **Holos**, Natal-RN, v.1, p.102-114, 2013. Disponível em: <http://www2.ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/viewFile/1234/643>. Acesso em: 18 ago. 2015.

BAEK, K.H. et al. Effects of crude oil, oil components and bioremediation on plant growth. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v.39, n.9, p.2465-2476, 2004. Disponível em: <http://www.envismadrasuniv.org/pdf/Effects%20of%20Crude%20Oil.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2014.

BAKER, J.M. The effects of oils on plants. **Environmental Pollution**, Kidlington, v. 1, n. 1, p.27-44, 1970. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0013932770900042>. Acesso em: 13 abr. 2012.

BATES, L.S. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v.39, n.1, p.205-207, 1973. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007/BF00018060#page-1>. Acesso em: 13 abr. 2012.

BEERS, J.R.R.F.; SIZER, I.W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 195, p. 133-140, 1952. Disponível em: <http://www.jbc.org/content/195/1/133.full.pdf>. Acesso em: 13 abr. 2012.

BONTEMPO, M. **Medicina natural**. São Paulo: Nova Cultural, 2000.

BORGES, E.E.L.; RENA, A.B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I.B.; PIÑA – RODRIGUES, F.C.M.; FLIGLIOLIA, M.B. (Eds.). *Sementes florestais tropicais*. Brasília: Abrates, 1993. p.83-136.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, n.1, p.248-254, 1976. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

BRAGA, N.S. **Avaliação Fisiológica de Sementes de Pinhão Manso**. 2010. 57f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <http://cursos.ufrj.br/posgraduacao/ppgf/files/2013/08/Disserta%C3%A7%C3%A3o-PPGF-Nath%C3%A1lia-da-Silva-Braga.pdf>. Acesso em: 29 ago. 2014.

BRASIL. Ministério da Indústria e do Comércio. Secretária de Tecnologia Industrial. **Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais**. Brasília, DF: STI/CIT, 1985. 364 p. (Documentos, 16).

BROOKS, R.R. Phytoremediation by volatilisation. In BROOKS, R.R. **Plants that hyperaccumulate heavy metals**. Wallingford: CAB International, 1998. p.289-380.

CAIRO, P.A.R. Curso básico de relações hídricas de plantas. Vitória da Conquista, 1995.

CARMAN, E.P.; CROSSMAN, T.L.; GATLIFF, E.G. Phytoremediation of No.2 fuel oil contaminated soil. **Journal of Soil Contamination**, v. 7, n. 4, p. 455-466, 1998. <http://dx.doi.org/10.1080/10588339891334410>

CARPANEZZI, A.A.; MARQUES, L.C.T. 1981. Germinação de sementes de jutaí-açu (*Hymenaea courbaril* L.) e de jutaí-mirim (*H. parvifolia* Huber) escarificadas com ácido sulfúrico comercial. **Circular Técnica 19**. EMBRAPA-CPATU, Belém.

CARVALHO FILHO, J.L.S. et al. Produção de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) em diferentes ambientes, recipientes e composições de substratos. **Cerne**, Lavras-MG, v.23, n.1, 2003. p.109-118. Disponível em: http://www.ciflorestas.com.br/arquivos/doc_producao_substratos_12451.pdf. Acesso em: 30 nov. 2013.

CARVALHO, M. A. F.; SILVEIRA, P. M.; SANTOS, A. B. 2012. Utilização do Clorofilômetro para Racionalização da Adubação Nitrogenada nas Culturas do Arroz e do Feijoeiro. **Comunicado técnico**. EMBRAPA – Arroz e Feijão, Goiania.

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

CARVALHO, P.E.R. Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. Brasília: Embrapa Florestas, 1994.

CASTELLEN, M.S. **Avaliação do estado de conservação de populações naturais de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) por meio de análises de estrutura genética e autocorrelação espacial**. 2005. 104f. Tese (Doutorado em Ecologia e Agroecossistemas) - Universidade de São Paulo, 2005. Disponível em: <file:///C:/Users/David/Downloads/MileneCastellen.pdf>. Acesso em: 22 mar. 2013.

COPELAND, L. O.; McDONALD, M.B. Principle of seed science and technology. New York: Macmillan, 1985.

CRUZ, E.D; MARTINS, F.O.; CARVALHO, J.E.U. Biometria de frutos e sementes e germinação de jatobá-curuba (*Hymenaea intermédia* Ducke, Leguminosae Caesalpinoideae). **Revista Brasileira de Botânica**, v.24, n.2, p.161-165, 2001. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-84042001000200005>

CUTTER, E.G. Anatomia vegetal. São Paulo: Roca, 1986.

DAVIS, L.C. et al. Benefits of vegetation for soils with organic contaminants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 21, n. 5, p. 457-491, 2002. <http://dx.doi.org/10.1080/0735-260291044322>

DELAUNE, R. D.; PATRICK, W.H., BURESH R. J. Effect of crude oil on a Louisiana *Spartina alterniflora* Salt March. **Environmental Pollution**, Barking, v.1, n.1, p. 21-31, 1979. [http://dx.doi.org/10.1016/0013-9327\(79\)90050-8](http://dx.doi.org/10.1016/0013-9327(79)90050-8)

DINARDI, A.L. et al. Fitorremediação. In: FÓRUM DE ESTUDOS CONTÁBEIS, 3., 2003, Rio Claro. **Anais...** Rio Claro: Faculdades Integradas Claretianas, 2003. p.132-139.

DOURADO, F.W.N. **Avaliação da qualidade de sementes e plântulas de Pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)**. 2009. 102f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2009. Disponível em: <http://www.uesb.br/mestradoagronomia/banco-de-dissertacoes/2009/franco-william-novaes-dourado.pdf>. Acesso em: 14 fev. 2012.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n.3, p. 350-356, 1956. <http://dx.doi.org/10.1021/ac60111a017>

ERNST, W. Variation in the mineral contents of leaves of trees in miombo woodland in south Central Africa. **The Journal of Ecology**, Oxford, v.61, n.3, p. 801-807, 1975. <http://dx.doi.org/10.2307/2258602>

ESPOSTI, M.D.D. et al. Assessment of nitrogenized nutrition of citrus rootstocks using chlorophyll concentrations in the leaf. **Journal of Plant Nutrition**. v.26, n.6, p. 1287-1299, 2011. <http://dx.doi.org/10.1081/PLN-120020371>

FASOLO, P. J. et al. Levantamento de Reconhecimento dos Solos da Região Sudeste do Estado do Paraná (área 4, 5 e 6). Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2002.

FINE, P.; GRABER, E.R.; YARON, B. Soil interactions with petroleum hydrocarbons: abiotic processes. **Soil Technology**, v.10, n.2, p.133-153, 1997. [http://dx.doi.org/10.1016/S0933-3630\(96\)00088-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0933-3630(96)00088-8)

GLASS, D.J. **US and international markets for phytoremediation, 1999-2000**. D. Glass Associates, 1999. Disponível em: www.channell.com/dglassassoc/. Acesso em: 30 out. 2015.

GORCHOV, D. L. et al. Dispersal of seeds of *Hymenaea courbaril* (Fabaceae) in a logged rain forest in the Peruvian Amazonian. **Acta amazonica**, Manaus, v.34, n.2, p.251-259, 2004. <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672004000200014>

GOUDEY, J. S.; DALE M.; HODDINOTT, J. The effects of oil spill chemicals on transpiration, CO₂ exchange, and cuticular structure in *Salix interior*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.63, n.12, p. 2340-2344, 1985. <http://dx.doi.org/10.1139/b85-334>

GREEN, B.T. et al. Phytotoxicity observed in *Tradescantia* correlates with diesel fuel contamination in soil. **Environmental and Experimental Botany**, v.36, n.3, p.313-321, Londres, 1996. [http://dx.doi.org/10.1016/0098-8472\(96\)01013-1](http://dx.doi.org/10.1016/0098-8472(96)01013-1)

GUEDES, C. L. B. et al. Photochemical weathering study of brazilian petroleum by EPR spectroscopy. **Marine Chemistry**, v.84, n.1, p.105-112, 2003. [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4203\(03\)00114-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4203(03)00114-2)

GUSMÃO, C.A.G. **Desempenho do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) de segundo ano submetido a diferentes doses e relações NPK**. 2010. 81f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Montes Claros, 2010. Disponível em: http://www.producaovegetal.com.br/arquivos_upload/editor/file/dissertacao_carlos_alberto_gusmao.pdf. Acesso em: 17 jan. 2014.

HOPKINS, W.G. Introduction to Plant Physiology. New York: John Wiley & Sons, 1995.

HUTCHINSON, S.L.; SCHWAB, A.P.; BANKSA, M.K. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in the rhizosphere. In: MCCUTCHEON, S.C.; SCHONOR, J.L. **Phytoremediation**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2003. p.355-390.

INCKOT, R.C. Anatomia das plântulas de *Mimosa pilulifera* (Leguminosae) crescendo em solo contaminado com petróleo e solo biorremediado. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro-RJ, v.59, n.3, p.513-524, 2008. Disponível em: http://rodriguesia.jbrj.gov.br/FASCICULOS/rodrig59_3/008.pdf. Acesso em: 05 ago. 2015.

INSTITUTO DE PESQUISA E ESTUDOS FLORESTAIS. **Fatores Externos (ambientais) que Influenciam na Germinação de Sementes**. 2010. Disponível em: <http://www.ipef.br/tecsementes/germinacao.asp> Acesso em 11 de mai de 2010.

JIAN, C. et al. Phytoremediation of organic pollutants. **Bioremediation & Biodegradation**, v.4, n.4, p.1-3, 2013. <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6199.1000e132>

KINAKO, P. D. S. Short-term effects of oil pollution on species numbers and productivity of a simple terrestrial ecosystem. **Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological**, v.26, n.2, p.87-91, 1981. [http://dx.doi.org/10.1016/0143-1471\(81\)90039-8](http://dx.doi.org/10.1016/0143-1471(81)90039-8)

KRUGER, E.L.; ANDERSON, T.A.; COATS, J.R. Phytoremediation of soil an water contaminants. Washington, DC: American Chemical Society, 1997.

LABOURIAU, L. G. A germinação de Sementes. Washington, D.C: OEA, 1983.

LACERDA, C. F. Fisiologia vegetal. Ceará: Universidade Federal do Ceará, 2002.

LARCHER, W. Ecofisiologia Vegetal. São Carlos: RIMA, 2000.

LARCHER, W. Ecofisiologia vegetal. São Carlos: Rima, 2006.

LI, X.; FENG, Y.; SAWATSKY, N. Importance of soil-water reltions in assessing the endpoint of bioremediated soils. **Plant and Soil**, v.192, n.2, p.219-226, 1997. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1023%2FA%3A1004280626976#page-1>. Acesso em: 23 mar. 2012.

LICHTENTHALER, H.K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, v.11, p. 4.3.1 - 4.3.8, 2001. <http://dx.doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Sao Paulo: Plantarum, 1998.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination–aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor, **Crop Science**. v.2, n.2, p.176-177, 1962. <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>

MALALLAH, G. et al. *Vicia foba* as a bioindicador for oil pollution. **Environmental Pollution**, Barking, v.92, n.2, p.213-217, 1996. [http://dx.doi.org/10.1016/0269-7491\(95\)00085-2](http://dx.doi.org/10.1016/0269-7491(95)00085-2)

MALALLAH, G. et al. Impact of oil pollution on some desert. **Environmental Pollution**, Barking, v. 24, n.8, p.919-924, 1998. [http://dx.doi.org/10.1016/S0160-4120\(98\)00061-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0160-4120(98)00061-0)

MALAVOLTA, E. Fertilizantes e seu impacto ambiental: metais pesados, mitos, mistificações e fatos. São Paulo: Produquímica, 1994.

MARTINS, J. E. C. Plantas medicinais de uso na Amazônia. Belém: Cultural CEJUP, 1989.

MAYER J. L. S., BONA C., SANTOS. G. O. Impacto do solo contaminado com petróleo no teor de clorofila e massa seca de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. (Myrtaceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 9., 2003, Atibaia. **Anais...** Atibaia: FAPESP, 2003. p.288..

MCCUTCHEON, S.C.; SCHONOR, J.L. Phytoremediation. New Jersey: Jonh Wiley & Sons, 2003.

MCGRATH, S. P. Phytoextraction for soil remediation. In BROOKS, R.R (Eds.). **Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals**. Wallingford: CAB International, 1998. p.261-287.

MEDONÇA FILHO, J.G.; IEMMA, M.B.; CARVALHO, M.A. et al. Aplicação de Técnicas Organogeoquímicas & Organopetrográficas na Caracterização de Degradação Ambiental na Baía de Guanabara. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GEOLOGIA, 41., João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: 2003. P.245..

MEIRELLES, L.B. **Caracterização da Nafta Petroquímica para Produção de Aromáticos**. 2014. 120f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <http://tpqb.eq.ufrj.br/download/caracterizacao-da-nafta-petroquimica-para-producao-de-produtos-aromaticos.pdf>. Acesso em: 21 jun. 2015.

MELO, M. G. G.; MENDONÇA M. S.; MENDES, A. M. S. Análise morfológica de sementes, germinação e plântulas de jatobá (*Hymenaea intermedia* Ducke var. *adenotricha* (Ducke) Lee & Lang.) (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Acta Amazonica**, v. 34, n. 1, p. 9-14, 2004.

MENGEL, K. & KIRKBY, E.A. 2001. **Principles of plant nutrition**. Netherlands, Kluwer Academic Publishers.

MERKL, N., SCHULTZE-KRAFT, R., INFANTE, C. Phytoremediation in tropics- the effect of crude oil on the growth of tropical plants. **Biorremediation Journal**, v. 8, n. 3-4, p. 177-184, 2004.

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

MONTEIRO, A. G. Metodologia de avaliação de custos ambientais provocados por vazamento de óleo o estudo de caso do complexo reduc-dtse. 2003. 271f. Tese (Doutorado em Planejamento Energético e Ambiental) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2003. Disponível em: <http://www.ppe.ufrj.br/pppe/production/tesis/agmonteiro.pdf>. Acesso em: 21 nov. 2014.

MOREIRA, M.A.T. et al. Superação da dormência em sementes de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.). Disponível em: <http://www.dcf.ufla.br/Cerne/revistav2n1-1996/TENYARTJ.PDF>. Acessado em 22 de outubro de 2013.

MORENO, F. N.; CORSEUIL, H. X. **Fitorremediação de aquíferos contaminados por gasolina**. In: 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Rio de Janeiro, v. 6, p. 62-68, 2001 Disponível em: <<http://www.remas.ufcs.br/publicacoes/apcn020.pdf>> Acesso em: 21 nov. 2010.

MURATOVA, A. Y. et al. Studies of the Efficacy of Alfalfa and Reed in the Phytoremediation of Hydrocarbon-Polluted Soil. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v.39, n.6, p.681-688, 2003. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1026238720268>

NALON, L. **Potencial do eucalipto na fitorremediação de um solo contaminado por chumbo**. 2008. 94f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2008. Disponível em: <http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/cs/m/3264.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2014.

NETTO, A.D.P. et al. Evaluation of human contamination with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS) and their nitrated derivatives (NHPAS): a review of methodology. **Química Nova**, São Paulo, v.23, n.6, p.765-773, 2000. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422000000600010>

NEUFELD, H. S. et al. Visible foliar injury caused by ozone alters the relationship between SPAD meter readings and chlorophyll concentration in cutleaf coneflower. **Photosynth**, v.87, n.3, p.281–286, 2006. <http://dx.doi.org/10.1007/s11120-005-9008-x>

NICODEM, D. E. et al. Photochemistry of petroleum. **Progress in Reaction Kinetics and Mechanism**, v.26, n.2-3, p.219–238, 2001. Disponível em: <http://www.uel.br/grupo-pesquisa/meioambiente/fotopetro/arquivos/artigos/0010.pdf>. Acesso em: 26 mar. 2014.

NOGUEIRA, R.J.M.C.; ALBUQUERQUE, M.B.; SILVA, E.C. Aspectos ecofisiológicos da tolerância a seca em plantas da caatinga. In: NOGUEIRA, R.J.M.C.; ARAUJO, E.L.; WILLADINO, L.G.; CAVALCANTE, U.M.T. **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. p.22-31.

NOGUEIRA, R.J.M.C.; MORAES, J.A.P.V.; BURITY, H.A.; BEZERRA NETO, E. Alterações na resistência a difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, n.1, p.75-87, 2001. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-31312001000100009>

NOODÉN, L.D.; GUIAMÉT, J.J.; JOHN, I. Senescence mechanisms. **Physiologia Plantarum**, v.101, n.4, p.746-753, 1997. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb01059.x>

NULTSCH, W. Botânica Geral. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000.

OLIVEIRA, L.M.; FERREIRA, R.A.; CARVALHO, M.L.M. Germinação de sementes de *Senna multijuga* (Rich) Irwin et Barn., sob diferentes condições de radiação luminosa. **Revista de Ciências Agrônômica**, v.34, n.2, p.213-218, 2003. Disponível em: <file:///C:/Users/David/Downloads/15rca34-2.pdf>. Acesso em: 22 jan. 2013.

OLIVEIRA, L.S. **Influência do solo contaminado com petróleo na morfologia e fisiologia de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)**. 2004. 63f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Paraná, 2004. Disponível em: <http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/10277/cd%20tese.pdf?sequence=1>. Acesso em: 05 fev. 2013.

OLIVEIRA, L.S. et al. Crescimento de *Schinus terebinthifolius* Raddi (anacardiaceae) em solo contaminado com petróleo. **Acta Ambiental Catarinense**. v. 5. n. 1/2, p.21-33, 2008. Disponível em: <file:///C:/Users/David/Downloads/223-814-1-PB.pdf>. Acesso em: 05 fev. 2013

OLIVEIRA, O. S. Tecnologia de sementes florestais. Curitiba: Imprensa Universitária, 2007.

OPENSHAW, K. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v.19, n.1, p.1-15, 2000. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0961-9534\(00\)00019-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0961-9534(00)00019-2)

PAVANELLI, A.G. **Fitorremediação de solo contaminado com petróleo utilizando *Typha latifolia***. 2007. 76f. Dissertação (Mestrado em Química dos Recursos Naturais) - Universidade Estadual de Londrina, 2007. Disponível em: http://www.uel.br/grupo-pesquisa/meioambiente/fotopetro/arquivos/mestrado/alex_gibellato_pavanelli.pdf. Acesso em: 05 mai. 2013.

PANDEY, V. C.; BAJPAI, O.; SING, N. Energy crops in sustainable phytoremediation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.54, p.58-73, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.09.078>

PERRISÉ, J.B. **Evolução do refino de petróleo no Brasil**. 2007. 158f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2007. Disponível em: <http://livros01.livrosgratis.com.br/cp042068.pdf>. Acesso em 18 nov. 2015.

PIMENTEL, C. A relação da planta com a água. Rio de Janeiro: EDUR, 2004.

POMPÊO, M.L.M. Hidroponia e as macrófitas aquáticas. In: SEMINÁRIO REGIONAL DE ECOLOGIA, 8., 1996, São Carlos. **Anais...** São Carlos: 1996. p.73-80..

PORTAL SÃO FRANCISCO. 2010. Disponível em: <<http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/meio-ambiente-petroleo/>>. Acesso em: 18 nov. 2010.

RACINE, C.H. Long-term recovery of vegetation on two experimental crude oil spills in interior Alaska black spruce taiga. **Canadian Journal of Botany**, v.72, n.8, p.1171-1177, 1994. <http://dx.doi.org/10.1139/b94-143>

REZENDE, I.M. **Efeito do solo contaminado por óleo diesel na germinação e nas plantas jovens de *schinus terebinthifolius raddi* (anacardiaceae)**. 2006. 66f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Paraná, 2006. Disponível em: <http://livros01.livrosgratis.com.br/cp010353.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2014.

RIZZINI, C.M. et al. Floresta pluvial de tabuleiro, Linhares, ES, Brasil: sistemas primários e secundários. **Leandra**, Rio de Janeiro-RJ, v.12, p.54-76, 1997. Disponível em: <file:///C:/Users/David/Downloads/1997-LEANDRA-54-63- VEG.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2014.

ROSA, G.S. **Avaliação do potencial de espécies vegetais na fitorremediação de solos contaminados por petróleo**. 2006. 144f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2006. Disponível em: <http://www.peamb.eng.uerj.br/trabalhosconclusao/2006/PEAMB2006GSRosa.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2014.

SALT, D.E.; SMITH, R.D.; RASKIN, I. Phytoremediation. **Annual Reviews in Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.49, n.1, p.643–668, 1998. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant.49.1.643>

SARUKHN, J. The analysis of demographic variability at the individual level and its population consequences. In: DIRZO, R.; SARUKHDN, J. (Eds.) **Perspectives on plant population ecology**. Massachusetts: Sinauer Associates, 1984. p.83-106.

SATO, M. et al. A cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas l.*): uso para fins combustíveis e descrição agrônômica. **Revista Varia Scientia** v. 07, n. 13, p. 47-62. 2009. Disponível em: <file:///C:/Users/David/Downloads/2523-9480-1-PB.pdf>. Acesso em: 19 out. 2014.

SCHNOOR, J.L. et al. Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. **Environmental Science & Technology**, v.29, n.7, p. 318-23A, 1995. <http://dx.doi.org/10.1021/es00007a747>

SCHOLANDER, P. F. et al. Sap pressure in vascular plants. **Science**, v. 148, n. 3668, p. 339-346, 1965. <http://dx.doi.org/10.1126/science.148.3668.339>

SILVA, E.C.; NOGUEIRA, R.J.M.C. Crescimento de quatro espécies lenhosas cultivadas sob estresse hídrico em casa de vegetação. **Revista Ceres**, v. 50, n.288, p.203-217, 2003. Disponível em: <http://www.ceres.ufv.br/ojs/index.php/ceres/article/view/2949/725>. Acesso em: 12 abr. 2012.

SILVA, H. P. et al. Quantidade de água do substrato na germinação e vigor de sementes de pinhão manso. **Caatinga**, Mossoró-RN, v.21 n.5, p.178-184, 2008. Disponível em: <file:///C:/Users/David/Downloads/666-2323-1-PB.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2014.

SILVA, M.Y.B. **Influência do solo contaminado com óleo diesel na germinação, crescimento e morfoanatomia de *Sebastiania commersoniana* (baill) L. B. Sm. & Downs (Euphorbiaceae)**. 2006. 81f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Paraná, 2006. Disponível em: http://dspace.c3sl.ufpr.br:8080/dspace/bitstream/handle/1884/11560/Dissertação_versão%20definitiva.pdf?sequence=1. Acesso em: 20 abr. 2014.

SILVEIRA, F.A.O.; NEGREIROS, D.; FERNANDES, G.W. Influência da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Marcetia taxifolia* (A. St.- Hil) DC. (Melastomataceae). **Acta Botânica Brasílica**, v.18, n.4, p.847-851, 2004. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062004000400015>

SINGH, V. et al. Need based nitrogen management using the chlorophyll meter and leaf colour chart in rice and wheat in South Asia: a review. **Nutrient Cycling in Agroecosystem**, Dordrecht, v.88, n.3, p 361–380, 2010. <http://dx.doi.org/10.1007/s10705-010-9363-7>

SMITH, C.J.; DELAUNE, R.D.; PATRICK, J.H.W. A method for determining stress in wetland plant communities following an oil spill. **Environmental Pollution**, Barking, v.26, n.4, p.297-304, 1981. [http://dx.doi.org/10.1016/0143-1471\(81\)90051-9](http://dx.doi.org/10.1016/0143-1471(81)90051-9)

SOUZA, A.G.C. et al. Fruteiras da Amazônia. Brasília: Embrapa SPI, 1996.

SOUZA, C.C. et al. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 3, p. 338-342. 2000. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662000000300006>

SOUZA, L. A. Morfologia e Anatomia Vegetal. Ponta Grossa: UEPG, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TAYLOR, G. E. Plant and leaf resistance to gaseous air pollution stress. **New Phytol**, v.80, n.3, p.523-534, 1978. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.1978.tb01584.x>

TORRES, V.F.N.; GAMA, C.D. Engenharia ambiental subterrânea e aplicações. Rio de Janeiro: CETEM; CYTED, 2005.

VANZOLINI, S. et al. Qualidade sanitária e germinação de sementes de pinhão manso. **Revista Brasileira de Sementes**, vol.32, n.4, p.9-14, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222010000400001>

VÁZQUEZ-YANES, C.; OROZCO-SEGOVIA, A. Patterns of seed longevity and germination in the rainforest. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 24, p. 69-87, 1993. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.es.24.110193.000441>

VAVREK, M.C.; CAMPBELL, W.J. 1 Contribution of Seed Banks to Freshwater Wetland Vegetation Recovery. 2005.

VENTURI, P., VENTURI, G. Analysis of energy comparison for crops in European agricultural systems. **Biomass & Bioenergy**, v.25, n.3, p.235-255, 2003. [http://dx.doi.org/10.1016/S0961-9534\(03\)00015-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0961-9534(03)00015-1)

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. Testes de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP, 1994.

WABGENSTEEN, O. Plantas que lo chupan tudo. **Ciência digital**. 2002. Disponível em: < www.cienciadigital.net/mayo2002/fito.html _> Acesso em: 22 nov. 2010.

WACHOWICZ, C.M.; CARVALHO, R.I.N. Fisiologia vegetal: produção e Pós-colheita. Curitiba: Champagnat, 2002.

WHITE JR, P. M. et al. Phytoremediation of alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons in a crude oil contaminated soil. **Water, Air and Soil Pollution**, v.169, n.1-4, p.207–220, 2006. <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-006-2194-0>

WILTSE, C. C. et al. Greenhouse evaluation of agronomic and crude oil-phytoremediation potential among Alfafa genotypes. **Environmental Quality**, v.27, n.1, p.169-173, 1998. <http://dx.doi.org/10.2134/jeq1998.00472425002700010024x>

XIONG, Z.T. et al. Comparative analyses of soil contaminant levels and plant species diversity at developing and disused oil well sites in Qianjiang Oilfield, China. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v.58, n.4 p.667-672, 1997. <http://dx.doi.org/10.1007/s001289900385>

YEMM, E. W.; COCKING, E. C. Determination of amino acids with ninhydrin. **Analyst**, v.80, n.948, p.209-213, 1955. <http://dx.doi.org/10.1039/AN9558000209>