

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**

**Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental**

**Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental**

**FÁBIO NETTO MORENO**

**AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL DO POTENCIAL DO CHORÃO  
(*Salix babylonica* - Linnaeus) NA FITORREMEDIAÇÃO DE  
AQÜÍFEROS CONTAMINADOS POR NITRATOS, ETANOL E  
BENZENO**

Dissertação apresentada à Universidade  
Federal de Santa Catarina, para a obtenção  
do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Henry Xavier Corseuil

FLORIANÓPOLIS  
SANTA CATARINA  
JULHO, 1998

**AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL DO POTENCIAL DO CHORÃO  
(*Salix babylonica* - Linnaeus) NA FITORREMEDIAÇÃO DE  
AQÜÍFEROS CONTAMINADOS POR NITRATOS, ETANOL E  
BENZENO**

**FÁBIO NETTO MORENO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina, para a obtenção do título de

**MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL**  
na área de Tecnologias de Saneamento Ambiental

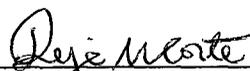
Aprovada por:



Prof. Dr. Henry X. Corseuil  
(Orientador)

Prof. Dr. David Manoel Lelinho Motta Marques

Prof. Dra. Clarice Panitz



Prof. Dra. Rejane Helena R. da Costa  
(Coordenadora)

FLORIANÓPOLIS  
SANTA CATARINA  
JULHO, 1998

*" O hábito do homem culto é aperfeiçoar-se pelo silêncio e desenvolver a virtude pela frugalidade. Sem desprendimento não é possível purificar a vontade. Sem serenidade não é possível ir longe.*

*O estudo exige calma, o talento exige estudo. Sem estudo não é possível expandir o talento. Sem calma não é possível realizar o estudo.*

*Se for preguiçoso não conseguirá realizar uma pesquisa perfeita. Se for impulsivo, não conseguirá governar a sua natureza.."*

*Zhuge Liang*

*Aos Reichfeld,  
Léa, Vera e André*

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de estender meus agradecimentos a todas as pessoas envolvidas direta e indiretamente neste trabalho e em especial:

- Ao Prof. Henry Corseuil, pela confiança depositada, pelas orientações sempre seguras e pelo seu senso prático durante o desenvolvimento da pesquisa.
- Ao Prof. Pedro Alvarez, pela bibliografia enviada e pelos seus conselhos, os quais foram decisivos para a conclusão em tempo hábil da parte prática dos experimentos.
- À Dra. Laurance Gicqhel-Loyon, pelo auxílio durante as leituras no cromatógrafo iônico.
- Aos mestrandos e amigos Luciana Benetti e Márcio Busi, pela grande ajuda durante as leituras no cromatógrafo a gás.
- Ao corpo técnico do Laboratório Integrado do Meio Ambiente, Nilton César, Américo Cruz e Carlos Vieira pelo apoio e atenção.
- Aos colegas e mestres em Eng. Ambiental Ruy dos Santos e Júlio Leão pela experiência transferida.
- Ao pessoal do Remas, em especial às colegas Gersina Nobre e a Célia Perin.
- À coordenação do curso de Pós-graduação.
- Às Profas. do Departamento de Botânica Aúrea M. Randi, Teresinha Paulilo e Ana M. Viana.
- À todos os colegas e Professores do curso de Graduação e de Pós-graduação em Eng. Ambiental.
- Ao CNPq pela concessão da bolsa.
- À Luiza, paciência, amor, carinho e fé foram os melhores resultados obtidos com este trabalho.
- Aos meus pais, que à distância sempre estiveram muito próximos a mim. A eles externo a minha mais profunda admiração.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
GLOSSÁRIO.....	vii
CAPÍTULO I	
INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO II	
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
2.1 Estado da Arte da Fitorremediação.....	7
2.2 A influência da vegetação no destino dos contaminantes.....	9
2.3 Absorção direta de contaminantes pela vegetação	
2.3.1 A partir de cultivos em hidroponia.....	11
2.3.2 Absorção direta no solo .....	15
2.4 Detoxificação de contaminantes no tecido vegetal.....	16
2.5 Influência da rizosfera.....	18
2.6 Biodegradação de compostos orgânicos na rizosfera.....	21
2.7 Contaminantes abordados no estudo	
2.7.1 Nitrato.....	23
2.7.2 Benzeno.....	25
2.7.3 Etanol.....	26
CAPÍTULO III	
MATERIAL E MÉTODOS	
3.1 Alguns dados sobre a espécie.....	27
3.2 Procedimentos para a coleta das estacas .....	27
3.3 Enraizamento e propagação das estacas.....	27
3.4 Experimentos de absorção direta	
3.4.1 Delineamento experimental.....	29

3.4.2	Absorção direta do nitrato.....	32	
3.4.3	Absorção direta do etanol.....	34	
3.4.4	Absorção direta do benzeno.....	34	
3.5	Experimento de fitotoxicidade com o etanol		
3.5.1.	Delineamento experimental.....	37	
<b>CAPÍTULO IV</b>			
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>			
4.1 Experimentos de Absorção Direta			
4.1.1	Absorção direta do nitrato.....	39	
4.1.2	Absorção direta do etanol.....	45	
4.1.3	Absorção direta do benzeno.....	49	
4.2.	Experimento de Fitotoxicidade com o Etanol.....	53	
<b>CAPÍTULO V</b>			
<b>CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....</b>			<b>58</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>			<b>62</b>
<b>APÊNDICE A.....</b>			<b>66</b>
<b>APÊNDICE B.....</b>			<b>73</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fluxo de massa do oxigênio , da água e de compostos químicos para o gênero <i>Populus</i> sp. (adaptado de Schnoor et al., 1995).....	4
Figura 2	Exemplar do chorão – <i>S. babylonica</i> , fotografado no <i>campus</i> da UFSC.....	6
Figura 3	Mecanismo simplificado da absorção de poluentes orgânicos pela vegetação. O mecanismo de absorção é mostrado em função (f) da: sua partição na fase vapor/partícula na superfície foliar (V/P), coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ), área de superfície da planta (AS), concentração de lipídeos da planta (lipídeos), coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ), solubilidade em água ( $sol_w$ ), constante de Henry ( $K_H$ ), conteúdo orgânico do solo (org) e a espécie da planta. (adaptado de Simonich e Hites, 1995).....	10
Figura 4	Relações obtidas por Briggs (et al., 1982) para a absorção de compostos químicos pelas raízes (expresso pelo fator de concentração da raiz - RCF) (A) e para a sua translocação nos ramos (expresso pelo fator de concentração na corrente transpirativa -TSCF) (B) em função do coeficiente de partição octanol/água (expresso pelo Log de $K_{ow}$ ) para inseticidas da classe dos O-metilcarbamoiloximas e seus análogos.....	13
Figura 5	Relação entre a translocação de compostos químicos pelos ramos (expresso pelo fator de concentração na corrente transpirativa -TSCF) e o coeficiente de partição octanol/água (expresso pelo Log de $K_{ow}$ ). A linha pontilhada representa a relação desenvolvida por Briggs (et al., 1982) e a linha cheia representa a relação desenvolvida por Burken (1996) para compostos orgânicos voláteis.....	14
Figura 6	Processos sofridos pelos compostos químicos no solo (adaptado de Ryan et al., 1988).....	16
Figura 7	Mecanismo proposto para a degradação da atrazina nos tecidos do gênero <i>Populus</i> . DEA= dietilatraxina, HA= hidroxiatraxina, DIA= deisopropilatraxina, DIHA= deisopropilhidroxiatraxina, DEHA= dietilhidroxiatraxina, DDA= didealkilatraxina, PHDA= produtos hidroxilados e dealkilados (adaptado de Burken, 1996).....	19
Figura 8	Diagrama da raiz mostrando a origem dos materiais orgânicos na rizosfera. 1 -exudatos ; 2 -secreções; 3 -mucilagem vegetal; 4 -mucigel; 5- lisatos (adaptado de Bowen e Rovira, 1991).....	21
Figura 9	Mapa da localização do <i>campus</i> da Universidade Federal de Santa Catarina, Bairro da Trindade, Florianópolis/SC.....	28
Figura 10	Visão esquemática da inserção das estacas de <i>S. babylonica</i> nos reatores utilizados para os experimentos.....	30
Figura 11	Visão geral da estufa aonde foram conduzidos os experimentos de absorção direta e de fitotoxicidade com estacas de <i>S. babylonica</i> . O local pertence ao laboratório de Remediação de Águas Subterrâneas (REMAS) do Depto. de Engenharia Sanitária e Ambiental e está situado no <i>campus</i> da UFSC.....	31
Figura 12	Visão esquemática da organização dos reatores na estufa.....	33

Figura 13	Reator com estaca de <i>S.babylonica</i> em fase de enraizamento. O mesmo modelo de reator foi utilizado para os experimentos de absorção direta do nitrato e do etanol e também para os experimentos de fitotoxicidade.....	36
Figura 14	Reator com estaca de <i>S.babylonica</i> utilizado para o experimento de absorção direta do benzeno.....	36
Figura 15	Concentração de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N (em mg/L) na solução hidropônica em função do tempo. Os valores mostrados representam a média de três repetições. Barras de erro representam o desvio padrão para n=3.....	40
Figura 16	Massa de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N restante (em mg) na solução hidropônica em função do tempo. Os valores mostrados representam a média de três repetições e foram determinados pela equação de balanço de massa. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3.....	40
Figura 17	A, B e C. Massa de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N (em mg) restante na solução hidropônica e transpiração acumulada para reatores individuais com a presença de estacas de <i>S. babylonica</i> . Os valores obtidos para a massa de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N foram determinados pela equação de balanço de massa. A transpiração média diária para cada reator está mostrada na legenda.....	42
Figura 18	Massa de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N (mg) em função da transpiração acumulada das estacas nos reatores.....	43
Figura 19	Concentração de NO <sub>3</sub> -N (em mg/L) na água destilada em função do tempo. Os valores mostrados representam a média de três repetições. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3.....	44
Figura 20	Massa de NO <sub>3</sub> -N (em mg) restante na água destilada em função do tempo. Os valores mostrados representam a média de três repetições e foram determinados pela equação de balanço de massa. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3.....	44
Figura 21	Concentração de Etanol (em mg/L) na solução hidropônica em função do tempo. Os valores mostrados representam a média de três repetições. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3.....	46
Figura 22	Massa de Etanol (em mg) restante na solução hidropônica em função do tempo. Os valores mostrados representam a média de três repetições e foram determinados pela equação de balanço de massa. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3.....	46
Figura 23	A, B e C. Massa de Etanol (em mg) na solução hidropônica e transpiração acumulada para reatores individuais com a presença de estacas de <i>S. babylonica</i> . A transpiração média diária para cada reator está mostrada na legenda.....	48
Figura 24	Massa de Etanol (em mg) na solução hidropônica em função da transpiração acumulada das estacas nos reatores.....	49
Figura 25	Concentração de Benzeno (em mg/L) na solução hidropônica de reatores com a presença de estacas de <i>S. babylonica</i> em regime semi-contínuo. Os valores mostrados representam a média de três repetições, exceto para o tratamento com a presença de raízes. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3, exceto para o tratamento com raízes (n=2). Setas indicam novas adições de Benzeno.....	52

Figura 26	Concentração de Benzeno (em mg/L) na solução hidropônica e transpiração diária para reatores com a presença de estacas de <i>S. babylonica</i> . Os valores mostrados representam a média de três repetições. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3. A transpiração média está mostrada na legenda.....	52
Figura 27	Normalização da transpiração pela biomassa ( em ml/G) e temperatura média ( em °C) em função do tempo para reatores com a presença de estacas de <i>S. babylonica</i> . Concentração de etanol na solução = 0 mg/L. Os valores mostrados representam a média de três repetições e foram determinados pela equação de balanço de massa. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3.....	55
Figura 28	Normalização da transpiração pela biomassa ( em ml/G) e temperatura média ( em °C) em função do tempo para reatores com a presença de estacas de <i>S. babylonica</i> . Concentração de etanol na solução = 500 mg/L. Os valores mostrados representam a média de três repetições e foram determinados pela equação de balanço de massa. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3.....	55
Figura 29	Normalização da transpiração pela biomassa ( em ml/G) e temperatura média ( em °C) em função do tempo para reatores com a presença de estacas de <i>S. babylonica</i> . Concentração de etanol na solução = 1000 mg/L. Os valores mostrados representam a média de três repetições e foram determinados pela equação de balanço de massa. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3.....	56
Figura 30	Normalização da transpiração pela biomassa ( em ml/G) e temperatura média ( em °C) em função do tempo para reatores com a presença de estacas de <i>S. babylonica</i> . Concentração de etanol na solução = 2000 mg/L. Os valores mostrados representam a média de três repetições e foram determinados pela equação de balanço de massa. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3.....	56
Figura 31	Normalização da transpiração pela biomassa ( em ml/G) em função da concentração de etanol para reatores com a presença de estacas de <i>S. babylonica</i> . Os valores e as barras de erro mostrados representam, respectivamente, a média e o desvio padrão obtidos para cada período de dosagem.....	57

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição química presente na fórmula da solução nutritiva de Hoagland <i>half strength</i> utilizada para cultivo hidropônico de <i>Salix babylonica</i> .....	30
Tabela 2	Propriedades físico-químicas do etanol e benzeno.....	38

## RESUMO

A ocorrência de contaminantes em solos e sistemas de águas superficiais e subterrâneas têm gerado preocupações a nível mundial. Dentre os processos biológicos desenvolvidos para resolver problemas de contaminação a fitorremediação é uma tecnologia emergente que pode ser definida como a seleção e utilização de espécies de plantas para extrair, assimilar, transformar e decompor certos contaminantes, para remediar solos, sedimentos e sistemas de aquíferos contaminados. O objetivo deste trabalho foi investigar o potencial do chorão (*Salix babylonica* - Família *Salicaceae*), uma espécie de árvore muito comum no Brasil, no processo de absorção direta pelas raízes de substâncias químicas como nitrato, etanol e benzeno, como uma etapa inicial no estudo da fitorremediação.

Para este fim, utilizou-se o cultivo de estacas desta espécie em solução hidropônica. Para os experimentos de absorção foram adicionados como contaminantes o nitrato, o etanol e o benzeno a 160, 1500 e 20 mg/L, respectivamente. Foram utilizados no mínimo dois tratamentos por experimento (com a presença de plantas e o controle). Um terceiro tratamento somente com a presença de raízes objetivou investigar o potencial de sorção do etanol e do benzeno à superfície das raízes. O potencial fitotóxico do etanol também foi investigado através de comparações dos valores normalizados da transpiração pela biomassa entre plantas dosadas com o etanol a 500, 1000 e 2000mg/L e seus controles. Aliquotas da fração líquida dos reatores foram extraídas diariamente e analisadas por cromatografia iônica, no caso do nitrato e, gasosa, no caso do etanol e do benzeno. Todos os resultados tiveram suporte estatístico.

Os resultados obtidos indicaram reduções significativas dos contaminantes tanto em nível de balanço de massa como em nível de concentração. No caso do nitrato, os resultados indicaram reduções de 27,6% da massa inicial. Para o etanol foram observadas reduções de massa superiores a 95%. Já para o experimento com o benzeno, o percentual de redução em relação ao controle chegou a 99%. Os resultados dos experimentos também indicaram que o comportamento dos contaminantes nos reatores foi bastante influenciado pela transpiração das plantas e que o processo de sorção também esteve presente, no caso do etanol e do benzeno. O potencial fitotóxico do etanol foi demonstrado somente quando atingiu-se a dosagem de 2000mg/L. Apesar de preliminar, este estudo revela o potencial da utilização do chorão para a fitorremediação de aquíferos rasos contaminados por nitrato, benzeno e etanol e também discute as implicações da utilização desta tecnologia sobre o meio ambiente.

## ABSTRACT

The presence of organic contaminants in soils and groundwater has created a great concern in the global world. Among the biological processes developed for the clean-up of contaminated sites phytoremediation is an ascending technology and could be better defined as the utilisation of plant species to uptake, metabolise or convert and also degrade organic contaminants to remediate contaminated soils, sediments and aquifers. The purpose of this work was to investigate the ability of *Salix babylonica* (Salicaceae family) in the vegetative uptake of nitrate, ethanol and benzene, which are considered potentially groundwater contaminants.

To this end, cuttings of those trees were excised and allowed to root hidroponically in half strength modified Hoagland's inorganic nutrient solution. After the rooting period, nitrate, ethanol and benzene were added at 160, 1500 and 20 mg/L, respectively. The experiments were set with at least two treatments (planted and controls). Another treatment with cultivated roots were included to verify the potential for sorption of ethanol and benzene. Ethanol phytotoxicity was also investigated through the assessment of transpiration rates between plants dosed with this compound at 500, 100 and 2000mg/L and controls. The analysis were performed using ion chromatography for nitrate and gas chromatography for ethanol and benzene.

The results showed clearly the effect of plants in removing chemicals from the hidroponic solutions. For the nitrate experiment, the results pointed for 27,6 % reduction of the initial concentration and were expressed on a mass basis . For the ethanol and benzene were observed reductions above 95 % of the initial concentration . This work also demonstrated the role of plant transpiration and sorption in the behaviour of chemicals in the reactors. Phytotoxicity responses were detected only at 2000mg/L ethanol. All results were supported by statistical analysis.

In spite of being a preliminary study, this work demonstrates the viability of the utilisation of *Salix babylonica* trees for the clean-up of shallow aquifers contaminated with nitrate, ethanol and benzene and also discusses the implications of this technology for the environment as a whole.

## GLOSSÁRIO\*

Para os termos botânicos citados no trabalho.

**Abscisão** processo responsável pela ruptura de um pecíolo, pedúnculo ou qualquer outro tecido que suporte uma folha ou um fruto e o conecte a uma parte da planta.

**Absorção** é realizada nos pêlos absorventes, que são expansões laterais das células da raiz responsáveis por ampliar a superfície de absorção de água, sais minerais e gases. A água se movimenta da solução do solo e por osmose entra na raiz, onde é transferida de célula a célula até o xilema por um gradiente osmótico. O movimento vertical da água no xilema, após a sua entrada na raiz, é governado por três fatores: a capilaridade, a pressão positiva da raiz e a sucção exercida pelas folhas quando transpiram. Já a entrada de íons da solução do solo para os pêlos absorventes ocorre por processos passivos (sem gasto de energia) ou ativos (com gasto de energia).

**Apoplasto** o sistema apoplástico (apoplasto) engloba os espaços intercelulares e também os espaços entre as regiões de contato entre as paredes celulares de duas células vegetais. O apoplasto fornece uma corrente contínua entre as células que favorece o movimento da água no xilema, o ar nas folhas e a acumulação de produtos secretores.

**Células corticais** células que se localizam na região periférica da zona apical das raízes.

**Clorose** condição patológica provocada por deficiência de clorofila e que se manifesta por amarelecimento das folhas.

**Coifa** estrutura originária de células da raiz com atividade meristemática e que abriga o seu ponto vegetativo, protegendo-o contra o ataque de microorganismos e contra o atrito.

**Cutícula** termo que se refere às camadas de cutina, substância impermeabilizante que se deposita sobre toda a superfície externa da folha.

---

\* Extraído de Mauseth (1988) e de Castellane e Araujo (1995).

**Epiderme** compreende a camada de células mais externa do caule, das raízes e das folhas, com exceção da região da coifa.

**Estaca** termo que se refere à porção do caule, raiz ou folha excisado a partir de uma planta parental e que abriga regiões com atividade meristemática.

**Estômato** estrutura localizada na porção inferior das folhas, responsável pelas trocas gasosas ( $O_2$ ,  $CO_2$  e  $H_2O$ -vapor) entre estas e a atmosfera. É através dos estômatos que há liberação da água no processo da transpiração.

**Eucariótico** este termo refere-se ao padrão de organização celular que apresenta sistema interno de membranas, incluindo a carioteca, esta última referindo-se a membrana nuclear. Todas as células do reino vegetal e animal são células eucarióticas.

**Fitotóxico** tóxico ou letal para, pelo menos, algumas plantas.

**Floema** sistema contínuo de vasos condutores responsável pelo transporte de fotossintetatos (seiva orgânica) produzidos nas folhas. As substâncias orgânicas são transportadas pelo floema a partir das folhas em direção às regiões de crescimento como raízes e ápices de caule e, em fase reprodutiva, para flores e frutos.

**Fotossíntese** processo celular responsável pela produção de substâncias orgânicas a partir de inorgânicas. Através desse processo, células clorofiladas transformam a energia luminosa em energia química ao produzirem glicose (molécula rica em energia) a partir de água e gás carbônico na presença de luz.

**Genótipo** conjunto de genes de um ser vivo, que condiciona a manifestação de suas características.

**Hidroponia** (cultivo em )cultivo de plantas sem solo que utiliza substrato líquido e uma solução nutritiva que contém todos os elementos essenciais para o normal crescimento e desenvolvimento das plantas.

**Lenticela** a região na casca de um vegetal adulto que contém células arranjadas de modo a permitir a difusão de oxigênio a partir do tronco do vegetal para toda a planta, inclusive as suas raízes. As lenticelas estão presentes em espécies de plantas que se adaptaram a regiões de mangues ou de locais que costumam ficar periodicamente alagados.

**Meristemas** são tecidos embrionários com grande capacidade de multiplicação. A partir da diferenciação dos meristemas é que originam-se todos os tecidos das plantas. Os tecidos localizados no ápice das raízes e do caule, além das gemas, são exemplos de meristemas, cujas células mantêm a capacidade multiplicativa durante toda a vida da planta.

**Micorrizas** associação simbiótica entre raízes de plantas e fungos. As micorrizas são constituídas por estruturas filamentosas, as hifas, que possibilitam ampliar a superfície de absorção de nutrientes pelas raízes. Para muitas espécies de plantas, as micorrizas são essenciais quando estas se desenvolvem em solos pobres.

**Parede Celular** quase todas as células vegetais são envolvidas por uma parede celular constituída de celulose, hemi-celulose, pectinas e proteínas.

**Propagação por estacas** consiste na produção de mudas de plantas independentes a partir da indução de ramos ou raízes, sob condições ambientais favoráveis, em caules, raízes ou folhas excisados de uma planta parental. A nova planta produzida é na maioria dos casos, geneticamente idêntica a planta parental.

**Senescência** processo de envelhecimento de tecidos e órgãos de plantas caracterizado por baixas taxas de atividade metabólica.

**Vasculares (plantas-)** termo que indica as plantas dotadas de vasos condutores como xilema e floema. Aquelas sem a presença destes vasos são denominadas avasculares.

**Xilema** sistema contínuo de vasos condutores responsável pelo transporte da água e sais minerais no vegetal. O xilema se inicia nas raízes, estende-se ao longo do caule e termina nas folhas.

## CAPÍTULO I

### INTRODUÇÃO

O ar, a água e o solo, que outrora se constituíam unicamente em fontes primárias para a manutenção da vida no planeta Terra, atualmente são, também, o meio pelo qual são transportados uma grande variedade de produtos químicos antropogênicos, isto é, introduzidos no ambiente primariamente como consequência de atividades humanas, e que ameaçam diretamente a nossa saúde e comprometem seriamente os sistemas ecológicos. Segundo relatos da Agência de Proteção Ambiental Norte-americana (EPA) os contaminantes químicos mais freqüentemente observados em águas subterrâneas nos Estados Unidos são nitratos, metais, pesticidas, petróleo e compostos químicos orgânicos voláteis. Atividades agrícolas também são responsáveis por alterações significativas na qualidade de águas superficiais e subterrâneas nos Estados Unidos (Cohen e Mallard, 1993). Somente os pesticidas representaram, no ano de 1987, aproximadamente 434 mil toneladas de contaminantes químicos orgânicos potencialmente tóxicos descarregados nos campos e plantações dos Estados Unidos. Em 1988, o uso de fertilizantes totalizou aproximadamente 19 milhões de toneladas de nutrientes na forma de nitrogênio e fósforo (Cohen e Mallard, 1993). Estudos realizados em Iowa (EUA) revelaram contaminações por nitrato que excederam o limite máximo de contaminação (MCL) de 10 mg/L de  $\text{NO}_3\text{N}$  em 18,3% dos poços da área rural da região (Paterson e Schnoor, 1993). A ocorrência de pesticidas e nitratos em águas subterrâneas é considerado problema nacional nos Estados Unidos uma vez que o abastecimento de água de metade da população total e cerca de 95% das comunidades rurais é proveniente de águas subterrâneas (Schreiber, 1993).

A ocorrência de contaminantes em solos, águas superficiais e subterrâneas como consequência de acidentes ambientais também tem gerado preocupações a nível mundial. Derramamentos de petróleo e seus derivados têm ocorrido com muita freqüência em diversos países do mundo. Nos Estados Unidos foram registrados mais de 250.000 casos de vazamentos de gasolina oriundos de tanques de armazenamento subterrâneos e a cada semana 1.000 novos vazamentos são registrados em todo território norte-americano (Santos, 1996). A este contexto soma-se também o crescimento da demanda urbana de água. No Estado da Califórnia (EUA), por exemplo, espera-se até 2010 uma queda superior a 30% no suprimento de água (Bacci, 1994). Estes fatos, que preocupam a sociedade em geral, estimularam vários países a conceder caráter prioritário às pesquisas quanto à presença, monitoramento e toxicidade de compostos químicos em águas

subterrâneas e superficiais.

Em países industrializados, admite-se que 80% da incidência de câncer seja de origem ambiental. Nos Estados Unidos diversos estudos de laboratório levaram ao conhecimento da população o efeito carcinogênico, teratogênico e mutagênico de vários compostos orgânicos sintéticos e, em 1972, o Congresso Norte-americano finalizou a criação de uma ata federal inteiramente baseada no controle da poluição de sistemas hídricos, incumbindo a Agência de Proteção Ambiental (EPA) de levantar uma relação dos diversos poluentes detectados com maior frequência em vários tipos de água, objetivando, assim, desenvolver um amplo programa para investigar e melhorar a qualidade das águas naquele país.

Com a implementação do Plano Real a partir de 1994 e a estabilização da moeda, o governo brasileiro tem registrado nos últimos 4 anos elevados índices de crescimento econômico. A crescente demanda para a produção de energia, minérios, transportes, insumos agrícolas e petroquímica está profundamente relacionada com aumentos na produção de substâncias químicas de origem orgânica ou sintética e, conseqüentemente, com aumentos nos resíduos e riscos de poluição ao meio ambiente. A disposição inadequada de efluentes líquidos e resíduos sólidos assim como as práticas inadequadas de cultivo agrícola e os acidentes ecológicos são acontecimentos freqüentes no cotidiano urbano e exemplificam estes riscos.

Os problemas associados a presença de compostos químicos no meio ambiente já foi prevista na legislação brasileira. No Estado de Santa Catarina, a ocorrência de compostos químicos fere o artigo 3, seção II da Lei Estadual nº 14.250/1981. Em relação a potabilidade das águas destinadas ao abastecimento, a Resolução brasileira Conama 20/86 fixa em aproximadamente setenta os padrões de potabilidade para águas doces, salobras e salinas.

Embora prevista na legislação, existe ainda uma grande carência de dados no Brasil acerca da ocorrência de compostos orgânicos no meio ambiente e, principalmente, nos sistemas aquáticos. A situação torna-se preocupante quando este problema está vinculado ao abastecimento de águas para a população. Até 1993, foi demonstrado que as águas subterrâneas eram responsáveis por 51% do abastecimento nacional. Considerando somente o Estado de São Paulo, o percentual para o abastecimento urbano advindo total ou parcialmente de aquíferos subterrâneos se elevava para 61% (Foster et al., 1993).

Dentre os processos biológicos desenvolvidos para resolver problemas de

contaminação de águas subterrâneas, a fitorremediação é uma tecnologia emergente que pode ser definida como a seleção e utilização de espécies de plantas para extrair, assimilar, transformar e decompor certos contaminantes, para remediar solos, sedimentos e sistemas de aquíferos contaminados (Schnoor *et al.*, 1995). A partir de estudos em escala piloto e de campo nos Estados Unidos, a fitorremediação mostrou-se bastante adequada para o tratamento de locais cuja contaminação esteja localizada em baixas profundidades (< 5m), seja por poluentes orgânicos moderadamente hidrofóbicos (hidrocarbonetos monoaromáticos, solventes clorados e resíduos de armamentos), por nutrientes em excesso (nitrato, amônia e fosfato) ou por metais tóxicos e radionuclídeos (Hg, Pb, Cd, Zn e <sup>137</sup>Cs) (Schnoor *et al.*, 1995; Nyer e Gatliff, 1996).

Existem basicamente quatro mecanismos principais envolvidos na fitorremediação de poluentes orgânicos: 1) absorção direta de contaminantes e subsequente transformação e acumulação de metabólitos não-fitotóxicos nos tecidos da planta; 2) volatilização de compostos orgânicos voláteis e semi-voláteis através das folhas; 3) estimulação da atividade microbiana e de transformações na rizosfera através da liberação de exudatos e enzimas que estimulam a atividade microbiana e promovem transformações bioquímicas; e 4) intensificação da mineralização na interface solo-raiz provocada pela associação simbiótica de fungos micorrízicos e colônias de bactérias nas raízes (Anderson e Walton, 1995; Schnoor *et al.*, 1995; Burken, 1996).

Além da biomassa vegetal representar 99 % da biomassa viva do planeta terra e um valor 100 vezes superior a biomassa de microorganismos, as plantas estão envolvidas em numerosos processos que tem uma relação muito íntima com o destino dos resíduos orgânicos despejados no meio ambiente. Por exemplo, estudos tem demonstrado que a natureza diversificada das inúmeras vias metabólicas existentes no reino vegetal pode favorecer a biotransformação de vários compostos químicos nos tecidos vegetais, o que indica o enorme potencial das plantas em alterar favoravelmente o destino químico de muitos contaminantes (Nelessen e Fletcher, 1993).

Muito pouco se conhece acerca dos detalhes envolvidos nos complexos mecanismos de transporte do carbono, nitrogênio, água e oxigênio nas plantas superiores, os quais variam muito tanto em nível intra como em nível interespecífico (Burken, 1996). A figura 1 mostra alguns dos principais mecanismos envolvidos no transporte destes elementos para o gênero *Populus* sp., uma espécie arbórea que se desenvolve bem em locais que costumam ficar saturados de água.

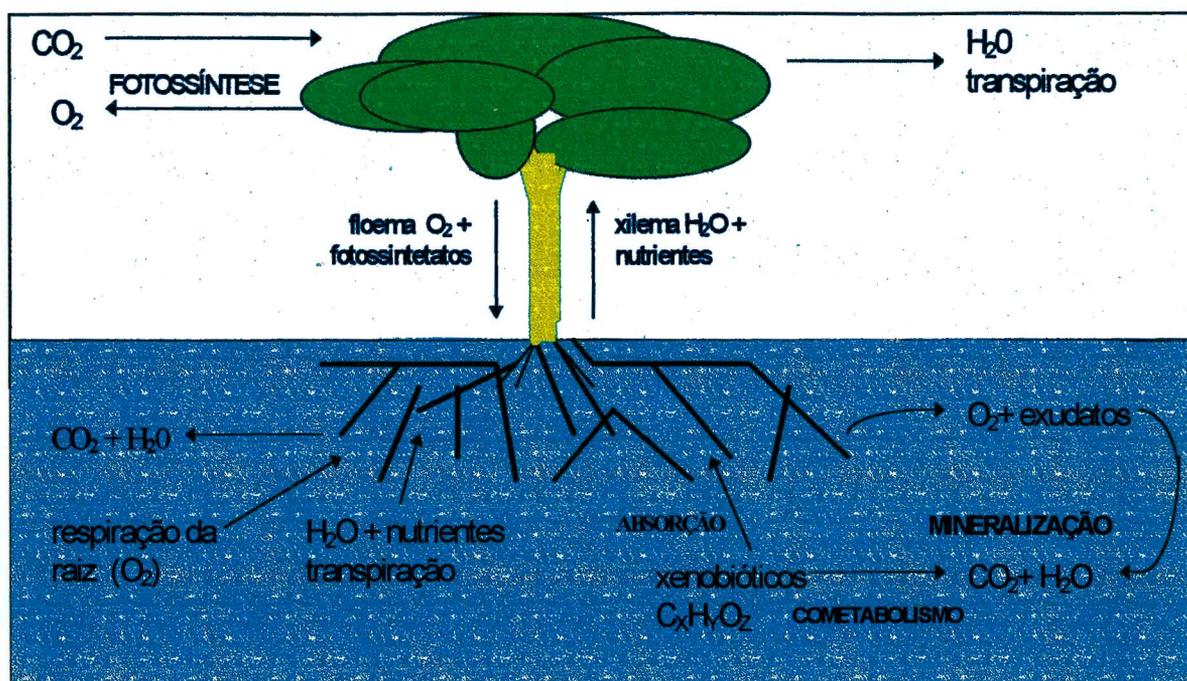


Figura 1 Fluxo de massa do oxigênio, da água e de compostos químicos para o gênero *Populus* sp. (adaptado de Schnoor *et al.*, 1995).

A família Salicaceae é composta por espécies vegetais que toleram ambientes saturados de água. Em termos fisiológicos, espécies como o chorão e o salseiro, por exemplo, apresentam características que as tornam mais atrativas para serem utilizadas em projetos de fitorremediação como:

- absorção direta de compostos orgânicos e posterior transformação a metabólitos menos tóxicos (Briggs *et al.*, 1982; McFarlane *et al.*, 1987; Burken, 1996);
- habilidade em oxigenar a rizosfera, o que viabiliza aerobicamente a mineralização de compostos orgânicos (Schnoor *et al.*, 1995);
- liberação de exudatos e incremento de matéria orgânica que estimulam a atividade degradatória de consórcios de microorganismos na rizosfera (Schnoor *et al.*, 1995);
- transpiração elevada, a qual pode influenciar o gradiente hidráulico de aquíferos e, conseqüentemente, limitar e controlar o transporte de contaminantes orgânicos no solo (Burken, 1996; Nyer e Gatliff, 1996).

De um modo geral, as espécies de árvores desta família, conseguem, devido a presença de lenticelas, manter um fluxo contínuo de oxigênio para as raízes mesmo quando as condições se tornam anóxicas devido à saturação de água. Estas características, aliadas a facilidade de cultivo, propagação direta e rapidez de crescimento, determinaram investimentos maciços por parte do governo dos Estados Unidos na pesquisa e

melhoramento genético do gênero *Populus* sp. Nas áreas rurais do Estado de Iowa, a utilização de “poplars”, como é popularmente chamado este gênero nos EUA, vem garantindo um certo êxito em diversos projetos relacionados à remoção e interceptação de contaminantes originados de fontes não pontuais como pesticidas e fertilizantes nitrogenados. Plantadas em covas com 2m de profundidade, o que garante o desenvolvimento de um sistema radicular profundo e denso, as raízes destas árvores puderam interceptar o fluxo de contaminantes em direção a córregos da região. No caso de águas subterrâneas localizadas a baixas profundidades, estas árvores podem funcionar como um filtro controlando e reduzindo a percolação vertical de contaminantes no solo e, uma vez alcançando o nível do lençol do aquífero, as raízes podem absorver certos compostos orgânicos durante alguns períodos do ano (Paterson e Schnoor, 1992; Burken, 1996).

O objetivo deste trabalho foi investigar o potencial do chorão (*Salix babylonica* Linnaeus - família Salicaceae- Reitz, 1993) (figura 2) em cultivo hidropônico, no processo de absorção direta de substâncias potencialmente tóxicas a saúde humana, como uma etapa inicial no estudo da fitorremediação. Os critérios que culminaram com a seleção do chorão levaram em consideração a sua frequência no *campus* da Universidade Federal de Santa Catarina/Florianópolis, o que facilitou na obtenção do material para a execução da parte experimental do estudo, e também as suas características fisiológicas descritas na literatura como facilidade de propagação, crescimento rápido, habilidade em oxigenar a rizosfera, sobrevivência em locais que costumam ficar alagados e transpiração elevada (Schonoor et al., 1995 e Nyer e Gatliff, 1996). Relatos adicionais demonstrando o potencial de espécies da mesma família, como é o caso do gênero *Populus* sp., na absorção direta e mineralização de uma série de compostos químicos na zona da rizosfera também foram decisivos (Paterson e Schnoor, 1992; Paterson e Schnoor, 1993; Schonoor et al., 1995, Burken, 1996).

O nitrato, responsável pela “síndrome do bebê azul”, o etanol e o benzeno, este último considerado cancerígeno na faixa de ppb, foram os contaminantes selecionados para o estudo. Originados como resíduos de práticas agrícolas, no caso do nitrato, ou a partir de derramamentos de gasolina, no caso do etanol e do benzeno, estes compostos têm em comum uma grande mobilidade no solo, o que contribui para que sejam facilmente encontrados em águas subterrâneas.

A hipótese principal que direcionou a pesquisa foi que *Salix babylonica* cultivada nos reatores seria responsável por uma diminuição significativa da concentração ou da massa dos contaminantes na solução hidropônica em relação aos tratamentos controle.

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- O estabelecimento de um sistema de propagação direta por meio de estacas para *Salix babylonica*.
- O desenvolvimento de reatores que permitissem o estudo da absorção direta de nutrientes e/ou contaminantes orgânicos através das raízes de plantas.
- O estudo e implementação de metodologias e estruturas apropriadas para a manutenção das plantas e para a execução da parte experimental.
- A determinação do balanço hidrológico para *Salix babylonica* no cultivo hidropônico.
- A determinação qualitativa e quantitativa do nitrato, etanol e benzeno na fase aquosa e comparação dos dados obtidos entre os tratamentos com plantas e os controles.
- Investigações a respeito do efeito tóxico do etanol sobre a fisiologia da planta, evidenciado através de diferenças entre as plantas dosadas e o controle em relação a transpiração diária.

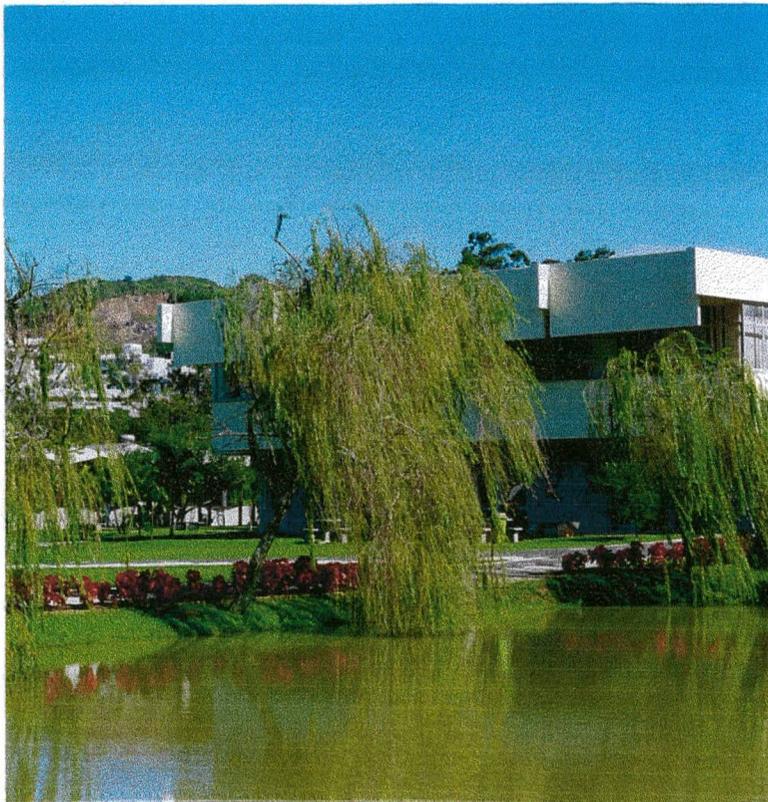


Figura 2 Exemplar do chorão (*S. babylonica*), fotografado no *campus* da UFSC, Florianópolis/SC.

## CAPÍTULO II

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1 Estado da Arte da Fitorremediação

A fitorremediação é um processo natural que oferece a possibilidade de uma ação eficaz na remediação de áreas contaminadas a partir da interação entre plantas e microorganismos. O termo fitorremediação pode ser aplicado tanto para a remediação de contaminantes inorgânicos como orgânicos. A fitorremediação de contaminantes inorgânicos (metais tóxicos como Se, Hg, Pb, Cd e Zn e radionuclídeos como o  $^{137}\text{Cs}$ ) originou-se a partir da descoberta de que certas árvores poderiam acumular níquel em 20% da sua massa seca. Atualmente, plantas como a mostarda indiana (*Brassica juncea*), considerada hiperacumuladora, já estão sendo utilizadas na remediação de locais contaminados por chumbo em níveis considerados tóxicos para os organismos (Brown, 1995). Para este fim, o contaminante, em uma etapa inicial, é acumulado até um determinado nível (com base no peso fresco) nos tecidos da planta que não estão em contato direto com o solo e, posteriormente, ocorre a sua remoção do ambiente simultaneamente com a retirada dos ramos e das folhas.

Segundo o Departamento de Energia dos EUA (DOE) as espécies de plantas hiperacumuladoras são aquelas capazes de tolerar aproximadamente 100 vezes mais a quantidade de metais tóxicos em seus tecidos quando comparadas a plantas cultivadas no mesmo solo. A seleção de tais espécies levaria em conta as seguintes características: altas taxas de acumulação (mesmo em baixas concentrações do contaminante), capacidade para acumular vários metais, crescimento rápido, alta produção de biomassa e resistência a doenças e pestes (Watanabe, 1997).

A utilização de plantas hiperacumuladoras não é somente a única opção para a fitorremediação. A fitovolatilização, ou seja, o processo de transformação de metais em gases mediado pelas plantas, envolve a introdução do gene bacterial mercúrio-redutase em plantas do gênero *Arabidopsis*. Quando expresso na planta, este gene é responsável pela redução do mercúrio a Hg (0), que o torna um gás, resultando assim na sua volatilização. Até mesmo não-metais como o selênio (Se) podem ser volatilizados quando transformados em gases como o etilselenídeo e o dimetilselenídeo. No entanto, a volatilização de metais pesados requer, no mínimo, muita investigação devido a sua alta toxicidade, mesmo na forma gasosa (Watanabe, 1997).

Para a fitorremediação de contaminantes orgânicos, a absorção direta de contaminantes do solo ou de águas subterrâneas pelas raízes se traduz em um surpreendente sistema de remoção, tendo uma boa aplicabilidade na remediação de áreas contaminadas por petroquímicos como combustíveis oriundos a partir de vazamentos dos locais onde estes são armazenados, solventes clorados, pesticidas e fertilizantes. Contudo, este sistema tem-se mostrado mais adequado em locais onde a contaminação não esteja muito profunda e para compostos químicos moderadamente hidrofóbicos (coeficiente de partição octanol-água, Log de  $K_{ow}$  entre 0.5 e 3). Incluem-se nesta faixa os BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno), os solventes clorados (tricloroetileno) e muitos compostos alifáticos de cadeia curta (Schnoor et al., 1995).

A absorção direta de contaminantes pelas raízes é um processo que vai depender bastante da espécie da planta, das suas taxas transpirativas e da concentração do composto químico na solução do solo. Também estão envolvidas neste mecanismo as propriedades físico-químicas do contaminante assim como a sua especiação química. A transpiração é um fator chave no processo de absorção direta e estará diretamente relacionada às condições ambientais como temperatura, umidade relativa do ar e do solo, e ventos (Schnoor *et al.*, 1995).

Paralelamente à absorção direta, as plantas podem auxiliar na biodegradação de contaminantes orgânicos por meio da ação de transformações microbianas que ocorrem na região da rizosfera (localizada mais precisamente na interface entre a raiz e o solo) e que poderiam ser principalmente induzidas: a) pelas raízes das plantas que em associação simbiótica com fungos micorrízicos ajudam na degradação de compostos orgânicos que não são transformados totalmente mediante a ação de bactérias, e b) pela excreção de exudatos, que estimulam continuamente o crescimento e a atividade da flora microbiana. Sob uma perspectiva mais ampla, a degradação de compostos químicos pela ação da rizosfera pode ser explicada como uma consequência do aumento da atividade microbiana que, juntamente com a liberação de exudatos e a decomposição da biomassa radicular pode promover as transformações bacterianas na medida que incrementa o carbono orgânico no solo. Finalmente, certas plantas possuem a habilidade de transferir oxigênio para as raízes fornecendo um habitat propício para a ocorrência de transformações aeróbias de compostos químicos no solo. Desta forma, comunidades microbianas são abundantes no solo com a presença da cobertura vegetal e colônias de bactérias representam de 4 a 10 % da área superficial das raízes (Anderson *et al.*, 1993).

## 2.2 A influência da vegetação no destino dos contaminantes

Atualmente é indiscutível o papel das plantas na sociedade moderna por serem extensivamente utilizadas na alimentação humana, como fonte de combustível e cada vez mais consolidam o seu potencial na indústria, seja esta de cosméticos, química, têxtil farmacêutica ou alimentícia. A influência da vegetação no destino químico e biológico de xenobióticos no meio ambiente tem sido avaliada principalmente em trabalhos na área de pesticidas agrícolas (Burken, 1996). A maioria dos estudos inicialmente procuravam os riscos potenciais que estes químicos poderiam causar a saúde humana e, assim, investigavam as suas principais vias de entrada nas plantas, que representariam, como porta de entrada da cadeia alimentar dos mamíferos, a principal rota de exposição destes químicos à dieta humana (Bacci *et al.*, 1990; Trapp *et al.*, 1990; Hülster *et al.*, 1994; Staci e Hites, 1995). Outros autores enfatizaram o estudo da absorção de químicos pela vegetação porque esta última pode ter um papel muito importante no balanço de massa de compostos químicos nos sistemas terrestres (Trapp e Matthies, 1995).

A grande quantidade de informações obtidas por meio destes estudos revelou que há duas vias principais pelas quais os poluentes orgânicos podem ser absorvidos pela vegetação. Os poluentes podem entrar na planta através da sua partição do solo contaminado para as raízes e, a partir daí, serem translocados na planta através do xilema, ou também podem entrar na vegetação através da atmosfera por meio da deposição dos compostos na sua fase particulada ou gasosa sobre a cutícula serosa das folhas. Esta última via inclui a absorção do contaminante pelos estômatos e a sua posterior translocação pelo floema.

As vias de acesso à planta, no entanto, dependem (1) das propriedades físico-químicas do poluente, tais como a sua lipofilicidade, solubilidade em água, pressão de vapor e constante de Henry; (2) das condições ambientais como temperatura, conteúdo de matéria orgânica e conteúdo de água do solo; e (3) da espécie da planta. Esta última característica engloba, por exemplo, a área superficial das folhas, que determina as suas taxas de transpiração ou também o comprimento das raízes, que determina a eficiência de absorção da planta (Simonich e Hites, 1995; Schnoor, 1995) (figura 3). A compreensão das

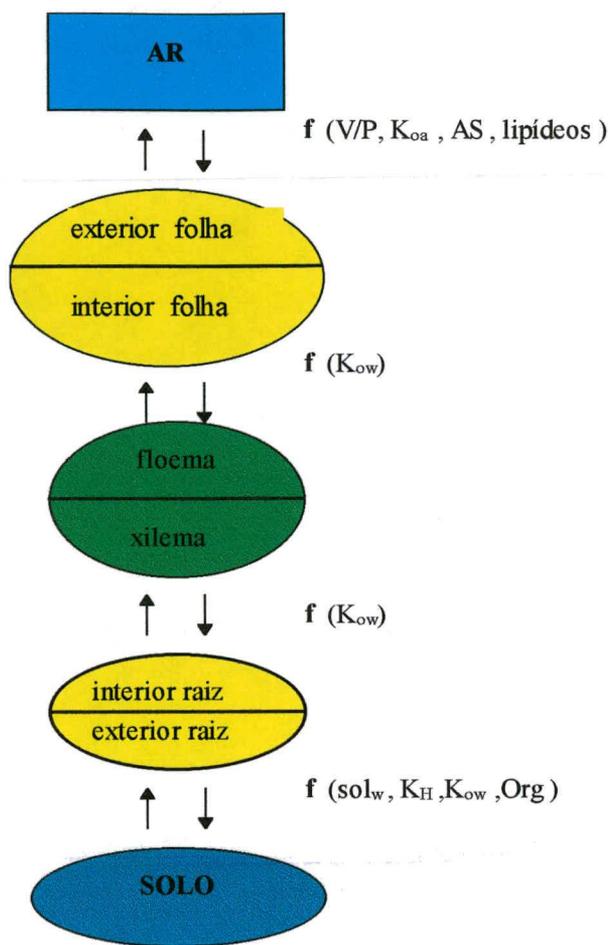


Figura 3 Mecanismo simplificado da absorção de poluentes orgânicos pela vegetação. O mecanismo de absorção é mostrado em função ( $f$ ) da: sua partição na fase vapor/partícula na superfície foliar ( $V/P$ ), coeficiente de partição octanol-água ( $K_{oa}$ ), área de superfície da planta ( $AS$ ), concentração de lipídeos da planta (lipídeos), coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ), solubilidade em água ( $sol_w$ ), constante de Henry ( $K_H$ ), conteúdo orgânico do solo ( $org$ ) e a espécie da planta. (adaptado de Simonich e Hites, 1995).

principais vias de acesso dos contaminantes às plantas, no entanto, pode ser bastante complexa se for considerada a grande quantidade de compostos químicos poluidores existentes, a grande diversidade de plantas e as complexas interações entre solo, água e raízes, e ar e folhas.

Os estudos científicos responsáveis pela difícil tarefa de integrar os vários processos que agem simultaneamente no destino dos compostos químicos nas plantas se utilizam basicamente de duas estratégias: a) de modelos matemáticos que combinam as propriedades físico-químicas dos contaminantes com as características anatômicas das plantas e seus processos fisiológicos, e b) da validação do modelo com a posterior exposição de plantas a diferentes compostos químicos sob condições controladas em casas de vegetação, câmaras de crescimento e também em escala de campo (Trapp *et al.*, 1994).

A utilização de parâmetros físico-químicos permite agrupar e selecionar o grande número de compostos químicos existentes para que se possa prognosticar o seu comportamento e destino no meio ambiente. Deste modo, foi possível concluir que os compostos químicos são absorvidos passivamente pela planta a partir do solo e se locomovem no sistema apoplástico desta em resposta a um fluxo de água (McFarlane *et al.*, 1987).

## 2.3 Absorção direta de contaminantes pela vegetação

### 2.3.1. A partir de cultivos em hidroponia

A absorção de um composto químico pelas raízes pode ser descrita com base no Fator de Concentração na Raiz (RCF), foi definido por Briggs (*et al.*, 1982) como:

$$\text{RCF} = \text{concentração na raiz} / \text{concentração na solução exterior}$$

Já a sua eficiência de translocação nos ramos pode ser descrita com base no Fator de Transpiração na Corrente Transpirativa (TSCF), que tem um valor máximo de uma unidade e foi definido como sendo :

$$\text{TSCF} = \text{concentração na corrente transpirativa} / \text{concentração na solução exterior}$$

Estudos realizados com a cevada permitiram avaliar a eficiência destes fatores com base no coeficiente de partição entre a água e o octanol ( $\text{Log } K_{ow}$ ) apresentado pelos compostos químicos, ou seja, na sua lipofilicidade. Assim, os valores encontrados para o RCF aumentavam quando os compostos testados eram muito lipofílicos e diminuía quando estes eram polares (hidrofílicos), indicando assim que a absorção de compostos químicos pelas raízes pode ser consequência de processos físicos de sorção ao invés de processos bioquímicos e que poderiam ser explicados: (1) pela partição do composto químico entre a camada de células lipofílicas da raiz (hidrofóbica) e a solução exterior e (2) pela fração da raiz que é aquosa e igual em concentração em relação à solução externa e localizada entre os espaços intercelulares. Deste modo, a sorção de compostos químicos nas raízes foi descrita por meio de uma relação derivada a partir da equação da reta obtida em função do  $\text{Log } K_{ow}$  (Briggs *et al.*, 1982) (figura 4A). De maneira similar, a translocação de compostos químicos nos vegetais, que envolve um movimento passivo dos compostos na corrente transpirativa, também foi relacionada em função da hidrofobicidade exibida pelos compostos químicos. Em estudos com inseticidas da classe dos O-metilcarbamoiloximas e seus análogos foi determinado uma eficiência máxima de translocação (TSCF) para alguns

compostos que apresentavam valor para o Log  $K_{ow}$  próximo ou igual a 1.8. Estes resultados permitiram derivar uma relação físico-química e também visualizar uma curva Gaussiana para ilustrar o TSCF em função do Log de  $K_{ow}$  (figura 4B). Com base nestes estudos foi possível concluir que a eficiência máxima de translocação nos tecidos vegetais pode ser alcançada para compostos químicos que exibissem Log  $K_{ow}$  entre 0,5 e 3. Portanto, a translocação para compostos exibindo baixa hidrofobicidade (Log de  $K_{ow}$  < 0.5) pode estar limitada pela camada lipoprotéicas das membranas das células que formam a epiderme das raízes. Por outro lado, para os compostos altamente hidrofóbicos (Log de  $K_{ow}$  > 3.0), o fator limitante para a sua translocação na planta é a sua lipofilicidade que contribui para aumentar o seu potencial de sorção às raízes, reduzindo a taxa de transporte para os ramos até as folhas. Finalmente, os compostos que apresentam hidrofobicidade moderada (Log de  $K_{ow}$  no intervalo entre 0.5 e 3.0), uma vez estando sorvidos a raiz, apresentam uma maior probabilidade de ultrapassarem as membranas do xilema após atingirem o equilíbrio e alcançarem, assim, a corrente transpirativa, o que explica o seu valor de TSFC próximo a uma unidade (Briggs *et al.*, 1982).

Estudos mais recentes com a absorção de compostos orgânicos não voláteis (atrazine, Royal Demolition Explosive e fenol), semi-voláteis (anilina, nitrobenzeno, pentaclorofenol) e voláteis (BTEX) para o gênero *Populus* sp. demonstraram uma nova relação para o TSCF por meio da alteração dos coeficientes da equação utilizada por Briggs (Burken, 1996). Os resultados obtidos para estes compostos indicaram um desvio do ápice da curva gaussiana encontrado em função de Log  $K_{ow}$  = 1.8 para um valor ligeiramente maior (Log de  $K_{ow}$  = 2.45). Sendo assim, compostos como o TCB e o pentaclorofenol, que são mais hidrofóbicos, tenderam a ficar adsorvidos ao tecidos da raiz, ficando impedidos de entrar na corrente transpirativa, o que também foi observado com compostos menos hidrofóbicos, como a anilina, RDX e o fenol (figura 5).

Diferenças na morfologia e no conteúdo lipídico das raízes de plantas de várias espécies também podem influenciar na absorção de contaminantes orgânicos lipofílicos devido a processos de adesão e partição destes à camada de células lipídicas das raízes.

$$\log (RCF - 0.82) = 0.77 \log K_{ow} - 1.52$$

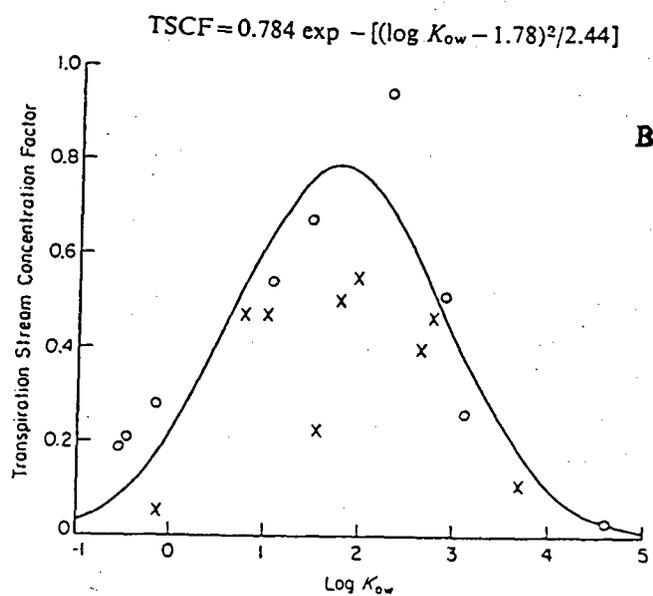
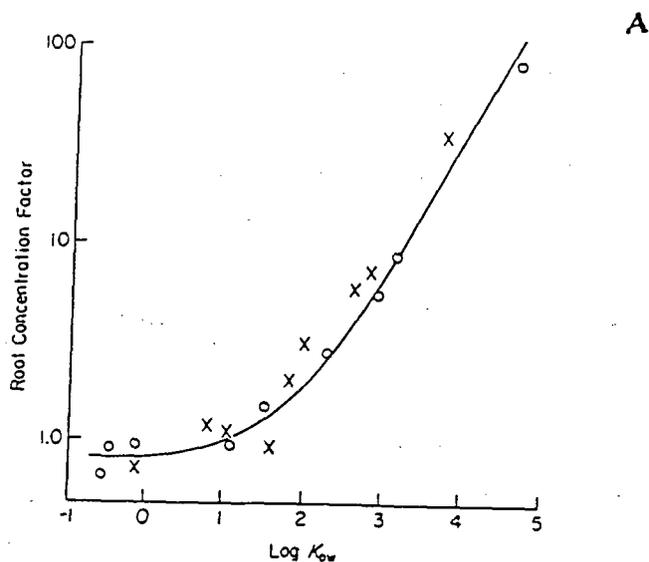


Figura 4 Relações obtidas por Briggs (et al., 1982) para a absorção de químicos pelas raízes (expresso pelo fator de concentração da raiz - RCF) (A) e para a sua tranlocação nos ramos (expresso pelo fator de concentração na corrente transpirativa - TSCF) (B) em função do coeficiente de partição octanol/água (expresso pelo Log  $K_{ow}$ ) para inseticidas da classe dos O-metilcarbamoiloximas e seus análogos.

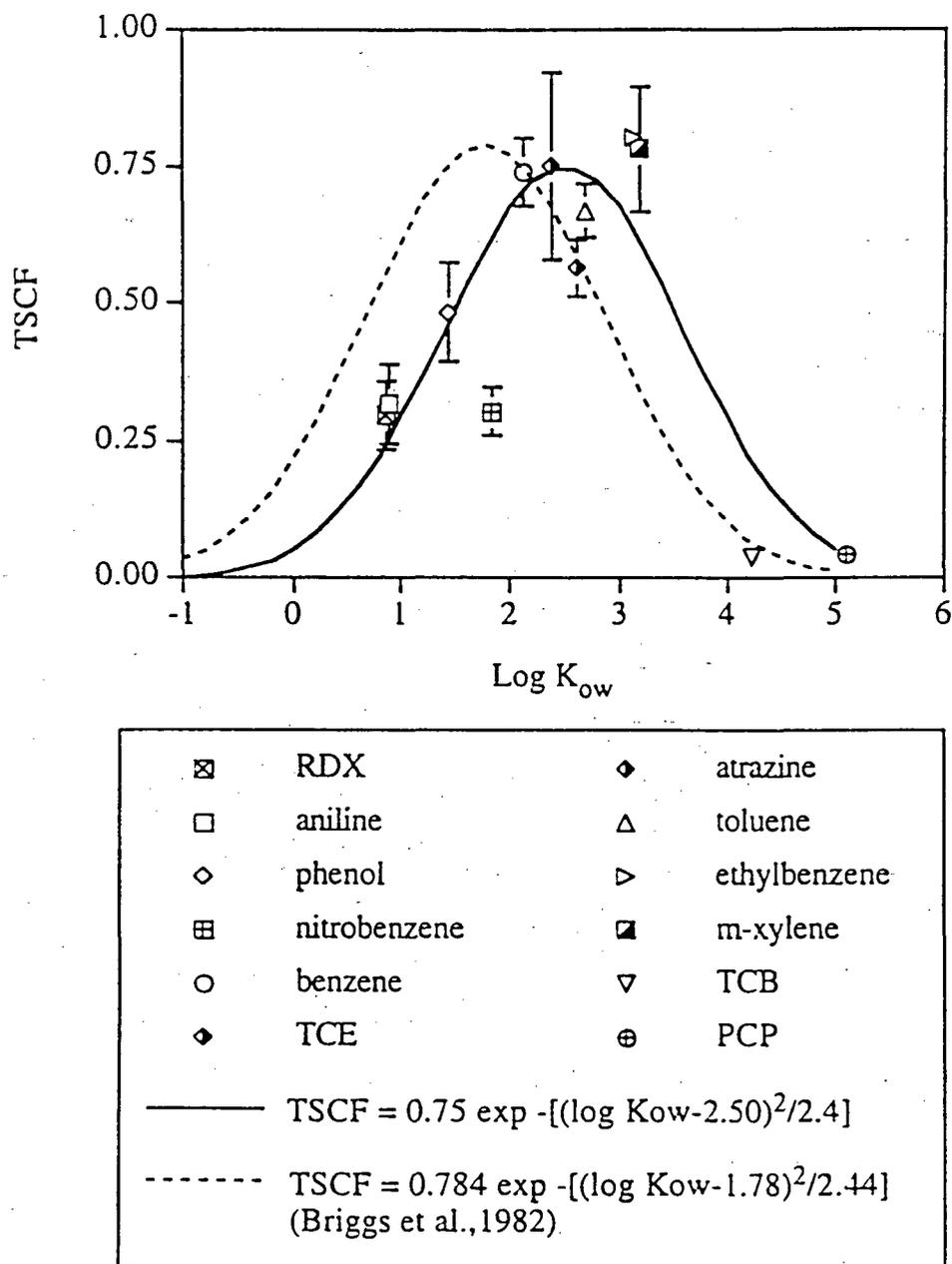


Figura 5 Relação entre a translocação de químicos pelos ramos (expresso pelo fator de concentração na corrente transpirativa- TSCF) e o coeficiente de partição octanol/água (expresso pelo Log K<sub>ow</sub>). A linha pontilhada representa a relação desenvolvida por Briggs (et al., 1982) e a linha cheia representa a relação desenvolvida por Burken (1996) para compostos orgânicos voláteis.

Por exemplo, estudos relataram que a absorção de dieldrin foi mais pronunciada em beterraba do que em relação a batata, milho, cenoura e alfafa. Já para os inseticidas organoclorados, a absorção foi maior em cenoura do que em outras raízes como nabo, batata e rabanete. A presença de canais lipídicos na cenoura e na beterraba, neste caso, pode ter contribuído para intensificar a translocação destes compostos químicos no tecido vegetal (Ryan *et al.*, 1988).

### 2.3.2- Absorção direta no solo

A absorção de compostos químicos presentes no solo está relacionada a processos que influenciam decisivamente no destino e impacto destes na comunidade vegetal. Fatores como pH, conteúdo de matéria orgânica, conteúdo de argila e de água no solo e biodegradação por microorganismos aliados as características físicas e químicas dos compostos, vão determinar a sua distribuição entre as fases aérea, sólida e líquida do solo (figura 6).

Os primeiros estudos de absorção e translocação em plantas revelaram os efeitos da sorção e desorção de químicos à matéria orgânica no solo. Por exemplo, o pesticida aldrin apresenta-se em concentrações mais elevadas nas raízes de ervilha crescidas na presença de solo quartzo-arenoso do que em raízes da mesma planta cultivadas em solo com alto teor de matéria orgânica (Ryan *et al.*, 1988). A absorção de [ $^{14}\text{C}$ ] atrazina através de estacas do gênero *Populus* sp cultivadas em solo arenoso contendo sílica é maior do que a sua absorção em solos siltosos com um teor de matéria orgânica de 2.2%. Em 22 dias de experimento as estacas acumularam 91% do [ $^{14}\text{C}$ ] atrazina aplicado enquanto que, em solo contendo matéria orgânica, esta porcentagem decresceu para 11 % após 126 dias. As diferenças encontradas neste estudo em relação à absorção foram devidas às taxas de transpiração, que foram mais elevadas no solo sem a presença de matéria orgânica, e ao menor efeito de sorção da atrazina às frações orgânicas e minerais do solo arenoso. A elevação nas taxas de transpiração são explicadas pela menor capacidade de retenção de água no solo arenoso (capacidade de campo) que aumentou o conteúdo de água disponível às raízes (Nair *et al.*, 1993).

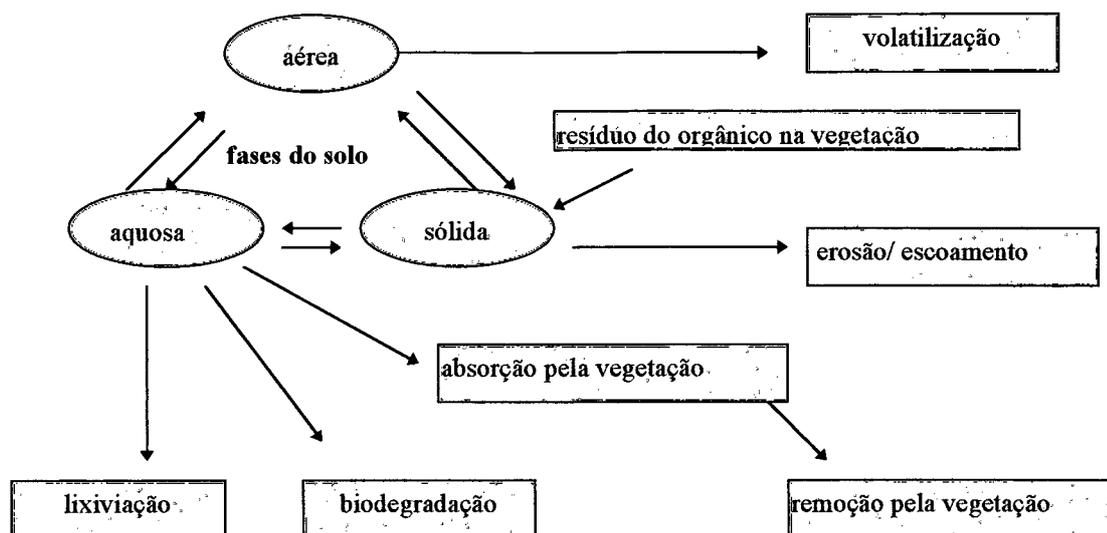


Figura 6 Processos sofridos por compostos químicos no solo (adaptado de Ryan *et al.*, 1988).

A absorção de compostos químicos voláteis pela porção aérea das plantas a partir de solos está relacionada a dois principais processos: 1) a sua volatilização e 2) a sua deposição a partir do ar por sobre a superfície das folhas. A volatilização é um processo que depende das propriedades físico-químicas dos compostos, das propriedades físicas do solo e também das condições climáticas do local. Características como pressão de vapor (a qual varia de acordo com a temperatura ambiente), solubilidade em água, capacidade de sorção à fração orgânica e mineral do solo, conteúdo de água do solo, umidade relativa e intensidade dos ventos são os principais fatores que podem influenciar na taxa de volatilização de determinados compostos químicos. A utilização da constante de Henry tem permitido agrupar certos compostos orgânicos que na forma de vapores apresentam potencial para a sorção às partes aéreas da planta. Uma constante de Henry de  $10^{-4}$  pode ser usada como ponto de transição entre o movimento de compostos químicos na solução do solo e a sua partição para a fase vapor. Sendo assim, compostos com valores maiores que  $10^{-4}$  são candidatos em potencial para este processo de sorção (Ryan *et al.*, 1988).

#### 2.4 Detoxificação de contaminantes no tecido vegetal

A fração de compostos orgânicos que não é volatilizada e que permanece dentro ou incorporada no tecido vegetal possui uma profunda relação de causa e efeito com o risco potencial para a contaminação da cadeia alimentar. Este risco está associado a possibilidade de que uma vez incorporado ao tecido vegetal, processos relacionados à

senescência e à abscisão das folhas e a posterior decomposição deste material orgânico no solo possam novamente reintroduzir o contaminante no meio ambiente.

Atualmente acredita-se que a translocação para as folhas seja um destino final pouco provável para a acumulação de compostos orgânicos. Muitos estudos, portanto, têm-se direcionado na biotransformação de contaminantes em resíduos que permanecem incorporados ao tecido vegetal, pois a sua transformação em catabólitos, via metabolismo vegetal, é um destino mais desejável do que a volatilização para a atmosfera. Além do mais, muitos destes resíduos, além de se encontrarem em um estado insolúvel e potencialmente imóvel nos tecidos vegetais, apresentam um potencial toxicológico inferior ao composto original, o que sugere um menor potencial de risco ao meio ambiente. Schnabel (*et al.*, 1997), objetivando monitorar o destino final do TCE, sugeriram que este composto, após absorvido pelas plantas, foi transformado e incorporado ao tecido vegetal. A presença da enzima P-450 citocromo e o do glutathione em plantas pode favorecer estas transformações, pois em sistemas eucarióticos as vias envolvidas no processo de transformação do TCE estão relacionadas ao envolvimento de tais enzimas.

Estudos adicionais com suspensões de células híbridas de *Populus trichocarpa* x *P. deltoides* dosadas com [<sup>14</sup>C]TCE comprovaram que as plantas são capazes de transformar e mineralizar este composto sem qualquer envolvimento com o metabolismo microbiano presente na região da rizosfera. Nas suspensões celulares, o [<sup>14</sup>C] TCE foi convertido a tricloroetanol e a ácido di e tricloroacético, e também a dióxido de carbono. Porções radioativas deste composto também foram encontradas sob a forma de um resíduo insolúvel, o qual foi provavelmente originado a partir de um processo abiótico e que resultou na incorporação do TCE à parede celular ou às membranas das células vegetais. Apesar dos efeitos tóxicos do TCE sob a forma de resíduos em plantas serem ainda desconhecidos, análises realizadas a partir de resíduos de pesticidas não revelaram nenhum efeito tóxico quando ministrados a animais (Newman *et al.*, 1997).

Resíduos insolúveis do pesticida atrazina também foram detectados em estacas do gênero *Populus* sp. (Burken, 1996). Neste estudo foi demonstrado que as reações responsáveis pela transformação da atrazina ocorreram ao longo da sua rota de translocação na planta decrescendo em concentração a partir do solo em direção as folhas. A detecção da amelina e de produtos hidroxilados e dealkilados (PHDA) nos tecidos foliares indicaram claramente que o gênero *Populus* sp. possui um sistema enzimático capaz de assimilar e transformar a atrazina por meio de sucessivas dealkilações e

hidrolizações, sendo este mecanismo muito semelhante às vias aeróbias de degradação microbiana descritas para este composto na literatura (figura 7). As reações envolvidas neste sistema ocorreram ao longo da via de translocação na planta de modo sequencial, o que sugere que, posteriormente a absorção da atrazina pela planta, houve a sua subsequente degradação, culminando com a formação dos PHDAs. Acredita-se que estes compostos sejam produtos com potencial toxicológico muito inferior ao do composto original.

A transformação do trinitrotolueno (TNT) nos tecidos do gênero *Populus* sp. também foi demonstrada recentemente. A sua transformação ocorreu principalmente nos tecidos da zona das raízes, onde este composto foi transformado a 4-amino-2,6-dinitrotolueno (4-ADNT), 2-amino-4,6-dinitrotolueno (2-ADNT) além de outros metabólitos que não puderam ser identificados mas que apresentaram maior polaridade que o TNT. Especulou-se que a detecção de resíduos, como é o caso do 4-ADNT e do 2-ADNT poderiam estar relacionados com a possível produção do 2,4-diamino-6-nitrotolueno, cuja origem ainda é incerta. Caso fosse verdade, este gênero possuiria um mecanismo de detoxificação para o TNT muito semelhante às vias de degradação aeróbia deste composto no solo (Thompson et al., 1998).

## 2.5 Influência da rizosfera

A rizosfera é o termo convencionado para indicar a zona do solo influenciada pelas raízes, sendo considerada o denominador comum no que concerne a sua interação com o ambiente biótico e abiótico ao seu redor (Bowen e Rovira, 1991). Em nível biótico, estas interações envolvem a associação das raízes das plantas com a comunidade microbiana presente no solo numa relação positiva que pode ser benéfica para ambas as partes e, assim, ser persistente; ou esta associação pode ter efeitos negativos que influenciam profundamente no crescimento e na sobrevivência das espécies envolvidas. De um modo geral, muitos dos microorganismos que estão associados com as raízes das plantas, sejam estes benéficos (tais como as bactérias nitrificantes ou os fungos micorrízicos) ou nocivos

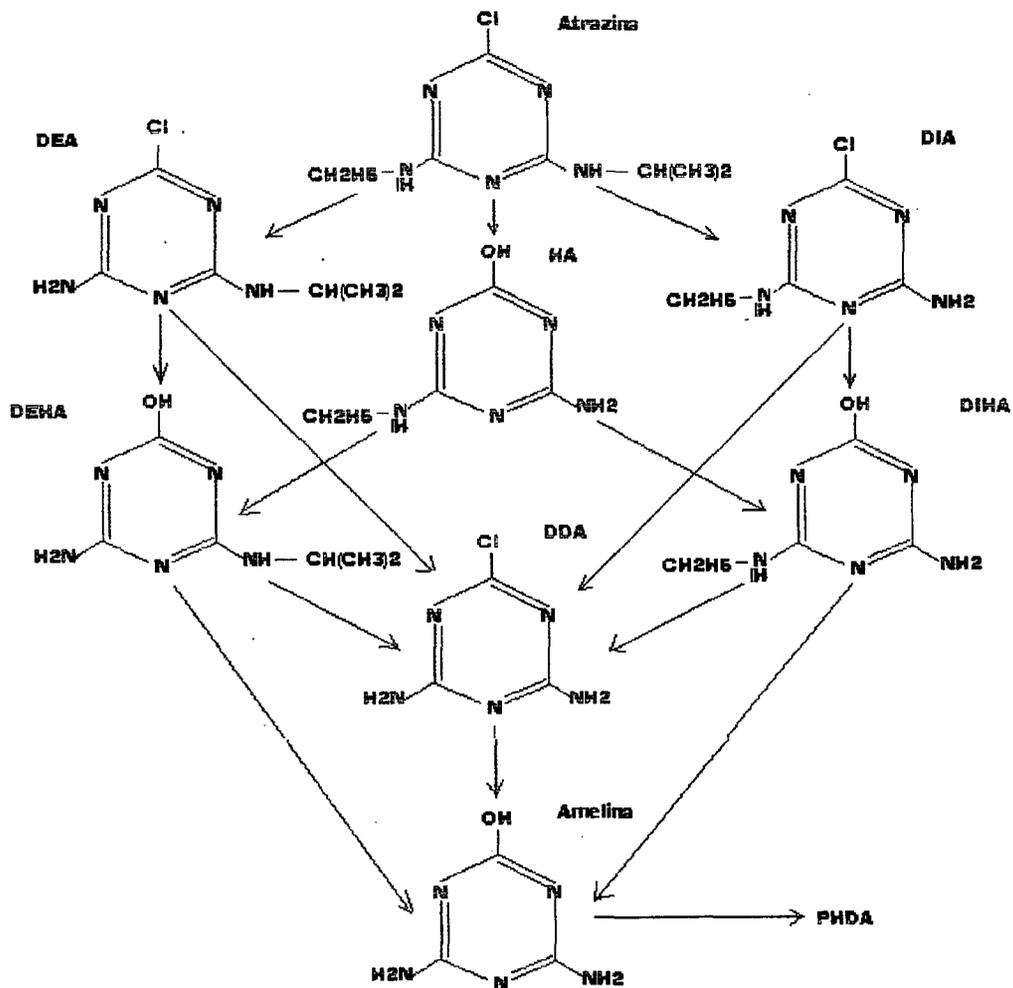


Figura 7 Mecanismo proposto para a degradação da atrazina nos tecidos do gênero *Populus*. DEA= dietilatrazina, HA= hidroxiatrazina, DIA= deisopropilatrazina, DIHA=deisopropilhidroxiatrazina; DEHA= dietilhidroxiatrazina, DDA= didealkilhidroxiatrazina, PHDA= produtos hidroxilados e dealkilados (adaptado de Burken, 1996).

(patógenos) são influenciados pela rizosfera, a qual irá determinar a persistência e a influência destes sobre a planta hospedeira.

A interação entre plantas e a comunidade de microorganismos na rizosfera é considerada bastante complexa. As raízes das plantas fornecem um micro-habitat adequado a proliferação de microorganismos do solo. Por outro lado, os microorganismos podem intensificar a disponibilidade de nutrientes para as plantas, diminuir a vulnerabilidade a patógenos, sintetizar fatores de crescimento para a planta e decompor a matéria orgânica presente no solo (Walton e Anderson, 1990). O aumento na atividade e no crescimento microbiano no solo em função da presença de plantas é denominado efeito da rizosfera e muitos autores correlacionam este efeito com a elevação nas taxas de degradação de certos compostos orgânicos no solo (Burken, 1996).

A liberação de materiais orgânicos na rizosfera partir das raízes constitui a força motriz para a proliferação de microorganismos nesta região, determinando até certo ponto a especificidade destes. Do total de carbono fotossintetizado pelas plantas, 10 a 20% são liberados no solo por meio das raízes. Bowen e Rovira (1991) classificaram, de acordo com a sua origem, os 5 constituintes orgânicos liberados pela rizosfera (figura 8):

- a) exudatos - compostos de baixo peso molecular que são liberados passivamente pela célula a favor de um gradiente de concentração;
- b) secreções - compostos com alto ou baixo peso molecular liberados ativamente pelos tecidos da raiz;
- c) lisatos - liberados pela autólise das paredes das células da epiderme;
- d) mucilagem vegetal – pode ser de 4 tipos :
  - originárias da coifa das raízes e secretadas pelas vesículas de Golgi;
  - mucilagens secretadas pelos pêlos absorventes que possuem somente paredes primárias;
  - hidrolisatos de polissacarídeos originados da parede celular primária e localizados entre a epiderme e as células da coifa. Estas células, uma vez mortas, são liberadas como resultado da ação abrasiva do solo para se decomporem e;
  - mucilagem produzida pela degradação bacteriana das células mortas da epiderme.
- e) mucigel – material de consistência gelatinosa constituído por mucilagem vegetal de origem natural e modificada, células bacterianas e seus produtos metabólicos, colóides minerais e matéria orgânica do solo. O mucigel é um produto resultante do complexo raiz-solo-microorganismos com propriedades morfológicas e bioquímicas distintas.

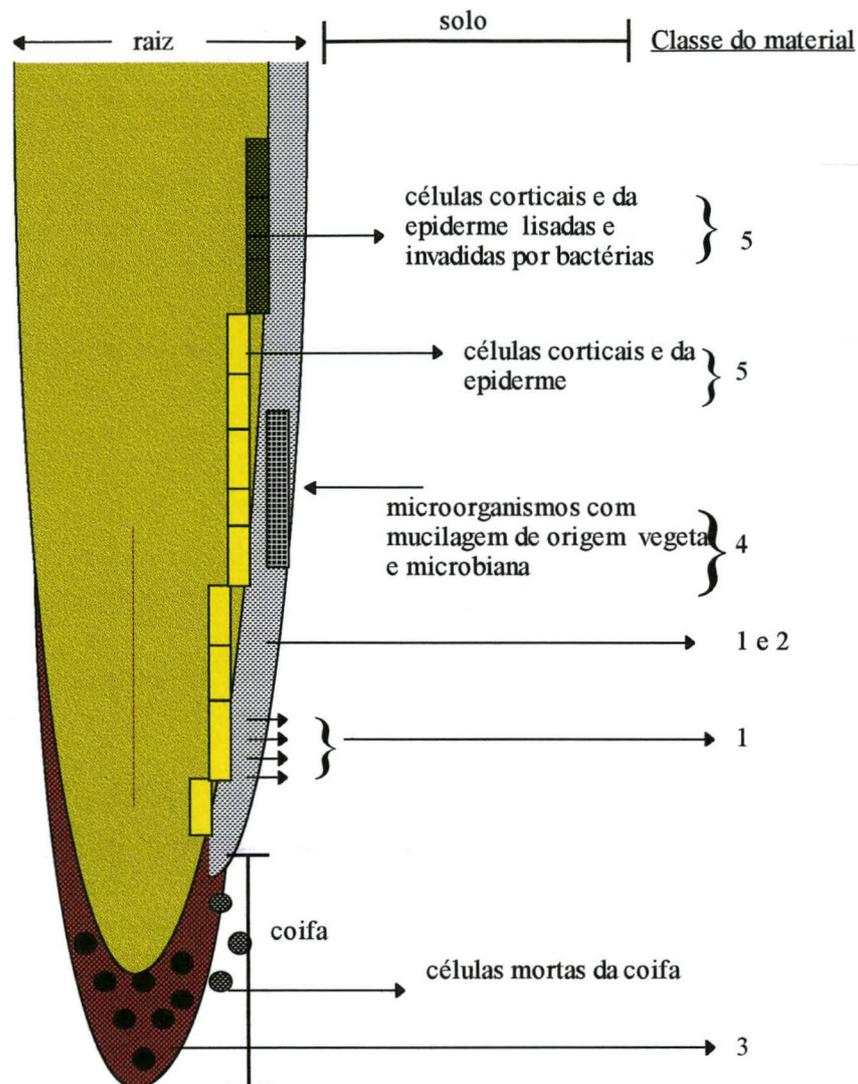


Figura 8 Diagrama da raiz mostrando a origem dos materiais orgânicos na rizosfera. 1- exudatos, 2- secreções, 3- mucilagem vegetal, 4- mucigel, 5- lisatos (adaptado de Bowen e Rovira, 1991).

As frações constituídas por exudatos, lisatos e secreções perdidas para o solo são compostas na sua maioria por açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos, e são prontamente utilizados como nutrientes pelos microorganismos do solo. Tais frações são ainda responsáveis quantitativa e qualitativamente pelos microorganismos que irão colonizar a rizosfera. A composição da comunidade microbiana na rizosfera também é dependente do tipo da raiz, da espécie vegetal, da idade da planta e do tipo de solo.

## 2.7 Biodegradação de compostos orgânicos na rizosfera

A maioria das primeiras observações sobre as transformações microbianas de compostos orgânicos na rizosfera foram feitas com a utilização de agroquímicos.

Inicialmente, a biodegradação era evidenciada através do decréscimo na persistência de agroquímicos no solo como uma consequência direta do aumento da biomassa de microorganismos na região da rizosfera. Posteriormente, foi demonstrado que a rizosfera submersa de espécies vegetais como o arroz, cuja interface aeróbia-anaeróbia se localiza próximo a superfície, favorecia a clivagem do anel do paration. Os aumentos observados nas taxas de degradação por ação microbiana, neste caso, foram relacionados a decréscimos na concentração de oxigênio no local (Anderson *et al.*, 1993).

A presença de exudatos como fonte de carbono e de energia para os microorganismos forneceu hipóteses adicionais de que estes substratos seriam os responsáveis pela proliferação de microorganismos na rizosfera. Tais conclusões foram obtidas através de estudos que demonstraram uma mineralização significativamente mais acentuada da atrazina a partir de substratos fornecidos a estacas do gênero *Populus* sp. de base vegetal quando comparados a substratos de origem inorgânica (Burken, 1996).

Teoricamente, alguns destes substratos podem facilitar a biodegradação de contaminantes orgânicos promovendo a indução enzimática de processos catabólicos nos microorganismos, servindo de substrato primário para transformações cometabólicas ou simplesmente promovendo o crescimento de fenótipos específicos. Antagonicamente, alguns dos compostos presentes nos exudatos podem exercer efeitos negativos na degradação de xenobióticos. Processos de repressão catabólica, diauxia e o aumento da capacidade de sorção do composto ao solo mascarando a sua biodisponibilidade são alguns destes efeitos. No entanto, a maior parte da literatura descreve a rizosfera como um ambiente benéfico para degradação de contaminantes (Jordhal *et al.*, in press).

A freqüente ocorrência de alterações nas estruturas moleculares de substâncias químicas presentes na rizosfera sugere também um envolvimento múltiplo de microorganismos, ou seja, a um consórcio microbiano, ao invés do envolvimento de apenas uma população de uma comunidade (Anderson *et al.*, 1993). A rizosfera de árvores do gênero *Populus* sp, por exemplo, pode ser colonizada por diferentes fenótipos de microorganismos como os denitrificantes, as bactérias gram negativas do gênero *Pseudomonas* sp. e aqueles que degradam BTX. Além disso, a rizosfera destas árvores pode potencializar o crescimento de fenótipos específicos sem exercer uma pressão seletiva sobre estes (Jordhal *et al.*, in press)

Estudos de campo também foram efetuados com o objetivo de verificar o efeito da rizosfera na degradação de hidrocarbonetos do petróleo. Para este propósito, uma área foi

divida em quatro blocos, sendo três destes cultivados com plantas de espécies diferentes e um bloco destinado ao controle (sem vegetação). Após nove meses de estudo observou-se que a concentração total de hidrocarbonetos do petróleo nos blocos que continham vegetação decresceu numa taxa significativamente maior quando comparada ao controle. Tais diferenças foram atribuídas a variações na estrutura da comunidade microbiana da rizosfera, uma vez que a densidade microbiana encontrada entre as amostras da rizosfera e do controle foram similares. Ensaios posteriores concluíram que a estrutura da comunidade microbiana também varia de acordo com a espécie da planta testada (Banks *et al.*, 1997).

A associação mutualística das raízes de plantas com fungos micorrízicos se constitui numa ferramenta ainda mais poderosa para auxiliar a degradação de compostos químicos na rizosfera. Atualmente sabe-se que 80% das espécies de plantas associam-se simbioticamente com micorrizas o que torna a rizosfera um ambiente adequado para este tipo de colonização. Neste tipo de interação, ambas as partes envolvidas se beneficiam. As plantas, por um lado, podem suprir a demanda de carboidratos necessária para os fungos enquanto as suas hifas aumentam consideravelmente a superfície das raízes otimizando, assim, a absorção de nutrientes pelas plantas, especialmente o fósforo, potássio e nitrogênio. Além do mais, admite-se que os fungos micorrízicos podem produzir as enzimas necessárias para degradar até as mais complexas moléculas de compostos orgânicos. Algumas enzimas isoladas de fungos micorrízicos responsáveis pela atividade de degradação são a amilase, xilanase, manase, polifenol oxidase, protease, esterase e celulase. Apesar da capacidade latente da degradação de compostos químicos por fungos micorrízicos, ainda é desconhecido o potencial destes microorganismos em estudos em nível de campo (Burken, 1996).

## 2.7 Contaminantes abordados no estudo

### 2.7.1 Nitrato

No Brasil a agricultura tem ocupado um setor bastante expressivo na economia. Tal atividade é responsável por gerar grandes quantidades de insumos agroquímicos para garantir aumentos de produtividade, os quais são indispensáveis para atender a uma demanda crescente de alimentos tanto interna como externa. As fontes não pontuais, como a aplicação de fertilizantes e agrotóxicos em zonas agrícolas, geram resíduos que, uma vez

armazenados de maneira inadequada em aterros clandestinos, podem, em contato com as águas das chuvas, lixiviar grandes quantidades de contaminantes para as águas subterrâneas. O íon nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), que é uma molécula residual de fertilizantes nitrogenados, é facilmente percolado no solo junto com as águas da chuva, o que aumenta o potencial de contaminação de águas subterrâneas (Bacci, 1994). A metemoglobinemia ou “síndrome do bebê azul” é causada pela ingestão de nitrato na água. Uma vez ingerido, o nitrato é transformado a nitrito no trato digestivo. Alcançando a corrente circulatória, o nitrito impede a oxigenação do sangue e pode levar bebês e crianças à morte por asfixia (Bitton, 1994).

No Brasil, diversos estudos revelaram a presença do nitrato no solo em profundidades variáveis e em quantidades que correspondem de 2 a 5% do total aplicado sob a forma de fertilizante (Reichardt *et al.*, 1979; Meirelles *et al.*, 1980; Beltrame *et al.*, 1992). Segundo alguns destes autores, a presença de íons nitrato em perfis do solo pode significar reflexos negativos no que diz respeito à poluição de águas subterrâneas. O oeste do Estado de Santa Catarina, região de destaque na suinocultura nacional, também tem produzido um quadro crítico quanto a poluição proveniente do manejo de dejetos animais. A coleta e reciclagem do esterco de suínos visando a sua utilização posterior como fertilizante é uma prática que tem sido estimulada na região como uma alternativa para diminuir a sua emissão no meio ambiente. No entanto, estudos com amostras de esterco líquido provenientes de 8 municípios da região demonstraram que 42% dos produtores que adotaram esta prática apresentam problemas de manejo, transporte e aplicação do esterco, o que traz como consequência o seu derrame no solo. Tais práticas podem acarretar sérios danos ambientais, pois alguns estudos revelaram que 1/3 do nitrogênio das amostras apresenta-se sob a forma de íons nitrato e, portanto, apresentam perigo real de contaminação de aquíferos subterrâneos (Scherer *et al.*, 1995).

A utilização de plantas constitui uma ferramenta bastante útil para a remediação de aquíferos contaminados por nutrientes como a amônia e o nitrato. A presença do nitrogênio nestas moléculas constitui uma fonte elementar ao desenvolvimento das plantas. Nesse caso, uma vez em contato com estes íons, naturalmente ocorrerá a sua absorção por parte do seu sistema radicular. Estudos objetivando investigar o transporte do nitrato a partir da sua aplicação como fertilizante em zonas agrícolas do Estado Iowa concluíram que a absorção deste íon por parte da vegetação é bastante significativa. A partir de comparações entre amostras da solução do solo de locais com a presença de vegetação e os

controles (sem vegetação) foi possível demonstrar que “poplars” e os cultivares de milho da região reduziram significativamente a concentração de nitrato. Através da utilização de equações que relacionam a taxa de crescimento médio de árvores (5,4g biomassa/árvore/dia) e a fração da biomassa das plantas que é composta por nitrogênio ( $\approx 2\%$ ), os autores puderam estimar que, do total de nitrato aplicado, um terço (33%) foi absorvido e armazenado nos tecidos das árvores após o período de estudo (Paterson e Schnoor, 1992).

### 2.7.2 Benzeno

A contaminação de águas subterrâneas ocasionada por derramamentos de petróleo e seus derivados tem causado preocupação em São Paulo e em diversas outras cidades do país. Em numerosos casos, tais acidentes têm ocorrido durante o transporte ou corrosão das canalizações e dos tanques de armazenamento subterrâneo. Em Joinville, SC, a prefeitura local realizou estudos com 65 postos da cidade e constatou que somente um não apresentava problemas de vazamento de combustível. Sabendo-se que no Brasil existiam, até 1995, aproximadamente 27.000 postos de gasolina, é desconhecida atualmente a quantidade de tanques que podem estar com vazamentos (Corseuil e Marins, 1997).

Em um derramamento de gasolina uma das principais preocupações é a contaminação de aquíferos subterrâneos que sejam usados como fonte de abastecimento de água para o consumo humano. Por ser pouco solúvel em água, a gasolina derramada, em contato com a água subterrânea, se dissolverá parcialmente. Os hidrocarbonetos monoaromáticos do grupo BTEX (benzeno, etilbenzeno, tolueno e xileno) que são os constituintes com maior solubilidade em água e mais móveis da fração da gasolina serão os primeiros contaminantes a atingir o lençol freático. Estes contaminantes são considerados substâncias perigosas por serem depressantes do sistema nervoso central e por causarem leucemia em exposições crônicas. Dentre os BTEX, o benzeno é considerado o mais tóxico por ser uma substância com alto potencial cancerígeno o que lhe confere um padrão de potabilidade baixíssimo ( $10 \mu\text{g/L}$ ), segundo as normas do Ministério da Saúde (Corseuil e Marins, 1997).

Uma grande variedade de processos físico-químicos e biológicos têm sido utilizados na remoção de hidrocarbonetos de petróleo puro e de outros compostos químicos orgânicos dissolvidos na água subterrânea ou presentes em sistemas de solo

subsuperficial. No entanto, longos períodos de tempo e altos custos estão normalmente associados a estas tecnologias de descontaminação.

As características apresentadas pelos BTEX durante o processo de contaminação contribuem para que estes compostos sejam remediados pela ação da vegetação. Por serem estruturalmente mais leves que contaminantes líquidos de fase não aquosa (NAPL), estes compostos podem ser encontrados sempre próximos à superfície, o que facilita o seu alcance pelas raízes das plantas. Outro fator favorável que estas substâncias apresentam são valores para o Log de  $K_{ow}$  que se encaixam dentro da faixa considerada ótima para serem absorvidos pelas raízes de plantas (Ryan *et al.*, 1988).

### 2.7.3 Etanol

A gasolina comercializada no Brasil é bastante diferenciada de outros países pois é misturada com 22 % de etanol. Deste modo, no caso de contaminação do lençol freático, as interações entre o etanol e os compostos BTEX podem causar um comportamento completamente diferente no deslocamento da pluma daquele observado pelos países que utilizam gasolina pura. Existem basicamente três aspectos principais que podem afetar o comportamento dos hidrocarbonetos monoaromáticos benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno em sistemas subsuperficiais na presença do etanol (Fernandes e Corseuil, 1996; Santos *et al.*, 1996):

- a possibilidade do aumento da solubilidade dos BTEX em água;
- a possibilidade do aumento da mobilidade dos BTEX dissolvidos na água subterrânea;
- e a possibilidade de que a presença do etanol possa dificultar a biodegradação natural dos BTEX, o que pode contribuir para aumentar a persistência destes compostos na água subterrânea.

Uma vez que o etanol é completamente solúvel em água, a sua concentração deverá ser maior que a dos compostos BTEX em águas subterrâneas contaminadas com misturas de etanol e gasolina. Da mesma forma que compostos solúveis têm um menor potencial de sorção, o etanol terá uma mobilidade maior na água subterrânea, o que poderá ocasionar uma diminuição no retardo do deslocamento dos BTEX em função da sorção destes ao solo. A estes fatores soma-se também o fato de que o etanol pode ser preferencialmente degradado em detrimento dos BTEX e desta maneira consumir todo o oxigênio necessário para a degradação natural dos hidrocarbonetos monoaromáticos (Santos, 1996).

## CAPÍTULO III

### MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Alguns dados sobre a espécie

Segundo Reitz (1983), *Salix babylonica* - Linnaeus compreende árvores dióicas, facilmente identificadas pelos seus ramos longos e flexíveis. Suas folhas apresentam-se serrilhadas e com colaração verde-cinza por baixo. A espécie apresenta-se com inflorescências masculina e feminina delgada, mais ou menos densamente floridas e com alguns pêlos na base. Os frutos são em forma de cápsulas pequenas, ovóide-cônicas e glabras (sem a presença de pêlos). A origem desta espécie, que não é nativa do Brasil, ainda não está esclarecida. Cogita-se que poderia ter sido introduzida no Oriente Médio através de antigas rotas comerciais (570 a.c.). Contudo, o chorão têm sido muito cultivado como árvore ornamental, podendo ainda ser utilizado como fixador do solo tanto nas margens dos rios como nas lagoas e barragens. Dentro da medicina popular a mastigação da sua casca é bastante recomendada pelo seu efeito analgésico, o qual é desencadeado pelo salicilato, princípio ativo da aspirina, analgésico que é consumido no mundo em 100.000 toneladas anuais.

#### 3.2 Procedimentos para a coleta das estacas

A seleção das estacas ocorreu a partir de um único genótipo de *Salix babylonica* (Família *Salicaceae*) crescido no campus da UFSC, Trindade – Florianópolis/SC (Figura 9). A coleta ocorreu a partir da excisão de porções situadas nas extremidade dos ramos, que portam ápices e gemas mais jovens e, portanto, com atividade meristemática mais intensa.

#### 3.3 Enraizamento e propagação das estacas

Após cortadas em segmentos de 30 cm e selecionadas para um diâmetro de aproximadamente 5 mm, as estacas foram enroladas com uma camada de 1 cm de fita teflon a uma altura de 15 cm a partir da sua base e foram inseridas através do orifício de

um tampão previamente perfurado (broca 6 mm) até que a camada de teflon se ajustasse perfeitamente ao diâmetro do orifício (figura 10). O enraizamento, sempre em número de 15 estacas, ocorreu em erlenmeyers de 500 ml (marca Vidrolabor) onde foram adicionados 400 ml de solução modificada de Hoagland *half strength* (Hoagland e Arnon, 1950) com o pH ajustado para 6,0 com o auxílio de NaOH a 0,1M e HCl a 0,1 N. A fórmula da solução utilizada pode ser visualizada na tabela 1 abaixo. O enraizamento das estacas foi realizado em condições de estufa por um período de 30 dias (figura 11)

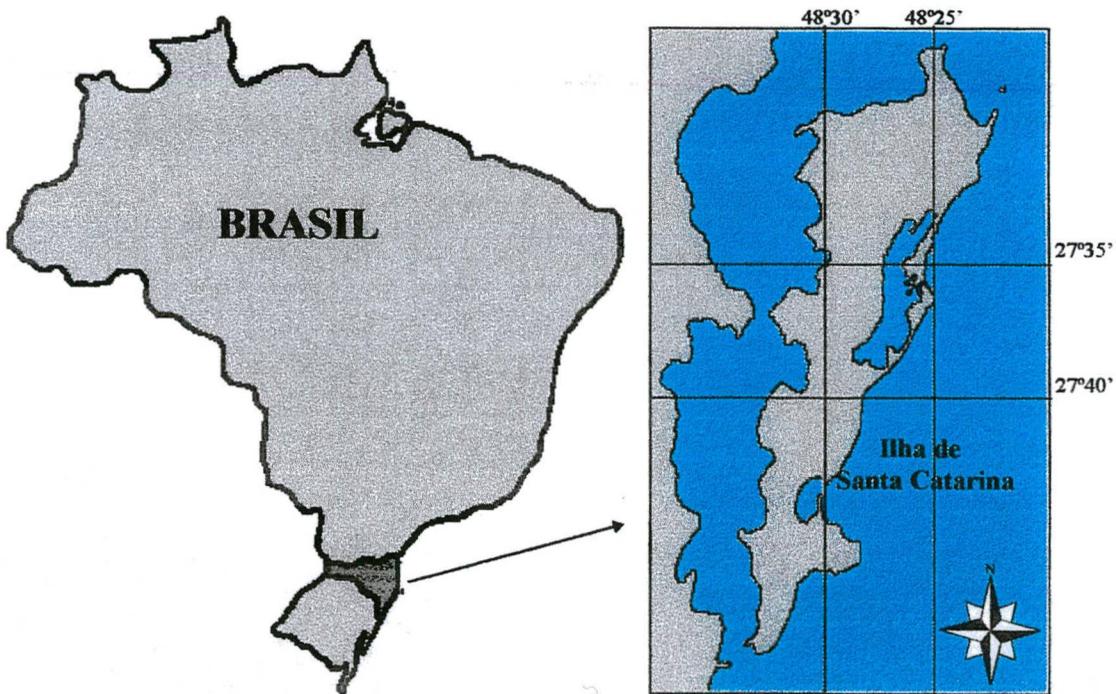


Figura 9. Mapa de localização do *campus* da Universidade Federal de Santa Catarina, Bairro da Trindade, Florianópolis/SC.

### 3.4 Experimentos de absorção direta

#### 3.4.1 Delineamento experimental

Estes experimentos utilizaram reatores planejados de modo a permitir o estudo da absorção de contaminantes químicos através de raízes de plantas. A transpiração, que se constitui num fator chave no processo de absorção direta dos contaminantes foi monitorada em todos os experimentos por gravimetria através de balança analítica manual. A utilização de reatores completamente selados objetivou garantir uma maior precisão no monitoramento deste processo, assim como impedir perdas de água através da evaporação, o que poderia interferir no balanço de massa no sistema. A utilização do papel alumínio para o cultivo em hidroponia também impediu o crescimento de algas e, desta forma, o fenômeno de fotooxidação (Salisbury, 1979). Para impedir a biodegradação de compostos químicos, anteriormente a adição dos contaminantes e das estacas, os reatores foram esterilizados em autoclave durante 15 minutos a 121°C e 100 Kpa.

Os experimentos de absorção direta consistiram basicamente de dois tratamentos : reatores com a presença de estacas e os controles (sem estacas). Um terceiro tratamento somente com a presença de raízes também foi utilizado no caso do etanol e do benzeno e foi preparado conforme o tratamento com a presença de estacas, porém, a sua porção superior foi excisada simultaneamente à adição do contaminante nos reatores. A presença isolada de raízes em meio hidropônico possibilitou o monitoramento das perdas de contaminantes orgânicos por processos abióticos como a adsorção destes ao tecido radicular (Burken, 1996).

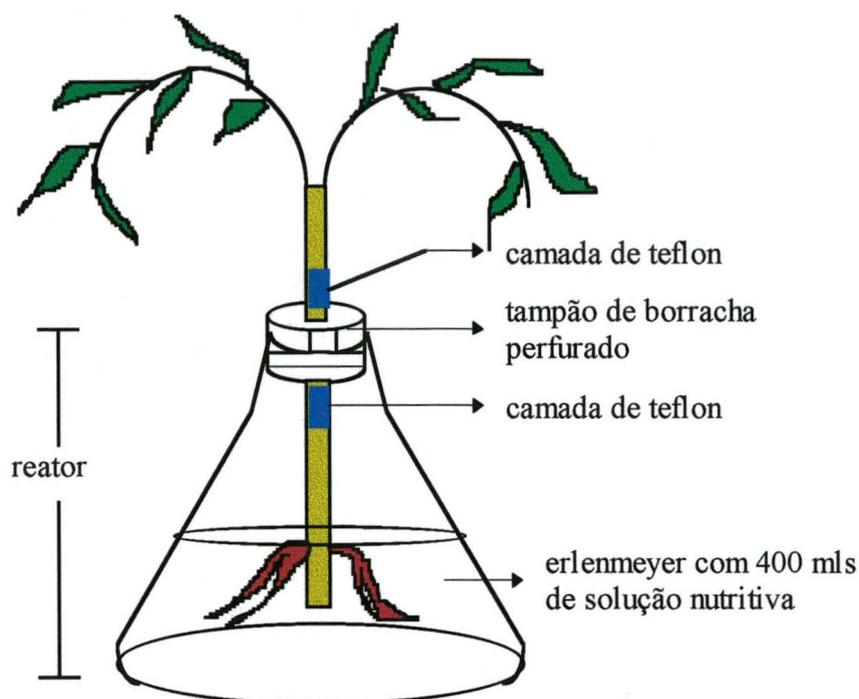


Figura 10 Visão esquemática da inserção das estacas de *S. babylonica* nos reatores utilizados para os experimentos.

Tabela 1. Composição química presente na fórmula da solução nutritiva de Hoagland *half strength* utilizada para cultivo hidropônico de *Salix babylonica*.

Macronutrientes	Concentração (mg/L)*
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	0,57
$\text{KNO}_3$	3,0
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	4,72
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2,46
Quelato de Ferro	6,18
<b>Micronutrientes</b>	
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,11
$\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,04
$\text{H}_3\text{BO}_3$	0,03
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,0012
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,00012
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,00012

\*Concentrações obtidas a partir das respectivas soluções estoques



Figura 11 Visão geral da estufa aonde foram conduzidos os experimentos de absorção direta e de fitotoxicidade com estacas de *S. babylonica*. O local pertence ao laboratório de Remediação de Águas Subterrâneas (REMAS) do Depto. de Engenharia Sanitária e Ambiental e está situado no *campus* da UFSC.

Em termos estatísticos, os experimentos de absorção direta utilizaram abordagens completamente randomizadas e baseadas no teste de hipóteses (Rothman e Ericson, 1987). Foram realizados com no mínimo três repetições por tratamento (cada repetição consistiu de um reator com a presença de uma única estaca) e, por se tratarem de amostras independentes, utilizou-se para a comparação das médias o teste-t de Student, para os experimentos de absorção direta com dois grupos de amostras/ 2 tratamentos, e a análise de variância em uma direção (One-way ANOVA), para os experimentos de absorção direta com mais de 2 grupos de amostras/3 tratamentos. Os valores médios para a remoção dos contaminantes, em termos de massa, foram correlacionados em função da transpiração através da utilização da regressão linear e do coeficiente de correlação ( $r^2$ ) (Rothman e Ericson, 1987).

O balanço de massa nos reatores também foi alternativamente utilizado como meio de se avaliar indiretamente a massa dos compostos químicos removida dos reatores. Para este fim utilizou-se a seguinte equação:

$$C = m / V \quad (1)$$

aonde C = concentração do contaminante na solução, mg/L

m = massa restante do contaminante, mg

V = volume de água transpirado pela planta, mL/dia.

Os experimentos de absorção direta para o nitrato e o etanol foram conduzidos, por um período mínimo de 4 dias, sob condições de estufa, onde os reatores foram organizados de modo aleatório como mostram as setas na figura 12. A localização desta estrutura também foi orientada de modo a receber constante e uniformemente a luz solar (Castellane e Araujo, 1995).

#### 3.4.2 Absorção direta do nitrato

Este experimento foi dividido em duas etapas. Na primeira investigou-se a absorção do íon  $\text{NO}_3^-$  (na forma de nitrato/nitrogênio) a partir da adição de  $\text{KNO}_3$  em solução nutritiva. Já na segunda, avaliou-se a sua absorção sem a presença da solução nutritiva e dos outros íons que a compõem, somente houve a adição do  $\text{KNO}_3$  a água destilada.

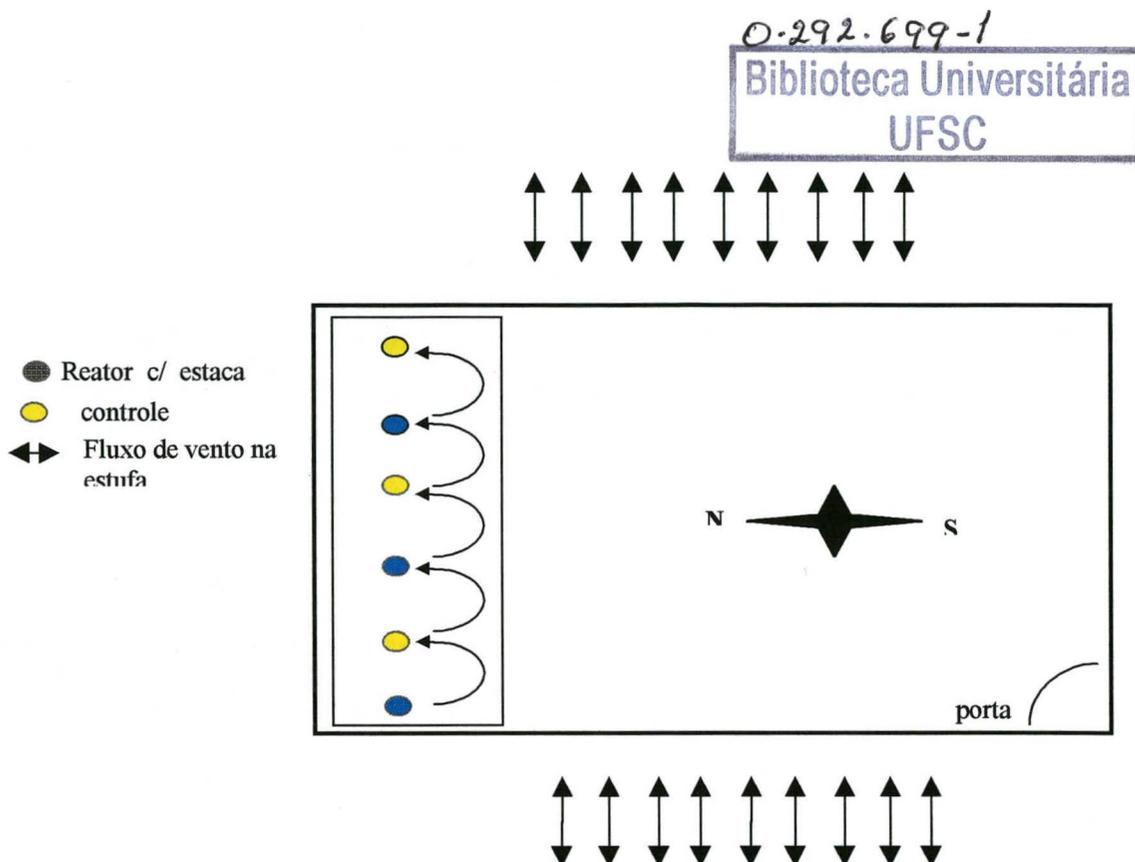


Figura 12. Visão esquemática da organização dos reatores na estufa.

A massa adicionada de  $\text{KNO}_3$  (Merck) foi calculada analiticamente como a massa necessária para se alcançar uma concentração de  $\text{NO}_3^-$ -N (nitrato-nitrogênio) ao redor de 160mg/L em 400mL de solução nutritiva (Snoeynk e Jenkins, 1980). Para a absorção do íon nitrato isoladamente, isto é, sem a presença da solução nutritiva, executou-se somente a adição de  $\text{KNO}_3$  diluído em 400 mL de água destilada. A massa adicionada, neste caso, foi calculada para se alcançar uma concentração de  $\text{NO}_3^-$ -N na água ao redor de 120mg/L.

Alíquotas de 2ml foram retiradas diariamente de cada reator com auxílio de pipetas (1ml – Vidrex) e transferidas para frascos âmbar de 20ml. Os frascos foram selados com tampa rosqueável e posteriormente estocados em geladeira a 4°C.

Previamente à análise, as amostras foram submetidas a um processo de filtração com membranas de acetato de celulose (diâmetro de 0,45  $\mu\text{m}$  - Schleicher & Schuell) e, logo após, diluídas na proporção de 3:1 com água ultra-pura (18.3M $\Omega$ -cm). A leitura foi realizada em cromatógrafo iônico – marca Dionex-DX 120 com detecção efetuada a partir de uma célula de alta performance (DS4 – Detection Stabilizer). Alíquotas de 1ml das amostras foram injetadas manualmente em coluna para ânions IonPac® (AS4A-SC-4 mm)

com fluxo do eluente ajustado para  $2 \text{ mL/min} \pm 0.02$  e condutividade total entre 17 e  $18 \mu\text{S}$ . Previamente a cada lote de amostras analisadas foram utilizadas amostras padrões (com nitrato diluído a 5, 20 e 50 mg/L) para a elaboração da curva padrão.

#### 3.4.3 Absorção direta do etanol

Neste experimento a massa adicionada de etanol foi calculada analiticamente como a massa necessária para se alcançar uma concentração ao redor de 1500 mg/L em 400 mL de solução nutritiva. Alíquotas de 1 ml da fração líquida foram retiradas de cada reator em intervalos de 24 horas com auxílio de pipetas (1 ml - Vidrex ) e transferidos para frascos de 20ml. Os frascos foram selados com o auxílio de lacradores (Hewlett Packard-HP) e estocados em freezer a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  para posterior análise por cromatografia gasosa.

Análises do etanol foram realizadas em um cromatógrafo a gás (CG) marca Hewlett Packard (HP) 5890 - Série II acoplado ao aparelho "Headspace Sampler" HP 7694. A leitura do etanol no CG foi feita através de detector de chama ionizada (FID), sendo as amostras injetadas em coluna capilar HP-1 (30m comprimento , 0.53 mm de diâmetro e  $2.65 \mu\text{m}$  de espessura, HP) com um fluxo de gás de  $3 \text{ mL/min}$ . As condições de operação do aparelho foram as seguintes: temperatura do forno de  $90^\circ\text{C}$ , temperatura do injetor de  $225^\circ\text{C}$  e temperatura do detector de  $250^\circ\text{C}$ . Previamente à análise de cada lote de amostras, foi feita a curva padrão com o auxílio de padrões com etanol a 500, 1000 e 1500 mg/L. O balanço de massa para o etanol utilizou a equação (1) e os parâmetros físico-químicos discriminados na tabela 2.

#### 3.4.4 Absorção direta do benzeno

Este experimento foi conduzido em regime semi-contínuo com o objetivo de simular uma situação real de contaminação de um aquífero supondo que o contaminante, uma vez dissolvido na água, obedecesse o mesmo fluxo de deslocamento do lençol freático.

Devido à característica altamente volátil do benzeno (tabela 2), o enraizamento das estacas e a posterior montagem deste experimento transcorreram em ambiente fechado com temperatura controlada para  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Doze lâmpadas fluorescentes (Phillips®) com 40 watts cada garantiram um período de iluminação de 16 horas/dia no ambiente. O modelo

dos reatores para este experimento também foi modificado. Decidiu-se pela utilização de frascos menores (volume total de 300ml) com tampa de teflon rosqueável reforçada apropriadamente no lado externo com uma camada de PARAFILM<sup>®</sup> (figura 14). Todos estes cuidados tiveram por objetivo minimizar o potencial de perda deste composto por processos de volatilização e adsorção.

Para o controle das perdas do contaminante devido à fenômenos de biodegradação, a solução nutritiva dos controles além de previamente esterilizada em autoclave foi adicionada com 1g/L de azida de sódio.

A massa adicionada de benzeno foi calculada analiticamente como a massa necessária para se alcançar uma concentração ao redor de 20mg/L em 250mL de solução nutritiva. Devido a solubilidade do benzeno (tabela 2), utilizou-se para a adição do contaminante nos reatores uma solução estoque preparada a partir da adição deste composto em água destilada até o ponto de saturação. Previamente à sua adição nos reatores, a solução estoque permaneceu em agitador orbital em ambiente fechado a 25 °C durante três dias.

A concentração do benzeno após o equilíbrio na fase aérea dos reatores foi calculada em função do volume de fase aérea disponível após a fase líquida nos reatores (55ml), da sua concentração inicial na água (20mg/L), da temperatura ambiente do local (25°C) e das características físico-químicas do composto em questão, como pressão de vapor e constante de Henry ( $K_H$ ). O valor encontrado foi de 0.00417mg/L. Portanto, apenas 0,005% da massa inicial do benzeno poderia ser encontrada na fase aérea dos reatores, nestas condições, após o equilíbrio.

Alíquotas de 1ml da fração líquida foram retiradas de cada reator em intervalos de 24 horas com auxílio de pipetas (1ml - Vidrex ) e transferidos para frascos de 20ml. Os frascos foram selados com o auxílio de lacradores (Hewlett Packard-HP) e estocados em freezer a 4°C para posterior análise por cromatografia gasosa. A leitura do benzeno foi realizada em um cromatógrafo a gás (CG), marca Hewlett Packard (HP) 5890 - Série II acoplado ao aparelho "Headspace Sampler" HP 7694, sendo o "Headspace" programado para operar a uma temperatura de 75°C durante 3 minutos para a extração da fração gasosa do benzeno dos frascos.



Figura 13 Reator com estaca de *S.babylonica* em fase de enraizamento. O mesmo modelo de reator foi utilizado para os experimentos de absorção direta do nitrato e do etanol e também para os experimentos de fitotoxicidade.

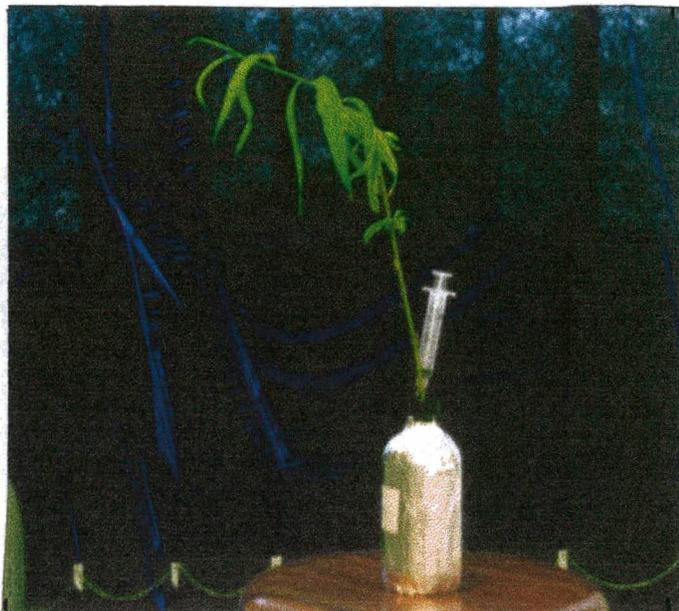


Figura 14 Reator com estaca de *S.babylonica* utilizado para o experimento de absorção direta do benzeno

A leitura do benzeno no CG foi feita através de detector de chama ionizada (FID) sendo as amostras injetadas em coluna capilar HP-1 (30m comprimento, 0.53mm de diâmetro e 2.65µm de espessura, HP) com um fluxo de gás de 3mL/min. As condições de operação do aparelho foram as seguintes: temperatura do forno de 90°C, temperatura do injetor de 225°C e temperatura do detector de 250°C. Previamente à análise de cada lote de amostras, foi feita a curva com o auxílio de padrões adicionados com benzeno a 1, 5 e 10mg/L.

### 3.5. Experimento de Fitotoxicidade com o Etanol

#### 3.5.1 Delineamento experimental

A metodologia utilizada neste experimento adotou o procedimento descrito por Thompson et al. (1998) e foi baseado em diferenças nas medidas de transpiração entre plantas dosadas com concentrações variadas de etanol e seus controles. A transpiração foi monitorada por gravimetria através de balança analítica manual e a massa adicionada de etanol (Merck) foi calculada como a massa necessária para que se alcançasse concentrações de 500, 1000 e 2000 mg/L na solução nutritiva.

O ensaio foi realizado de modo semi-contínuo sendo a solução totalmente substituída a cada nova dosagem com o etanol. A biomassa fresca total de cada planta foi pesada antes do início das dosagens com o objetivo de se normalizar os resultados obtidos para o volume de água transpirado por cada planta (em mL/dia). Desta forma, pôde-se minimizar as defasagens de volume de água transpirado ocasionados por diferenças de biomassa entre cada planta e, assim, homogeneizar o conjunto de dados para cada tratamento.

Em termos estatísticos, o experimento de fitotoxicidade utilizou uma abordagem completamente randomizada e baseada no teste de hipóteses. Foram realizados no mínimo três repetições por tratamento (cada repetição consistiu de um reator com a presença de uma única estaca) e, por se tratarem de amostras dependentes, utilizou-se para a comparação das médias o teste-t pareado (Rothman e Ericson, 1987).

O experimento foi totalmente conduzido sob condições de estufa.

Tabela 2. Propriedades físico-químicas do etanol e benzeno.

Propriedades	Etanol	Benzeno
Fórmula Molecular	$C_2H_5OH$	$C_6H_6$
Peso Molecular	46,07	78,11
Densidade a 25 °C	0,79	0,87
Solubilidade em água a 25 °C (mg/L)	-	1791
Log do Coeficiente de Partição octanol/água ( $K_{ow}$ )	-0,31	2,13
Pressão de vapor a 20 °C (mm Hg)	-	75,2

Notas: Hg = mercúrio

Fonte : Howard (1990)

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1 Experimentos de Absorção Direta

##### 4.1.1 Absorção direta do nitrato

A remoção do nitrato a partir da solução hidropônica foi avaliada de duas maneiras: diretamente pelos resultados obtidos a partir das leituras no cromatógrafo iônico ou avaliadas indiretamente utilizando a equação de balanço de massa. Em termos de concentração, observou-se que os valores médios obtidos para o  $\text{NO}_3\text{-N}$ , tanto nos reatores com estacas como para o controle se mantiveram praticamente estáveis ao longo do experimento (figura 15). A concentração na solução para os reatores com estacas variou de 166,20 para 154,89 mg/L, o que representou uma redução de apenas 6,8 % na sua concentração original. Os valores obtidos para o controle também demonstraram pouca variação nos seus valores, estabilizando-se na faixa de 145mg/L no final da data de amostragem.

Quando expresso em termos de balanço de massa, por outro lado, os resultados para o tratamento com estacas demonstraram de maneira mais pronunciada o processo de absorção sofrido pelo nitrato (figura 16). A massa do  $\text{NO}_3\text{-N}$  na solução ao longo experimento, neste caso, decresceu de 63,23mg para 45,74 mg, representando uma redução de 27,6% em relação a sua massa original. Já o valor obtido para a massa do controle ao final do experimento foi de 57,41mg, o que significou uma redução de apenas 6,42 % em relação a sua massa inicial (Apêndice A).

Em nível estatístico, os resultados do teste t de Student revelaram que os valores médios obtidos para o  $\text{NO}_3\text{-N}$ , tanto para a concentração como para o balanço de massa, não foram significativamente diferentes daqueles obtidos para o controle para todos os tempos computados (Apêndice A). Contudo, os resultados para o tratamento com estacas indicaram uma tendência gradual para a redução da massa de nitrato na solução que não pode ser explicada pela ocorrência de fenômenos abióticos ou abióticos nos reatores, caso contrário, valores semelhantes teriam sido igualmente observados nos controles.

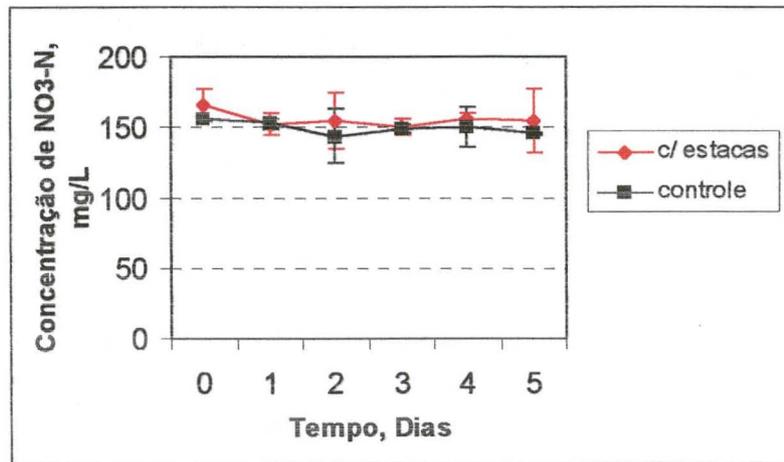


Figura 15 Concentração de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N (em mg/L) na solução hidropônica em função do tempo. Os valores mostrados representam a média de três repetições. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3.

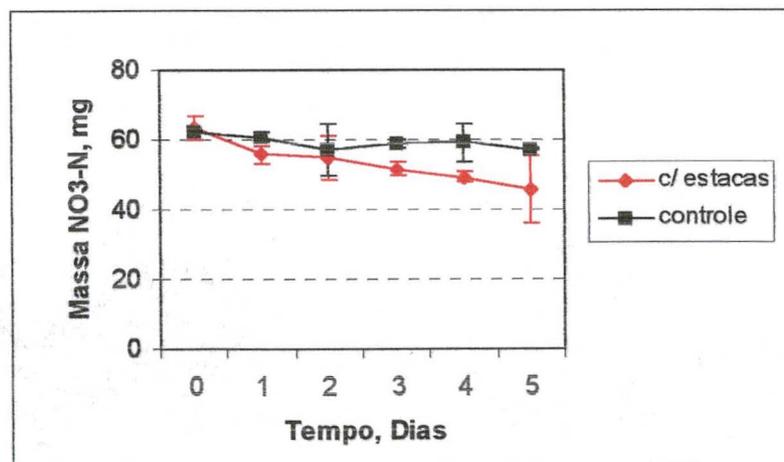


Figura 16 Massa de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N restante (em mg) na solução hidropônica em função do tempo. Os valores mostrados representam a média de três repetições e foram determinados pela equação de balanço de massa. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3.

Embora a concentração deste íon tenha permanecido aparentemente em equilíbrio (*steady state*) na solução, a depleção do volume de água dos reatores, como consequência da transpiração, foi o processo responsável pela redução da massa de  $\text{NO}_3^-$ -N nos reatores com estacas, como mostra a figura 17 (A, B e C), onde estão os valores para o  $\text{NO}_3^-$ -N juntamente com o volume da solução consumido pelas plantas em função das suas diferentes taxas de transpiração. Observa-se que a redução foi sensivelmente mais pronunciada para o reator com o maior valor médio para a transpiração diária (18,04 ml/dia) e conseqüentemente com o maior valor para o volume de consumo da solução (figura 17 A). Para este reator, o percentual de redução da massa de  $\text{NO}_3^-$ -N em relação a concentração inicial foi ao redor de 50% ao passo que, para os reatores com valores menores para a transpiração diária (15,40 e 10,04 ml/dia), as reduções foram ao redor de 15% (figura 17 B e C) (Apêndice A). Em nível estatístico, a regressão linear também apontou um alto índice de correlação os valores médios obtidos para a redução do  $\text{NO}_3^-$ -N nos reatores em função da transpiração das estacas ( $r^2 = 0,95$ ), comprovando assim a influência deste processo na absorção direta do  $\text{NO}_3^-$ -N a partir de cultivo hidropônico (figura 18).

O comportamento do  $\text{NO}_3^-$ -N nos reatores com estacas pareceu obedecer a cinética de absorção de nutrientes descrita por Jungk (1991), uma vez que a demanda nutricional das plantas foi suprida a partir da solução nutritiva. De acordo com esta cinética, o principal mecanismo de transporte envolvido no processo de absorção do nitrogênio e de outros elementos é o fluxo de massa, o qual é igual ao produto da multiplicação do volume de água transpirado pela concentração média de nutrientes presente na solução. Portanto, pode-se concluir que as variações obtidas para a redução da massa do nitrato foram linearmente relacionadas ao volume de água transpirado por cada reator.

A absorção vegetal de um determinado íon a partir da solução nutritiva também pode ser influenciada pela presença ou ausência de outros íons. A remoção de cádmio relatada para plantas do gênero *Brassica* (*B. juncea*) foi 47 vezes mais elevada a partir de cultivo em água destilada quando comparada a remoção a partir de cultivo em solução nutritiva. Tal aumento foi explicado pela ausência de "íons competidores" na solução, os quais limitaram a absorção de cádmio pela planta (Salt *et al.*, 1997).

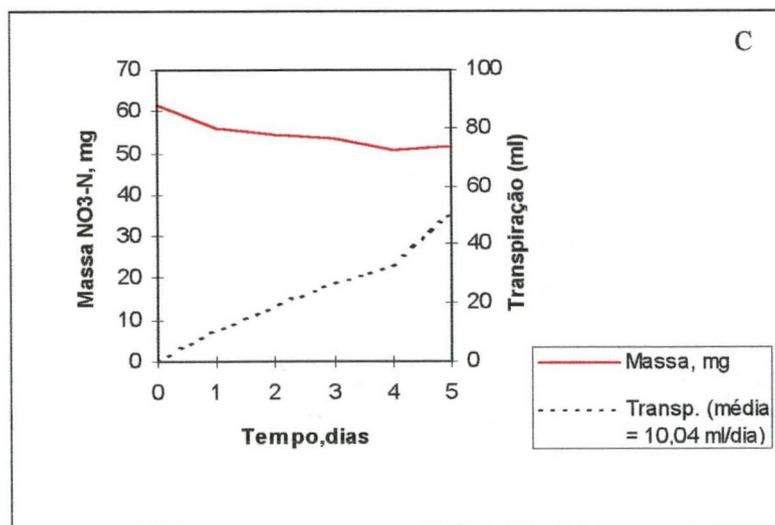
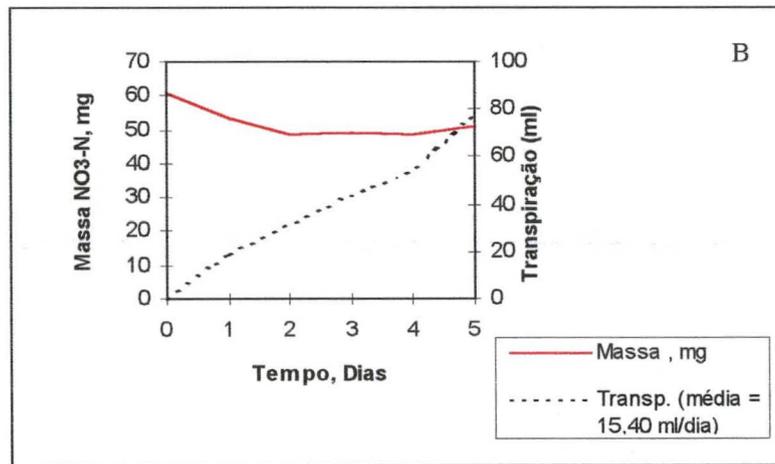
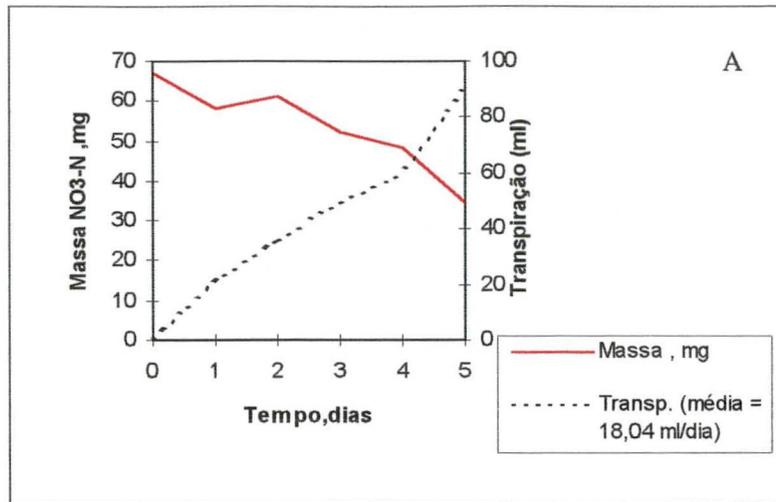


Figura 17 A, B e C. Massa de  $\text{NO}_3^-$ -N (em mg) restante na solução hidropônica e transpiração acumulada para reatores individuais com a presença de estacas de *S. babylonica*. Os valores obtidos para a massa de  $\text{NO}_3^-$ -N foram determinados pela equação de balanço de massa. A transpiração média diária para cada reator está mostrada na legenda.

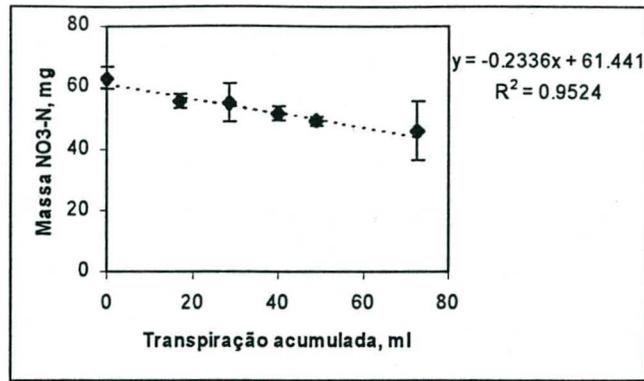


Figura 18 Massa de NO<sub>3</sub>-N (mg) em função da transpiração acumulada das estacas nos reatores.

Como a fórmula da solução nutritiva, como mostrado na tabela 1, contém como fontes de nitrogênio o fosfato de amônio dibásico (NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), o nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>) e o nitrato de cálcio (Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), decidiu-se pela repetição deste experimento sem a presença dos elementos que compõem a fórmula nutritiva da solução de Hoagland, usando-se somente água destilada e, como contaminante, o KNO<sub>3</sub>.

Os resultados obtidos mostraram que a concentração de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N para os reatores com estacas se manteve praticamente estável ao longo do experimento, apesar do declínio observado na passagem do dia 0 para o dia 1 (figura 19). Os valores iniciais e finais para este tratamento oscilaram de 122,86 para 103,68mg/L ao término da data de amostragem. O controle apresentou um comportamento similar ao tratamento com estacas durante os primeiros 3 dias, sendo que ao final do experimento o valor médio encontrado para a sua concentração foi de 95,67mg/L; portanto, abaixo do valor final encontrado para o tratamento com estacas.

Quando expressos em termos de balanço de massa, os resultados para o tratamento com estacas demonstraram, da mesma forma que o experimento anterior, uma tendência para a redução da massa de nitrato na água destilada (figura 20). Neste caso, os valores observados decresceram de 49,14mg para se estabilizarem com 33,74 mg ao término do experimento, o que representou uma redução de 31,33%. Apesar do controle ter apresentado uma redução de massa de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N na passagem do dia 0 para o dia 1, os seus valores foram sempre acima daqueles obtidos para o tratamento com estacas. O teste-t de Student realizado nas mesmas condições do experimento anterior revelou que os valores obtidos para o tratamento com estacas, tanto em termos de concentração como de massa, também não diferiram significativamente em relação ao seu controle (Apêndice A).

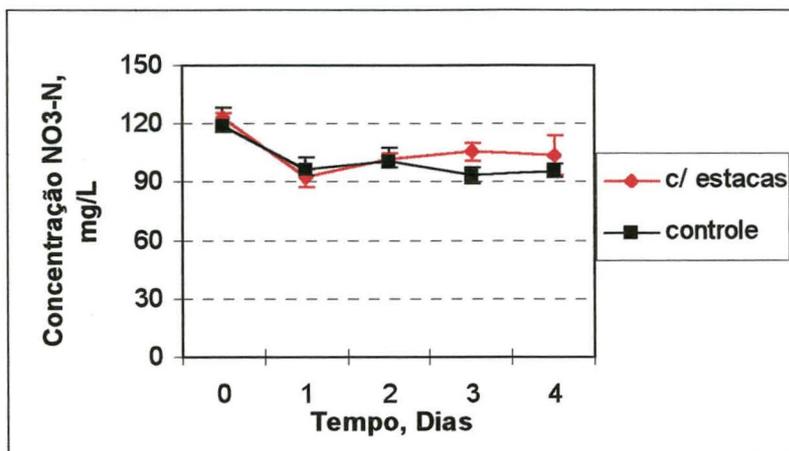


Figura 19 Concentração de  $\text{NO}_3\text{-N}$  (em mg/L) na água destilada em função do tempo. Os valores mostrados representam a média de três repetições. Barras de erro representam o desvio padrão para  $n=3$ .

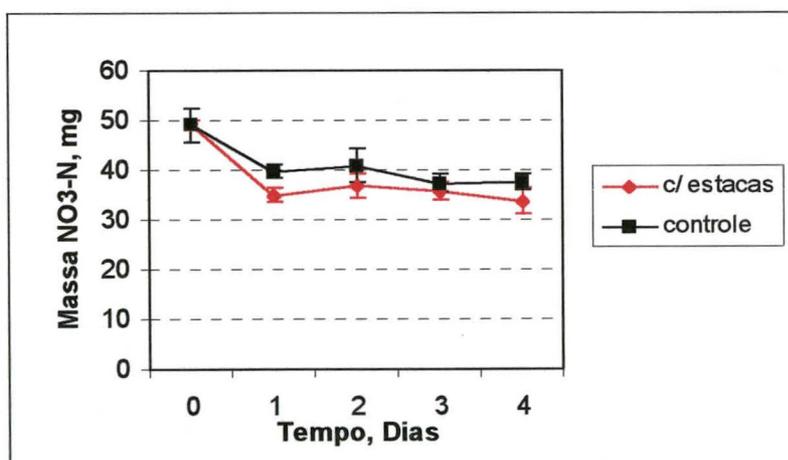


Figura 20 Massa de  $\text{NO}_3\text{-N}$  (em mg) restante na água destilada em função do tempo. Os valores mostrados representam a média de três repetições e foram determinados pela equação de balanço de massa. Barras de erro representam o desvio padrão para  $n=3$ .

Os resultados obtidos para os dois experimentos revelaram tendências semelhantes para a redução da massa do nitrato pelas estacas, independentemente do meio de cultivo utilizado. As diferenças obtidas entre ambos os experimentos para este parâmetro foram de apenas 3,67 % ( 27,66 e 31,33 respectivamente para o percentual de redução da massa do nitrato com e sem a presença da solução nutritiva) o que indica, portanto, que a eficiência de absorção do nitrato pelas estacas não foi influenciada pela presença de outros íons na solução nutritiva, descartando assim, a hipótese da ocorrência de competição iônica.

#### 4.1.2 Absorção direta do etanol

Os resultados obtidos neste experimento demonstraram que o comportamento do etanol na solução foi bastante influenciado pela presença de estacas e também pela presença isolada de suas raízes. O tratamento com estacas, por exemplo, mostrou reduções marcantes da concentração de etanol com valores médios que oscilaram de 1358,49 a 8,7 mg/L ao final do experimento, o que correspondeu a uma redução de 99,3% em relação a concentração original. O tratamento com a presença de raízes, por outro lado, foi responsável por reduzir em quase 50% a concentração de etanol na solução. Neste tratamento, os valores obtidos variaram de 1188,94 a 600mg/L após 4 dias do início das dosagens (figura 21). Quando os resultados obtidos para a concentração foram plotados na equação de balanço de massa pôde-se observar, pela figura 22, um padrão de resposta bastante similar àquele apresentado na figura anterior. O tratamento com estacas, por exemplo, apresentou valores médios que oscilaram de 543,39 a 4,69mg no final do experimento, ao passo que, no tratamento com a presença de raízes os valores iniciaram-se a partir de 475,57mg e decresceram para 236,34 mg ao final do experimento. Já o controle, tanto em nível de concentração como em nível de balanço de massa, manteve-se com valores praticamente estáveis ao longo do experimento (Apêndice A) .

A utilização da análise de variância (ANOVA) fator único permitiu a comparação estatística das médias obtidas para a redução do etanol em função dos tratamentos investigados. Em termos de concentração, os resultados obtidos pela ANOVA revelaram que as diferenças observadas entre os tratamentos foram significativas somente após o terceiro dia do experimento.

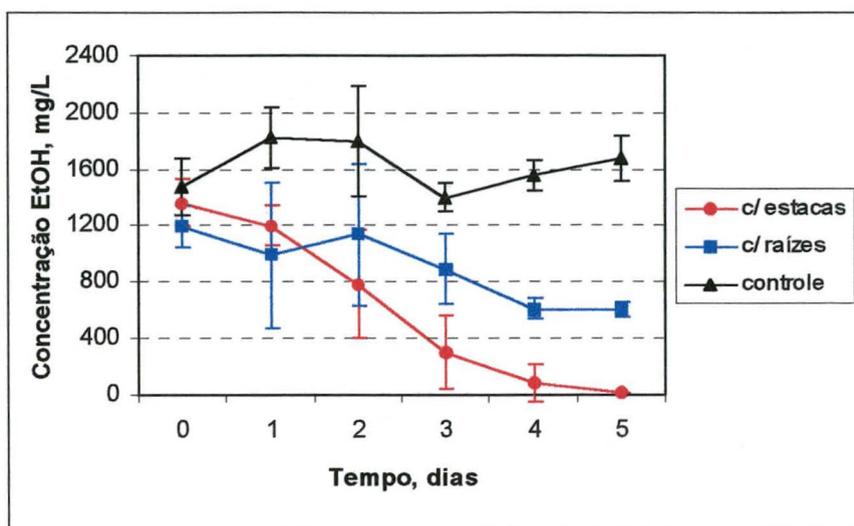


Figura 21 Concentração de Etanol (em mg/L) na solução hidropônica em função do tempo. Os valores mostrados representam a média de três repetições. Barras de erro representam o desvio padrão para  $n=3$ .

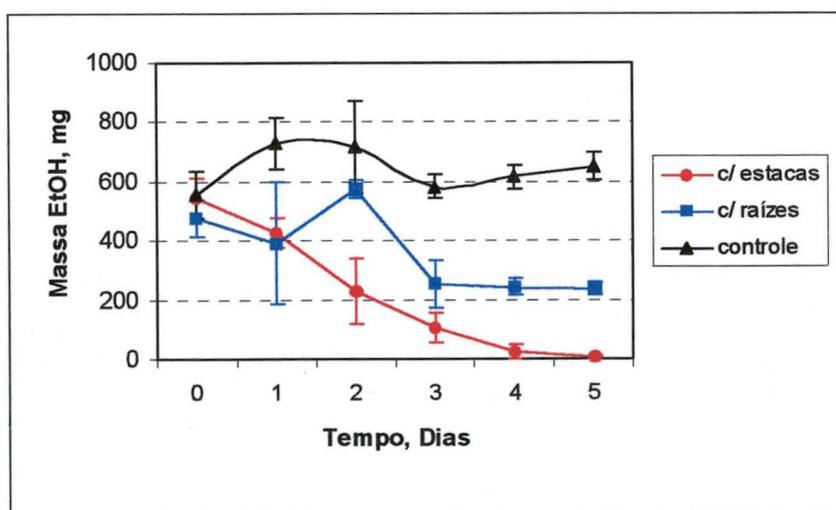


Figura 22 Massa de Etanol (em mg) restante na solução hidropônica em função do tempo. Os valores mostrados representam a média de três repetições e foram determinados pela equação de balanço de massa. Barras de erro representam o desvio padrão para  $n=3$ .

Em nível de massa, por outro lado, a ANOVA revelou diferenças estatisticamente significativas para todas as datas de amostragem, sendo que nas duas últimas datas, as diferenças observadas entre os tratamentos alcançaram um grau de probabilidade superior a 99% ( $p \geq 0.001$ ) (Apêndice A). Os resultados sugerem, portanto, que a depleção da massa do etanol observada na solução foi consequência de dois processos distintos: da sorção do etanol à superfície das raízes e da sua absorção pelo sistema radicular. Juntos, estes dois processos foram respectivamente responsáveis por uma depleção de 48 e 99,1% do etanol na solução de cultivo hidropônico.

Apesar das diferenças encontradas entre os tratamentos, não é possível visualizar uma relação direta entre o volume da solução consumido por cada estaca durante a transpiração e a subsequente absorção do etanol (figura 23 A, B e C). Porém, como a transpiração foi o processo responsável depleção do volume da solução nos reatores com estacas e, paralelamente a isto, a concentração e a massa de etanol diminuíram de maneira significativamente superior na solução em relação aos demais tratamentos, ficou claro que a entrada deste composto na planta ocorreu juntamente com a entrada da solução através da corrente transpirativa. A regressão linear realizada para os valores médios encontrados para a redução da massa do etanol em função da transpiração acumulada das estacas confirma estatisticamente este efeito com um alto coeficiente de correlação obtido a partir da equação da reta ( $r^2=0,99$ ) (figura 24).

Como foi descrito no capítulo I, tanto o processo de sorção de compostos orgânicos às raízes como a translocação destes na planta estão bastante relacionados a característica lipofílica dos compostos químicos orgânicos (Briggs *et al.*, 1982, Ryan *et al.*, 1988 e Burken, 1996). O processo de sorção dos químicos envolve duas fases: a sua partição à fração sólida e lipofílica das raízes, e a sua posterior absorção pela fração aquosa e polar destas. Esta última fase acontecendo tanto nos espaços intercelulares como no interior das células que formam o tecido radicular. Quando o composto orgânico é muito lipofílico (valor para o Log de  $K_{ow} > 3.0$ ) o fenômeno dominante no processo de sorção é a sua partição a fração sólida da raiz. Compostos muito polares (valor para o Log de  $K_{ow} < 0.5$ ), por outro lado, podem ficar adsorvidos a fração líquida das raízes. Como o processo de sorção foi responsável por quase 50% da depleção do etanol na solução, pode ser acrescentado que este composto obedeceu ao processo de sorção descrito acima.

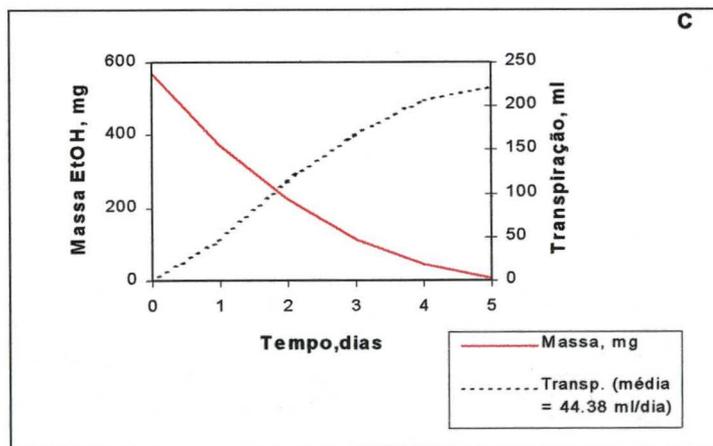
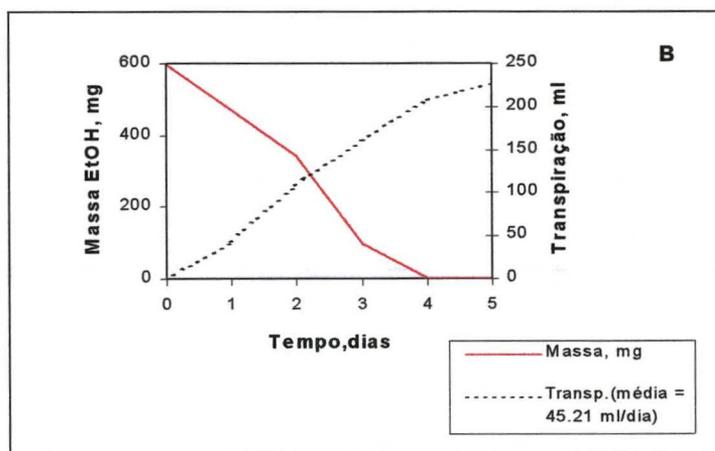
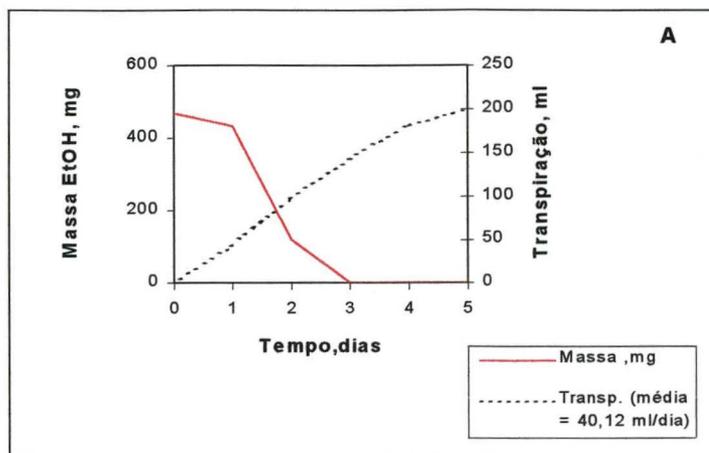


Figura 23 A, B e C. Massa de Etanol (em mg) na solução hidropônica e transpiração acumulada para reatores individuais com a presença de estacas de *S. babylonica*. A transpiração média diária para cada reator está mostrada na legenda.

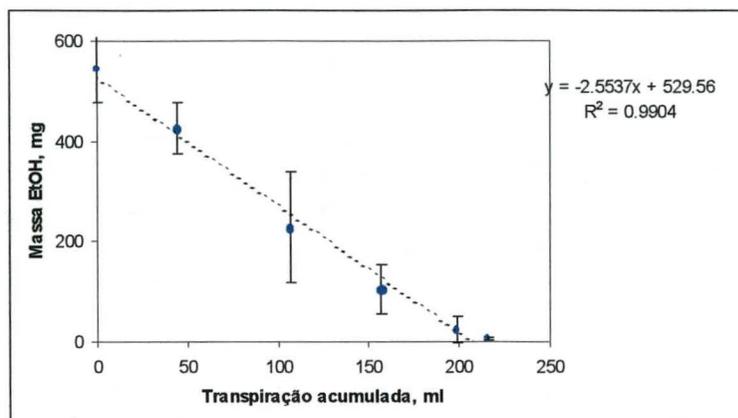


Figura 24 | Massa de Etanol (em mg) na solução hidropônica em função da transpiração acumulada das estacas nos reatores

A característica polar do etanol pode ter sido responsável pela sorção deste composto à fração aquosa e polar das raízes até o ponto de saturação (Briggs *et al.*, 1982; Ryan *et al.*, 1988)

Em relação a translocação do etanol, o seu valor para o Log de  $K_{ow}$  (-0.31) prevê uma movimentação bastante limitada nos tecidos vegetais. No entanto, os resultados obtidos demonstraram que a sua absorção foi bastante efetiva pelas estacas. A transpiração, neste caso, agiu como força motriz favorecendo a translocação deste composto das raízes para os ramos da planta, caso contrário a sua concentração ficaria estável nos reatores como consequência do processo de sorção.

#### 4.1.3 Absorção direta do benzeno

A concentração de benzeno neste experimento variou significativamente em função dos tratamentos testados (figura 25). No tratamento com estacas, por exemplo, nota-se que a concentração de benzeno oscilou de 5,95 a 0,15mg/L ao longo do experimento, o que representou reduções que variaram de 72 a 99,3% em relação aos valores obtidos para o controle, que mantiveram-se na faixa de 22mg/L ao longo do experimento. O tratamento com a presença de raízes apresentou valores intermediários durante o período de amostragem. Os valores obtidos para este tratamento durante a data inicial estiveram na faixa de 4,5mg/L e foram aumentando gradualmente até o final do experimento, onde o valor médio encontrado foi de 14,6mg/L. (Apêndice A).

Para se determinar se as médias obtidas para a redução do benzeno diferiram significativamente em função dos três tratamentos investigados, utilizou-se a análise de variância (ANOVA) fator único (one-way). Os resultados obtidos pela ANOVA revelaram que as diferenças observadas entre os tratamentos foram estatisticamente significativas, com um grau de probabilidade superior a 99 % ( $p \geq 0.001$ ). Portanto, a concentração de benzeno na solução foi influenciada por dois processos: a sua sorção à superfície das raízes e a absorção pelo sistema radicular. O fenômeno de sorção foi responsável inicialmente por uma depleção de até 79,5% do benzeno na solução. Este valor, contudo, decresceu ao final do experimento para 33,2%. Tal redução demonstrou que a sorção, neste caso, não agiu como um processo contínuo. Pelo contrário, o aumento gradual da concentração na solução indicou uma tendência de saturação para a sorção do benzeno à superfície das raízes (Apêndice A).

A concentração de benzeno na solução também foi bastante influenciada pela transpiração das estacas (figura 26). Nota-se pela figura que tanto a concentração de benzeno na solução como a transpiração diária obedeceram a um padrão de resposta simetricamente oposto. A transpiração novamente comandou o processo de absorção do benzeno, favorecendo a sua translocação das raízes para os ramos através da corrente transpirativa das estacas a favor de um gradiente de concentração; caso contrário a sua concentração aumentaria nos reatores como consequência do processo de sorção.

Como comentado anteriormente, as características físico-químicas do benzeno sugerem ser este um composto bastante adequado para ser absorvido pela vegetação. O seu valor para o  $\text{Log } K_{ow}$  (2.13), por exemplo, se insere dentro do intervalo entre 0.5 e 3, o que indica um elevado potencial para a absorção e translocação deste composto no sistema vascular das plantas (TSCF próximo de uma unidade). A absorção direta do benzeno a partir de cultivos hidropônicos em solução nutritiva já foi investigada para o gênero *Populus* sp. (Burken, 1996). Análises das amostras líquidas por cromatografia gasosa revelaram que as reduções observadas, que corresponderam a 30 % da concentração de benzeno original após 4 dias de experimento, foram consequência do processo de absorção direta pelas raízes. Análises da fração gasosa dos reatores indicaram ainda que este composto, após absorvido, foi translocado para a região da parte aérea da planta onde foi volatilizado pelas folhas. A volatilização, neste caso, esteve bastante relacionada às taxas transpirativas das plantas. Resultados adicionais com absorção do benzeno a partir de experimentos conduzidos no solo também evidenciaram o processo de volatilização deste

composto pelas folhas juntamente com o processo de mineralização no solo, promovido pela atividade microbiana. Ambos os processos contribuíram significativamente para a redução da massa deste composto.

No entanto, algumas considerações merecem ser colocadas principalmente no que concerne a sua utilização para fins de remediação de contaminantes orgânicos voláteis. A volatilização pelas folhas como destino final de contaminantes orgânicos voláteis, como foi observado com o benzeno, não é o objetivo almejado pela fitorremediação, embora a sua liberação lenta e de maneira controlada através das árvores seja até certo ponto aceitável quando os compostos presentes na água atinjam concentrações que excedam em muito os padrões de potabilidade estabelecidos por lei. Contudo, muitos profissionais que trabalham com a remoção de contaminantes químicos de solos e águas superficiais e subterrâneas (na sua maioria microbiologistas, químicos e engenheiros ambientais) têm expressado preocupação a respeito dos possíveis impactos ambientais da fitorremediação, principalmente aqueles relacionados a contaminação da cadeia alimentar. É importante lembrar, no entanto, que mesmo em locais que tenham sofrido algum tipo de contaminação, ou sejam alvo de despejos industriais, não estão isentos de virem a sofrer as consequências dos possíveis impactos ambientais que os compostos químicos orgânicos podem provocar devido a sua interação com a comunidade vegetal ali presente. Tecnologias atualmente utilizadas nos Estados Unidos para a limpeza de locais contaminados, além de não atingirem 100 % de eficácia, costumam ocasionar outros problemas como a destruição do perfil do solo, trazendo como consequência sérios prejuízos ecológicos ao local. As alternativas atualmente viáveis para a remediação de águas subterrâneas, no caso de contaminantes orgânicos voláteis, envolvem a utilização de bombeamento e extração de vapores do solo (SVE), as quais consistem na transferência destes compostos para a atmosfera sob a forma de vapores e a um custo muito elevado. A utilização de árvores para a remoção destes contaminantes e a sua posterior conversão a metabólitos inativos nos tecidos vegetais, como já foi relatado para o TCE, atrazina e TNT, não seria uma tecnologia ecologicamente mais correta, além de mais viável economicamente?

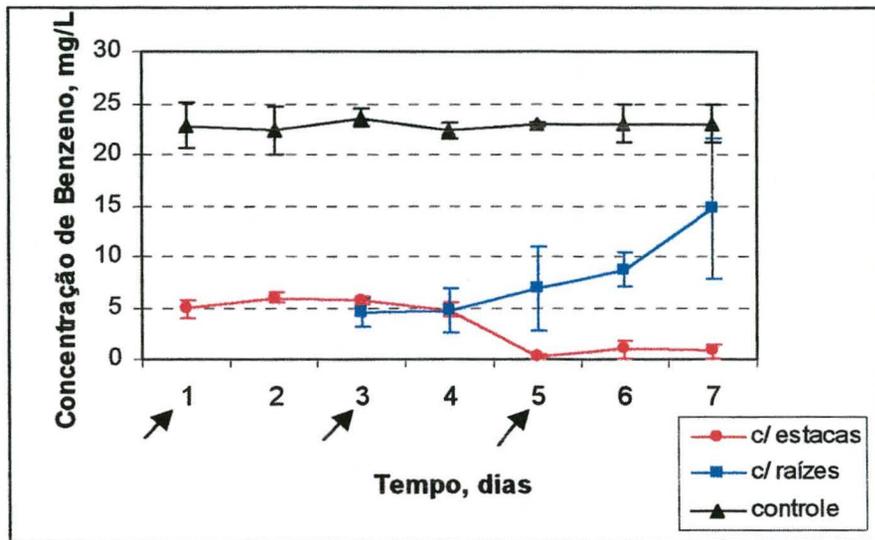


Figura 25 Concentração de Benzeno (em mg/L) na solução hidropônica de reatores com a presença de estacas de *S. babylonica* em regime semi-contínuo. Os valores mostrados representam a média de três repetições, exceto para o tratamento com a presença de raízes. Barras de erro representam o desvio padrão para  $n=3$ , exceto para o tratamento com raízes ( $n=2$ ). Setas indicam as datas de adição do Benzeno na solução.

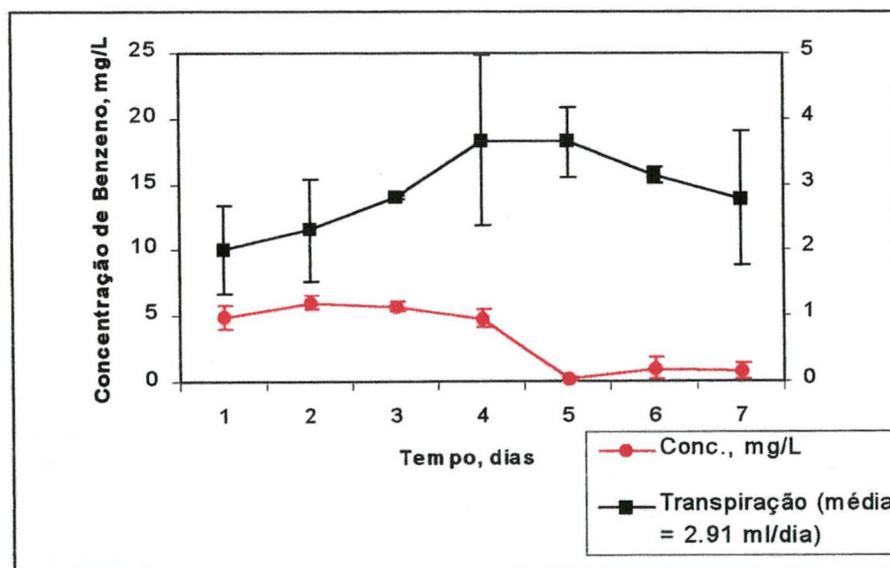


Figura 26 Concentração de Benzeno (em mg/L) na solução hidropônica e transpiração diária para reatores com a presença de estacas de *S. babylonica*. Os valores mostrados representam a média de três repetições. Barras de erro representam o desvio padrão para  $n=3$ . A transpiração média está mostrada na legenda.

#### 4.2. Experimento de Fitotoxicidade com o etanol

Uma característica peculiar da gasolina brasileira é a presença do etanol a 22%. Por ser totalmente solúvel em água, derramamentos de gasolina podem contribuir para que este composto esteja presente em altas concentrações nas águas subterrâneas, o que pode representar riscos de toxicidade às espécies envolvidas no processo de fitorremediação. Para a avaliação do efeito fitotóxico do etanol, foram realizados experimentos com concentrações variadas do etanol. Os resultados obtidos revelaram que os valores obtidos para a normalização da transpiração pela biomassa (em mL/g) para os dois grupos de plantas foram praticamente similares quando as dosagens de etanol estiveram na faixa de 0 a 1000mg/L, como mostram as figuras 27, 28 e 29. As variações observadas nos padrões de resposta também demonstraram uma relação bastante próxima com as variações encontradas para a temperatura média no período. A presença de sintomas visíveis de fitotoxicidade, como o secamento e abscisão das folhas ou clorose, indicaram que as concentrações testadas durante os doze primeiros dias do experimento aparentemente não provocaram danos fisiológicos nas plantas.

Após o décimo segundo dia, no entanto, aumentou-se a concentração de etanol nos reatores para 2000mg/L. Como pode ser observado pela figura 30, os reatores contendo plantas dosadas demonstraram o efeito fitotóxico desta concentração 24 horas após o início do aumento da dosagem. Os valores obtidos para o controle confirmaram este efeito. É importante notar que a influência da temperatura, nesta concentração, também influenciou nos padrões de resposta para ambos os grupos de plantas, o que demonstra que esta dosagem, apesar de provocar reduções nas taxas de transpiração, não foi suficiente para ocasionar a morte das plantas.

Os valores encontrados para o teste-t pareado revelaram que as defasagens encontradas entre os dois grupos de plantas para o volume de água transpirado durante os doze primeiros dias do experimento não foram estatisticamente significativos, o que sugere que as três primeiras concentrações testadas de etanol não foram suficientemente tóxicas para provocar alterações no comportamento fisiológico das plantas. No entanto, com a elevação da concentração de etanol para 2000mg/L, o teste-t revelou, com exceção dos dias 16 e 21, que os dois grupos de plantas apresentaram diferenças significativas em relação aos valores da normalização da transpiração pela biomassa, demonstrando assim o potencial fitotóxico do etanol nesta concentração (Apêndice A).

Na figura 31 estão apresentados os resultados obtidos para o experimento de fitotoxicidade em função de todas as concentrações testadas de etanol. Observa-se que os valores médios obtidos para a normalização da transpiração pela biomassa para os dois grupos de plantas a 0, 500 e 1000mg/ L de etanol são bastante próximos e que as diferenças entre ambos os grupos de plantas nesta concentrações tiveram uma faixa de variação de 0,05 a 0,10 mL/g. Na concentração de 2000 mg/L, no entanto, estas diferenças chegaram a 0.57 mL/g. Tais resultados refletem, portanto, o potencial fitotóxico do etanol nesta concentração. Em termos estatísticos, o teste-t comprovou que as diferenças observadas entre os dois grupos de plantas foram significativas ( $P \geq 0.001$ ) somente nesta concentração (Apêndice A).

A comparação entre as taxas transpirativas de plantas dosadas e seus controles são metodologias comumente utilizadas para a avaliação do potencial fitotóxico de compostos químicos orgânicos sobre a fisiologia e o crescimento de espécies de plantas. Em estudos com o nitrobenzeno, por exemplo, foram encontradas reduções nas atividades fotossintéticas e transpirativas de oito espécies de plantas com uma dosagem inferior a 10 mg/L. A redução de tais atividades, que caracterizam os principais sintomas de fitotoxicidade na planta, foram identificados após dez horas da adição do nitrobenzeno na solução (McFarlane e Pfleger, 1990). O potencial fitotóxico do tri-nitrotolueno (TNT) em árvores do gênero *Populus* sp. também foi investigado. Os resultados demonstraram que decréscimos significativos nos valores da normalização da transpiração pela biomassa somente foram observados quando a concentração deste composto foi aumentada de 5 para 25mg/L após quatro semanas de amostragem. Parâmetros adicionais como as comparações entre a medidas de diâmetro do caule também foram metodologias utilizadas para evidenciar o efeito fitotóxico deste composto, embora não tenham revelado diferenças estatisticamente significativas (Thompson et al., 1998).

Outras abordagens científicas, como cultura de células em meio líquido, também têm permitido caracterizar o efeito fitotóxico do 4-n-nonifenol, composto químico orgânico originado a partir de surfactantes aniônicos. Em estudos com cultivo de 14 linhagens diferentes de suspensões celulares, Bokern e Harms (1997) concluíram que a concentração deste composto responsável por ocasionar efeitos fitotóxicos em 100 % das linhagens celulares encontrou-se na faixa de 0,05 a 1mM. Para este caso, o parâmetro fisiológico que caracterizou o efeito fitotóxico foi a redução de 50% no crescimento das culturas de suspensões celulares em relação ao controle.

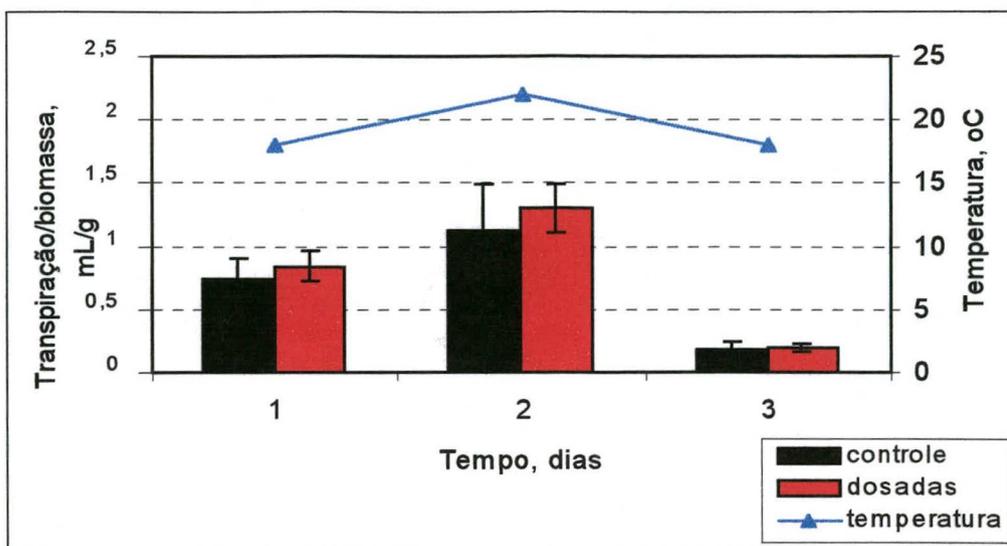


Figura 27 Normalização da transpiração pela biomassa ( em ml/G) e temperatura média ( em °C) em função do tempo para reatores com a presença de estacas de *S. babylonica*. Concentração de etanol na solução = 0 mg/L. Os valores mostrados representam a média de três repetições e foram determinados pela equação de balanço de massa. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3.

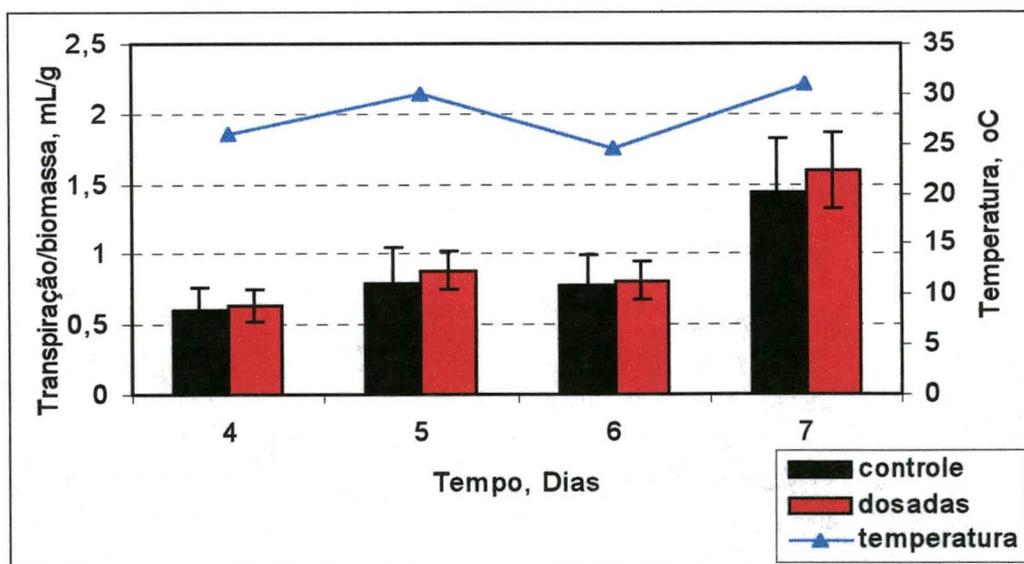


Figura 28 Normalização da transpiração pela biomassa ( em ml/G) e temperatura média ( em °C) em função do tempo para reatores com a presença de estacas de *S. babylonica*. Concentração de etanol na solução = 500 mg/L. Os valores mostrados representam a média de três repetições e foram determinados pela equação de balanço de massa. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3.

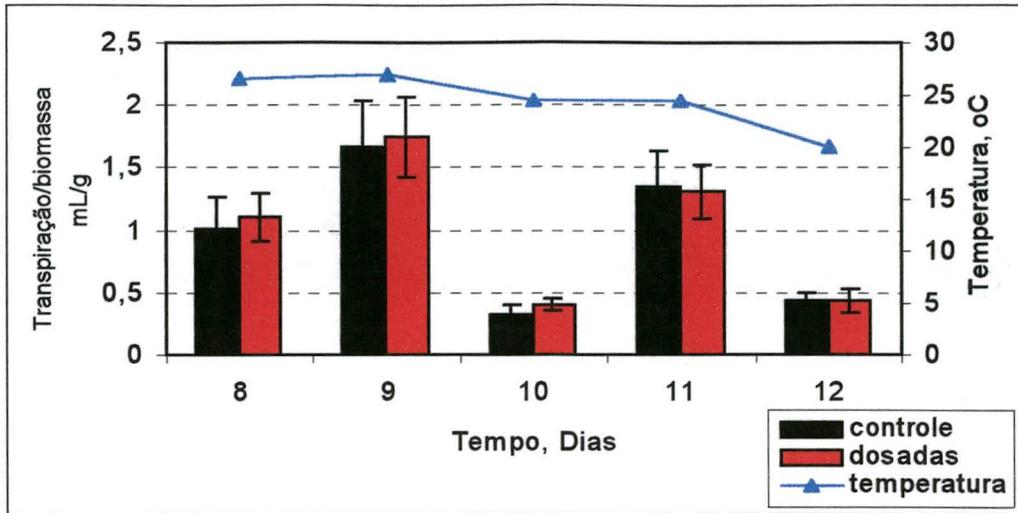


Figura 29 Normalização da transpiração pela biomassa ( em ml/G) e temperatura média ( em °C) em função do tempo para reatores com a presença de estacas de *S. babylonica*. Concentração de etanol na solução = 1000 mg/L. Os valores mostrados representam a média de três repetições e foram determinados pela equação de balanço de massa. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3.

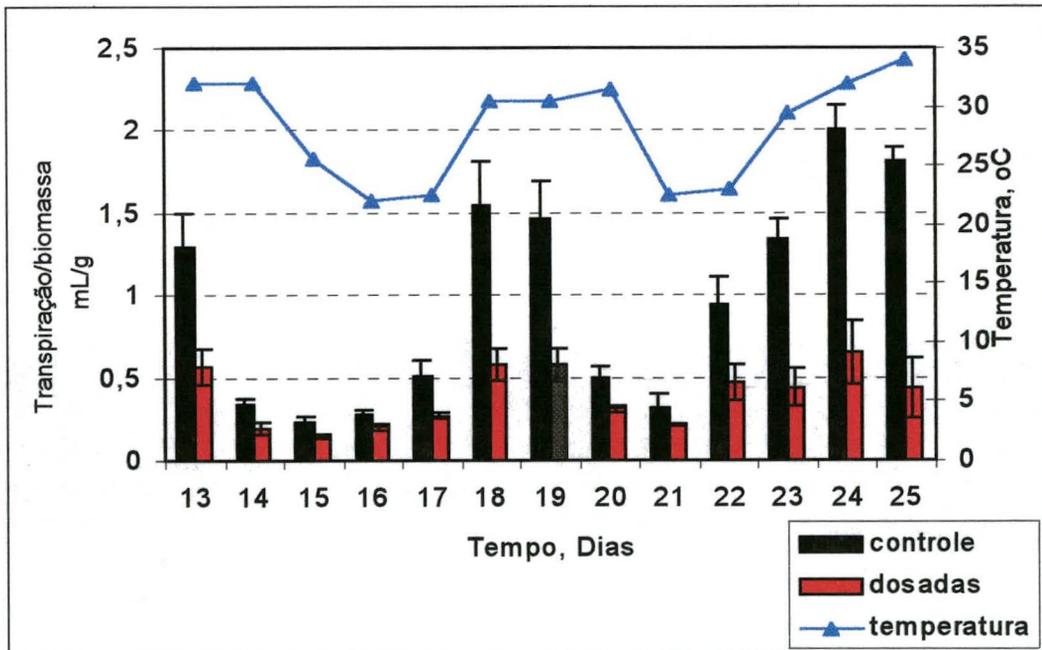


Figura 30 Normalização da transpiração pela biomassa ( em ml/G) e temperatura média ( em °C) em função do tempo para reatores com a presença de estacas de *S. babylonica*. Concentração de etanol na solução = 2000 mg/L. Os valores mostrados representam a média de três repetições e foram determinados pela equação de balanço de massa. Barras de erro representam o desvio padrão para n= 3.

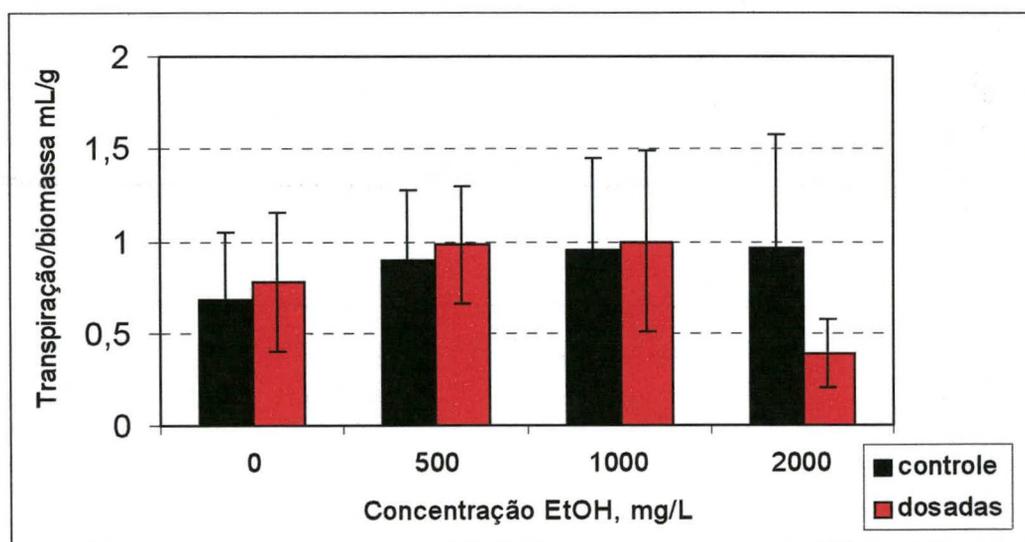


Figura 31 Normalização da transpiração pela biomassa ( em ml/G) em função da concentração de etanol para reatores com a presença de estacas de *S. babylonica*. Os valores e as barras de erro mostrados representam, respectivamente, a média e o desvio padrão obtidos para cada período de dosagem.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Este trabalho avaliou o potencial do chorão –*S. babylonica*– no processo de absorção direta do nitrato, etanol e benzeno como uma etapa inicial no estudo da fitorremediação e também permitiu acessar informações adicionais a respeito do potencial fitotóxico do etanol a esta espécie. As principais conclusões foram :

Os resultados obtidos para a absorção direta do nitrato em cultivo hidropônico demonstraram que não houve diferenças significativas entre os reatores com a presença de estacas e o controle para os valores registrados em nível de concentração por cromatografia iônica ou derivados a partir do balanço de massa. No entanto, a eficiência de remoção deste íon em relação a sua massa inicial no tratamento com estacas chegou a 27,6% e foi consequência da depleção do volume de água como resultado da atividade de transpiração das estacas. No reator cujo valor médio para a transpiração diária foi o mais elevado, o percentual de redução chegou a 50%. Tais resultados indicaram que a massa de nitrato nos reatores foi significativamente influenciada pela transpiração das plantas e pareceu obedecer a cinética de absorção de nutrientes, envolvendo o fluxo de massa como principal mecanismo de transporte. Experimentos adicionais conduzidos com a adição isolada de  $KNO_3$  em água destilada revelaram que a presença de outros íons na solução não afetou a absorção do nitrato pelas estacas, o que descartou a hipótese de competição iônica

Já para o experimento de absorção direta com o etanol em cultivo hidropônico, os resultados revelaram diferenças significativas tanto em nível de concentração como em nível de balanço de massa. Para o tratamento com a presença de estacas a eficiência de remoção deste contaminante da solução foi de 99 % em relação a sua concentração inicial e foi notada a partir do terceiro dia do experimento. A presença isolada de raízes foi também responsável por uma redução de 48% do etanol na solução e foi consequência do processo de sorção deste composto à superfície das raízes. O efeito da transpiração na redução do etanol foi demonstrado estatisticamente através da utilização regressão linear, sugerindo assim que a entrada deste composto ocorreu juntamente com a entrada da água nas raízes pela corrente transpirativa.

Os resultados para a absorção direta do benzeno demonstraram que os tratamentos

testados influenciaram significativamente na sua concentração na solução. O tratamento com a presença de estacas revelou reduções de até 99% na concentração de benzeno e foi bastante influenciado pela transpiração, a qual viabilizou a entrada do benzeno na planta, através da corrente transpirativa, simultaneamente com a entrada da solução. O comportamento do benzeno na solução variou bastante no tratamento com a presença isolada de raízes. As reduções para a concentração do benzeno neste tratamento foram observadas nas datas iniciais do experimento e foram devidas ao processo de sorção do benzeno à superfície das raízes até o ponto de saturação, a partir do qual houve o aumento gradual da concentração de benzeno na solução até o final do experimento.

Os resultados para a fitotoxicidade do etanol revelaram diferenças significativas entre as plantas dosadas e o controle somente quando a concentração de etanol foi aumentada para 2000mg/L a partir do 13º dia. Nesta concentração, foi observada que a diferença entre ambos os grupos de plantas, para a normalização da transpiração pela biomassa chegou quase a 60%. Por outro lado, em dosagens inferiores (na faixa de 0 a 1000 mg/L) as diferenças observadas foram no máximo de 12%. No entanto, em todas as concentrações testadas, os padrões de resposta observados entre os dois grupos de plantas foram bastante influenciados pela temperatura média do local. Apesar da ocorrência de reduções nas taxas transpirativas das plantas a 2000mg/L de etanol, sintomas aparentes de fitotoxicidade como o secamento e abscisão das folhas ou clorose não foram observados no decorrer do experimento, o que pode indicar que esta dose não foi letal para as plantas

Os resultados deste estudo indicaram que, sob as condições testadas, o “chorão” tem o potencial de absorver, diretamente pelo sistema radicular, nitratos, etanol e benzeno em determinadas concentrações, o que pode significar que esta espécie poderia ser utilizada com o objetivo de se remediar locais contaminados por resíduos de práticas agrícolas, como é o caso do nitrato, ou compostos químicos orgânicos provenientes de derramamentos de gasolina, como é o caso do etanol e do benzeno. Neste caso, estas árvores, orientadas em fileiras formando um sistema radicular denso e profundo, poderiam funcionar como um filtro natural controlando e reduzindo a percolação vertical de contaminantes no solo. Em se tratando de aquíferos rasos, as raízes, uma vez alcançando o nível do lençol, poderiam absorver os contaminantes dissolvidos na água, reduzindo, assim, o tamanho da pluma e protegendo os pontos receptores (poços de abastecimento de água, rios, lagos, etc) de uma eventual contaminação.

Os resultados desta pesquisa também tem um impacto positivo na biorremediação.

de águas subterrâneas contaminadas por misturas de etanol e gasolina onde foi demonstrado, experimentalmente, que a degradação aeróbia dos BTX é retardada na presença do etanol (Corseuil e Alvarez, 1996; Santos, 1996). A causa da persistência destes contaminantes foi explicada pela demanda extra de oxigênio exigida para a biodegradação do etanol, que tornou o meio anaeróbio e limitou a degradação aeróbia dos BTX. Conseqüentemente, a presença do etanol apresenta-se como um problema adicional para a biorremediação de áreas contaminadas por derramamentos de gasolina e, principalmente, para a biorremediação de águas subterrâneas, onde as condições de oxigênio são bastante limitadas. A remoção do etanol pelo chorão, portanto, poderá garantir a demanda de oxigênio necessária para a biodegradação dos BTX em aquíferos contaminados. Além disso, o chorão, que consegue sobreviver sob condições limitadas de oxigênio mantendo um fluxo contínuo de oxigênio para a rizosfera, também poderia favorecer o processo de degradação aeróbia dos BTX nestes locais.

A enorme diversidade vegetal presente no Brasil, aliada as suas condições climáticas, colocam o país numa situação bastante favorável para a introdução de tecnologias que utilizem a vegetação como uma alternativa para a minimizar o impacto de resíduos químicos descarregados diariamente no meio ambiente, o que justifica a implementação de estudos mais aprofundados nestas áreas.

Como recomendações para trabalhos futuros gostaríamos de citar:

- O estudo, em escala de laboratório, do destino final de compostos orgânicos voláteis (BTX, etanol, etc) nos tecidos vegetais, o qual permitirá acessar informações importantes a respeito do potencial de volatilização destes compostos pelas folhas de *S. babylonica*
- Investigações dos mecanismos de degradação e transformação de contaminantes mediados por esta espécie. A identificação dos produtos finais acumulados nos tecidos de *S. babylonica* assim como a elucidação das suas vias metabólicas de origem contribuirão significativamente para a aplicação desta espécie na fitorremediação de locais contaminados.

- Estudos em escala piloto e de campo do potencial de *S. babylonica* em solos e aquíferos rasos contaminados por BTX e etanol, os quais permitirão verificar a atuação da rizosfera na biodegradação e na absorção direta de compostos oriundos a partir de derramamentos de gasolina.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, T.A., Guthrie, E.A. and Walton, B.T. (1993). Bioremediation in the rizosphere. *Environ.Sci. & Technol.*, **27 (3)**: 2630-2636.
- Anderson, T.A. and Walton, B.T. (1995). Fate of <sup>14</sup>C trichloroethylene in the root zone of plants from a former solvent disposal site, *Environ.Toxicol.Chem.*, **14 (12)**: 2041-2047.
- Bacci, E., Calamari, D., Gaggi, C. and Vighi, M. (1990). Bioconcentration of organic chemical vapors in plant leaves: experimental measurements and correlation, *Environ. Sci. and Technol*, **24(6)**: 885-889.
- Bacci, E. (1994). **Ecotoxicology of Organic Contaminants**. Lewis Publishers, 165 pp.
- Banks, M.K., Pekarek, S. Rathbone, K. and Schwab, A.P. (1997) Phytoremediation of petroleum contaminated soils: field assessment in: "Papers from the Fourth International Symposium on In situ and On-site Bioremediation", V.3, New Orleans, USA, April 28/May 01/1997.
- Beltrame, L.F.S., Iochpe, B., da Rosa, S.M. e Miranda, T.L.G. (1992). Lixiviação de íons em solo cultivado com arroz irrigado por inundação, *R.bras.Ci.Solo*, **16(2)**:203-208.
- Bitton, G. (1994). **Wastewater Microbiology**. John Wiley & Sons, Inc, USA, 478 pp.
- Bokern, M. and Harms, H.H. (1997). Toxicity and metabolism of 4-n-nonyphenol in cell suspension cultures of different plant species, *Environ., Sci. and Technol.*, **31(7)**: 1849-1853.
- Bowen, G.D. and Rovira, A.D. (1991). The Rhizosphere *in*: Waisel, Y., Eshel, A. and Kafkaki, U. (Eds.) **Plant Roots the Hidden Half**. Marcel-Decker, Inc., New York, USA.
- Briggs, G.G., Bromilow, R.H. and Evans, A.A. (1982). Relationships between lipophicity and root uptake and translocation of non-ionized chemicals by barley, *Pest.Sci.*, **13**: 495-504.
- Burken, J.G. (1996). Uptake and Fate of Organic Contaminants by Hibrid Poplár Trees, PhD. dissertation, Iowa City, IA, USA.
- Castellane, P.D. e Araujo, J.A.C.de (1995). **Cultivo sem Solo – Hidroponia**. Unesp, Jaboticabal, SP, 40 pp.
- Corseuil, H.X. e Alvarez, P.J.J. (1996). Natural bioremediation of aquifer material contaminated with gasoline-ethanol mixtures, *Rev. Microbiol.*, **27(1)**: 19-26.

- Corseuil, H.X. e Marins, M.D.M. (1997). Contaminação de águas subterrâneas por derramamentos de gasolina: o problema é grave?, *Rev. Eng. San. e Ambiental*, 2(2): 50-54.
- Cohen, P. and Mallard, G.E. (1993). Effects of agriculture on U.S. water quality in: Eckstein, Y and Zaporozec (Eds.) **Environmental Impacts of Agricultural Practices and Agrichemicals**. Water Environment Federation, VA, USA, (pp. 93-108).
- Fernandes, M. e Corseuil, H.X. (1996). Contaminação de águas subterrâneas por derramamento de gasolina: efeito co-solvência in: "3º Simpósio Ítalo-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental (SIBESA)", Gramado, Jun/96.
- Fernandes, M. (1997). Influência do Etanol na Solubilidade de Hidrocarbonetos Monoaromáticos em Aquíferos Contaminados por Derramamentos de Gasolina. Dissertação de Mestrado, Florianópolis, SC.
- Foster, S., Ventura, M. e Hirata, R. (1993) **Poluição das Águas Subterrâneas: um documento executivo da situação da América Latina e Caribe com relação ao abastecimento da água potável**. Instituto Geológico, São Paulo.
- Gomez, K.A. and Gomez, A.A. (1984) **Statistical Procedures for Agricultural Research** 2<sup>nd</sup> Ed., John Wiley & Sons, Singapore, 680 pp.
- Hoagland, D.R. and Arnon, D.I. (1950). The water culture method of growing plants without soil, California Agriculture Experiment Station, Circular 347.
- Howard, P.H. (1990). **Handbook of Environmental Fate and Exposure data for Organic Chemicals**. Vol. I e II, Lesis Publishers, Inc., Chelsea, MI, USA.
- Hülster, A., Müller, J.F. and Marschner, H. (1994). Soil-plant transfer of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans to vegetables of the Cucumber Family (*Cucurbitaceae*), *Environ. Sci. and Technol.*, 28: 1110-1115.
- Jordhal, J.L., Foster, L., Schnoor, J.L. and Alvarez, P.J.J. Effect of hibrid poplar trees on microbial populations important to hazardous waste bioremediation, *Environ. Toxicol and Chem.* in press.
- Jungk, A.O. (1991). Dynamics of nutrient movement at the soil-root interface in: Waisel, Y., Eshel, A. and Kafkaki, U. (Eds.) **Plant Roots the Hidden Half**. Marcel-Decker, Inc., New York, USA.
- Mauseth, J.D. (1988). **Plant Anatomy**. Benjamin/Cummings, Inc, California, USA, (560 pp.).
- Meirelles, N.M.F., Libardi, P.L. e Reichardt, K. (1980). Absorção e lixiviação de nitrogênio em cultura de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), *Rev. bras. Ci. Solo*, 4(3): 83-88.

- McFarlane, J.C., Pfleeger, T. and Fletcher, J. (1987). Transpiration effect on the uptake and distribution of bromacil, nitrobenzene, and phenol in soybean plants, *J. Environ. Qual.*, **16(4)**: 372-376.
- McFarlane, J.C., Nolt, C., Wicklife, C., Pfleeger, T., Shimabuku, R. and McDowell, M. (1987). The uptake, distribution and metabolism of four organic chemicals by soybean plants and barley roots, *Environ. Toxicol. and Chem.*, **6**:847-856.
- McFarlane, J. C., Pfleeger, T. and Fletcher, J. (1990). Effect, uptake and disposition of nitrobenzene in several terrestrial plants, *Environ. Toxicol. and Chem.*, **9**:513-520.
- Nair, D.R., Burken, J.G., Licht, L.A. and Schnoor, J.L. (1993). Mineralization and uptake of triazine pesticide in soil-plant systems, *J. of Environ. Eng.*, **119(5)**: 986-993.
- Nellesen, J.E. and Fletcher, J.S. (1993). Assessment of published literature pertaining to the uptake/accumulation, translocation, adhesion and biotransformation of organic chemicals by vascular plants, *Environ. Toxicol. and Chem.*, **12**: 2045-2052.
- Newman, L.A., Strand, S.E., Choe, N., Duffy, J., Ekuan, G., Ruszaj, M., Sshurtleff, B.B., Wilmoth, J., Heilman, P. and Gordon, M. (1997). Uptake and biotransformation of trichloroethylene by hibrid poplars, *Environ., Sci. and Technol.*, **31**: 1062-1067.
- Nyer, E.K. and Gatliff, E.G. (1996). Phytoremediation, *GWMR*, winter, 58-62.
- Paterson, K.G. and Schnoor, J.L. (1992). Fate of alachlor and atrazine in a riparian zone field site, *Wat. Environ. Res.*, **64(3)**: 274-283.
- Paterson, K.G. and Schnoor, J.L. (1993). Vegetative alteration of nitrate fate in unsaturated zone, *J. of Environ. Eng.*, **119(5)**: 986-993.
- Reichardt, K., Libardi, P.L., Victória, R.L. e Viegas, G.P. (1979). Dinâmica do nitrogênio num solo cultivado com milho, *Rev. bras. Ci. Solo*, **3(1)**:17-20.
- Reitz, R. (1983). *Salicaceae* in: Reitz, R (Ed.) *Flora Ilustrada Catarinense - I Parte*, Itajaí, SC.
- Rothman, E.D. and Ericson, W.A. (1987) *Statistics Methods and Applications*. 2<sup>nd</sup> Ed. Kendall/Hunt Publishing Company, Iowa, USA, 753 pp.
- Ryan, J.A., Bell, R.M., Davidson, J.M. and O'Connor, G.A. (1988). Plant uptake of non-ionic organic chemicals from soils, *Chemosphere*, **17(12)**: 2299-2323.
- Salisbury, F.B. (1978). *Plant Physiology*. 2<sup>o</sup>Ed. Wadsworth Publishing Company, California, USA, (422 pp.).
- Salt, D.E., Pickering, I.J., Prince, R.C., Gleba, D., Dushenkov, S., Smith, R.D. and Raskin, I. (1997). Metal accumulation by aquacultured seedlings of indian mustard, *Environ., Sci. and Technol.*, **31**: 1636-1644.

- Santos, R.C.F.dos, Montenegro, M.A.P., Luz, L.B. e Corseuil, H.X. (1996). Influência do etanol na biodegradação do benzeno em aquíferos contaminados com derramamentos de gasolina in: "3º Simpósio Ítalo-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental (SIBESA)", Gramado, Jun/96.
- Santos, R.C.F.dos (1996). Impacto do etanol na biodegradação de compostos hidrocarbonetos monoaromáticos em aquíferos contaminados por derramamentos de gasolina. Dissertação de Mestrado, Florianópolis, SC.
- Schnabel, W.E., Dietz, A.C., Burken, J.G., Schnoor, J.L. and Alvarez, P.J. (1996). Uptake and transformation of trichloroethylene by edible garden plants, *Wat. Res.*, in press.
- Schnoor, J.L., Licht, L.A., McCutcheon, S.C., Wolfe, L.N. and Carreira, L.H. (1995). Phytoremediation of organic and nutrient contaminants, *Environ., Sci. and Technol.*, **29(7)**: 318-323 A.
- Schreiber, J.D. (1993). Nutrient concentrations in southern United States shallow groundwater and surface runoff in: Eckstein, Y. and Zaporozec (Eds.) **Environmental Impacts of Agricultural Practices and Agrichemicals**. Water Environment Federation, VA, USA, (131-143 pp.).
- Simonich, S.L. and Hites, R.A. (1995). Organic pollutant accumulation in vegetation in *Crit. Rev. Environ. Sci. and Technol.*, **29 (12)**: 2905-2914.
- Scherer, E.E., Balissera, I.T. e Dias, L.F.X. (1995). Potencial fertilizante do esterco líquido de suínos da região Oeste Catarinense, *Agrop.catarinense*, **8(2)**:35-39.
- Snoeyink, V.L. and Jenkins, D. (1980). **Water Chemistry**. John Wiley & Sons, New York, USA, (463 pp.).
- Thompson, P.L., Ramer, L.A. e Schnoor, J.L. (1998) Uptake and transformation of TNT by hybrid poplar trees, *Environ. Sci. and Technol.*, **32**: 975-980
- Trapp, S., Matthies, M., Scheunert, I. and Topp, E.M. (1990). Modeling the bioconcentration of organic chemicals in plants, *Environ. Sci. and Technol.*, **24**: 1246-1252.
- Trapp, S., McFarlane, C. and Matthies, M. (1994). Model for uptake of xenobiotics into plants: validation with bromacil experiments, *Environ., Toxicol. and Chem.*, **13(3)**: 413-422.
- Trapp, S. and Matthies, M. (1995). Generic one-compartment model for uptake of organic chemicals by foliar vegetation, *Environ. Sci. and Technol.*, **29**:2333-2338.
- Walton, B.T. and Anderson, T.A. (1990). Microbial degradation of trichloroethylene in the rhizosphere: potential application to biological remediation of waste sites, *Applied and Environ. Technol.*, **4**:1012-1016.
- Watanabe, M.E. (1997). Phytoremediation on the brink of commercialization, *Environ. Sci. and Technol.*, **31(4)**:182 -186 A.

## APÊNDICE A

Experimento de absorção direta do  $\text{NO}_3^-$ -N em cultivo hidropônico com *S. babylonica*.

Tabela A-1 Transpiração acumulada para o experimento com  $\text{NO}_3^-$ -N em solução nutritiva. Valores expressos em mL

Tempo, D	R 10	R5	R3
0	0	0	0
1	19,18	20,98	10,79
2	31,78	35,80	18,99
3	43,66	49,37	26,53
4	53,35	59,93	32,97
5	77,00	90,22	50,08
Tr. média	15,40	18,04	10,04

Tabela A-2 Resultados para a concentração de  $\text{NO}_3^-$ -N em solução nutritiva. Valores expressos em mg/L. Cada valor é a média de três repetições, exceto quando indicado (\*). Os tratamentos são comparados na horizontal pelo teste-t de Student ao nível de 5 % ( $p \leq 0.05$ ).

Tempo, D	c/ estacas ( $x \pm \text{d.p.}$ )		controle ( $x \pm \text{d.p.}$ )	
0	166,20	$\pm 10,55$	155,82	$\pm 0,79$ (NS) *
1	151,95	$\pm 7,94$	152,67	$\pm 3,65$ (NS) *
2	154,80	$\pm 19,43$	143,54	$\pm 18,93$ (NS) *
3	150,21	$\pm 5,96$	148,81	$\pm 3,08$ (NS) *
4	155,58	$\pm 5,34$	149,88	$\pm 14,18$ (NS) *
5	154,89	$\pm 23,08$	145,73	$\pm 0,50$ (NS) *

$x \pm \text{d.p.}$  : média  $\pm$  desvio padrão

NS : não significativo ( $p > 0.05$ )

Tabela A-3 Resultados para o balanço de massa do  $\text{NO}_3^-$ -N em solução nutritiva. Valores expressos em mg. Cada valor é a média de três repetições, exceto quando indicado (\*). Os tratamentos são comparados na horizontal pelo teste-t de Student ao nível de 5 % ( $p \leq 0.05$ ).

Tempo, D	c/ estacas ( $x \pm \text{d.p.}$ )		controle ( $x \pm \text{d.p.}$ )	
0	63,23	$\pm 3,50$	62,32	$\pm 0,31$ (NS) *
1	55,73	$\pm 2,31$	60,76	$\pm 1,45$ (NS) *
2	54,78	$\pm 6,22$	56,98	$\pm 7,52$ (NS) *
3	51,57	$\pm 2,10$	58,92	$\pm 1,22$ (NS) *
4	49,24	$\pm 1,49$	59,19	$\pm 5,57$ (NS) *
5	45,74	$\pm 9,62$	57,41	$\pm 0,20$ (NS) *

$x \pm \text{d.p.}$  : média  $\pm$  desvio padrão

NS : não significativo ( $p > 0.05$ )

Tabela A-4 Transpiração acumulada para o experimento com  $\text{NO}_3^-$ -N em água destilada. Valores expressos em mL

Tempo, D	R 20	R15	R10
0	0	0	0
1	25,17	13,97	18,39
2	43,14	22,57	31,97
3	65,34	34,56	48,05
4	85,49	46,16	63,15

Tabela A-5 Resultados para a concentração de  $\text{NO}_3^-$ -N em água destilada. Valores expressos em mg/L. Cada valor é a média de três repetições, exceto quando indicado (\*). Os tratamentos são comparados na horizontal pelo teste-t de Student ao nível de 5 % ( $p \leq 0.05$ ).

Tempo, D	c/estacas	(x ± d.p.)	controle	(x ± d.p.)
0	122,87	± 2,44	119,48	± 8,65 (NS)
1	92,26	± 4,78	99,80	± 3,32 (NS) *
2	101,34	± 3,44	103,37	± 8,67 (NS) *
3	105,49	± 4,56	94,72	± 4,71 (NS) *
4	103,68	± 10,19	95,67	± 4,10 (NS)

x ± d.p. : média ± desvio padrão

NS : não significativo ( $p > 0.05$ )

Tabela A-6 Resultados para o balanço de massa do  $\text{NO}_3^-$ -N em água destilada. Valores expressos em mg. Cada valor é a média de três repetições, exceto quando indicado (\*). Os tratamentos são comparados na horizontal pelo teste-t de Student ao nível de 5 % ( $p \leq 0.05$ ).

Tempo, D	c/estacas	(x ± d.p.)	controle	(x ± d.p.)
0	49,14	± 0,97	47,79	± 3,46 (NS)
1	34,88	± 1,32	39,71	± 1,32 (NS) *
2	36,80	± 2,31	40,93	± 3,43 (NS) *
3	35,63	± 1,81	37,31	± 1,85 (NS) *
4	33,74	± 2,54	37,50	± 1,61 (NS)

x ± d.p. : média ± desvio padrão

NS : não significativo ( $p > 0.05$ )

Experimento de fitotoxicidade com o etanol em cultivo hidropônico com *S. babylonica*.

Tabela A-7 Resultados para a normalização da transpiração pela biomassa. Concentração de etanol = 0 mg/L. Valores expressos em mL/g e °C. Cada valor é a média de três repetições , exceto quando indicado (\*). Os tratamentos são comparados na horizontal pelo teste-t pareado ao nível de 5 % ( $p \leq 0.05$ ).

Tempo, D	controle ( x ± d.p. )	dosadas ( x ± d.p. )	temperatura
1	0,75 ± 0,17	0,85 ± 0,12 (NS)	18
2	1,13 ± 0,38	1,30 ± 0,20 (NS)	22
3	0,19 ± 0,06	0,21 ± 0,03 (NS)	18

x ± d.p. : média ± desvio padrão

NS : não significativo ( $p > 0.05$ )

Tabela A-8 Resultados para a normalização da transpiração pela biomassa. Concentração de etanol = 500 mg/L. Valores expressos em mL/g e °C. Cada valor é a média de três repetições , exceto quando indicado (\*). Os tratamentos são comparados na horizontal pelo teste-t pareado ao nível de 5 % ( $p \leq 0.05$ ).

Tempo, D	controle ( x ± d.p. )	dosadas ( x ± d.p. )	temperatura
4	0,60 ± 0,16	0,63 ± 0,12 (NS)	26
5	0,80 ± 0,27	0,88 ± 0,13 (NS)	30
6	0,79 ± 0,22	0,81 ± 0,14 (NS)	24,5
7	1,44 ± 0,40	1,61 ± 0,27 (NS)	31

x ± d.p. : média ± desvio padrão

NS : não significativo ( $p > 0.05$ )

Tabela A-9 Resultados para a normalização da transpiração pela biomassa. Concentração de etanol = 1000 mg/L. Valores expressos em mL/g e °C. Cada valor é a média de três repetições , exceto quando indicado (\*). Os tratamentos são comparados na horizontal pelo teste-t pareado ao nível de 5 % ( $p \leq 0.05$ ).

Tempo, D	controle ( x ± d.p. )	dosadas ( x ± d.p. )	temperatura
8	1,01 ± 0,26	1,12 ± 0,19 (NS)	26,5
9	1,67 ± 0,36	1,74 ± 0,32 (NS)	27
10	0,32 ± 0,08	0,40 ± 0,05 (NS)	24,5
11	1,34 ± 0,29	1,31 ± 0,22 (NS)	24,5
12	0,45 ± 0,05	0,44 ± 0,10 (NS)	20

x ± d.p. : média ± desvio padrão

NS : não significativo ( $p > 0.05$ )

Tabela A-10 Resultados para a normalização da transpiração pela biomassa. Concentração de etanol = 2000 mg/L. Valores expressos em mL/g e °C. Cada valor é a média de três repetições, exceto quando indicado (\*). Os tratamentos são comparados na horizontal pelo teste-t pareado ao nível de 5 % ( $p \leq 0.05$ ).

Tempo, D	controle (x ± d.p.)	dosadas (x ± d.p.)	temperatura
13	1,30 ± 0,21	0,57 ± 0,11	32
14	0,34 ± 0,04	0,19 ± 0,04	32
15	0,23 ± 0,03	0,14 ± 0,01	25,5
16	0,28 ± 0,02	0,20 ± 0,02 (NS)	22
17	0,51 ± 0,09	0,28 ± 0,02	22,5
18	1,55 ± 0,27	0,59 ± 0,10	30,5
19	1,47 ± 0,24	0,59 ± 0,10	30,5
20	0,50 ± 0,07	0,31 ± 0,02	31,5
21	0,32 ± 0,08	0,21 ± 0,01 (NS)	22,5
22	0,95 ± 0,18	0,47 ± 0,11	23
23	1,35 ± 0,12	0,44 ± 0,12	29,5
24	2,00 ± 0,15	0,66 ± 0,19	32
25	1,81 ± 0,08	0,43 ± 0,18	34

x ± d.p. : média ± desvio padrão

NS : não significativo ( $p > 0.05$ )

Tabela A-11 Resultados para a normalização da transpiração pela biomassa em função da concentração de etanol. Cada valor é média obtida para cada tratamento. Valores expressos em mL/g. Os tratamentos são comparados na horizontal pelo teste-t pareado ao nível de 5 % ( $p \leq 0.05$ ).

EtOH, mg/L	controle (x ± d.p.)	dosadas (x ± d.p.)
0	0,69 ± 0,46	0,79 ± 0,49 (NS)
500	0,90 ± 0,40	0,98 ± 0,42 (NS)
1000	0,95 ± 0,57	1,00 ± 0,56 (NS)
2000	0,96 ± 0,62	0,39 ± 0,19 **

x ± d.p. : média ± desvio padrão

\*\* : significativo com  $p \leq 0.001$

Experimento de absorção direta do etanol em cultivo hidropônico com *S. babylonica*.

Tabela A-12 Transpiração acumulada para o experimento com etanol em solução nutritiva. Valores expressos em mL.

Tempo, D	R20	R15	R12
0	0	0	0
1	42,90	43,68	45,83
2	98,62	108,37	113,67
3	142,98	161,51	167,39
4	182,37	207,69	206,90
5	200,60	226,06	221,90
Tr. Média	40,12	45,21	44,38

Tabela A-13 Resultados para a concentração de etanol em solução nutritiva. Valores expressos em mg/L. Cada valor é a média de três repetições. Os tratamentos foram comparados na horizontal pela ANOVA em uma direção ao nível de 5 % ( $p \leq 0.05$ ).

Tempo, D	c/ estacas (x ± d.p.)	c/ raízes (x ± d.p.)	controle (x ± d.p.)
0	1.358,49 ± 167,45	1.188,94 ± 148,63	1478,42 ± 200,15 (NS)
1	1.195,35 ± 139,60	988,44 ± 517,37	1824,69 ± 213,34 (NS)
2	783,29 ± 387,30	1.133,97 ± 505,22	1794,62 ± 384,87 (NS)
3	298,75 ± 261,56	888,69 ± 245,79	1397,58 ± 103,22
4	80,52 ± 131,25	609,20 ± 70,82	1553,04 ± 103,74 *
5	8,80 ± 0	598,35 ± 53,25	1673,17 ± 163,10 *

x ± d.p. : média ± desvio padrão

NS : não significativo ( $p > 0.05$ )

\* : significativo com  $p \leq 0.001$

Tabela A-14 Resultados para o balanço de massa do etanol em solução nutritiva. Valores expressos em mg. Cada valor é a média de três repetições. Os tratamentos foram comparados na horizontal pela ANOVA em uma direção ao nível de 5 % ( $p \leq 0.05$ ).

Tempo, D	c/ estacas (x ± d.p.)	c/ raízes (x ± d.p.)	controle (x ± d.p.)
0	543,39 ± 66,98	475,57 ± 59,45	554,48 ± 80,06
1	425,25 ± 50,89	391,72 ± 207,49	728,04 ± 85,12
2	227,95 ± 110,77	573,57 ± 29,37	714,25 ± 153,18
3	105,19 ± 49,28	255,28 ± 79,67	583,03 ± 40,96
4	23,31 ± 25,33	241,24 ± 28,04	615,00 ± 41,08 *
5	4,69 ± 2,71	236,34 ± 21,03	651,09 ± 48,62 *

x ± d.p. : média ± desvio padrão

\* : significativo com  $p \leq 0.001$

Experimento de absorção direta com o benzeno em solução nutritiva.

Tabela A-15 Resultados para a concentração do benzeno em solução nutritiva. Valores expressos em mg/L. Cada valor é a média de três repetições, exceto quando indicado(\*). Os tratamentos foram comparados na horizontal pela ANOVA em uma direção ao nível de 5 % ( $p \leq 0.05$ ).

Tempo, D	c/ estacas	(x ± d.p.)	c/ raizes	(x ± d.p.)	controle	(x ± d.p.)
1	4,85	± 0,90	-	-	22,82	± 2,25
2	5,95	± 0,53	-	-	22,41	± 2,35
3	5,69	± 0,34	4,51	± 1,43 *	23,60	± 0,86
4	4,80	± 0,69	4,68	± 2,11 *	22,34	± 0,78
5	0,15	± 0,19	6,86	± 4,07 *	22,97	± 0,21
6	0,93	± 0,84 *	8,68	± 1,68 *	22,97	± 1,86
7	0,71	± 0,61	14,69	± 6,91 *	22,97	± 1,86
análise de variância						
		g.l.	F	F- crítico		
		49	261,47 **	3,18		

x ± d.p. : média ± desvio padrão

\*\* : significativo com  $p \leq 0.001$

g.l. : graus de liberdade

- : amostras inviabilizadas

Tabela A-16 Transpiração média diária para o experimento com o benzeno em solução nutritiva. Valores expressos em mL.

Tempo, D	R10	R5	R3	x ± d.p.	
1	1,31	2,09	2,66	2,02	0,68
2	1,41	2,81	2,71	2,31	0,78
3	2,77	2,82	2,81	2,80	0,03
4	5,12	2,62	3,27	3,67	1,30
5	3,97	3,03	3,95	3,65	0,54
6	-	3,06	3,23	3,15	0,12
7	2,97	1,69	3,7	2,79	1,02

x ± d.p. : média ± desvio padrão

- : amostras inviabilizadas

## APÊNDICE B

Experimento de absorção direta do nitrato em cultivo hidropônico com *S. babylonica*.

Tabela B-1 Resultados do experimento de absorção direta do  $\text{NO}_3^-$ -N em solução nutritiva. Valores obtidos a partir da leitura de amostras líquidas em cromatógrafo iônico. Valores expressos em mg/L.

Tempo,D	c/ estacas		
	R 10	R5	R3
0	160,63	178,38	159,6
1	146,6	161,08	148,19
2	138,91	176,47	149,03
3	145,08	156,76	148,8
4	155,48	160,97	150,29
5	174,2	129,32	161,15
Tempo,D	controle		
	C1	C2	C3
0	156,38	155,26	-
1	150,09	155,26	-
2	156,93	130,15	-
3	146,63	150,99	-
4	139,89	159,87	-
5	145,37	146,09	-

Tabela B-2 Resultados do experimento de absorção direta do  $\text{NO}_3^-$ -N em solução nutritiva. Valores obtidos a partir da equação de balanço de massa e expressos em mg.

Tempo,D	c/ estacas		
	R10	R5	R3
0	60,71	67,24	61,76
1	53,36	57,98	55,86
2	48,61	61,05	54,69
3	49,28	52,04	53,41
4	48,65	48,13	50,94
5	50,69	34,65	51,89
Tempo,D	controle		
	C1	C2	C3
0	62,55	62,1	-
1	59,73	61,79	-
2	62,3	51,66	-
3	58,06	59,79	-
4	55,25	63,14	-
5	57,27	57,56	-

Tabela B-3 Resultados do experimento de absorção direta do  $\text{NO}_3^-$ -N em água destilada. Valores obtidos a partir da leitura de amostras líquidas em cromatógrafo iônico. Valores expressos em mg/L.

Tempo, D	c/ estacas		
	R20	R15	R12
0	125,67	121,72	121,21
1	96,06	86,89	93,85
2	97,76	104,64	101,61
3	103,03	99,42	108,48
4	114,31	102,76	93,98
Tempo, D	controle		
	C1	C2	C3
0	112,89	116,28	129,28
1	97,45	-	102,15
2	97,23	109,5	-
3	91,39	98,06	-
4	100,41	93,4	93,21

Tabela B-4 Resultados do experimento de absorção direta do  $\text{NO}_3^-$ -N em água destilada. Valores obtidos a partir da equação de balanço de massa e expressos em mg.

Tempo, D	c/ estacas		
	R20	R15	R12
0	50,26	48,68	48,48
1	35,73	33,36	35,56
2	34,41	39,03	36,98
3	33,79	35,69	37,42
4	34,97	35,45	30,82
Tempo, D	controle		
	C1	C2	C3
0	45,15	46,51	51,71
1	38,78	-	40,65
2	38,5	43,36	-
3	36	38,63	-
4	39,36	36,61	36,53

Experimento de fitotoxicidade com o etanol em cultivo hidropônico com *S. babylonica*.

Tabela B-5 Resultados para a normalização da transpiração pela biomassa em reatores dosados com etanol a 0 mg/L. Valores expressos em ml/G.

Tempo, D	Controle		
	R4	R9	R11
1	0,93	0,61	0,7
2	1,55	0,83	1
3	0,25	0,14	0,17
Tempo, D	Dosadas		
	R10	R5	R3
1	0,72	0,86	0,96
2	1,08	1,38	1,45
3	0,17	0,22	0,23

Tabela B-6 Resultados para a normalização da transpiração pela biomassa em reatores dosados com etanol a 500 mg/L. Valores expressos em ml/G.

Tempo, D	Controle		
	R4	R9	R11
4	0,78	0,47	0,56
5	1,07	0,54	0,78
6	1,03	0,61	0,72
7	1,88	1,12	1,31
Tempo, D	Dosadas		
	R10	R5	R3
4	0,5	0,66	0,73
5	0,73	0,97	0,95
6	0,66	0,84	0,94
7	1,3	1,69	1,83

Tabela B-7 Resultados para a normalização da transpiração pela biomassa em reatores dosados com etanol a 1000 mg/L. Valores expressos em ml/G.

Tempo, D	Controle		
	R4	R9	R11
8	1,28	0,76	1
9	2,07	1,36	1,59
10	0,39	0,24	0,34
11	1,65	1,08	1,29
12	0,5	0,4	0,44
Tempo, D	Dosadas		
	R10	R5	R3
8	0,91	1,15	1,29
9	1,38	1,85	1,99
10	0,46	0,38	0,37
11	1,06	1,4	1,47
12	0,37	0,4	0,55

Tabela B- 8 Resultados para a normalização da transpiração pela biomassa em reatores dosados com etanol a 2000 mg/L. Valores expressos em ml/G.

Tempo, D	controle		
	R4	R9	R11
13	1,33	1,07	1,49
14	0,34	0,31	0,38
15	0,24	0,20	0,26
16	0,29	0,26	0,3
17	0,55	0,4	0,58
18	1,69	1,24	1,71
19	1,45	1,24	1,71
20	0,47	0,45	0,58
21	0,29	0,25	0,41
22	0,85	0,84	1,15
23	1,29	1,27	1,48
24	1,97	1,87	2,16
25	1,74	1,90	1,8
Tempo, D	dosadas		
	R10	R5	R3
13	0,67	0,59	0,45
14	0,23	0,16	0,19
15	0,15	0,13	0,15
16	0,20	0,19	0,22
17	0,28	0,29	0,26
18	0,64	0,65	0,47
19	0,64	0,65	0,47
20	0,32	0,32	0,29
21	0,20	0,22	0,21
22	0,40	0,60	0,42
23	0,36	0,58	0,39
24	0,55	0,88	0,54
25	0,28	0,63	0,38

Experimento de absorção direta do etanol em cultivo hidropônico com *S. babylonica*.

Tabela B-9 Resultados do experimento de absorção direta do etanol em solução nutritiva. Valores obtidos a partir da leitura de amostras líquidas em cromatógrafo a gás e expressos em mg/L.

Tempo, D	c/ estacas		
	R20	R15	R12
0	1.169,36	1.487,87	1.418,24
1	1.211,52	1.326,17	1.048,37
2	395,75	1.170,35	783,78
3	0	409,68	486,56
4	0	9,59	231,98
5	0	0	26,39
Tempo, D	c/ raízes		
	R13	R14	R19
0	1.096,78	1.360,41	1109,64
1	549,06	857,58	1558,68
2	556,65	1.350,0	1495,22
3	379,80	682,76	866,53
4	634,41	663,96	529,22
5	644,21	610,88	539,95
Tempo, D	controle		
	C1	C2	C3
0	1436,49	1696,21	1302,56
1	1991,80	1897,88	1584,38
2	1478,21	2223,08	1682,57
3	1397,58	1586,97	1421,12
4	1444,30	1650,93	1.563,90
5	1557,84	1788,50	1.598,68

Tabela B- 10 Resultados do experimento de absorção direta do etanol em solução nutritiva. Valores obtidos a partir da equação de balanço de massa e expressos em mg.

Tempo, D	c/ estacas		
	R20	R15	R12
0	467,74	595,14	567,29
1	432,51	472,11	371,12
2	119,12	340,57	224,16
3	0	97,50	112,88
4	0	1,84	44,77
5	0	0	4,69
Tempo, D	c/ raízes		
	R13	R14	R19
0	438,71	544,16	443,85
1	219,07	334,19	621,91
2	557,04	537,31	595,09
3	150,78	271,05	344,01
4	251,22	262,92	209,57
5	254,46	241,29	213,28
Tempo, D	controle		
	C1	C2	C3
0	574,59	678,48	521,02
1	794,72	757,25	632,16
2	588,32	884,78	669,66
3	554,89	630,02	564,18
4	571,94	653,76	619,30
5	615,34	706,45	631,47

Experimento de absorção direta do benzeno em cultivo hidropônico com *S. babylonica*.

Tabela B-11 Resultados do experimento de absorção direta do benzeno em solução nutritiva. Valores obtidos a partir da leitura de amostras líquidas em cromatógrafo a gás e expressos em mg/L.

Tempo, D	c/ estacas		
	R10	R5	R3
1	4,55	4,13	5,86
2	6,10	6,39	5,36
3	5,75	6,00	5,33
4	5,28	4,31	0
5	0,36	0,09	0
6	1,62	1,17	0
7	1,09	1,03	0
Tempo, D	c/ raízes		
	R9	R4	R2
1	-	-	-
2	-	-	-
3	6,13	3,98	3,43
4	6,17	3,19	-
5	9,74	-	3,98
6	7,49	9,86	-
7	9,80	19,57	-
Tempo, D	controle		
	C1	C2	C3
1	22,91	25,02	20,52
2	22,03	20,27	24,92
3	-	22,99	24,20
4	22,10	23,21	21,71
5	22,76	22,97	23,18
6	20,83	24,22	23,86
7	23,86	20,83	24,22