



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E INOVAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL  
MESTRADO EM ENGENHARIA AMBIENTAL MODALIDADE PROFISSIONAL**

**AVALIAÇÃO DA PERSISTÊNCIA DA CONTAMINAÇÃO POR CREOSOTO E  
DAS POSSIBILIDADES DE EMPREGO DE TÉCNICAS DE  
BIORREMEDIAÇÃO PARA MITIGAÇÃO DE PASSIVO AMBIENTAL NA  
RESERVA BIOLÓGICA UNIÃO**

**RELATÓRIO TÉCNICO**

**SUMÁRIO**

1 INTRODUÇÃO .....	01
2 METODOLOGIA	
2.1 Avaliação da persistência da contaminação.....	03
2.2 Avaliação do potencial para biorremediação.....	04
3 RESULTADOS	
3.1 Caracterização dos contaminantes encontrados.....	05
3.2 Caracterização das espécies vegetais coletadas.....	09
4 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	12

**1 INTRODUÇÃO**

Este relatório foi elaborado em função de uma demanda do GESTOR da Reserva Biológica União (REBIO União), com vistas a atender às recomendações do Plano de Manejo da Unidade de Conservação, no subprograma de remediação ambiental, cujo objetivo seria “identificar as áreas contaminadas por creosoto e remediar o passivo ambiental da RFFSA” (MMA/ICMBio, 2008a, pág.45).

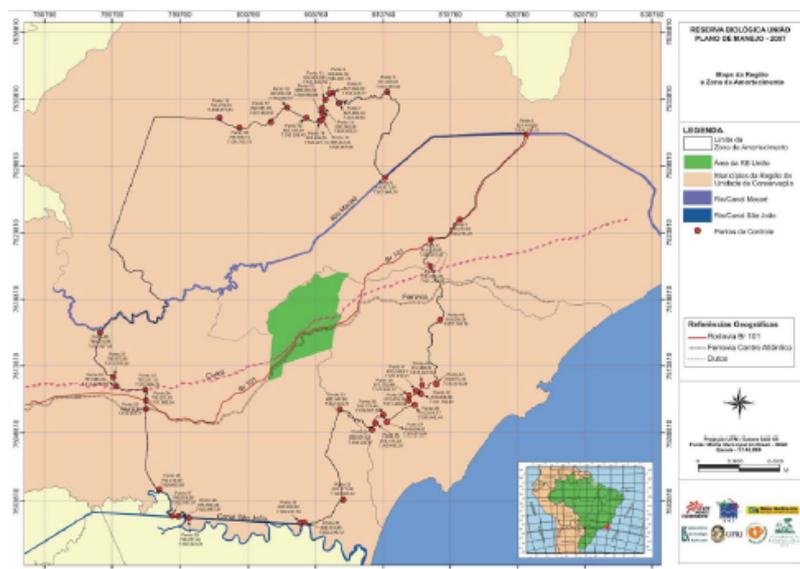
A demanda foi encaminhada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense (PPEA-IFF), por intermédio do gestor da Unidade de Conservação (UC). Além do gestor e do Conselho da REBIO, preocupados com passivo ambiental associado à contaminação da UC por “creosoto”<sup>11</sup>, o Ministério Público Federal instaurou procedimento administrativo (Processo SOTC nº.1.30.005.000006/2001-31) e solicitou informações ao Comitê de Bacias da Região Hidrográfica VIII do estado do Rio de Janeiro (CBH Macaé), no sentido de verificar a existência de riscos de contaminação com resíduos oriundos de compostos aromáticos no Córrego Purgatório, tributário do rio Macaé, que é o principal manancial de abastecimento público da Região Hidrográfica VIII do Estado do Rio de Janeiro (RH-VIII) (SEA/INEA, 2014).

A REBIO União, UC Federal de Proteção Integral (BRASIL, 2000) foi criada em 1998 (BRASIL, 1998), em área rural de cerca de 3.126 ha (Fazenda União), anteriormente pertencente à Rede Ferroviária Federal. Está localizada

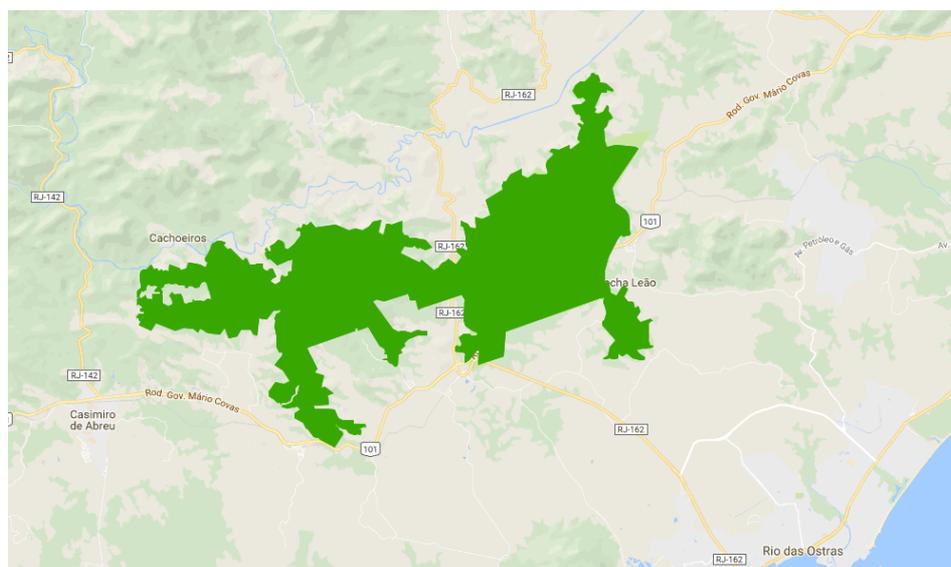
<sup>11</sup>Óleo derivado da destilação do coque amplamente utilizado na preservação da madeira e formado por uma mistura de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) e monocíclicos líquidos e sólidos (85 %), compostos fenólicos (10 %) e compostos S-, N- e O- heterocíclicos (DE PAULA *et. al.*, 2007).

*Recebido 15/12/14*  
*[Assinatura]*

na Região das Baixadas Litorâneas do Estado do Rio de Janeiro, conforme mapa de localização apresentado na Figura 1 (MMA/ICMBIO, 2008b). Seu território foi ampliado para cerca de 7.767 ha (Figura 2), em 5 de junho de 2017, por Decreto Presidencial.



**Figura 1.** Região da REBIO União, zona de amortecimento e limites municipais (FONTE: MMA/ICMBio, 2008b).



**Figura 2.** Território da REBIO União após ampliação (FONTE: ICMBio, 2017).

Além da conservação da biodiversidade e dos objetivos específicos da UC, definidos em seu Decreto de criação, destacam-se os de proteção e conservação dos “rios Purgatório, Dourado e Iriri, importantes contribuintes das bacias hidrográficas dos rios Macaé, São João e Rio das Ostras, respectivamente.”, explicitados em seu Plano de Manejo (MMA/ICMBIO, 2008b). O documento também aponta a necessidade de priorizar a realização de um estudo detalhado da contaminação por creosoto no interior da REBIO, e implementadas medidas imediatas de remediação ambiental na UC (MMA/ICMBIO, 2008a, pág.44). A execução deste subprograma, o qual integra



o programa de recuperação de áreas degradadas da UC pressupõe a identificação, o mapeamento e a avaliação da extensão do dano ambiental associado ao passivo da RFFSA, “tanto das áreas de dentro da REBIO como no entorno, de forma a desenvolver projetos específicos de recuperação das áreas degradadas...”, nas quais a contaminação do solo, das águas subterrâneas e superficiais com o resíduo orgânico bioacumulativo e de alta toxicidade foi comprovada (CAPUTO, 2006; FERREIRA *et al.*, 2014).

Nesse sentido, a biorremediação é uma importante técnica dependente de processos biológicos utilizada para a redução de resíduos (RUSSEL *et al.*, 2011), que devido à vasta diversidade metabólica do mundo microbiano é possível retirar ou minimizar uma variedade de poluentes de ambientes contaminados tanto por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) quanto por metais pesados (GAYLARDE *et al.*, 2005; JACQUES *et al.*, 2007; ANDRADE *et al.*, 2010).

Nesse contexto fungos endofíticos melanizados, Dark Septate Endophyte (DSEs) são relatados em raízes de vegetais em áreas contaminadas por metais pesados, estabilizando esse contaminante (MANDYAM; JUMPPONEN, 2005) e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são capazes de minimizar concentrações de HPA em solos contaminados (ANDRADE *et al.*, 2016; ANDREW *et al.*, 2012; BARROW, 2013). Esses fungos possuem potencial para a remediação de ambientes contaminados com metais pesados e HPAs.

Tendo em vista o exposto, objetiva-se com o presente relatório consolidar os resultados de dois projetos de pesquisa de Mestrado do PPEA, os quais investigaram detalhadamente não só as características e o nível da contaminação do solo com compostos aromáticos associados à persistência do creosoto no interior a REBIO União, como também a ocorrência ou não de contaminação cruzada solo-água (VIANNA, 2017) e a possibilidade da utilização de associações simbióticas entre espécies vegetais que se estabeleceram na área contaminada e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) do tipo endofíticos septados escuros (DSEF) ou *Dark Septate Endophytes* (TEIXEIRA, 2017).

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Avaliação da persistência da contaminação

Foram realizadas 4 campanhas na área de estudo, entre setembro de 2016 e maio de 2017. Em cada uma delas, foram coletadas três amostras de solo, numa profundidade de até 30cm (Figura 3) e uma de água, entre 0 e 30 centímetros da lâmina d'água, num tributário do Córrego Purgatório, em ponto de menor declividade no limite presumido da área contaminada. As amostras foram enviadas para o laboratório especializado TESALAB, que realizou a caracterização de compostos poliaromáticos na água e no solo, utilizando o Método EPA para Compostos Orgânicos Semivoláteis 8270D, que emprega cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS) (US-EPA, 1998).



**Figura 3.** Pontos de coleta de solo na REBIO União, com ponto de coleta de água coincidente com o ponto 001 (de menor declividade).

## 2.2 Avaliação do potencial para biorremediação

Para a identificação dos fungos micorrízicos arbusculares na área contaminada (ponto 3) foram coletadas cinco plântulas com suas respectivas rizosferas preservadas. As amostras vegetais foram condicionadas em sacos plásticos estéreis e em seguida encaminhadas para o Laboratório de Ecotoxicologia e Microbiologia Ambiental (LEMAM) - Instituto Federal Fluminense, Campus Cabo Frio, onde as amostras de raízes foram tratadas e analisadas de acordo com metodologia adaptada de Souza e Guerra (1998).

A avaliação das raízes foi realizada logo após as amostras serem cortadas em fragmentos de cerca de 2 cm e colocadas em tubos de ensaio. Os fragmentos foram imersos em KOH a 5% em banho maria a 90 ° C durante 30 min e depois transferidos para uma solução alcalina de peróxido de hidrogênio amoniacal a 3%, respeitando-se o tempo de 15 a 45 minutos à temperatura ambiente à medida que as raízes clareavam. Após este processo, as amostras foram enxaguadas em água da torneira e colocadas em solução de ácido clorídrico a 1% durante uma noite. Em seguida, as amostras foram novamente lavadas e colocadas em 0,05% de azul de tripano em banho maria a 90 ° C durante 1 hora. Para a análise de material, foram feitas lâminas que foram observadas sob um microscópio óptico (SOUZA; GUERRA, 1998 – adaptado; UFLA, 2015).

Foram feitas nove lâminas com três fragmentos cada, totalizando 27 fragmentos de raízes de cada plântula. As análises foram realizadas em triplicadas sendo utilizados três indivíduos e gerando um total de 81 fragmentos de raízes do ponto de coleta. As lâminas foram montadas com 50% de glicerol e observadas em microscópio óptico (Novel BM 2100) acoplado a uma câmera fotográfica (Toup CAM UCOS05100KPA). As imagens foram tratadas no programa ToupLite.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Caracterização dos contaminantes encontrados

Os HPA analisados neste trabalho foram **divididos em três grupos principais**: (1) carcinogênicos; (2) carcinogênicos e mutagênicos; e (3) não carcinogênicos, conforme apresentado no Quadro 1. A estrutura química dos principais hidrocarbonetos poliaromáticos encontrados no creosoto são apresentados no Quadro 2. O naftaleno não foi detectado em nenhuma das amostras (Tabela 1), apesar de, em teoria, compor aproximadamente 20% do creosoto (IBAMA, 2015). Os resultados das análises de HPA no solo e na água obtidos nas campanhas realizadas são apresentados nas Figuras 4 e 5.

Quadro 1. Divisão de HPA em grupos carcinogênicos, carcinogênicos e mutagênicos e não carcinogênicos

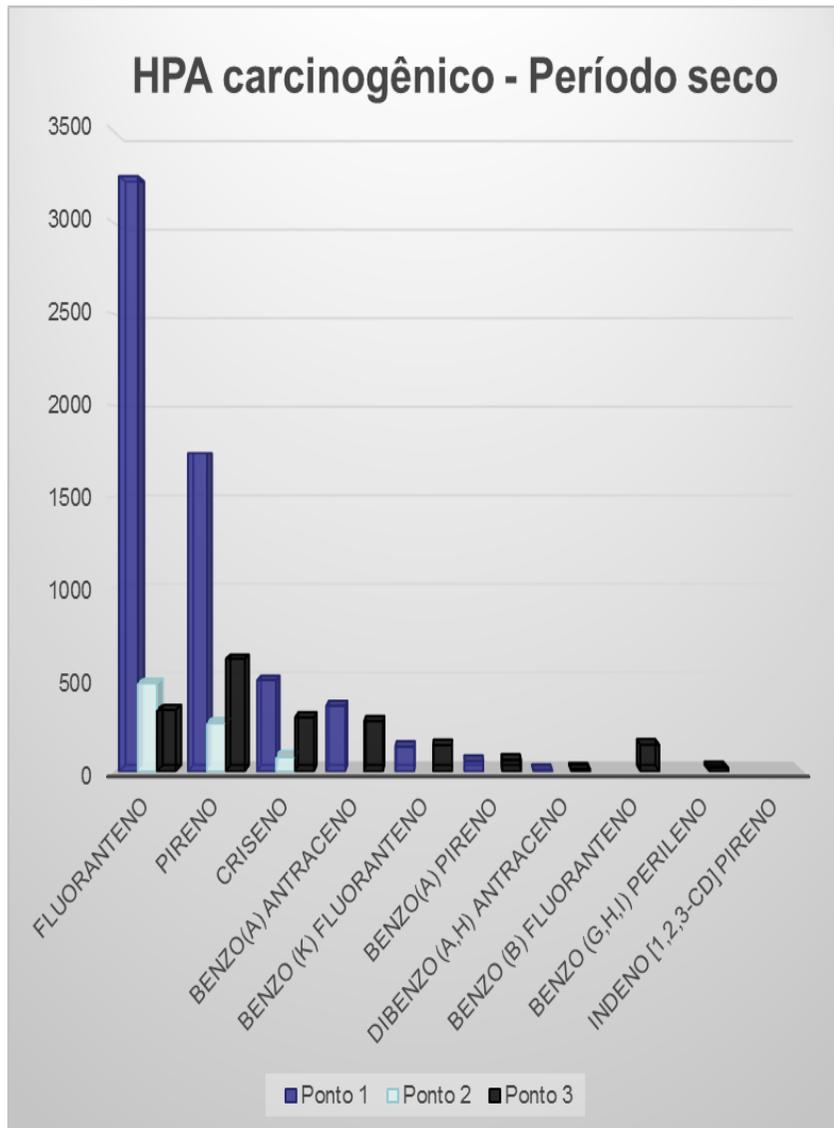
Carcinogênicos	Carcinogênicos e mutagênicos	Não carcinogênicos
benzo (g,h,i) perileno e indeno [1,2,3-cd] pireno	fluoranteno, pireno, benzo (a) antraceno, criseno, benzo (b) fluoranteno, benzo (k) fluoranteno, benzo (a) pireno e dibenzo (a,h) antraceno	Mutagênicos: acenafteno, antraceno, acenaftileno e fluoreno; tóxico e mutagênico: fenantreno tóxico: naftaleno

Quadro 2. Estruturas químicas de alguns HPA

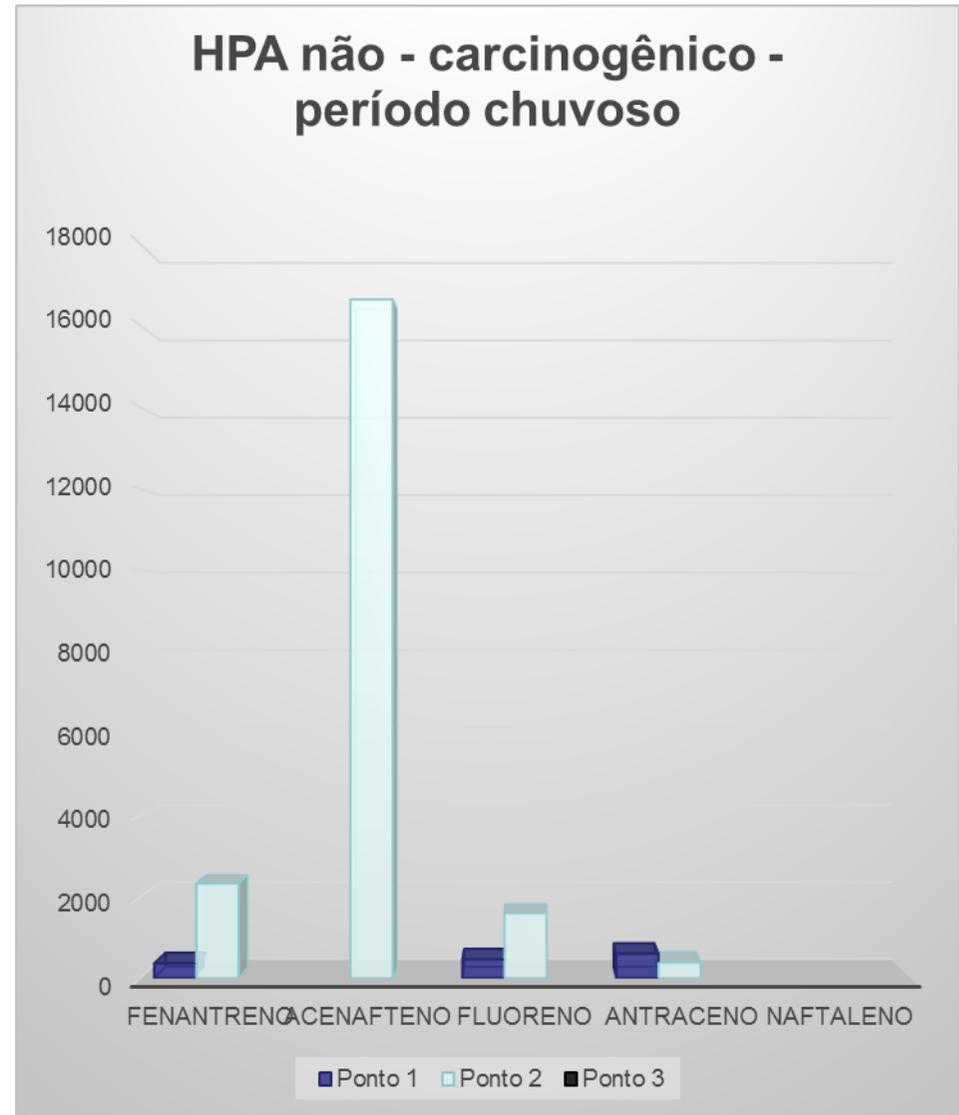
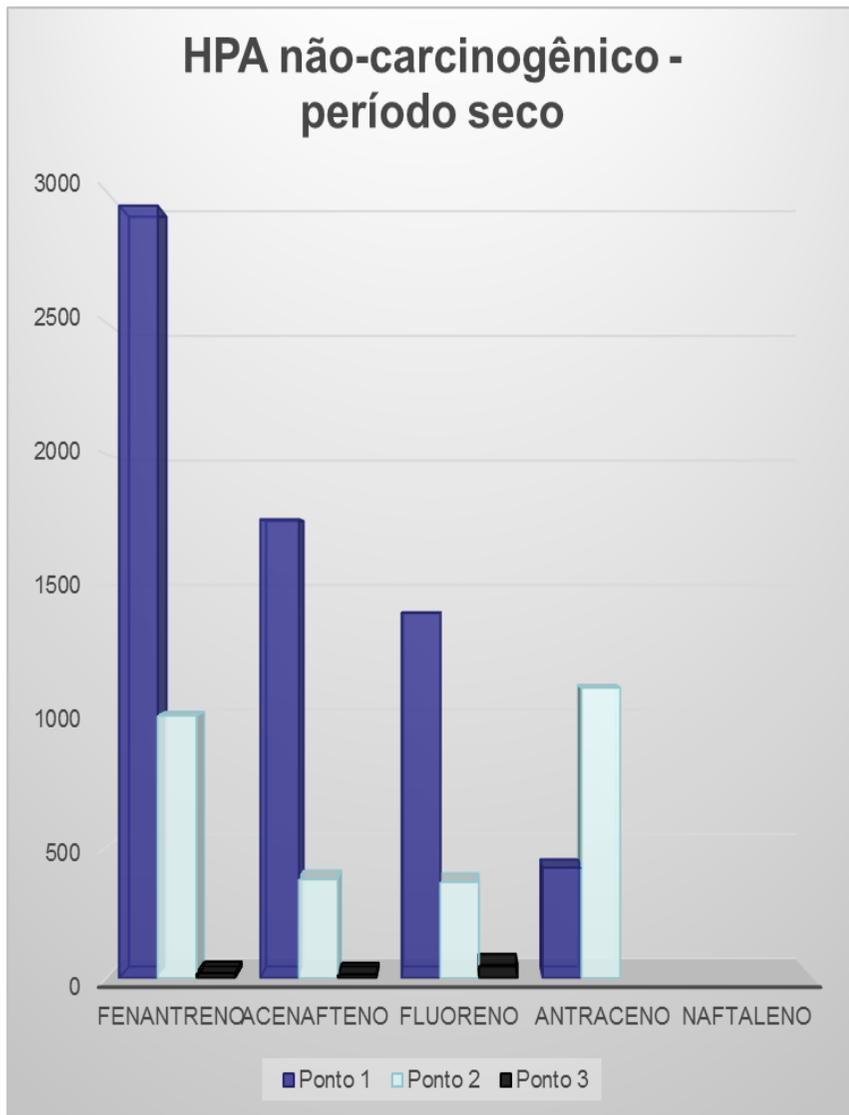
Nomenclatura (IUPAC)	Estrutura	Efeito	Nomenclatura (IUPAC)	Estrutura	Efeito
Naftaleno		tóxico	Acenaftileno		mutagênico
Acenafteno		mutagênico	Fluoreno		mutagênico
Antraceno		mutagênico	Fenantreno		tóxico e mutagênico
Fluoranteno		carcinogênico e mutagênico	Pireno		carcinogênico e mutagênico
Criseno		carcinogênico e mutagênico	Benzo (a) antraceno		carcinogênico e mutagênico
Benzo (b) fluoranteno		carcinogênico e mutagênico	Benzo (k) fluoranteno		carcinogênico e mutagênico
Benzo (a) pireno		carcinogênico e mutagênico	Dibenzo (a,h) antraceno		carcinogênico e mutagênico
Benzo (g,h,i) perileno		carcinogênico	Indeno (1,2,3-cd) pireno		carcinogênico

Fonte: SIMS et al., 1988 apud FRONZA, 2006.

**Figura 4.** Concentrações de HPA carcinogênicos em período seco e chuvoso no interior de área contaminada na REBIO União.



**Figura 5** Concentrações de HPA não carcinogênicos em período seco e chuvoso no interior de área contaminada na REBIO União.



Os resultados das análises comprovaram a presença dos HPAs estudados na maioria das amostras, sendo que o ponto 1 alcançou as mais altas concentrações no período seco e o ponto 2 apresentou nível expressivamente maior de contaminação por HPAs no período chuvoso. O ponto 3 apresentou as mais baixas concentrações no período seco e no período chuvoso nada foi detectado neste local.

As concentrações dos HPAs no solo apresentadas nas Figuras 4 e 5 confirmam a contaminação do sistema edáfico do entorno do extinto pátio ferroviário por hidrocarbonetos aromáticos persistentes derivados de creosoto, cujos níveis estão acima dos valores de investigação<sup>2</sup> determinados na CONAMA nº 420/2009. Diante disso pode-se classificar este solo como classe IV, pois apresenta concentração de pelo menos uma substância química maior que o VI – Valor de Investigação, apresentados na Tabela 1. No estudo foi empregado o VI Industrial, apesar de mais elevado que o de prevenção ou o de uso agrícola, por se tratar a área investigada de uma unidade industrial no passado.

No período seco, os hidrocarbonetos aromáticos de baixo peso molecular fenantreno, acenafeno e fluoreno foram detectados em altas concentrações no ponto 1. O nível de contaminação foi decrescendo até o ponto 3 (Figura 5). Eles podem ter passado por processo de volatilização ou até mesmo degradação, haja vista seu reduzido número de anéis aromáticos.

**Tabela 1.** Valores orientadores de contaminação de solo (mg/kg<sup>-1</sup>) (CONAMA, 2009).

Componente	Valores orientadores de contaminação de solo (mg/kg <sup>-1</sup> )		
	Valor de prevenção	Uso Agrícola	Uso Industrial
Fluoranteno <sup>2</sup>	-	-	-
Acenafeno <sup>1</sup>	-	-	-
Fenantreno <sup>1</sup>	3,3	15	95
Pireno <sup>2</sup>	-	-	-
Fluoreno <sup>1</sup>	-	-	-
Antraceno <sup>1</sup>	0,039	-	-
Benzo(a) antraceno <sup>3</sup>	0,025	9	65
Criseno <sup>3</sup>	8,1	-	-
Benzo (b) fluoranteno <sup>3</sup>	-	-	-
Benzo (k) fluoranteno <sup>3</sup>	0,38	-	-
Benzo (a) pireno	0,052	0,4	3,5
Benzo (g,h,i) perileno <sup>3</sup>	0,57	-	-
Dibenzo (a,h) antraceno <sup>3</sup>	0,08	0,15	1,3
Indeno [1,2,3-cd] pireno <sup>3</sup>	0,031	2	130
Naftaleno <sup>1</sup>	0,12	30	90

Legenda: 1 – baixo peso molecular/ maior solubilidade; 2 – peso molecular intermediário; 3 – alto peso molecular/ menor solubilidade Fonte: adaptado de CONAMA, 2009.

<sup>2</sup>Os valores de investigação (VI) são definidos pela Resolução CONAMA nº 420/2009 como “a concentração de determinada substância no solo ou na água subterrânea acima da qual existem riscos potenciais, diretos ou indiretos, à saúde humana”.

Não foi verificada a presença de HPA na água coletada no afluente do córrego Purgatório localizado nos limites da área contaminada (próxima ao ponto 1) em nenhuma das campanhas. Porém, na campanha de período chuvoso, foi verificada na água coletada no córrego Purgatório a presença de um composto orgânico poliaromático de anéis isolados, considerado tóxico e com potencial para desregulação endócrina: a N-nitroso-difenilamina. A origem deste contaminante não é clara e requer investigação posterior. Sabe-se que nitrosaminas são metabólitos associados à degradação de matéria orgânica e que podem exibir propriedades carcinogênicas.

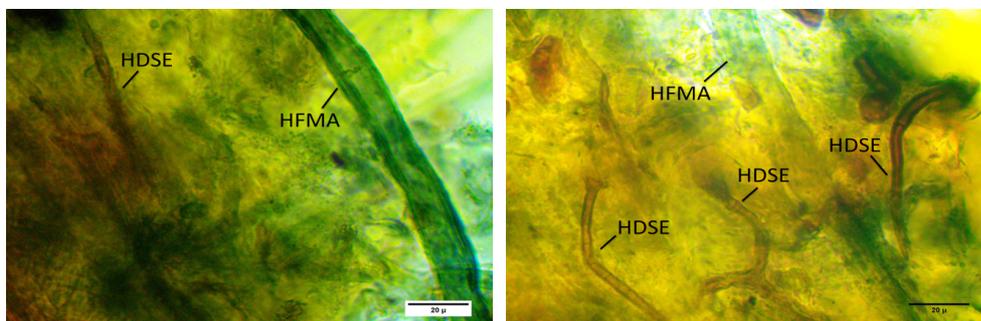
### 3.2 Caracterização das espécies vegetais coletadas

Em coleta realizada no mês de maio de 2016 para testes, foi possível verificar que as raízes da pteridofita da família Thelypteridaceae (Figura 6) estavam colonizadas por Fungo Micorrízico Arbuscular (FMA) e *Dark Septate Endophyte* (DSE). A ocorrência dos dois fungos na Rebio União pôde ser constatada por meio da observação de estrutura semelhante à arbusculo de FMA e de hifas septadas escuras e estruturas semelhantes à microescleródios de DSE em células da raiz conforme mostrado na Figura 7.

**Figura 6.** Pteridófitas coletadas em área contaminada na REBIO União

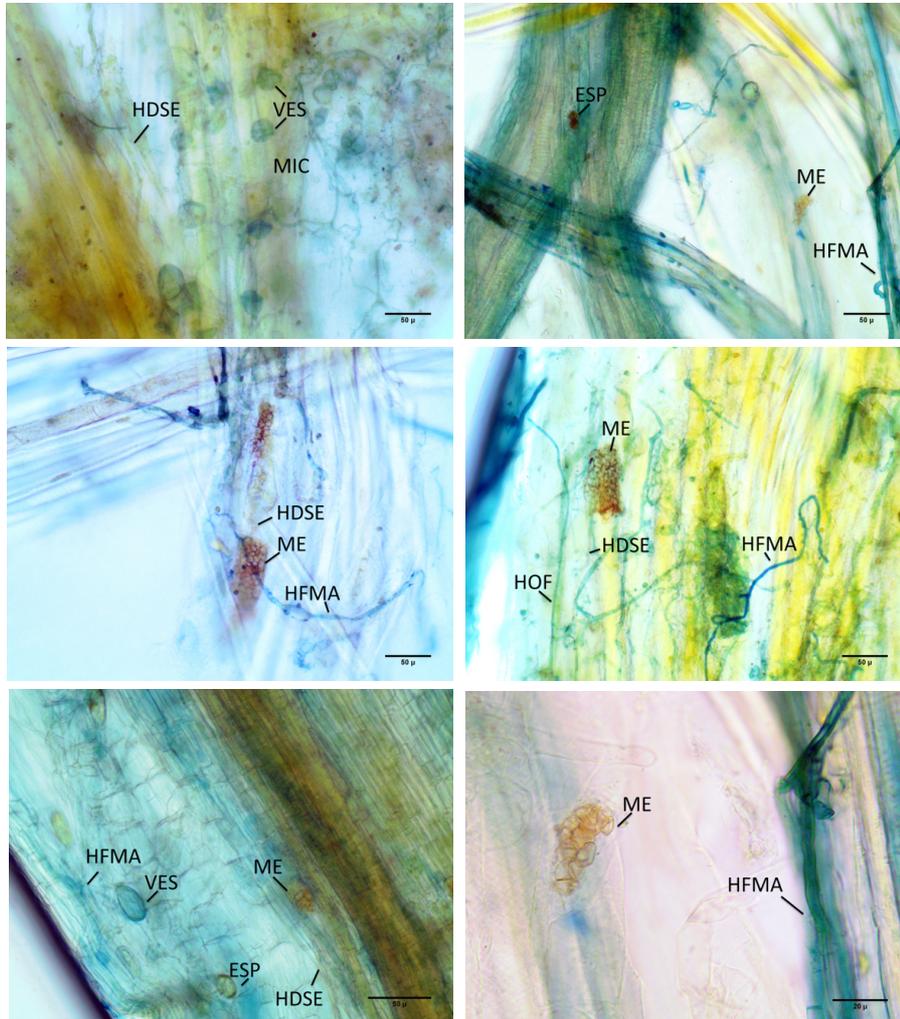


As amostras foram classificadas de acordo com o guia de Samambaias e Licófitas da Rebio Uatumã como pertencentes à família *Thelypteridaceae*.



**Figura 7.** Observação de estruturas de FMA e DSE em raízes de Thelypteridaceae na Rebio União. (A) HFMA: hifa de fungo micorrízico arbuscular. HDSE: hifa de Dark septate endophyte. Aumento de 1000x. Fotos da autora.

Com a verificação de estruturas de FMA e DSE em amostras coletas foi possível constatar a ocorrência de relação simbiótica entre os fungos e vegetais na área contaminada com creosoto. Em uma segunda análise de amostras também coletadas no ponto 1, realizada em maio de 2017, verificou-se, nas raízes das plântulas, a presença de estruturas de FMA e DSE (Figura 8).



**Figura 8.** A – F: Estruturas de FMA e DSE em raízes de pteridófito da família Thelypteridaceae na Rebio União. ME: Microescleródio (B, C, D, E, F), HFMA: Hifa de fungo micorrízico arbuscular (B, C, D, E, F). HDSE: hifas de Dark septate endophyte (A, C, D, E). VES: vesícula (A, E). ESP: esporo (B, E). HOF: hifa de outro fungo (D). Aumento de 400x (A, B, C, D, E). Aumento de 1000x (F).



## 4 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Relativamente à persistência da contaminação de creosoto no solo constatou-se que:

- A persistência da contaminação por creosoto na Reserva Biológica União, RJ foi comprovada: 80% das amostras quantificadas apontaram concentrações acima dos valores de Investigação para Uso Industrial da Resolução CONAMA nº420/2009.
- Foi observada a migração do óleo de creosoto do ponto mais próximo ao pátio ferroviário, onde o tratamento de dormentes era executado e ocorria o vazamento, até um ponto mais distante, que é o local mais próximo ao córrego.
- Devido à baixa solubilidade em água do HPA, a probabilidade de atingirem pontos mais críticos como o lençol freático é pequena.
- Os valores de concentração dos poluentes avaliados são muito superiores aos valores de investigação estabelecidos pela Resolução CONAMA 420/2009.
- Há indicativos de ocorrência da volatilização de hidrocarbonetos aromáticos de baixo peso molecular presentes no solo em período seco
- A contaminação cruzada solo-água não foi confirmada.
- Não foram encontrados HPA na água superficial coletada; porém, a presença de N,N-difenil-nitrosamina na água observada numa das campanhas realizadas em período chuvoso necessita de investigação mais detalhada para verificação da origem do poluente, que não necessariamente está associada à presença do creosoto.
- Os níveis da contaminação no solo situam-se acima dos valores de investigação estabelecidos pelo CONAMA em alguns períodos do ano, constituindo-se de passivo ambiental para o qual a biorremediação via associações entre vegetais e FMA pode ser uma alternativa viável.
- Foram observadas estruturas de FMA como hifas, vesículas e esporos e também estruturas de DSE como hifas septadas melanizadas e microescleródios, em raízes de pteridófitas da família Thelypteridaceae, coletadas na área contaminada.
- A relação simbiótica estabelecida em um ambiente altamente contaminado com creosoto nos possibilita analisar a hipótese da utilização dessa interação para remediar o solo contaminado. Estudos mais aprofundados em relação a identificação da espécie de pteridófitas devem ser realizados, para que a mesma seja caracterizada como vegetal endêmico ou exótico.

Em função do exposto, apresentamos a seguir **recomendações** à equipe técnica e gestora da UC:

- Recomenda-se realizar monitoramento sistemático dos níveis de concentração neste estudo tanto no solo quanto na água de forma a estimar as taxas de degradação destes compostos no território da REBIO.
- Recomenda-se realizar a delimitação da extensão da área contaminada pelos hidrocarbonetos aromáticos no solo e nas águas subterrâneas da microbacia do Córrego Purgatório para estimar os riscos de



contaminação da água, principalmente a que deságua no rio Macaé, o qual abastece o município de Macaé.

- Recomenda-se realizar estudos posteriores para verificar se a presença de N,N-difenil-nitrosamina na água está associada à degradação de algum dos componentes do creosoto. A toxicidade da amina poliaromática reforça a necessidade de dar continuidade à presente investigação, avaliando a qualidade das águas superficiais e subterrâneas da bacia do córrego Purgatório.
- Recomenda-se a retirada de todas as espécies vegetais frutíferas ou comestíveis do entorno das instalações descomissionadas da usina de creosoto desativada, assim como da área contaminada investigada no presente estudo, em função da possibilidade de transferência de contaminantes aromáticos para os vegetais.
- Recomenda-se a retirada do viveiro de mudas instalado no entorno das instalações descomissionadas da usina de creosoto desativada em função dos riscos à saúde da equipe envolvida com a manutenção do viveiro; tais riscos estão associados à volatilização dos hidrocarbonetos aromáticos de baixo peso molecular encontrados no solo da área em questão. No caso da inviabilidade da realocação do viveiro, devem ser implementadas medidas de monitoramento e/ou controle de emissões de compostos orgânicos voláteis na área em questão, de forma a minimizar os riscos à saúde humana.

Participaram da elaboração do presente relatório os seguintes pesquisadores (em ordem alfabética):

- Jade Golzio Barqueta Donnini – graduanda em Engenharia Ambiental – IFFluminense
- Janaína Silvano Marinho Teixeira – Bióloga, Mestre em Engenharia Ambiental pelo PPEA - IFFluminense
- Jullie Siqueira Vianna – Bióloga; Mestre em Engenharia Ambiental pelo PPEA - IFFluminense
- Maria Inês Paes Ferreira – Pós-doutora em Gestão Integrada dos Recursos Naturais; Docente permanente do PPEA - IFFluminense
- Victor Barbosa Saraiva – Doutor em Ciências Biológicas (Biofísica); Docente permanente do PPEA - IFFluminense

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE J. A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I. C. S. F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Ecletica Química**, São Paulo, v.35, n.3, Sept. 2010.

ANDREW, D. R. *et al.* Abiotic factors shape microbial diversity in Sonoran Desert soils. **Applied and environmental microbiology**, 78(21), 7527-7537, 2012.

AZEVEDO, M. *et al.* Responses of antioxidant defenses to Cu and Zn stress in two aquatic fungi. **Science of the total environment**, v. 377, n. 2, p. 233-243, 2007.



BARROW J.R. Atypical morphology of dark septate fungal root endophytes of *Bouteloua* in arid southwestern USA rangelands. **Mycorrhiza**.13:239–247, 2013.

BRASIL. Plano de Manejo da Reserva Biológica União: Resumo Executivo. Rio de Janeiro: MMA/ICMBIO, 2008.

BRASIL. Relação de monografias dos ingredientes agrotóxicos, domissanitários e preservantes de madeira. Índice Monográfico 015. Óleo creosoto. ANVISA. Diário Oficial da União, Seção 3, p. 189, 15 maio 2002.

CAPUTO, V. Relatório referente ao passivo ambiental na Reserva Biológica União. Rio de Janeiro: UFRJ, 2006.

CLEMMENSEN, K.E.; BAHR, A.; OVASKAINEN, O.; DAHLBERG, A.; EKBLAD, A.; WALLANDER, H.; STENLID, J.; FINLAY, R.D.; WARDLE, D.A.; LINDAHL, B.D. Roots and associated fungi drive long-term carbon sequestration in boreal forest. **Science**, v.339, p.1615-1618, 2013.

CONAMA – CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE. RESOLUÇÃO nº 420 de 2009. Critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620> Acesso em: 19 jul 2017.

FERNÁNDEZ, N.; MESSUTI, M. I.; FONTENLA, S. Arbuscular mycorrhizas and dark septate fungi in *Lycopodium paniculatum* (Lycopodiaceae) and *Equisetum bogotense* (Equisetaceae) in a Valdivian temperate forest of Patagonia, Argentina. **American Fern Journal**, v. 98, n. 3, p. 117-127, 2008.

FERREIRA, M. I. P. *et al.* Relatório Técnico de visita à Reserva Biológica União para avaliação de passivo ambiental relacionado à contaminação com “Creosoto”. Macaé/RJ: PPEA. IFFluminense, 2014. Disponível em: <<http://portal1.iff.edu.br/pesquisa-e-inovacao/pos-graduacao-stricto-sensu/mestrado-em-engenharia-ambiental/publicacoes/relatorios-e-trabalhos-tecnicos/rebio-uniao.pdf/view>> Acesso em: 04 ago 2017.

GAYLARDE, C. C.; BELLINASSO, M. L.; MANFIO, G. P. Biorremediação: aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. **Biotecnologia, ciência ; desenvolvimento**. s/v. n. 34, p. 36-43, 2005.

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Certificado de registro segundo a Portaria Interministerial nº 292, de 28/04/89 e a Instrução Normativa nº 5, de 20/10/92, que regulamenta a Lei nº 4797, de 20/10/65. 2015.

JACQUES, R. J. S.; BENTO, F. M.; ANTONIOLLI, Z. I.; CAMARGO, F. A. O. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência Rural**. 37 (4):1192-1201, 2007.

JANKOWSKY, I. P. Os creosotos na preservação de madeiras. **IPEF, ESALQ-USP**, Departamento de Ciências Florestais. Piracicaba, SP, n.34, p.5-14, dez.1986.



JOHNSON, N. C.; GRAHAM, J. H.; SMITH, F. A. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism–parasitism continuum. **The New Phytologist**, v. 135, n. 4, p. 575-585, 1997.

JUMPPONEN, A. Dark septate endophytes – are they mycorrhizal? **Mycorrhiza** 11:207–211. 2001.

JUMPPONEN, A. R. I.; TRAPPE, James M. Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. **The New Phytologist**, v. 140, n. 2, p. 295-310, 1998.

KESSLER, M. et al. A survey of the mycorrhization of Southeast Asian ferns and lycophytes. **Plant Biology**, v. 12, n. 5, p. 788-793, 2010a.

KESSLER, M. et al. Mycorrhizal colonizations of ferns and lycophytes on the island of La Réunion in relation to nutrient availability. **Basic and applied ecology**, v. 11, n. 4, p. 329-336, 2010b.

KIM, Ki-Hyun et al. A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. **Environment international**, v. 60, p. 71-80, 2013

LI, Helian et al. Selective removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from soil washing effluents using biochars produced at different pyrolytic temperatures. **Bioresource technology**, v. 163, p. 193-198, 2014.

LINGFEI, L.; YANG, A.; ZHAO, Z.W. Seasonality of arbuscular mycorrhizal symbiosis and dark septate endophytes in a grassland site in Southwest China. **FEMS Microbiology Ecology**, v.54, p.367-373, 2005.

LIU, Huan et al. Dark septate endophytes colonizing the roots of ‘non-mycorrhizal’ plants in a mine tailing pond and in a relatively undisturbed environment, Southwest China. **Journal of Plant Interactions**, v. 12, n. 1, p. 264-271, 2017b.

LIU, Shao-Heng *et al.* Bioremediation mechanisms of combined pollution of PAHs and heavy metals by bacteria and fungi: A mini review. **Bioresource technology**, v. 224, p. 25-33, 2017a.

MA, Ying et al. Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal phytoremediation. **Journal of environmental management**, v. 174, p. 14-25, 2016.

MANDYAM K., JUMPPONEN A. Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi. **Stud Mycol**, 53:173–189,2005.

MANDYAM, K. Dark septate fungal endophytes from a tallgrass prairie and their continuum of interactions with host plants. Manhattan. 115f. **Dissertation (Doctor of philosophy) - Division of Biology, College of Arts and Sciences, Kansas State University**, 2008.

MARINS, Josy Fraccaro de; CARRENHO, Rosilaine. Arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate fungi in plants associated with aquatic environments. **Acta Botanica Brasilica**, v. 31, n. 2, p. 295-308, 2017.

MASSENSINI, A.M.; BONDUKI, V.H.A.; TÓTOLA, M.R.; FERREIRA, F.A.; COSTA, M.D. "Arbuscular mycorrhizal associations and occurrence of dark septate endophytes in the roots of Brazilian weed plants." **Mycorrhiza**, v. 24, n.2 p.153-159, 2014.



MENINI NETO, L.; ALVES, R.J.V.; BARROS, F. & FORZZA, R.C. Orchidaceae do Parque Estadual de Ibitipoca, MG, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** 21(3): 687-696 2007.

MMA - Ministério do Meio Ambiente. Unidades de Conservação: conservando a vida, os bens e os serviços ambientais. São Paulo, 2008. Disponível em: < [http://www.mma.gov.br/estruturas/pda/\\_arquivos/prj\\_mc\\_061\\_pub\\_car\\_001\\_uc.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/pda/_arquivos/prj_mc_061_pub_car_001_uc.pdf).> Acesso em: 31 jul. 2017.

MORAN, R.C. Diversity, biogeography, and floristics. In: Ranker, T.A. & Haufler, C.H. (eds.). *Biology and evolution of ferns and lycophytes*. **Cambridge University Press**, New York. p. 367-394, 2008.

MORESCHI, J. C. Biodegradação e preservação de madeira. . 4ª ed. Paraná: Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal, **Universidade Federal do Paraná**, v.2: Preservativos de madeira. Abril, 2013

MOSCOSO, F. et al. Efficient PAHs biodegradation by a bacterial consortium at flask and bioreactor scale. **Bioresource technology**, v. 119, p. 270-276, 2012.

NARISAWA, Kazuhiko *et al.* The dark septate endophytic fungus *Phialocephala fortinii* is a potential decomposer of soil organic compounds and a promoter of *Asparagus officinalis* growth. **Fungal Ecology**, v. 28, p. 1-10, 2017.

NICHOLLS, C. I.; ALTIERI, M. A. Estratégias agroecológicas para aumentar a resiliência no contexto de mudanças climáticas. **Agriculturas: experiências em agroecologia**, v. 28, n.2, 2012.

OGUNNIYI, Titus AB et al. Disinfectants/antiseptics in the management of guinea worm ulcers in the rural areas. **Acta tropica**, v. 74, n. 1, p. 33-38, 2000.

PELLIZZARO, P. C. *et al.* Gestão e manejo de áreas naturais protegidas: contexto internacional. *Ambient. soc.* [online]. 2015, vol.18, n.1, pp.19-36. ISSN 1414-753X. <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4422ASOC509V1812015en>.

PEREIRA, A. F. N.; BARROS, I. C. L.; SANTIAGO, A. C. P.; SILVA, I. I. A. Florística e distribuição geográfica das samambaias e licófitas da Reserva Ecológica de Gurjaú, Pernambuco, Brasil. **Rodriguésia**, v.62, n.1,p.1-10, 2011.

PERLATTI, F. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares no solo de agroecossistemas e mata nativa em ambiente semiárido no ceará. **Embrapa**, 2010.

PETERSON, R. L.; H. B. MASSICOTE; L. H. MELVILLE. *Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology* NRC Research Press. **Ottawa**. 2004.

POTIN, O. *et al.* Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil. **International Biodeterioration and Biodegradation**, **Oxford**, v.54, n.1, p.45-52, 2004.

PRADO, J.; SYLVESTRE, L.S. Samambaias e Licófitas. In: Forzza, R.C. *et al.* (eds.). **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Vol. 1. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Pp. 522-567, 2010.

PRYER KM, SCHNEIDER H, SMITH HR, CRANFILL R, WOLF PG, HUNT JS *et al.* Horsetails and ferns are a monophyletic group and are the closest living relatives to seed plants. **Nature** 409, 618–622, 2001.



PRYER, Kathleen M. *et al.* Phylogeny and evolution of ferns (monilophytes) with a focus on the early leptosporangiate divergences. *American journal of Botany*, v. 91, n. 10, p. 1582-1598, 2004.

REDMAN, R.; SHEELHAN, K. B.; STOUT, R. G.; RODRIGUEZ, R. J.; HENSON, J. M. Thermo tolerance generated by plant/fungal symbiosis. *Science*, v.298, n.5598, p.1581, nov., 2002.

REMY, Winfried *et al.* Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, n. 25, p. 11841-11843, 1994.

RILLIG, M. C. *et al.* The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: Comparing effects of five plant species. **Plant Soil**, v. 238, p. 325-333, 2002

RODRIGUEZ, R.J.; WHITE, F.A. JR.; ARNOLD, A. E.; REDMAN, R.S. Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytol* 182:314–330, 2009.

RUSSELL, Jonathan R. *et al.* Biodegradation of polyester polyurethane by endophytic fungi. **Applied and environmental microbiology**, v. 77, n. 17, p. 6076-6084, 2011.

SCERVINO, J. M. *et al.* Exudates of dark septate endophyte (DSE) modulate the development of the arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) *Gigaspora rosea*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, n. 8, p. 1753-1756, 2009.

SHARPE, J. M.; MEHLTRETER, K.; WALKER, L. R. Ecological importance of ferns. **Fern Ecology**. 1. ed. New York: Cambridge University press.1-17p., 2010.

SHEN, M.; ZHAO, D. K.; QIAO, Q.; LIU, L.; WANG, J. L.; CAO, G. H.; LI, T.; ZHAO, Z.W. Identification of Glutathione S-Transferase (GST) Genes from a Dark Septate Endophytic Fungus (*Exophiala pisciphila*) and Their Expression Patterns under Varied Metals Stress. **Journal pone**, April 17, 2015.

SIEBER, T.N. & GRÜNIG, C.R. Fungal root endophytes. In: Eshel, A., Beeckman, T. (Eds.), **Plant Roots e the Hidden Half**, fourth ed. Florida, Boca Raton, pp. 38- 31 e 38-49,2013.

SILVA, P. T. S. Estudo dos processos oxidativos avançados para o tratamento dos solos contaminados por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. Recife/PE, 2007. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Química Fundamental, 2007.

SMITH, A.R.; PRYER, K.M.; SCHUETTPELZ, E.; KORALL, P.; SCHNEIDER, H. & WOLF, P.G. A classification for extant ferns. **Taxon** 55(3): 705-731, 2006

SMITH, A.R.; PRYER, K.M.; SCHUETTPELZ, E.; KORALL, P.; SCHNEIDER, H. & WOLF, P.G. Fern classification. In: Ranker, T.A. & Haufler, C.H. (Eds.). *Biology and evolution of ferns and lycophytes*. **New York, Cambridge University Press**. Pp. 417-467,2008.

SOUZA, F. A. de; GUERRA, J.G.M. Emprego de Técnicas do Número mais Provável (NMP) no Estudo de populações de Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs). Seropédica: **Embrapa. Agrobiologia** – 1998. 34p. (Embrapa-CNPAB.Circular Técnica nº 2 – ISSN 1516-0653).



TEIXEIRA, J. S. M. FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E *DARK SEPTATE ENDOPHYTES*: ALTERNATIVA PARA A REMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS COM CREOSOTO. [Dissertação]. Macaé: Instituto Federal Fluminense. PPEA, 2017. 79 pp.

U.S. EPA. - United States Environmental Protection Agency. Health Effects Assessment For Creosote, 1987.

U.S. EPA. - United States Environmental Protection Agency. Reregistration Eligibility Decision for Creosote (Case 0139). Prevention, Pesticides and Toxic Substances. EPA 739-R-08-007. September, 2008.

US EPA - United States Environmental Protection Agency. "Method 8270D (SW-846): Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/ Mass Spectrometry (GC/MS)," Revision 4. 1998. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/epa-8270d.pdf>> Acesso em: 19 jul 2017.

US EPA. 1998. "Method 8270D (SW-846): Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/ Mass Spectrometry (GC/MS)," Revision 4. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/epa-8270d.pdf>> Acesso em: 19 jul 2017.

VIANNA, F. V. Acumulação de HPA pela *Spartina alterniflora* cultivada em solo de landfarming de indústria petroquímica. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Física, Química e Geológica). Universidade Federal do Rio Grande. Programa de pós-graduação em Oceanografia Física, Química e Geológica. Rio Grande/RS, agosto de 2008.

VIANNA, F. V. CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL POR COMPOSTOS POLIAROMÁTICOS HERDADA POR UMA UNIDADE DE CONSERVAÇÃO DE PROTEÇÃO INTEGRAL: O CASO DA RESERVA BIOLÓGICA UNIÃO – RJ/BRASIL. [Dissertação]. Macaé: Instituto Federal Fluminense. PPEA, 2017. 73 pp.

VIANNA, J. S. *et al.* Contaminação do solo por creosoto em uma Unidade de Conservação de Proteção Integral: o caso da Reserva Biológica União – RJ/Brasil. **Boletim do Observatório Ambiental Alberto Ribeiro Lamego**, [s.l.], v. 10, n. 2, p.131-153, 30 dez. 2016. Essentia Editora. <http://dx.doi.org/10.19180/2177-4560.v10n22016p131-153>. Disponível em: <<http://www.essentiaeditora.iff.edu.br/index.php/boletim/article/view/7618>>. Acesso em: 11 out. 2017.

WINDISCH, P. G.; PRADO, J. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais Cyatheaceae. **Boletim de Botânica**, v. 12, p. 7-13, 1990.

WINDISCH, P.G. Fern conservation in Brazil. **Fern Gazette** 16: 295-300, 2002.

WINTHER, J. L. ; W. E. FRIEDMAN. Arbuscular mycorrhizal associations in Lycopodiaceae. **New Phytol** 177:790–801. 2007.

WU, Gang *et al.* A critical review on the bio-removal of hazardous heavy metals from contaminated soils: issues, progress, eco-environmental concerns and opportunities. **Journal of Hazardous Materials**, v. 174, n. 1, p. 1-8, 2010.



YU T., NASSUTH A. & PETERSON RL. Characterization of the interaction between the dark septate fungus *Phialocephala fortini* and *Asparagus officinalis* roots. **Can J Microbiol** 47: 741–753, 2001.

ZHAN, F.; HE, Y.; LI, T.; YANG, Y.; TOOR, G. S.; ZHAO, Z. Tolerance and Antioxidant Response of a Dark Septate Endophyte (DSE), *Exophiala pisciphila* to Cadmium Stress. **Bull Environ Contam Toxicol** 94:96–102, 2015.

ZHANG, Chen et al. Combined removal of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and Pb (II) by using a cutinase loaded nanoporous gold-polyethyleneimine adsorbent. **Rsc Advances**, v. 4, n. 98, p. 55511-55518, 2014.

ZHANG, Chen et al. Efficacy of carbonaceous nanocomposites for sorbing ionizable antibiotic sulfamethazine from aqueous solution. **Water research**, v. 95, p. 103-112, 2016.

ZHANG, Xu-Xiang et al. Microbial PAH-Degradation in Soil: Degradation Pathways and Contributing Factors 11 Project supported by the National High Technology Research and Development Program (863 Program) of China (No. 2001AA214191). **Pedosphere**, v. 16, n. 5, p. 555-565, 2006.

ZHAO, Z. W. The arbuscular mycorrhizas of pteridophytes in Yunnan, southwest China: evolutionary interpretations. **Mycorrhiza** 10:145–149. 2000.

ZUQUIM, G.; COSTA, F. R. C.; PRADO, J.; TUOMISTO, H. **Guia de samambaias e licófitas da REBIO Uatumã**. Amazônia Central, Manaus:[sn], 2008.

Maria Inês Paes Ferreira  
Coordenadora do PPEA-IFF  
Matr. SIAPE 1053309  
Vice-presidente do CBH Macaé