

## Uso da soja perene na detecção de estresses induzidos por pequenos vazamentos de hidrocarbonetos

Giuliana Clarice Mercuri Quitério<sup>1</sup>  
Lucíola Alves Magalhães<sup>1</sup>  
Carlos Roberto de Souza Filho<sup>1</sup>  
Teodoro Isnard Ribeiro de Almeida<sup>2</sup>  
Marcos Nopper Alves<sup>1</sup>  
Wilson José Oliveira<sup>3</sup>  
Lis Maria Leoni Rabaco<sup>3</sup>  
Renato Rocha<sup>3</sup>

<sup>1</sup>IG e CPqBA / Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP  
Caixa Postal 6152 – 13083-970 - Campinas - SP, Brasil  
{giuliana, lucíola, beto@ige.unicamp.br}{mnopper@cpqba.unicamp.br}

<sup>2</sup>IG / Universidade de São Paulo – USP  
Rua do Lago, 562 - 05508-080 - São Paulo - SP, Brasil  
{talmeida@usp.br}

<sup>3</sup>PETROBRAS- CENPES e Engenharia/IETEG/ETEG/EAMB  
Av. Horácio de Macedo 950 - 21941-915 - Rio de Janeiro – RJ  
{wilsonjo, lismaria, renator@petrobras.com.br}

**Abstract.** This research involves the application of remote sensing (RS) data and techniques to improve the indirect detection of small leakages (i.e. <1% in pressure and flow) through hydrocarbon pipelines. The overall objective of the study was to investigate the possibility to detect botanical and attuned visible and infrared (400-2500 nm) spectral changes induced by perennial soybean (*Neonotonia wightii*) growth on soils contaminated with gasoline (GSL) and diesel (DSL). The leakage experiments were conducted in a greenhouse containing 45 lysimeters, where controlled contaminations were carried out periodically. The analyzed variables, that included mass of dry and fresh shoot and roots, pigment content, starch and total sugar, were temporally correlated with the reflectance properties of leaves. The results showed spectral and morpho-physiological changes related to the presence of GSL and DSL in the soil. The GSL proved to be a more aggressive contaminant. Physiological and spectral responses of plants grown under this hydrocarbon were observed earlier when compared to those contaminated by DSL. Anomalous spectral response were observed since the first dose of contamination was applied to this leguminous specie. In addition to the spectral changes, the sharp decrease of the mass of shoot matter provided straightforward detection of the contamination.

**Palavras-chave:** hydrocarbons, spectral analysis, leakage detection, hidrocarbonetos, análises espectrais, detecção de vazamentos.

### 1. Introdução

O projeto e a implantação dos dutos levam em consideração as variáveis ambientais a que serão expostos. Porém, sob condições ambientais e operacionais mais severas (e.g., elevação de temperatura e pressão), o duto pode deixar de atender à realidade circunstancial, comprometendo sua integridade e acarretando vazamentos imperceptíveis aos equipamentos. A atenuação que o sinal do vazamento sofre ao longo do duto é mais um agravante. Mesmo sendo monitorados 24 horas por dia, estes sistemas ainda são ineficazes quando se trata de pequenos vazamentos, impossibilitando sua detecção pelos transdutores que se baseiam principalmente na queda de pressão e vazão dos dutos.

Pelo exposto, o estudo aqui apresentado teve como objetivo principal caracterizar a reflectância das folhas de *Neonotonia wightii* cultivada em solos contaminados com baixas concentrações de gasolina e diesel, visando a detecção precoce de vazamentos imperceptíveis aos sistemas usuais de monitoramento de dutos de transporte de HCs (abaixo de 1% da pressão e da capacidade de vazão dos dutos), através do emprego de sensoriamento remoto.

Grande parte dos estudos que visaram a identificação de áreas de vazamentos de HCs com auxílio de SR foram realizados em países de clima temperado (e.g. Noomen, 2003), onde as

condições ambientais apresentadas, como, tipo de solo, temperatura e o cultivar estudado, diferem muito da realidade de países tropicais. Estudos realizados no Brasil, basearam-se em alterações tonais do solo ou em anomalias da flora existentes nos locais com presença de gases em sub-superfície (e.g. Oliveira *et. al* 1998; Souza Filho *et. al.* 2008). Os resultados apresentados demonstraram que existe uma forte correlação entre o conteúdo de clorofila e a resposta espectral da vegetação na região do visível e na posição do *red-edge*, o que confere às mesmas, grande importância na detecção de estresses induzidos por HCs. O presente estudo visou não somente a caracterização das alterações espectrais no VNIR, mas também na região do infravermelho de ondas curtas, pouco abordada na literatura para o objetivo proposto

Os principais atributos que levaram à seleção da *Neonotonia wightii* como objeto de estudo foram: a) capacidade de rebrota durante a seca, b) persistência, c) propensão para mesclar-se com gramíneas e d) bom rendimento de forragem (Veasey *et. al* 1993). Sua excelente produção de massa verde, com boa palatabilidade, digestibilidade e geração de feno de boa qualidade, agregaram à espécie alto valor agrônômico como forrageira em pastagens consorciadas com gramíneas. Além disso, a malha dutoviária brasileira passa por regiões amplamente cultivadas com soja para fins comerciais (e.g. *Glycine max*). Se aqui for comprovada a sensibilidade da *N. wightii* às condições de vazamentos estudados, pode-se aferir que as culturas comerciais também apresentarão resultados semelhantes, ou mais intensos, por se tratarem de espécies menos resistentes que a soja perene.

## 2. Metodologia de Trabalho

O experimento foi instalado no campo experimental do CPQBA/UNICAMP (Paulínia, SP) sob condições semi-controladas, em viveiro telado com sombrite (50%) e cobertura plástica de 100 micra de espessura, com irrigação automática em sistema espaguete.

O delineamento experimental constou de 15 lisímetros construídos em vidro nas dimensões de 30cm x 40cm x 15cm, cobertos por Contact® preto, e com mangueiras perfuradas inseridas transversalmente para a injeção dos HCs. Os lisímetros foram posicionados em bases com 15° de inclinação para que as raízes crescessem em direção ao vidro frontal, onde foi mantida uma capa feita de E.V.A. (etil vinil acetato), colada com velcro, para possibilitar sua retirada e visualização do desenvolvimento radicular das plantas. Os três tratamentos foram definidos de acordo com o tipo de HC<sup>1</sup> empregado: 1) GSL - contaminados por gasolina; 2) DSL - contaminados com diesel e 3) CTR- lisímetros-controle que não receberam injeção de HCs (**Figura 1a-c**).



**Figura 1:** Vista geral do experimento; a) CTR; b) GSL e c) DSL.

A **Tabela 1** relaciona as medidas espectrorradiométricas efetuadas (que tiveram início após 35 dias da sementeira), a idade da planta, o acúmulo de HC injetado e sua respectiva capacidade de campo (CC), que foi determinada a partir da quantificação do volume total de água que o solo foi capaz de reter nos lisímetros. A partir desta informação, foi possível calcular que cada injeção de 50mL de combustível, equivaleu a 1,8% da capacidade de campo dos lisímetros.

<sup>1</sup> O diesel apresenta na sua composição 2% de biodiesel e 98% de diesel, caracterizado como tipo B2 ([www.petrobras.com.br](http://www.petrobras.com.br)). Foi adquirido em posto da Rede BR localizado nas imediações do CPQBA- Paulínia - SP.

**Tabela 1:** Número da medida espectral, tempo decorrido desde a semeadura, volume de HC total injetado até determinada data e capacidade de campo (CC) correspondente.

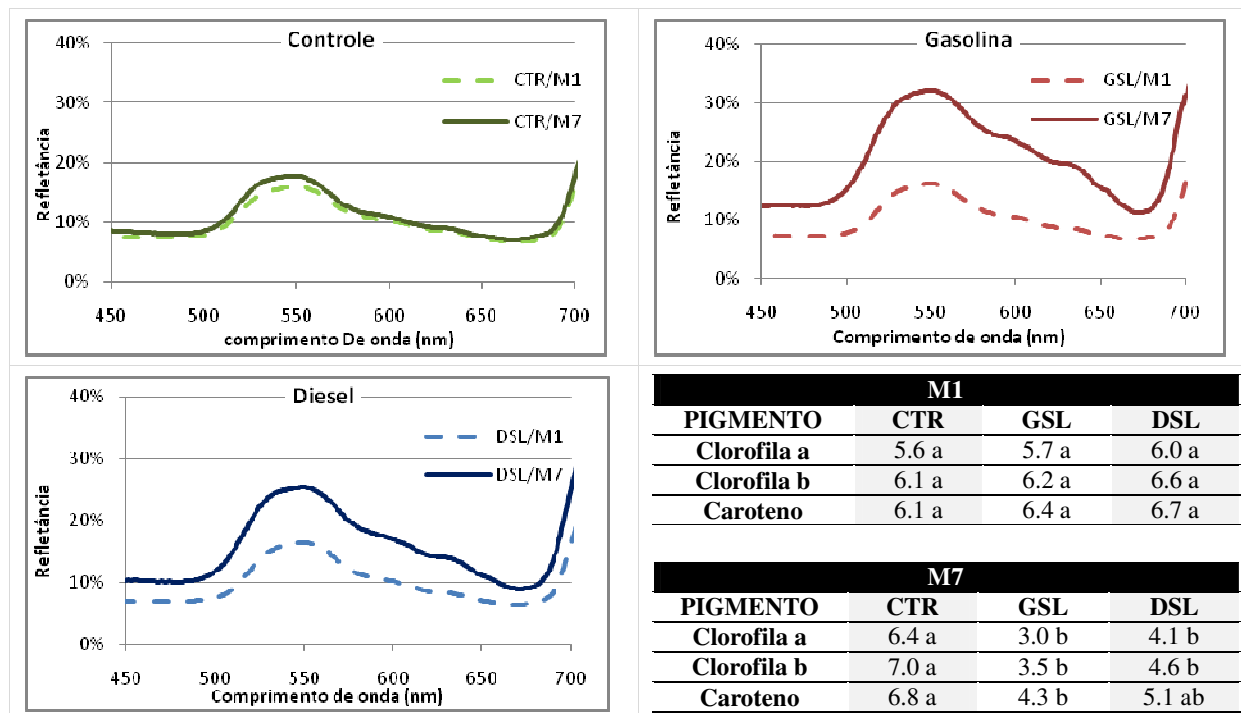
Medida espectral	Tempo (dias)	Volume total de HC injetado	Capacidade de campo
M1	35	x	x
M2	49	50 mL	1.8%
M3	56	100 mL	3.6%
M4	64	100 mL	3.6%
M5	79	150 mL	5.4%
M6	84	150 mL	5.4%
M7	99	200 mL	7.2%

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Região do Visível (400 a 700nm)

O aumento da refletância no GSL e no DSL ocorreu devido a degradação de pigmentos fotossintéticos que dominam a absorção da radiação nesta região espectral. Em plantas saudáveis, os carotenóides, antocianinas e xantofilas têm suas presenças mascaradas pelas clorofilas *a* e *b*, que, por sua vez, são extremamente sensíveis às condições estressantes e facilmente degradáveis. Como consequência, os demais pigmentos, que possuem absorção no amarelo/laranja e vermelho/roxo, passam a se destacar, dando a característica clorótica nas plantas estressadas, que tornam-se passíveis de serem detectadas pelo aumento da refletância na região do visível.

A **Figura 2** mostra os espectros de refletância no intervalo entre 400nm e 700nm para os três tratamentos, e os valores médios de pigmentos encontrados nas plantas estudadas, obtidos através das razões propostas por Almeida & Souza-Filho (2004): i) Clorofila *a*: R808/R639; ii) Clorofila *b*: R807/R648 e iii) Caroteno: R870/R490. Os resultados foram comparados estatisticamente (Teste de Tukey 5%) entre os tratamentos possibilitando observar a degradação intensa desses elementos devido a presença de gasolina e biodiesel no solo.

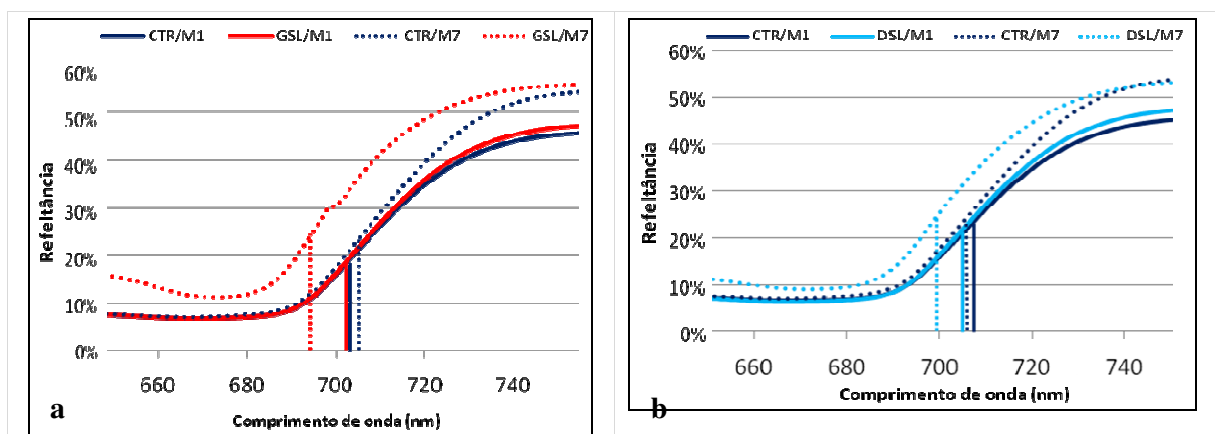


**Figura 2:** Gráficos das medidas espectrais coletadas no início e final do experimento (M1 e M7), no espectro refletido entre 400 e 700nm. Resultados das razões para pigmentos da M1 e M7 (Médias seguidas por letras distintas diferem entre si segundo Teste de Tukey a 5% de probabilidade).

#### 3.2. Posição do Red edge (PRE)

A literatura demonstra extensivamente que o deslocamento do *red edge* é um importante indicador de estresse na vegetação (e.g. Noomen, 2003). Conforme a espécie vegetal, esse deslocamento pode ocorrer tanto para menores (*blue shift*) como para maiores comprimentos de onda (*red shift*). Em casos de estudos com estresses induzidos, o mais comum encontrado é o *blue shift* do *red edge*, resultado de redução da absorção na região do vermelho (680nm) e na região do NIR (750-1300nm).

Os resultados obtidos nesse estudo podem ser observados na **Figura 3**. O deslocamento para comprimentos de ondas mais curtos ocorreu para ambos os tratamentos, porém com intensidades diferentes, o que conferiu à gasolina o *status* de ser mais agressiva que o diesel. O comportamento observado entre o CTR e os demais tratamentos na M1 deveria ser semelhante na M7, ou seja, praticamente sem alteração. Porém, observa-se que a presença dos HCs acarretou um deslocamento significativo de 12nm para o GSL e de 4nm para o DSL nesta medida espectrorradiométrica. O *shift* padrão apresentado pelo desenvolvimento natural das plantas (CTR) foi de 2nm entre a M1 e M7, ao passo que para o GSL foi de 9nm e para o DSL de 4nm. Estes resultados corroboram os estudos de Carter (1994) que observou o mesmo comportamento em diversas espécies vegetais. O *blue shift* do *red edge* também já foi utilizado com sucesso por Pysek e Pysek (1989) como indicador de estresses impostos à vegetação por emissões naturais de gás.



**Figura 3:** PRE calculado a partir das médias entre as máximas refletâncias no NIR e máximas inflexões no VIS: a) GSL e b) DSL

### 3.3. Infravermelho de ondas curtas (*Short wave infrared – SWIR*)

As diversas medidas de refletância ao longo do tempo permitiram avaliar mudanças na composição e teores relativos dos compostos foliares na região do SWIR (1300nm a 2500nm). Foram focadas especialmente no intervalo entre 2400nm e 2500nm por ser menos influenciado pelo teor de água nas folhas e compreender as feições diagnósticas de diversos compostos bioquímicos, incluindo celulose, hemicelulose, amido, açúcares e lignina.

O forte aumento da refletância observado nas duas bandas de absorção de água localizadas aproximadamente em 1400nm e 1900nm, para o GSL e DSL, mostraram a correlação destas respostas com a presença de HCs no solo. Esse aumento é fruto de perda de água nas folhas decorrente do estresse sofrido. Segundo Larcher (2000), este fato é explicado pela redução da turgescência celular que ocorre como uma medida osmorregulatória adotada pela planta em casos de estresse.

Quando expostas a condições desfavoráveis, alterações metabólicas relacionadas à reserva e uso de compostos nutricionais passam a ocorrer. A literatura descreve pelo menos dois tipos de ações relacionadas a metabolizações de sacarídeos pelas plantas. O primeiro em que a mesma passa a estocar estes compostos para serem utilizados após o fator estressante cessar (e.g. Dias-Filho e Carvalho, 2000) e, o segundo, observado pela primeira vez nessa pesquisa, onde a planta transforma grandes cadeias de sacarídeos em monossacarídeos para serem prontamente utilizados na tentativa

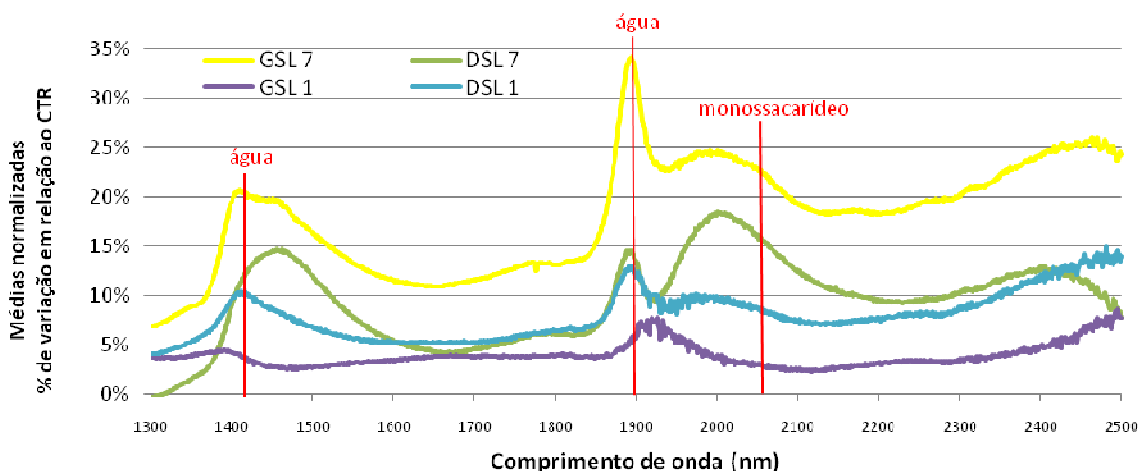
de sobrevivência.

As feições de monossacarídeos (2062nm, 2263nm, 2440nm) e oligossacarídeos (1391nm, 2170nm, 2310nm e 2477nm) determinadas por Narra *et al.* (2005) e de amido (200-2300nm) determinada por Goetz *et al.* (1990), foram aqui avaliadas a fim de se determinar a significância das alterações observadas para a soja. Para tanto, o Teste de Tukey a 5% de probabilidade foi aplicado sobre as médias das refletâncias obtidas pontualmente. Dentre as feições sugeridas por Narra *et al.* (2005), apenas aquela centrada em 2062nm mostrou diferenças significativas entre os tratamentos e estão associadas a um baixo coeficiente de variação (0.07%) (**Tabela 2**). Os teores de açúcares significativamente elevados nos tratamentos contaminados evidenciam um estágio de aumento no gasto energético pela planta na busca da sobrevivência, visto que este tipo de composto é uma das formas mais simples de ser metabolizado e prontamente utilizado.

**Tabela 2:** Análise quantitativa dos teores de amido e açúcares. Médias de refletância aplicadas ao comprimento de onda de 2062nm, diagnóstico de monossacarídeos de soja perene desenvolvida em solos contaminados por gasolina (GSL) e biodiesel (DSL) ou sem contaminação (CTR).

	ANÁLISE QUANTITATIVA		ESPECTROSCOPIA
	Amido ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	Açúcares ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	2062nm
CTR	94.34 a	44.08 b	0.997 c
GSL	94.18 a	52.30 ab	0.999 a
DSL	92.18 a	56.68 a	0.998 ab

Os resultados semelhantes para o amido mostram que apenas nas plantas contaminadas há maior metabolização deste composto em açúcares solúveis. Essa constatação explica a diferença significativa nas concentrações de açúcares encontradas nas folhas das plantas estressadas em detrimento do CTR. A **Figura 4** mostra a variação do comportamento espectral dos tratamentos obtida através da divisão da reflectância do GSL e DSL pelo CTR. Nesta figura fica caracterizado o aumento em todo o intervalo do SWIR (1300 a 2500nm), com destaque para o aumento significativo da refletância em 2062nm e nas bandas de água localizadas por volta 1400 e 1900nm.

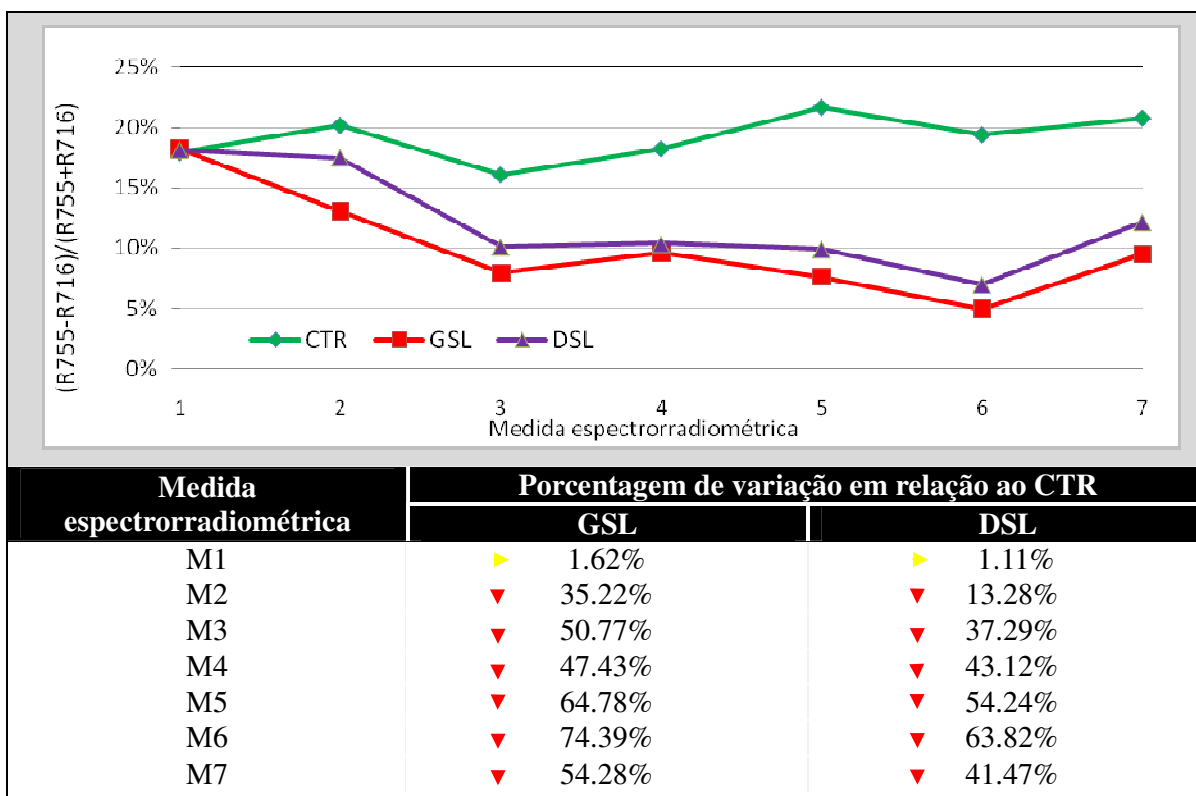


**Figura 4:** Comparação das médias normalizadas entre plantas contaminadas e o CTR nos comprimentos de onda relacionados à água (~1400nm e 1900nm) e monossacarídeos (2062nm).

### 3.4. Índice de vegetação para determinação de nitrogênio foliar

A deficiência de nitrogênio (N) causa mudanças no desenvolvimento e composição das folhas das plantas e, indiretamente, mudanças na distribuição espectral da radiação refletida (Tarpley *et al.*, 2000). Como a maior parte do N foliar se encontra nas moléculas de clorofila, há uma estreita relação entre ambos (Read *et al.* 2003). A forte degradação destes pigmentos observados nesta pesquisa motivou testes com o índice de Tarpley:  $(R755-R716)/(R755+R716)$ .

A **Figura 5** exibe um gráfico gerado para evidenciar quantitativamente as diferenças nos resultados obtidos para o CTR e para os tratamentos GSL e DSL. No GSL, a queda variou entre 35% na M2 e 74% na M6, onde foi mais evidente. Para o DSL a queda variou entre 13% na M2 e 63% na M6. Esse resultado mostra a sensibilidade da soja perene aos HCs empregados. Pode-se observar alterações muito significativas mesmo sob contaminações com volumes muito pequenos de HCs (50mL em M2) e em curto período de exposição aos combustíveis (14 dias). Também é possível afirmar que quanto maior o tempo de exposição e maior a quantidade de HCs injetado, maior o estresse apresentado pela planta, tornando mais eficiente o emprego desta razão.



**Figura 5:** Gráfico comparativo do índice de Tarpley -  $(R755-R716)/(R755+R716)$  - mostrando as quedas significativas desde a M2 para os tratamentos que receberam HCs.

### 3.5. Massa da matéria fresca e seca das raízes e parte aérea

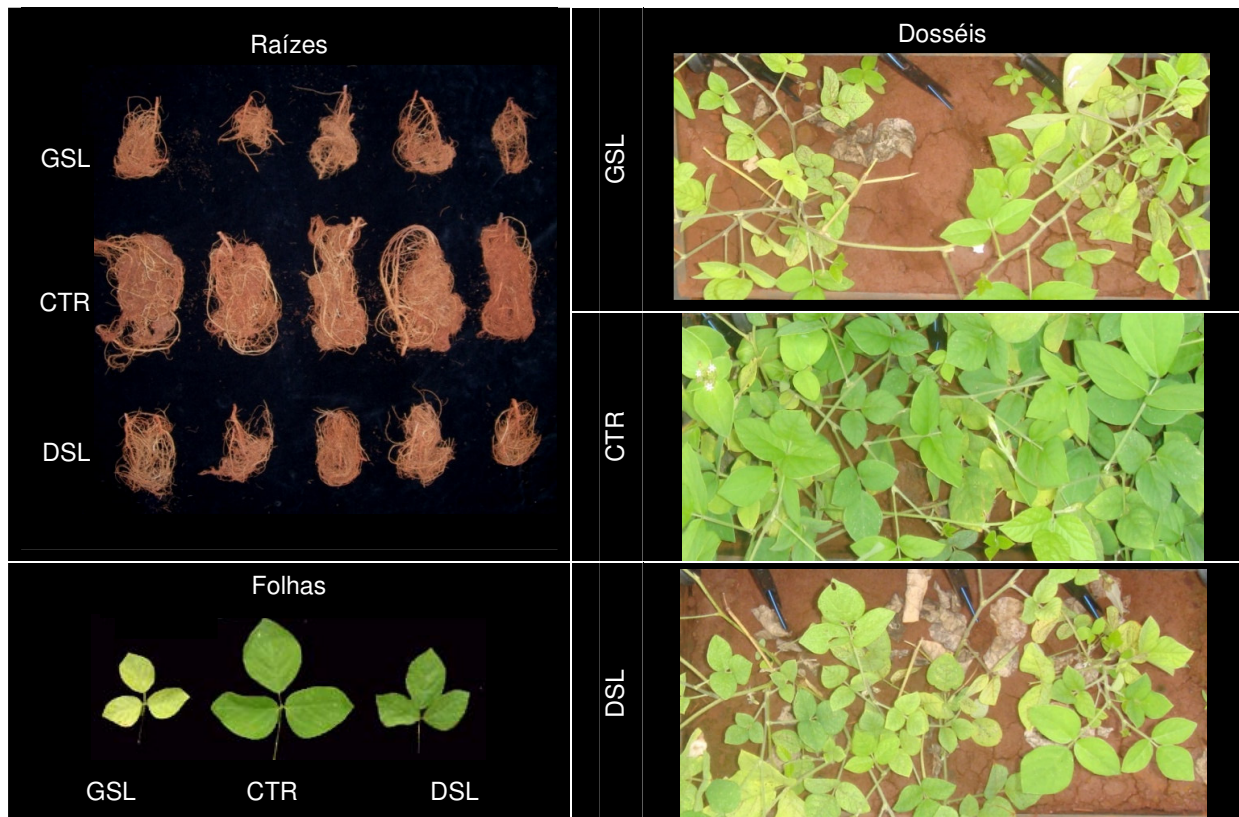
As raízes foram coletadas, separadas do solo e lavadas em água corrente. Após secagem em estufa de ar forçado a 60°C por 48 horas, foram pesadas para obtenção do peso seco (PSR). A coleta da parte aérea foi feita cortando-se a planta rente ao solo. Imediatamente após a colheita, as plantas foram pesadas para obtenção do peso fresco da parte aérea (PFPA), seguida pela coleta de cinco gramas de folhas para análise bioquímica. O peso seco da parte aérea (PSPA) foi realizado após secagem utilizando o mesmo método empregado para as raízes.

Os resultados para o PSR foram significativamente maiores para as plantas do CTR, que apresentaram incremento de 614% em comparação ao GSL e 373% em comparação ao DSL. Boru *et al.* (2003) comprovaram que a falta de oxigenação das raízes e aumento de CO<sub>2</sub> em soja



cultivada em sistema hidropônico acarretou clorose avançada, interrupção no crescimento, necrose e morte das raízes após 14 dias de exposição a concentrações de 50% de CO<sub>2</sub> e ausência de oxigênio. Segundo Schumacher (1996), a oxidação de HCs por bactérias presentes na microbiota dos solos acarreta, entre outras coisas, na produção de CO<sub>2</sub>, o que contribui diretamente para a queda de oxigenação do solo.

Esses fatos podem explicar, em parte, a forte queda na produção de folhas e ramos de plantas que cresceram em solos contaminados por HCs (i.e., 670% inferior para o GSL e 370% inferior para o DSL). O PSPA acompanhou a tendência e apresentou quedas de 920% no GSL e de 420% no DSL quando comparados ao CTR. A forte diminuição na área foliar e a maior exposição do solo são parâmetros que viabilizam ainda mais a detecção de áreas com vazamentos, permitindo a utilização, inclusive, de sensores remotos de mais baixa resolução espectral (**Figura 6**).



**Figura6:** Soja perene M7. Detalhes das diferenças de desenvolvimento das raízes e folhas, e fotos comparativas dos dosséis entre plantas contaminadas (GSL e DSL) e plantas sem contaminação (CTR).

#### 4. Conclusões

O principal objetivo da pesquisa foi alcançado e permitiu avaliar a possibilidade de detecção de respostas espectrais específicas induzidas pela presença de gasolina e biodiesel no solo nas folhas de *Neonotonia wightii* através de análises de espectroscopia de refletância.

As respostas da soja perene à presença dos HCs foram muito rápidas e intensas. Alterações espectrais e visuais decorrentes da clorose apresentada pelas folhas foram observadas desde o início das contaminações.

Os resultados das análises qualitativas realizadas a partir da observação de bandas de absorção específicas para compostos de sacarídeos localizadas na região do SWIR foram confirmados com análises laboratoriais quantitativas. Os processos de disponibilização imediata de açúcares solúveis, ainda que já descritos na literatura para outros estresses e espécies vegetais, foram pela primeira vez

constatados em estudos relacionados à contaminação do solo por HCs. A importância da descoberta está em ser uma alteração muito específica e, ao mesmo tempo, passível de detecção remota.

A grande diminuição da área foliar foi mais um fator de destaque, pois aumenta a chance de detecção da contaminação não somente através de espectroscopia de refletância obtida *in situ*, mas também através de imagens de sensores hiperespectrais e mesmo multiespectrais de alta resolução espectral e espacial.

Os resultados referentes ao índice de vegetação Tarpley possibilitou o uso de mais uma ferramenta na detecção de anomalias botânicas ocasionadas pela presença de HCs no solo. Esse índice é versátil e pode ser aplicado sobre dados de refletância adquiridos por sensores orbitais de baixa resolução espectral e alta resolução espacial, exigindo apenas a existência de bandas nas regiões espectrais do visível e *red edge*, tais como QuickBird, Ikonos e GeoEye. Estes sensores, aliados ao cultivo da soja perene sobre dutos, podem ser de grande utilidade. Evidentemente não poderão captar as discretas alterações específicas às contaminações estudadas, mas podem mostrar a diminuição da área foliar. Para definir se este processo é natural, devido ao ciclo fenológico da planta ou a estresses de origem climática (estiagem intensa, geadas), ou por contaminação do solo por vazamento de HCs, pode-se simplesmente observar o padrão da espécie ao longo do duto.

## Referências

- Almeida, T.I.R.; Souza Filho, C. R. Principal component analysis applied to feature-oriented band ratios of hyperspectral data: a tool for vegetation studies. **International Journal Of Remote Sensing**, Inglaterra, V. 25, N. 22, P. 5505-5024. 2004.
- Boru, G., Vantoai, T., Alves, J., Hua, D. And Knee, M., Responses of soybean to root-zone carbon dioxide concentration. **Annals of Botany**, 91: 447-453. 2003.
- Dias-Filho M. B.; De Carvalho, C. J. Physiological and morphological responses of *Brachiaria brizantha* Spp. To Flooding. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, V.35, P.1959-1966. 2000.
- Goetz, A.F.H.; Gao,B.C.; Wessman C.A., And Bowman, W.D. 1990. Estimation of biochemical constituents from fresh, green leaves by spectrum matching techniques. Geoscience and Remote Sensing Symposium. Disponível em: [http://ieeexplore.ieee.org/xpl/freeabs\\_all.jsp?arnumber=688654](http://ieeexplore.ieee.org/xpl/freeabs_all.jsp?arnumber=688654). Acesso em: 18/Jan/2009.
- Larcher, W. 2000. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: Rima. P. 531.
- Narra, S.; Fermanian, T.W.; Swiader, J. M. Analysis of mono- and polysaccharides in creeping bentgrass turf using near infrared reflectance spectroscopy. **Crop Science**, Vol. 45. 2005.
- Noomen, M.F., Skidmore, A.K. and van der Meer, F.D. Detecting the influence of gas seepage on vegetation using hyperspectral remote sensing. In: Proceedings of the 3rd EARSeL workshop on imaging spectroscopy, Herrsching, Germany, 2003. p. 252-255. Disponível em: [http://www.itc.nl/library/Papers\\_2003/peer\\_ref\\_conf/noomen.pdf](http://www.itc.nl/library/Papers_2003/peer_ref_conf/noomen.pdf). Acesso em: 21/Jul/2006.
- Oliveira, W. J. Caracterização das emissões gasosas de hidrocarbonetos na região do Remanso do Fogo (Mg) através do uso integrado de sensoriamento remoto, geoquímica, geofísica, geologia estrutural e espectrometria de refletância. Tese De Doutorado. Universidade Estadual De Campinas, Campinas-SP. 1998.
- Pysek, P., & Pysek, A. Changes in vegetation caused by experimental leakage of natural gas. **Weed Research**, 29(193-204). 1989.
- Read, J. J.; Whaley, E. L.; Tarpley, L.; Reddy, R. Evaluation of a hand-held radiometer for field determination of nitrogen status in cotton. **American Society of Agronomy Special Publication**, n.66, p.177-195. 2003.
- Schumacher, D. Hydrocarbon-Induced Alteration of oils and sediments. In: D. Schumacher, Abrams, M.A. (Editors), **Hydrocarbon migration and its near-surface expression: AAPG Memoir** 66, Pp. 71-89. 1996.
- Souza Filho, C. R. ; Augusto, V. A. ; Oliveira, Wilson José De ; Lammoglia, T. **Deteção de exsudações de hidrocarbonetos por geobotânica e sensoriamento remoto multi-temporal: estudo de caso no Remanso do Fogo (Mg)**. Revista Brasileira De Geociências, V. 38, P. 228-243. 2008.
- Tarpley, L., K.R. Reddy, And G.F. Sassenrath-Cole. Reflectance indices with precision and accuracy in predicting cotton leaf nitrogen concentration. **Crop Science**. 40:1814-1819. 2000.
- Vassey T. L. and Sharkey T. D. Mild water stress of *Phaseolus vulgaris* plants leads to reduced starch synthesis and extractable sucrose phosphate synthase activity. **Plant Physiol**. 89, 1066-1070. 1989.