**IGOR MENDONÇA DE REZENDE**

# EFEITO DO SOLO CONTAMINADO POR ÓLEO DIESEL NA GERMINAÇÃO E NAS PLANTAS JOVENS DE *Schinus terebinthifolius* RADDI (ANACARDIACEAE).

**CURITIBA**

**2006**

# Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

**IGOR MENDONÇA DE REZENDE**

# EFEITO DO SOLO CONTAMINADO POR ÓLEO DIESEL NA GERMINAÇÃO E NAS PLANTAS JOVENS DE *Schinus terebinthifolius* RADDI (ANACARDIACEAE).

**Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, pelo Curso de Pós-Graduação em Botânica do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.**

**Orientadora: Profa. Dra. Cleusa Bona**
**Co-Orientador: Prof. Dr. Luiz Antônio de Souza**

**CURITIBA**

**2006**

**Aos meus pais, por todo apoio incondicional dado, além do amor, carinho e compreensão.**

**Dedico**

**AGRADECIMENTOS**

À Profa. Dra. Cleusa Bona pela orientação, paciência, dedicação e carinho, essenciais para a finalização deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Luiz Antônio de Souza, pela orientação, amizade e exemplos de sucesso profissional e humildade;

Ao Prof. Gedir de Oliveira Santos, pelas sugestões, correções e ajuda na montagem do experimento;

Ao Biólogo Nilson Belém Filho, pela ajuda na confecção das lâminas histológicas, além dos conselhos e conversas;

Um agradecimento especial ao bom Deus, sempre olhando por mim; à minha família, em especial aos meus pais, pelo auxílio moral e material, sendo sempre o meu refúgio nas horas difíceis e sempre me dando exemplo de união e força de vontade, principalmente nestes últimos meses tão difíceis para nós;

Também em especial, um agradecimento à minha namorada e amiga, Fernanda, pelo apoio nas horas difíceis, carinho, amor, risos, e, apesar de todos os momentos tristes, sempre estar ao meu lado. Obrigado;

Ao amigo Rodrigo Luiz Volpi, pela amizade ao longo dos anos e apoio nos momentos certos; ao novo amigo Kwok Chiu Cheung, pelos conselhos, amizade e auxílio nas análises estatísticas;

À grande amiga Michella Yamamura Bardelli da Silva, pela amizade, companheirismo e ajuda nas horas difíceis, e principalmente, pela cumplicidade;

Aos amigos: Luis Henrique Mantovani de Farias, pela amizade e ajuda nas dúvidas; o amigo Sinomar F. F. Júnior, pela grande amizade, mesmo morando em Manaus, sempre torceu por mim e ajudou quando possível; Aos amigos Olavo, Victor Hugo,

Rafael, Leandro, Rodrigo Pacheco, Carlos Júnior e Luiz Henrique Carneirinho pela amizade sustentada ao longo dos anos;

Aos amigos do mestrado Pedro, Juliano Magrão, Dieter, Ari e sua esposa Letícia, Gisele, Cynthia, Daniela, Cleto, Helton, Rogério, Juliany, Ana Cristina, Cris, Renata e Tiago, pelos cafezinhos, risadas e troca de idéias;

Ao amigo José Carlos, pelas conversas, conselhos, e por sempre resolver rapidamente nossos problemas;

Ao Professor Armando Carlos Cervi, pelo apoio, amizade e companheirismo;

A CAPES, pela bolsa de estudo de 1 ano por ela concedida;

E a todos aqueles que aqui não foram mencionados, mas que de alguma forma ajudaram para a conclusão deste trabalho, aqui agradeço.

**SUMÁRIO**

**Lista de Tabelas**.....vi
**Lista de Figuras**.....vii
**1. Resumo**.....xi
**2. Abstract**.....xii
**3. Introdução Geral**.....1
**4. Revisão Bibliográfica**.....04
4.1 *Schinus terebinthifolius* Raddi.....04
4.2 Poluição por petróleo e derivados.....05
4.3 Germinação de sementes.....11
4.4 Morfo-anatomia de plântulas.....13
**5. Resultados**.....14
Capítulo I.....15
Resumo.....16
Introdução.....17
Material e Métodos.....20
Resultados.....22
Discussão.....24
Conclusão.....30
Agradecimentos.....31
Referências Bibliográficas.....31

Capítulo II.....41
Resumo.....42
Introdução.....43
Material e Métodos.....45
Resultados.....48
Discussão.....51
Conclusão.....54
Referências Bibliográficas.....54

**6. Considerações Finais**.....65
**7. Referências Bibliográficas**.....66

## LISTA DE TABELAS

**Capítulo I**

Tabela 1: Resultado da análise química e física de solo contaminado e não contaminado (controle) por óleo diesel.....35

## LISTA DE FIGURAS

**Capítulo I**

Figura 1: Plantas jovens de *Schinus terebinthifolius* 45 dias após o plantio. A- solo não contaminado (T0); B- solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30); C- solo contaminado 90 dias antes do plantio (T90) e D- solo contaminado 180 dias antes do plantio (T180); E- plantas jovens após 30 dias do plantio; F- planta jovem (após 45 dias do plantio) crescendo em solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30); G- plantas jovens após 90 dias do plantio. Co = cotilédone; Eo = eofilo. Barra = 2 cm..36

Figura 2: Número de sementes de *Schinus terebinthifolius* Raddi germinadas até 20 dias após o plantionos tratamentos T180 (solo contaminado 180 dias antes do plantio), T90 (solo contaminado 90 dias antes do plantio), T30 (solo contaminado 30 dias antes do plantio) e T0 (solo sem contaminação) ($r^2$ = 0,46; $F_{3,19}$ = 4,51; P < 0,05).....37

Figura 3: Germinabilidade (%G) das sementes de *Schinus terebinthifolius* Raddi dos tratamentos T180 (solo contaminado 180 dias antes do plantio), T90 (solo contaminado 90 dias antes do plantio), T30 (solo contaminado 30 dias antes do plantio) e T0 (solo sem contaminação).....37

Figura 4: Índice de velocidade de germinação das sementes de *Schinus terebinthifolius* Raddi dos tratamentos T180 (solo contaminado 180 dias antes do plantio), T90 (solo contaminado 90 dias antes do plantio), T30 (solo contaminado 30 dias antes do plantio) e T0 (solo sem contaminação).....38

Figura 5: Altura total das plantas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (30 dias após o plantio) dos tratamentos T180 (solo contaminado 180 dias antes do plantio), T90 (solo contaminado 90 dias antes do plantio), T30 (solo contaminado 30 dias antes do plantio) e T0 (solo sem contaminação) ($r^2$ = 0,50; $F_{3,99}$ = 31,56; P < 0,05).....38

Figura 6: Peso fresco das plantas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (30 dias após o plantio) dos tratamentos T180 (solo contaminado 180 dias antes do plantio), T90 (solo contaminado 90 dias antes do plantio), T30 (solo contaminado 30 dias antes do plantio) e T0 (solo sem contaminação) ($r^2$ = 0,60; $F_{3,99}$ = 49,32; P < 0,05).....39

Figura 7: Peso seco das plantas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (30 dias após o plantio) dos tratamentos T180 (solo contaminado 180 dias antes do plantio), T90 (solo contaminado 90 dias antes do plantio), T30 (solo contaminado 30 dias antes do plantio) e T0 (solo sem contaminação) ($r^2$ = 0,59; $F_{3,99}$ = 47,44; P < 0,05).....39

Figura 8: Peso seco do eofilo das plantas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (30 dias após o plantio) dos tratamentos T180 (solo contaminado 180 dias antes do plantio), T90 (solo contaminado 90 dias antes do plantio), T30 (solo contaminado 30 dias antes do plantio) e T0 (solo sem contaminação) ($r^2$ = 0,50; $F_{3,99}$ = 31,56; P < 0,05).40

Figura 9: Área foliar do eofilo das plantas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (30 dias após o plantio) dos tratamentos T180 (solo contaminado 180 dias antes do plantio), T90 (solo contaminado 90 dias antes do plantio), T30 (solo contaminado 30 dias antes do plantio) e T0 (solo sem contaminação) ($r^2$ = 0,87; $F_{3,99}$ = 209,35; P < 0,05).....40

*** Letras iguais representam tratamentos significativamente iguais**

**Capítulo II**

Figuras 1-4: Secções longitudinais do ápice da raiz de planta jovem (30 dias) de *Schinus terebinthifolius* Raddi crescendo em solo contaminado por óleo diesel. 1- solo não contaminado (T0); 2- solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30); 3- solo contaminado 90 dias antes do plantio (T90) e 4- solo contaminado 180 dias antes do plantio (T180). Cf = coifa; MF = meristema fundamental;Pc = procâmbio; Pd = protoderme; PM = promeristema. Barra = 30 µm.....57

Figuras 5-8: Secções transversais da raiz de planta jovem (30 dias) de *Schinus terebinthifolius* Raddi crescendo em solo contaminado por óleo diesel. 5- solo não contaminado (T0); 6- solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30); 7- solo contaminado 90 dias antes do plantio (T90) e 8- solo contaminado 180 dias antes do plantio (T180). Co = córtex; CR = canal resinífero En = endoderme; Ep = epiderme; Ex = exoderme; Fl = Floema; LA = lacuna; Pe = periciclo; Xi = xilema. Barra = 50 µm.....58

Figuras 9-11: Mensurações da raiz das plantas de *Schinus terebinthifolius* Raddi em solo contaminado por óleo diesel. T0- solo não contaminado; T30- solo contaminado 30 dias antes do plantio; T90- solo contaminado 90 dias antes do plantio e T180- solo contaminado 180 dias antes do plantio. 9- Diâmetro total ($r^2 = 0,25$; $F_{3,39} = 3,8$; $P < 0,05$); 10- raio do córtex ($r^2 = 0,23$; $F_{3,39} = 3,53$; $P < 0,05$) e 11- diâmetro do cilindro vascular ($r^2 = 0,20$; $F_{3,39} = 3,01$; $P < 0,05$).....59

Figuras 12-15: Vista frontal da face adaxial da epiderme dos eofilos de plantas jovens (30 dias) de *Schinus terebinthifolius* Raddi crescendo em solo contaminado por óleo diesel. 12 e 14- solo não contaminado (T0); 13 e 15- solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30).....60

Figuras 16-19: Vista frontal da face adaxial da epiderme dos eofilos de plantas jovens (30 dias) de *Schinus terebinthifolius* Raddi crescendo em solo contaminado por óleo diesel. 16- solo não contaminado (T0); 17- solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30); 18- solo contaminado 90 dias antes do plantio (T90) e 19- solo contaminado 180 dias antes do plantio (T180).....61

Figuras 20-23: Vista frontal da face abaxial da epiderme dos eofilos de plantas jovens (30 dias) de *Schinus terebinthifolius* Raddi crescendo em solo contaminado por óleo diesel. 20- solo não contaminado (T0); 21- solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30); 22- solo contaminado 90 dias antes do plantio (T90) e 23- solo contaminado 180 dias antes do plantio (T180).....62

Figuras 24-27: Secções transversais dos eofilos de plantas jovens (30 dias) de *Schinus terebinthifolius* Raddi crescendo em solo contaminado por óleo diesel. 24- solo não contaminado (T0); 25- solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30); 26- solo contaminado 90 dias antes do plantio (T90) e 27- solo contaminado 180 dias antes do plantio (T180). CF = compostos fenólicos; Eb = epiderme abaxial; Ed = epiderme adaxial; Et = estômato; PL = parênquima clorofiliano lacunoso; PP = parênquima clorofiliano paliçádico. Barra = 50 µm.....63

Figuras 28-31: Secções transversais da nervura central dos eofilos de plantas jovens (30 dias) de *Schinus terebinthifolius* Raddi crescendo em solo contaminado por óleo diesel. 28- solo não contaminado (T0); 29- solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30); 30- solo contaminado 90 dias antes do plantio (T90) e 31- solo contaminado 180 dias antes do plantio (T180). Cl = colênquima; CR = canal resinífero; En = endoderme; Fl = Floema. Barra = 10 µm.....64

*** Letras iguais representam tratamentos significativamente iguais**

## 1. RESUMO

Atualmente o petróleo e seus derivados são a forma de energia mais utilizada no mundo. Com isso, acidentes envolvendo derramamentos de óleo vêm ocorrendo freqüentemente nos últimos anos, causando grande impacto negativo no ambiente atingido, principalmente à vegetação. Hoje em dia existem vários métodos para minimizar os efeitos negativos da contaminação do solo por óleo. O uso de plantas para remediar solos contaminados tem se tornado uma área de intensos estudos científicos, todavia ainda é pouco desenvolvida no Brasil. As plantas que crescem bem em solo contaminado devem ser identificadas e indicadas para uso na fitorremediação, sendo que, a semeadura direta no campo pode ser uma alternativa mais econômica do que a utilização de mudas. O objetivo do presente trabalho é analisar o efeito do solo contaminado com óleo diesel, na germinação das sementes e na morfologia das plantas de *Schinus terebinthifolius* Raddi e verificar se o tempo após a contaminação reduz esse efeito. A espécie estudada é nativa e de grande importância na recuperação de áreas degradadas. O experimento foi montado em estufa com quatro tratamentos e cinco repetições, sendo que os tratamentos foram: solo contaminado após 30, 90, 180 dias, e solo controle (isento de contaminação). Foram analisados: índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação das sementes; altura, peso fresco e seco das plantas; peso seco e área foliar dos eofilos. Alguns eofilos foram submetidos à análise de microscopia eletrônica de varredura. A anatomia da raiz e do eofilo das plantas crescidas em solo contaminado e solo controle também foi analisada, bem como foram mensurados o diâmetro total da raiz, raio do córtex e diâmetro do cilindro vascular. O índice de velocidade de germinação e a porcentagem de germinação foram menores nos tratamentos T30 e T180 e maiores nos tratamentos T90 e T0. A altura, peso fresco e seco das plantas e área foliar dos eofilos foram menores nos tratamentos com solo contaminado, seguindo uma tendência relacionada com o tempo de contaminação, sendo que quanto maior o tempo de contaminação, maior o desenvolvimento da planta. No solo contaminado a raiz teve maior diâmetro total, maior raio do córtex e desenvolveu aerênquima. O eofilo das plantas que cresceram em solo contaminado após 30 e 90 dias acumulou mais compostos fenólicos, quando comparado ao tratamento controle. O solo contaminado por óleo diesel afetou negativamente a germinação, o crescimento e desenvolvimento das plantas de *S. terebinthifolius*.

**Palavras-chave:** Morfologia, Anatomia, Poluição.

## 2. ABSTRACT

Actualy, petroleum and its derived are the most used form of energy in the world. So, accidents involving oil spills are frequently happening in last years, causing great negative impact in enviromental, mainly to the vegetation. Nowadays, several methods try to minimize the negative effects of the soil contamination by oil. The use of plants to remedy polluted soils has became an area of intense scientific studies, though it is still whit a few developement in Brazil. Plants that can grow in polluted soil should be identified and suitable for the use in phitoremediation, and the direct sowing in soil can be a economical alternative than using seedlings. The objective of this work is to analyze the effect of polluted soil with diesel fuel in germination and morphology of *Schinus terebinthifolius* Raddi, also verify if the time after contamination can reduces that effects. The studied species is native and has a great importance in recovering degraded areas. The experiment was set up in greenhouse with four treatments and five repetitions, wherever the treatments were: polluted soil after 30, 90, 180 days, and soil control (whitout contamination). They were analyzed: index of germination speed (IVG) and germination percentage of the seeds; height, fresh and dry weight from plants; dry weight and area from eofilos. Some eofilos were submitted to the analysis in a eletornic microscopic of sweeping. The anatomy of root and eofilo from plants that grew in polluted soil and soil without contamination were also analyzed, as well as the total diameter of root, ray of cortex and diameter of vascular cylinder were measured. The index of germination speed and germination percentage were significantly smaller in T30 treatment. The height, fresh and dry weight and area from eofilos were smaller in treatments with polluted soil, following a tendency related with the time of contamination, so as larger the time of contamination, larger the development of the plant. In polluted soil, the root had larger diameter total, larger ray of cortex and it developed aerenchima. The eofilo of plants that grew in polluted soil after 30 and 90 days accumulated more phenolic composed, when they were compared to the treatment without contamination. The soil polluted by diesel fuel affected the germination, growth and development of the plants of S. terebinthifolius negatively.

**Key-words:** Morphology, Anatomy, Pollution.

## 3. INTRODUÇÃO GERAL

Atualmente o petróleo e seus derivados são a forma de energia mais utilizada no mundo. Mais de 65 milhões de barris de petróleo são extraídos por dia, a fim de suprir a demanda energética mundial. Entretanto, a extração, transporte e armazenamento de petróleo trazem um risco em potencial e podem causar danos irreparáveis se este for acidentalmente derramado no ambiente (NICOLOTTI; EGLI, 1998).

Acidentes envolvendo derramamentos de petróleo e derivados vêm ocorrendo freqüentemente nos últimos anos. Os derramamentos, de grande ou pequeno porte podem ocorrer em áreas continentais, costeiras ou até mesmo no mangue. Estes derramamentos, em sua maioria, geram efeitos negativos na flora e fauna local dos habitas atingidos (MURATOVA et al., 2003). Em julho de 2000 aconteceu um grande vazamento de petróleo na Refinaria Presidente Getúlio Vargas (REPAR), e em fevereiro de 2001 ocorreu um grande vazamento em um oleoduto da REPAR, ambos no Paraná.

O óleo diesel é uma mistura complexa de hidrocarbonetos, presentes no petróleo, como alcanos de baixo peso molecular e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) (ADAM; DUNCAN, 1999) Também possui, em baixas concentrações, enxofre, nitrogênio e oxigênio. Há ainda, em menor quantidade, metais como chumbo, níquel, sódio, cálcio, cobre e urânio (POSTHUMA, 1977).

Os metais pesados presentes no petróleo e óleo diesel podem ser absorvidos pelas células das raízes, pois sua absorção é facilitada por mecanismos próprios de transporte e acumulação, visto que vários metais pesados são necessários às plantas como micronutrientes. Os metais pesados exercem efeito tóxico nos vegetais devido, principalmente, à sua interferência na cadeia de transporte de elétrons, da respiração e da fotossíntese e na inativação de enzimas vitais. Como conseqüência do baixo nível energético, há uma diminuição de nutrientes minerais e do crescimento (LARCHER, 2000).

O óleo diesel pode causar efeitos crônicos ou agudos nas plantas. Além da toxicidade direta e indireta, o óleo causa interferência nas relações hídricas da planta. Essa interferência, acompanhada das condições anaeróbicas e hidrofóbicas,

vem a ser os efeitos mais importantes em relação à germinação de sementes e ao crescimento das plantas (RACINE, 1994).

As plantas, na maioria das vezes, são os primeiros organismos a serem atingidos por derramamento de óleo (MALALLAH et al., 1996). Os efeitos da poluição nas plantas podem variar de acordo com o tipo e a quantidade de óleo envolvido, a idade da planta, a época do ano e as espécies de plantas atingidas (BAKER, 1970). Porém, algumas espécies são capazes de crescer sobre ambientes contaminados, pois desenvolvem mecanismos de desintoxicação por meio dos quais os efeitos do excesso das substâncias tóxicas podem ser minimizados (LARCHER, 2000).

Atualmente, existem vários métodos para minimizar os efeitos negativos da contaminação do solo. Na fitorremediação, por exemplo, utilizam-se plantas e seus microorganismos associados para restaurar ou recuperar áreas degradadas. Estudos atuais comprovam que solos contaminados por óleo degradam o poluente mais rápido com o auxílio das plantas (MURATOVA et al., 2003). O uso de sistemas de remediação de solo usando plantas não é novo. O uso de plantas para purificar água contaminada com poluentes orgânicos e inorgânicos datam centenas de anos (CUNNINGHAM et al., 1996). A utilização de plantas para remediar solo contaminado é recente e tem se tornado uma área de intenso estudo científico (ADAM; DUNCAN, 2002).

O solo contaminado por óleo fica completamente estéril, sendo preciso introduzir sementes e mudas para revegetar essas áreas. A germinação e o estabelecimento de plântulas são especialmente afetados em ambientes estressados. Quando a contaminação é extremamente alta, a mortalidade das plântulas pode atrasar por décadas a reinstalação da vegetação (WILLIAM et al, 1982). Porém, plantas que têm capacidade de crescer em solo contaminado conseguem reduzir o poluente orgânico principalmente pela criação de ambiente favorável para a proliferação de microorganismos na rizosfera. Estes processos de degradação são influenciados não apenas pelos microorganismos da rizosfera, mas também pelas propriedades únicas das plantas hospedeiras (ADAM; DUNCAN, 1999). Dessa forma, é relevante a identificação de espécies resistentes para utilização na recuperação de áreas contaminadas.

O acompanhamento da germinação de sementes, em diferentes períodos após a contaminação do solo, trará informações inéditas que irão colaborar na melhoria dos processos de fitorremediação de áreas contaminadas por derivados de petróleo. A análise morfológica e estrutural das plantas crescidas em solo contaminado com óleo poderá evidenciar se há alterações morfológicas e celulares provocadas pelo poluente e poderá explicar uma possível tolerância das plântulas ao óleo.

No presente trabalho, a espécie nativa *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), conhecida popularmente como aroeira, será testada com a finalidade de analisar sua resistência a solos contaminados por óleo diesel. Essa espécie possui altura que varia de 5 a 10 m, seu tronco mede de 30 a 60 cm, ocorrendo nos Estados de PE até RS, em várias formas de vegetação. É uma espécie pioneira, melífera, muito visitada pela avifauna e de suma importância para recompor áreas degradadas (LORENZI, 1992). Segundo BONA e SANTOS (2003) e OLIVEIRA (2004), mudas de aroeira toleram bem o solo contaminado por petróleo, apresentando formação de raízes superficiais, reduzindo assim o estresse provocado pelo contaminante.

O objetivo do presente trabalho é analisar o efeito do solo contaminado com óleo diesel na germinação das sementes, crescimento e morfo-anatomia das plantas jovens de *Schinus terebinthifolius*, além de verificar se o tempo após a contaminação diminui esse efeito.

## 4. REVISÂO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 *Schinus terebinthifolius* Raddi

A espécie *S. terebinthifolius* Raddi pertence à família Anacardiaceae. Popularmente a espécie é conhecida como aroeira, aroeira vermelha, aroeira mansa, aroeira pimenteira, aroeira da praia, aroeira do sertão, aroeira do Paraná, corneiba, fruto de sabiá, e em inglês como Christmas berry tree ou Brazilian pepper tree (LORENZI, 1992). A aroeira caracteriza-se por apresentar folhas compostas, alternas, imparipinadas, com 3 a 10 pares de folíolos, que possuem como detalhe principal seu pecíolo pseudoalado. As flores são brancas, de tamanho reduzido,

reunidas em cachos terminais. Os frutos são globosos e possuem coloração vermelho vivo a purpúreo ou rosa forte e se encontram agrupados em cachos. A espécie floresce geralmente de forma irregular, de novembro a março, de uma a duas vezes por ano, frutificando em seguida. Os frutos podem permanecer até a próxima floração. A espécie apresenta formas distintas de porte, variando entre arbustos com 50 cm até árvores com 15 m (REITZ et al., 1983; FLEIG, 1989; LORENZI, 1982).

Sua madeira é empregada para mourões de cerca resistentes, lenha e carvão. A casca tem aplicação no curtimento de couros e no fortalecimento de redes de pesca. Possui também utilização na medicina popular, no tratamento de úlceras e erupções. As folhas podem ser utilizadas como anti-reumáticas. Os ramos novos servem para os mesmos fins e para branquear e limpar os dentes. Os frutos têm propriedade antidiurética. A aroeira é ainda uma planta adstringente, tônica, estimulante e antinevrálgica, mas seu uso, mesmo na medicina popular, é cada vez mais restrito (FLEIG, 1989).

É uma espécie perenifólia, heliófita e pioneira, comum em beira de córregos e em várzeas úmidas de formações secundárias, crescendo também em terrenos secos e pobres, com características ornamental, principalmente pela longa duração dos frutos na planta. É muito procurada pela avifauna, sendo portanto, útil nos reflorestamentos heterogêneos destinados à recuperação de áreas degradadas de preservação permanente (LORENZI, 1982). Nos Estados Unidos, a aroeira foi introduzida como árvore ornamental no século XVII e hoje é considerada uma planta invasora que prejudica diversas comunidades nativas, sendo que seu controle se tornou alvo de estudos (WOODMASSEE, 2002).

A aroeira foi utilizada como espécie biorremediadora de uma área poluída por borra oleosa, apresentando taxa de sobrevivência satisfatória no trabalho de SOUZA (1999). BUJOCAS (2001) concluiu que a espécie é apta para recuperação de áreas poluídas por poeira de cimento, pois, segundo este estudo, a espécie é tolerante a esse tipo de estresse. Também foram estudadas as alterações morfológicas e fisiológicas de *S. terebinthifolius* crescendo em solo contaminado e não contaminado com petróleo, constatando-se que a espécie é tolerante ao solo contaminado com petróleo, apresentando um comprometimento aceitável no crescimento das plantas

mantidas em solo contaminado com petróleo. O estudo concluiu que a espécie possui potencial para a revitalização de áreas contaminadas por petróleo OLIVEIRA (2004). Os efeitos do petróleo sobre alguns aspectos morfológicos e fisiológicos de espécies vegetais nativas do Paraná foram verificados, dentre estas espécies, a aroeira. Foram observados dados sobre a fitotoxicidade e a fitorresistência das espécies aos contaminantes, indicando se elas podem ser utilizadas para revegetação de área contaminada por petróleo. *S. terebinthifolius* não apresentou diferenças no crescimento entre o solo contaminado e não contaminado, todavia, o acréscimo de nutrientes no solo não contaminado causou um crescimento maior em relação aos demais tratamentos, mostrando claramente que, no solo contaminado, a adubação não teve efeito. Concluiu-se que a aroeira é uma planta que tolera bem o solo contaminado por petróleo (BONA; SANTOS, 2003, OLIVEIRA, 2004).

### 4.2 Poluição por petróleo e derivados

A introdução acidental de hidrocarbonetos no ambiente pode ocorrer de várias maneiras, como acidentes em rodovias, vazamento de canos e tanques no subsolo, acidente com navios, entre outros (CHAÎNEAU et al., 2003). O petróleo e seus derivados são uma mistura complexa de hidrocarbonetos, enxofre, nitrogênio, oxigênio e traços de metais pesados. Estão presentes, em maior concentração nos óleos, os hidrocarbonetos da classe dos alcanos, cicloalcanos e aromáticos e, em menores concentrações, os alquenos e o ácido naftênico. Durante o refinamento, o óleo cru é separado em frações de diferentes pontos de ebulição. O óleo diesel particularmente pode ser um tipo de querosene refinado com alto ponto de ebulição ou um gás combustível refinado com baixo ponto de ebulição (BAKER, 1970).

A proteção ambiental contra as várias formas de poluição é uma questão urgente (CHUPAKHINA; MASLENNIKOV, 2004). Ambientes contaminados por hidrocarbonetos se tornam hidrofóbicos e não absorvem a capacidade máxima de água, causando assim efeitos deletérios no crescimento das plantas (LI; FENG; SAWATSKY, 1997). A extensão em que as funções vitais são afetadas pelos poluentes e se há danos visíveis, depende de muitos fatores, tanto bióticos como abióticos. Os fatores mais importantes a serem considerados são as espécies envolvidas, a forma de crescimento, a idade, a fase da atividade da planta, o vigor

geral do vegetal, as condições climáticas e edáficas, as propriedades químicas e físicas, a concentração, o momento e a duração da exposição ao poluente (LARCHER, 2000).

Os sintomas de injúrias são inúmeros e geralmente não são específicos. A mesma substância pode induzir diferentes efeitos em espécies diferentes e, por outro lado, o mesmo sintoma pode ser produzido por diferentes substâncias (BAKER, 1970; LARCHER, 2000). Sendo assim, torna-se imprudente tirar conclusões a partir de um sintoma isolado. Padrões de resposta envolvendo vários critérios proporcionam bases mais seguras para um diagnóstico a respeito da poluição como um fator de estresse (LARCHER, 2000).

Os sintomas mais comuns e mais importantes observados em plantas contaminadas por óleos são a erosão da cera epicuticular (BAKER, 1970), degradação da clorofila (BAKER, 1970; MALALLAH et al., 1996; MALALLAH et al., 1998), alterações no mecanismo estomático (BAKER, 1970; BUJOKAS, 2001), distúrbios na fotossíntese e respiração (BAKER, 1970; LARCHER, 2000), aumento das taxas de fitormônios relacionados ao estresse (LARCHER, 2000), acumulação de substâncias tóxicas ou de seus derivados nos tecidos vegetais (BAKER, 1970; LARCHER, 2000), entre outros.

WILLIAM et al. (1982) analisaram o efeito do solo contaminado por petróleo na germinação e estabelecimento das plântulas e verificaram que esse pode atrasar o estabelecimento de plântulas por décadas.

No trabalho de MURATOVA et al. (2003) é estudada a eficácia da alfafa, *Medicago sativa* L. (Fabaceae) e da cana-de-açúcar, *Phragmites australis* (Cav.) Steud. (Poaceae) na fitorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos. Essas espécies comprovadamente intensificam o processo de degradação de poluentes, principalmente a degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Os resultados mostram que a flora bacteriana associada à alfafa degrada melhor os hidrocarbonetos poluentes do que a flora bacteriana associada à cana.

Os efeitos de óleo lubrificante em mudas de mangue foram testados em diferentes condições ambientais no trabalho de PROFFITT; DEVLIN; LINDSEY (1995). As mudas de *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae) e *Avicennia*

*germinans* (L.) L. (Verbenaceae) foram plantadas e casa-de-vegetação e condições de campo. Ambas receberam três tratamentos: uma única aplicação de óleo, perfazendo o total de 120mL por muda; pequenas aplicações de óleo durante 58 semanas, perfazendo o total de 15mL de óleo por semana; e o controle. Como resultado desse trabalho, conclui-se que há uma forte relação entre a contaminação do mangue e suas condições ambientais, sendo que a maior mortalidade encontrada foi em mudas de *R. mangle* mantidas sob condições de campo, submetidas a uma única contaminação.

*Vicia faba* L. (Fabaceae) foi testada com a finalidade de ser usada como bioindicador de poluição por hidrocarbonetos. Verificaram-se seus níveis de pigmentos fotossintéticos, proteínas, aminoácidos livres, fenóis, açúcares e também a biomassa da planta. Foram encontrados níveis maiores de açúcar, fenóis, proteínas e aminoácidos livres nas mudas que cresceram nos solos contaminados. Porém, as mudas que cresceram em solo controle sem contaminação tiveram maiores níveis de clorofila e maior biomassa. Sendo assim, concluiu-se que *V. faba* é uma eficiente indicadora de poluição por hidrocarbonetos e que a concentração de ácidos graxos é um parâmetro importante para avaliar o nível da poluição (MALALLAH et al., 1996).

Uma espécie de cevada do campo, *Hordeum vulgare* L. (Poaceae), foi submetida à contaminação por hidrocarbonetos. O crescimento da cevada foi significativamente reduzido pela contaminação por óleo cru, sendo que o solo biorremediado não apresentou benefícios visíveis. Contudo, concluiu-se que a relação entre a água e o solo é o fator mais importante para avaliar o período que um solo biorremediado se encontra pronto para suportar o crescimento de espécies vegetais (LI; FENG; SAWATSKY, 1997).

Diversas espécies de plantas que cresciam em solo contaminado por petróleo e derivados foram analisadas e, como resultado foram encontradas alterações nas concentrações de antocianina, ácido ascórbico e riboflavina. As plântulas com 25 dias de crescimento, germinadas em solo contaminado por hidrocarboneto, também foram analisadas e registraram-se alterações na germinação e formação de eofilos (CHUPAKHINA; MASLENNIKOV, 2004).

Plantas do gênero *Tradescantia* L. (Commelinaceae) foram transferidas para frascos contendo solo contaminado por óleo diesel fresco (nº2) nas concentrações de 0,1; 1; 10 e 100 $mg.kg^{-1}$, além do solo controle. Os resultados mostram um alto grau de correlação entre a porcentagem de plantas mortas e murchas e a concentração de óleo diesel no solo, uma semana após serem plantadas no solo contaminado. Em geral, a concentração de clorofila na folha decresceu com o aumento da concentração de óleo diesel no solo. Contudo, observou-se que *Tradescantia* apresenta uma sensibilidade considerável em solo contaminado por óleo diesel (GREEN et al., 1996).

Um estudo avaliou 22 espécies crescendo em solo contaminado por óleo diesel. As maiores diferenças na germinação foram encontradas dentro das gramíneas, onde certas espécies prosperaram em baixas concentrações de contaminante, enquanto outras eram intolerantes à contaminação. As herbáceas leguminosas e espécies comerciais não se afetaram em baixos níveis de contaminação (25 $g.kg^{-1}$). No nível mais alto de contaminação, 11 das 22 espécies não alcançaram um índice de germinação igual a 50%, como ocorreu no controle. Duas espécies de gramínea não germinaram a este nível de contaminação (ADAM; DUNCAN, 1999).

Um posterior estudo investigou o efeito do óleo diesel na germinação de 25 espécies de plantas selecionadas, como algumas herbáceas, leguminosas e espécies agrícolas comerciais. As respostas na germinação variaram significativamente de acordo com a espécie, bem como membros da mesma família apresentaram sensibilidade diferente à contaminação por óleo diesel. Na concentração mais baixa foram observados atrasos na emergência da radícula e redução na porcentagem de germinação na maioria das espécies analisadas. Os resultados sugerem que a fração volátil do óleo diesel exerceu um papel importante no atraso da emissão radicular e na diminuição da porcentagem de germinação (ADAM; DUNCAN, 2002).

Os efeitos de um derramamento de óleo cru ocorrido em 1974 no Canadá, em uma plantação de trigo, foram investigados. Houve uma considerável redução no crescimento e rendimento, bem como na germinação de sementes. O óleo também reduziu o conteúdo de nitrogênio disponível no solo e reduziu a captação de água

pelo trigo das camadas contaminadas ou nas camadas mais superficiais (DE JONG, 1980).

Experimentos com derramamentos de óleo no campo foram realizados, onde observou-se a redução no número de espécies de plantas e na produtividade das áreas afetadas, que variou de 67 a 92% em um período de 10 meses. A poluição tendeu a causar uma lenta recomposição da vegetação nos habitats descobertos. Pelo menos 50% das espécies nos habitats sem capina ficaram extintas imediatamente após o derramamento, onde o efeito foi maior em espécies herbáceas. A poluição também pode contribuir indiretamente a outros aspectos da deterioração do habitat como a erosão. Isto pode ocorrer quando a recuperação da vegetação após um derramamento for lenta. A superfície do solo sem vegetação pode ser exposta para vários agentes de desmatamento antes do estabelecimento da cobertura de plantas protetoras (KINAKO, 1981).

Também foi realizado um estudo envolvendo a biodegradação do óleo através de um consórcio microbiano. Os resultados mostraram que houve uma redução na concentração de óleo diesel no solo com inoculação de até 15% em um período de cinco semanas. O grau de biodegradação de hidrocarbonetos em solos contaminados é extremamente dependente em quatro fatores: criação de ótimas condições ambientais para estimular a atividade de biodegradação; os tipos de hidrocarbonetos predominantes no petróleo; a matriz contaminada; e a biodisponibilidade dos contaminantes para os microorganismos. A degradação de hidrocarbonetos de petróleo também é afetada pela composição molecular dos hidrocarbonetos, característica com a qual está diretamente relacionada com a biodisponibilidade destas combinações, e como conseqüência, a taxa de biodegradação pode ser alterada (MÁRQUEZ-ROCHA et al., 2000).

Foram verificadas as alterações morfo-fisiológicas causadas pelo solo contaminado com petróleo, com e sem adubação, em plantas jovens de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg (Myrtaceae). Por fim, foram encontradas diferenças na estrutura anatômica, na deposição de metabólitos como amido e compostos fenólicos, diferenças na espessura foliar e no índice estomático entre as plantas do solo contaminado e não contaminado. Concluiu-se que essas diferenças não afetam no desenvolvimento da espécie estudada, classificando-a como uma

espécie tolerante, apta para recompor áreas contaminadas por petróleo (MAYER, 2005).

Outro estudo desenvolvido na área da REPAR em Araucária (PR), local onde ocorreu o vazamento de petróleo em julho de 2000, analisou os efeitos do solo contaminado na estrutura anatômica e o estado nutricional do lenho jovem de *Campomanesia xanthocarpa* (Myrtaceae) e *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs (Euphorbiaceae). O experimento foi montado com o plantio de mudas com cerca de 5 meses de idade, em solo contaminado, não contaminado, adubado e biorremediado. Essas permaneceram desenvolvendo no solo por um ano. Nas áreas contaminadas as plantas tiveram maior diâmetro de vasos e menor número de por milímetro quadrado. As folhas e caules da plantas tenderam a apresentar maiores teores de Mn e Fe e menores teores de P (RODRIGUES, 2005).

Os efeitos da poluição por óleo cru na germinação de *Zea mays* L. (Poaceae) e *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae) foram investigados. Nos dois casos a germinação foi inibida, porém quanto maior o tempo após a contaminação, menores foram os efeitos encontrados, sendo que as sementes de *C. frutescens* apresentaram maior tolerância ao poluente do que as sementes de *Z. mays* (AMAKIRI; ONOFEGHARA, 1984).

Investigações sobre o potencial de plantas tropicais para a fitorremediação são escassas. No trabalho de MERKL; SCHULTZE-KRAFT; INFANTE (2004), foi analisado o comportamento de duas gramíneas e seis leguminosas venezuelanas frente à contaminação por óleo cru no solo. Como resultado, observou-se que a germinação foi afetada negativamente, assim como a produção de matéria seca. *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf (Poaceae), *Centrosema brasilianum* (L.) Benth. (Fabaceae) e *Calopogonium mucunoides* Desv. (Fabaceae) são espécies promissoras para a fitorremediação, visto que as mesmas combinam alta germinação e alta produção de biomassa em solo contaminado por óleo cru.

### 4.3 Germinação de sementes

O embrião da semente inicia sua formação a partir do momento da fertilização do óvulo e desenvolve-se durante a maturação, até que seu crescimento cessa e o

teor de umidade diminui a um nível tão baixo que permite apenas reduzida atividade metabólica. A germinação é o reinício do crescimento do embrião paralisado nas fases finais da maturação. Os processos fisiológicos do crescimento exigem atividades metabólicas aceleradas, e a fase inicial de germinação consiste primariamente na ativação daqueles processos pelo aumento do teor de umidade e da atividade respiratória da semente. O embrião, envolvido por uma cobertura protetora constituída por várias camadas de tecidos vivos e mortos, possui reservas alimentares suficientes para atender a esse eventual aumento das atividades metabólicas (LABOURIAU, 1983).

A germinação se divide em quatro fases: 1) embebição da semente; 2) alongamento das células; 3) divisão celular; 4) diferenciação das células em tecidos. Para que ocorra a germinação, determinadas condições devem ser satisfeitas, como por exemplo, a semente deve estar viável, a semente deve estar livre de dormência, as condições ambientais (água, temperatura, luz e oxigênio) devem estar favoráveis e o ambiente deve estar livre de organismos patógenos (LABOURIAU, 1983).

O solo contaminado por óleo se torna hidrofóbico, minimizando a disponibilidade de água presente no ambiente. Dentre os fatores do ambiente que influenciam a germinação, a água é o mais importante. A diminuição do potencial hídrico do meio pode atrasar ou reduzir a taxa de germinação de muitas espécies vegetais, pois interfere na embebição e no alongamento celular do embrião (RACINE, 1994). A germinação da semente em solos com baixo potencial hídrico depende da habilidade de cada espécie (PEREZ; FANTI; CASALI, 2001).

A revegetação de áreas atingidas por derramamento de óleo e a degradação do poluente dependem diretamente do banco de sementes presente no solo. Partindo dessa idéia, VAVREK; CAMPBELL (2000) quantificaram a importância do banco de sementes para a recuperação de uma área alagada contaminada por óleo. No banco de sementes havia 24 espécies diferentes, sendo que o óleo atrasou a germinação em 50% das espécies. A quantidade de óleo no solo era de 8 $L/m^2$. Enfim, o trabalho conclui que o banco de sementes de áreas alagadas potencialmente contribui para sua regeneração após um derramamento de óleo.

Segundo CARMELLO-GUERREIRO; PAOLI (1998) a semente de *Schinus terebinthifolius* é única por fruto, reniforme e possui um envoltório membranáceo liso.

O endosperma é ausente, o embrião não possui clorofila e é axial dobrado, composto por dois cotilédones planos, carnosos, com eixo hipocótilo-radicular longo e plúmula pouco desenvolvida. A reserva dos cotilédones consiste, principalmente, de proteínas e lipídeos.

Os aspectos fisiológicos na germinação da aroeira foram estudados, comparando os efeitos de 0, 1, 2, 4 e 8 horas de embebição, temperaturas contínuas de 22, 25 e 28º C e fotoperíodos de 8, 12 e 16 horas sobre a germinação das sementes. Os tratamentos de 2 horas de embebição, temperatura contínua de 25º C e fotoperíodo de 8 horas proporcionaram as maiores taxas de germinação. Os resultados indicaram que proteínas de reserva devem ser degradadas durante a germinação e que as sementes não acumulam amido como principal substância de reserva. Aparentemente, as plântulas devem consumir as substâncias de reserva e iniciar a atividade fotossintética durante os primeiros dias após a germinação (BEAL; MANFREDINNI; VOIGT, 2003).

A germinação de *Schinus terebinthifolius* foi estudada, comparando os substratos de vermiculita, areia, papel mata borrão e papel toalha em temperaturas contínuas de 20, 25 e 30º C. O estudo mostrou que a temperatura de 25º C foi a mais indicada para o papel mata borrão. Para os substratos de vermiculita, areia e papel toalha, os melhores resultados foram obtidos na temperatura de 20º C. Concluiu-se que o substrato de areia a 20º C ou a 25º C é o meio mais viável para a germinação de sementes de aroeira, visto que a areia é menos favorável ao desenvolvimento de microorganismos, mais barato e possível de ser lavado e esterilizado com facilidade. Porém, se o substrato de areia for inviável, recomenda-se o substrato de papel toalha sob temperatura de 20º C, devido às qualidades e superioridade na porcentagem de germinação (MEDEIROS; ZANON, 1998).

### 4.4 Morfo-anatomia de plântulas

A primeira fase vegetativa de uma planta após a germinação da semente, conhecida como plântula, tem enorme valor em diversos estudos, principalmente na preservação e regeneração de florestas (SOUZA, 2003). Segundo este mesmo autor, plântula ou puladendro deve ser considerada como a fase que abrange o

vegetal desde a germinação consumada da semente até a formação da primeira folha ou eofilo. Após esta fase, o estágio seguinte é o tirodendro, que compreende o final do desenvolvimento do primeiro eofilo na plântula até o momento em que aparecem os primeiros nomofilos.

A plântula, já desenvolvida, consiste de raiz primária, colo ou coleto, nem sempre visível, hipocótilo, epicótilo e eofilo ou protofilo. O desenvolvimento da plântula, primordialmente marcado pela protrusão da radícula do embrião, pode ser fanerocotiledonar ou criptocotiledornar. As plântulas podem ser ainda classificadas como epígeas ou hipógeas, de acordo com a posição dos cotilédones em relação ao solo. O cotilédone é uma folha que se desenvolve no limite entre o hipocótilo e o epicótilo. Nas dicotiledôneas, ocorrem dois cotilédones que podem ter função de reserva nas sementes com pouco ou nenhum endosperma, assumindo um aspecto espesso. Nas sementes com endosperma abundante, os cotilédones assumem aspecto foliáceo (SOUZA, 2003).

Logo após o processo de embebição das sementes, ocorre ruptura do tegumento seminal próximo da região da micrópila, e a radícula emerge. Com poucos centímetros de desenvolvimento, já se observam pêlos absorventes na raiz jovem. O hipocótilo desenvolve-se concomitantemente e separa-se da raiz pelo seu maior diâmetro, pela ausência de pêlos absorventes ou pela formação do colo ou coleto (SOUZA, 2003).

Em termos anatômicos, a raiz primária apresenta rizoderme típica, unisseriada, com pêlos absorventes comumente unicelulares. O córtex parenquimático pode apresentar exoderme e endoderme típicas. O cilindro vascular, que é circundado por um periciclo parenquimático unisseriado, apresenta cordões de xilema e floema dispostos alternadamente. O hipocótilo tem uma anatomia muito variável, podendo apresentar estrutura de raiz, de caule ou zona tipicamente de transição entre raiz e caule (SOUZA, 2003).

No Brasil, os estudos envolvendo morfo-anatomia de plântulas são poucos. SOUZA (1982) estudou a anatomia do hipocótilo de *Cassia cathartica* Mart. (Caesalpinaceae). A morfo-anatomia da plântula de *Aspidosperma polyneuron* Müll. Arg. (Apocinaceae) foi estudada por SOUZA; MOSCHETA (1992). MOSCHETA (1995) observou a morfologia de plântulas de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart.,

*Guarea kunthiana* A. Juss. e *Trichilia catigua* A. Juss. (Meliaceae). Ainda nas dicotiledôneas encontramos estudos de morfo-anatomia de plântulas nos trabalhos de OLIVEIRA, (1991); MOURÃO; BELTRATI (1995, 1997) e MOURÃO (1997).

Nas monocotiledôneas, os estudos envolvendo morfo-anatomia de plântulas são ainda mais raros. GOMES (1990) estudou a morfo-anatomia do desenvolvimento de *Anthurium scandens* (Aubl.) Engl. (Araceae). KRAUS et al. (1996) observou o desenvolvimento pós-seminal de quatro espécies do gênero *Paepalanthus* Mart. (Eriocaulaceae). Também nas Eriocaulaceae, o desenvolvimento pós-seminal de *Syngonanthus elegans* (Korn.) Ruhland e *Syngonanthus niveus* (Bong.) Ruhland foi estudado por SCATENA, LEMOS-FILHO; LIMA (1996).

Como trabalho mais relevante para este estudo, CARMELO-GUERREIRO e PAOLI (1999) observaram a morfologia e o desenvolvimento pós-seminal de *Schinus terebinthifolius* desde a germinação até a planta jovem, com 3 meses de idade.

## 5. RESULTADOS

Os resultados serão apresentados em forma de artigo de revista científica. Os Capítulos I e II que aqui seguem estão de acordo com as normas da revista Water, Air and Soil Pollution, ISSN: 0049-6979 (Anexo I). A revista holandesa está classificada na categoria de Ciências Ambientais, com fator de impacto de 1,058.

**Capítulo I: Efeito do Solo Contaminado por Óleo Diesel na Germinação e nas Plantas Jovens de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae).**

**Efeito do Solo Contaminado por Óleo Diesel na Germinação e nas Plantas Jovens de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae).**

## 1. Resumo

Atualmente tem se estudado os efeitos da contaminação por petróleo e derivados em espécies vegetais, principalmente em herbáceas. O estudo desses efeitos em espécies arbóreas brasileiras ainda é raro. O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito do solo contaminado com óleo diesel na germinação e nas plantas jovens de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) em diferentes períodos após a contaminação do solo. Esta espécie é nativa do Brasil e tem grande importância na recuperação de áreas degradadas. O experimento foi montado em estufa com quatro tratamentos e cinco repetições, de acordo com um delineamento inteiramente casualizado, sendo que os tratamentos foram: solo contaminado 30 (T30), 90 (T90) e 180 (T180) dias antes do plantio das sementes e solo controle (T0), sem contaminação. Foram analisados o índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação das sementes; altura, peso fresco e seco das plantas jovens; peso seco, área foliar e área específica foliar dos eofilos. A germinabilidade foi de 50% para T180, 53,2% para T90, 29,6% para T30 e 53,6% para T0, sendo significativa apenas para T30. O desenvolvimento das plantas também foi afetado, sendo que as plantas que cresceram em solo contaminado tiveram menor altura, peso fresco e seco e menor peso seco e área do eofilo. Após 90 dias da contaminação do solo por óleo diesel as sementes germinaram normalmente, todavia o desenvolvimento das plantas foi afetado em todos os tratamentos de solo contaminado.

**Palavras-Chave:** Morfologia, Poluição, Aroeira.

## 2. Introdução

Acidentes envolvendo derramamentos de petróleo e derivados vêm ocorrendo freqüentemente nos últimos anos (Adam e Duncan, 2002). Calamidades ambientais como a Guerra do Golfo em 1990 causou o derramamento de mais de quatro a seis milhões de barris de petróleo (Malallah, 1998). No Kuwait, em 1991, mais de 50 $km^2$ foram cobertos por óleo (Kuhn et al., 1998). Em 2000 aconteceu um grande vazamento de petróleo na Refinaria Presidente Getúlio Vargas (REPAR), no Paraná, levando a uma grande contaminação do solo. Em 2001 ocorreu um vazamento em um oleoduto da REPAR, causando derramamento de óleo diesel, também no Paraná.

O óleo diesel é uma mistura complexa de hidrocarbonetos, presentes no petróleo, como alcanos de baixo peso molecular e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) (Adam e Duncan, 1999) Também possui, em baixas concentrações, enxofre, nitrogênio e oxigênio. Há ainda, em menor quantidade, metais como chumbo, níquel, sódio, cálcio, cobre e urânio (Posthuma, 1977). O óleo diesel pode causar efeitos crônicos ou agudos nas plantas. Além da toxicidade direta e indireta, o óleo causa interferência nas relações hídricas da planta. Essa interferência, acompanhada das condições anaeróbicas e hidrofóbicas, vem a ser os efeitos mais importantes em relação à germinação de sementes e ao crescimento das plantas (Racine, 1994).

Os hidrocarbonetos são tóxicos às plantas, em especial os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs). Os sintomas mais comuns que esses causam às plantas são redução no crescimento do caule e raiz, tricomas deformados, redução nos pelos radiculares, degradação na clorofila, atraso na floração e

aparecimento de pontos brancos que se desenvolvem em lesões de necrose. A nível celular, as plantas apresentam estresse oxidativo, como produção de $H_2O_2$ e morte celular (Alkio et al., 2005).

Segundo Vavrek e Campbell (2002), muitos estudos têm focado os impactos diretos do óleo na superfície da plantas e pouquíssimos estudos enfocam impactos diretos do óleo na germinação de sementes. Adam e Duncan (1999, 2002) observaram o efeito do óleo diesel na germinação de sementes de 25 espécies vegetais, constatando o atraso na germinação da maioria das espécies. Vavrek e Campbell (2002) analisaram o comportamento germinativo de 24 espécies presentes em um banco de sementes, frente ao óleo cru, constatando também a sensibilidade da maioria das sementes ao óleo. Amakiri e Onofeghara (1984), trabalhando com sementes de *Zea mays* L. (Poaceae) e *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae), também observaram a diminuição do número de sementes germinadas no solo contaminado com óleo cru.

Os sintomas de injúrias causadas pela contaminação por óleo são inúmeros e geralmente não são específicos. A mesma substância pode induzir diferentes efeitos em espécies diferentes e, por outro lado, o mesmo sintoma pode ser produzido por diferentes substâncias (Baker, 1970; Larcher, 2000). Os sintomas mais comuns e mais importantes observados em plantas contaminadas por petróleo e derivados são: a erosão da cera epicuticular (Baker, 1970), degradação da clorofila (Baker, 1970; Malallah et al., 1996; Malallah et al., 1998), alterações no mecanismo estomático (Baker, 1970), distúrbios na fotossíntese e respiração (Baker, 1970; Larcher, 2000), aumento das taxas de fitormônios relacionados ao estresse (Larcher, 2000), acumulação de substâncias tóxicas ou de seus

derivados nos tecidos vegetais (Baker, 1970; Larcher, 2000), prejuízo na absorção de água (Oliveira, 2004), diminuição de tamanho e menor acúmulo de biomassa (Proffit et al., 1995; Green et al., 1996; Kuhn et al., 1998).

Em alguns casos, após um derramamento de óleo, pode ser observado um aumento na produção de biomassa, no crescimento e desenvolvimento de algumas plantas. Isso se dá por três prováveis motivos: o óleo pode matar alguns organismos presentes no solo, aumentando a matéria orgânica disponível nele; alguns compostos reguladores do crescimento vegetal podem estar presentes no óleo; e por último, pode ocorrer um aumento na fixação do nitrogênio com o óleo no solo (Baker, 1980).

Atualmente, existem vários métodos para minimizar os efeitos negativos da contaminação do solo. Na fitorremediação, por exemplo, utilizam-se plantas e seus microorganismos associados para restaurar ou recuperar áreas degradadas. Estudos atuais comprovam que solos contaminados por óleo degradam o poluente mais rápido com o auxílio das plantas (Muratova et al., 2003). Portanto, a identificação das espécies vegetais que possuem habilidade em crescer e se estabelecer em solo contaminado por óleo é um dos primeiros passos na seleção de espécies para a fitorremediação, seguido da avaliação de sua influência na degradação dos hidrocarbonetos do petróleo e derivados (Merkl et al., 2004).

*Schinus terebinthifolius*, conhecida popularmente como aroeira, foi testada com a finalidade de verificar sua resistência ao solo contaminado com óleo diesel, e neste caso, ser indicada para revegetação. Essa espécie é pioneira, melífera, muito visitada pela avifauna e de suma importância para recompor áreas degradadas (Lorenzi, 1992). Segundo Bona e Santos (2003) e Oliveira (2004),

mudas de *S.terebinthifolius* toleram bem o solo contaminado com petróleo, apresentando formação de raízes superficiais, reduzindo assim o estresse provocado pelo contaminante. O objetivo deste trabalho é estudar o efeito do solo contaminado com óleo diesel, após diferentes períodos da contaminação, na germinação das sementes e nas plantas jovens de *S. terebinthifolius*.

## 3. Material e Métodos

### 3.1 Preparo das sementes

Os diásporos de *S. terebinthifolius* foram coletados em Tunas-PR e embalados em saco plástico hermeticamente fechado, com umidade de 6.7%. A porcentagem de germinação das sementes foi testada, obtendo-se 60% de germinação. Antes de serem plantados, os diásporos foram re-hidratados e em seguida descascados, deixando apenas as sementes prontas para a semeadura.

### 3.2 Preparo do solo e montagem do experimento

O solo foi coletado em Araucária-PR, onde a espécie ocorre naturalmente, e classificado como gleissolo melânico, que apresenta, em alguns casos, acúmulo superficial de matéria orgânica. Possui também textura argilosa e é encontrado em relevo plano de várzeas (Fasolo et al., 2002). Posteriormente, o solo foi seco, peneirado, homogeneizado e colocado em bandejas com aproximadamente 3 kg de solo seco. O solo foi umedecido com 50% de sua capacidade máxima de retenção (CRM), tomando por base os trabalhos de Muratova et al. (2003) e Li et al. (1997), que utilizaram 40% e 70% de CRM, respectivamente. A quantidade de óleo diesel

por kg de solo foi definida pela quantidade máxima retida no solo previamente hidratado com 50% de sua CRM, sendo que o valor obtido foi de 92.4 mL de óleo diesel por kg de solo.

Após a contaminação do solo, as bandejas ficaram em casa-de-vegetação expostas à nebulização interna de 15 segundos a cada 3 horas até o momento do plantio. Antes do plantio das sementes, foram coletadas amostras de solo de todos os tratamentos, as quais foram submetidas a análises químicas e físicas de rotina ($Al^{+3}$, H+Al, $Ca^{+2}$, $+Mg^{+2}$, $Ca^{+2,}$ $K^{+}$, T, P, C, pH-SMP e V%) (Tabela 01). Essa análise foi feita no Laboratório do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola do Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. Após o plantio a nebulização foi alterada para 5 segundos a cada 20 minutos e a temperatura variou de 8,7ºC a 37,8ºC. O experimento foi montado com 4 tratamentos e 5 repetições (bandejas). Os tratamentos diferiram pelo tempo de contaminação, ou seja, 180 (T180), 90 (T90) e 30 (T30) dias antes do plantio. O plantio das sementes foi realizado em janeiro de 2005 para todos tratamentos ao mesmo tempo.

Para cada repetição (bandeja) foram plantadas 50 sementes, totalizando um n = 250 sementes por tratamento. O experimento foi analisado de acordo com um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC).

### 3.3 Análise da germinação

Após o plantio, a avaliação da germinação foi feita diariamente durante 20 dias. Para a avaliação do experimento foi adotado o critério botânico, ou seja, a semente foi considerada germinada quando houve a protrusão de uma das partes do embrião de dentro dos envoltórios, no caso, a radícula. Foram calculadas a

porcentagem final de sementes germinadas ou germinabilidade (%G) e o índice de velocidade de germinação (IVG), segundo a fórmula de Maguire (1962).

### 3.4 Análise quantitativa

Após trinta dias da germinação foram coletados 25 indivíduos de cada tratamento para mensuração do peso fresco e altura total das plantas. Essas foram prensadas em papel e desidratadas em estufa a 70º C por cerca de 24hs. Após a desidratação foi mensurado o peso seco total e separados os eofilos para a pesagem e mensuração da área foliar. A área foliar foi calculada com o auxílio do programa Sigma-Pro Versão 2.1 com a imagem escaneada das folhas. O estágio de desenvolvimento das plantas foi definido de acordo com Souza (2003).

### 3.5 Análise estatística

Todas as variáveis foram estatisticamente analisadas. As análises estatísticas dos dados obtidos basearam-se na análise de variância (ANOVA), sendo determinado o DMS pelo teste de Tukey, a um nível de significância de 5%. O programa estatístico utilizado foi o JUMP 5.0.1.

## 4. Resultados

De acordo com a análise de solo (Tabela 01), tanto o solo contaminado quanto o controle apresentaram pH ácido, porém o solo contaminado foi mais ácido e com maiores concentrações de alumínio trocável ($H^{+}$+$Al^{+3}$), potássio ($K^{+}$), cálcio ($Ca^{+2}$) e maior capacidade de troca catiônica total (T). O solo controle teve maiores concentrações de magnésio ($Mg^{+2}$), fósforo (P) e maior valor de bases trocáveis

(SB). O teor de argila foi igual, tanto no solo contaminado quanto no controle. Já a porcentagem de saturação (V) do solo controle foi maior do que a do contaminado. O mesmo não ocorreu para a quantidade de carbono (C), visto que essa é consideravelmente maior no solo contaminado do que no controle.

A emissão da radícula ocorreu por volta do 6º dia. A raiz é do tipo axial e possui cor branca no ápice e marrom na região dos pelos absorventes. O hipocótilo é mais espesso que a raiz. Após a primeira semana os cotilédones são liberados do envoltório. Entre o 9º e o 13º dia ocorre a expansão dos cotilédones, no solo não contaminado (T0). Nos tratamentos T180 e T90, a expansão dos cotilédones se deu entre o 11º e o 15º dia, e no tratamento T30, ocorreu entre o 13º e o 20º dia. A partir do 25º dia, a maioria das plantas do solo não contaminado possuíam eofilos expandidos (Figura 1 A-E). Nos tratamentos T180 e T90, os eofilos só se expandiram a partir do 29º dia, e no tratamento T30, a partir do 30º dia. O primeiro par de eofilos é simples e oposto (Figura 1). Os eofilos das plantas crescidas em solo contaminado com óleo diesel em geral apresentaram uma coloração avermelhada (Figura 1 F), diferente do das plantas crescidas em solo sem contaminação. Seguindo as definições de Souza (2003), após 30 dias do plantio, os indivíduos dos tratamentos T30, T90 e T180 estavam no estádio de plântula, com a recém formação do eofilo. Porém, a maioria dos indivíduos do tratamento sem contaminação (T0) já passavam do estádio de tirodendro, sendo considerados plantas jovens, possuindo algumas folhas verdadeiras.

O óleo diesel causou redução na germinação das sementes apenas no tratamento T30. O número de sementes germinadas nos tratamentos T180, T90 e T0 foi semelhante (Figura 2). A germinabilidade (%G) foi maior no tratamento T0 (53,6%), seguida do tratamento T90 (53,2%) e T180 (50%) e foi menor no tratamento T30 (29,6%) (Figura 3). O índice de

velocidade de germinação foi maior no tratamento T90 (12,77), seguido por T0 (12,48) e T180 (12,18) e foi menor no tratamento T30 (6,82) (Figura 4).

O tempo após a contaminação do solo afetou em maior grau a altura das plantas do tratamento de 30 dias após a contaminação, enquanto que as plantas dos tratamentos de 90 e 180 dias foram semelhantes ao controle (Figura 5). É o que se observa também após 45 dias do plantio (Figura 1E). Porém, após 90 dias do plantio, as plantas do tratamento sem contaminação (T0) possuem altura superior à dos demais tratamentos, que não se desenvolvem (Figura 1 G).

A presença do óleo no solo afetou negativamente o peso fresco das plantas de todos os tratamentos, sendo que no tratamento de 30 dias foi registrado o menor peso fresco, sendo que as plantas dos tratamentos T90 e T180 não deferiram entre si (Figura 6). O resultado do peso seco das plantas jovens foi semelhante ao do peso fresco (Figura 7).

O óleo diesel causou grande redução no peso seco e área foliar dos eofilos em todos os tratamentos de solo contaminado, sendo esse feito mais drástico no tratamento de 30 dias (Figura 8 e 9).

## 5. Discussão

O crescimento de *S. terebinthifolius* pode ter sido influenciado pela menor concentração de bases trocáveis (SB) no solo contaminado. O menor crescimento das plantas em solo contaminado também pode ser associado à alta concentração de alumínio trocável ($H^{+}$+$Al^{+3}$) no solo contaminado. Segundo Malavolta (1980), o alumínio torna-se solúvel no solo e pode ser absorvido pelas raízes em solo mais ácido, que é o caso do solo contaminado, exercendo um efeito negativo na

disponibilidade de fosfato, reduzindo assim o crescimento da planta. A maior concentração de carbono (C) no solo contaminado é explicada pela presença dos hidrocarbonetos do óleo diesel no solo.

O tratamento que teve a germinabilidade e o número de sementes germinadas mais afetada foi o tratamento T30, no qual a contaminação é mais recente. O índice de velocidade de germinação, que relaciona o número de sementes germinadas por dia, indica a maior velocidade de germinação. Sendo que o menor IVG foi registrado no tratamento T30, aproximadamente 50% mais baixo do que os outros, aumentando nos demais tratamentos. Esse fato mostra claramente que quanto maior for o tempo entre a contaminação e o plantio, mais eficiente será a germinação de *Schinus terebinthifolius*. Resultados semelhantes foram registrados para outras espécies. Bossert e Bartha (1985) registraram baixa germinabilidade das sementes de milho frente ao solo contaminado por óleo cru, e Gallego-Martínez et al (2000), testando espécies tropicais nativas do México em solo contaminado por petróleo também encontraram redução da germinabilidade entre 30 e 90%.

Adam e Duncan (2002) também registraram alteração da germinabilidade de sementes de gramíneas, herbáceas e leguminosas, afetadas tanto pela quantidade de óleo como pelo tempo após a contaminação. Os autores registraram maior germinabilidade das sementes no solo contaminado três semanas antes do plantio em relação ao solo contaminado no dia do plantio. Segundo os autores, o óleo diesel possui uma fração volátil que contém hidrocarbonetos leves, capazes de entrar facilmente através da membrana das células. Essas pequenas moléculas de hidrocarbonetos que penetram nas plantas podem causar efeitos tóxicos, explicando o atraso na germinação (IVG) e diminuição na germinabilidade (%G). É o que conclui também Amakiri e Onofeghara (1984) que observaram a penetração de óleo em

células vivas. Por isso, os solos contaminados que ficaram 180 e 90 dias na estufa volatilizaram uma maior quantidade de hidrocarbonetos de baixo peso molecular, explicando o maior número de sementes germinadas, a germinabilidade e IVG mais altos em relação ao tratamento T30. A quantidade de óleo no solo é um fator importante, tanto na germinação quanto no crescimento de plantas. Adam e Duncan (1999, 2002), que utilizaram a concentração de 0,25 e 50 g de diesel por kg de solo, verificaram que quanto maior a concentração de óleo diesel, menor a germinabilidade das sementes.

Outra explicação para o atraso na germinação e menor taxa de germinabilidade para o tratamento T30 pode estar relacionada com o impedimento físico causado pelo óleo diesel, citado por Baker (1970). No tratamento T30, devido ao menor período de tempo entre a contaminação e o plantio, o óleo diesel, que é hidrofóbico, pode ter recoberto as sementes, causando assim um impedimento físico na passagem da água e, possivelmente, de gases, para dentro da semente. Sabendo-se que no processo da germinação, a embebição da semente e as trocas gasosas são as etapas mais importantes (Labouriau, 1983), pode-se explicar a baixa germinabilidade e o atraso no IVG encontrado no tratamento em questão.

Merkl et al. (2004), estudando a germinação de duas gramíneas e seis leguminosas tropicais da Venezuela em solo contaminado por óleo cru na concentração de 3 e 5 g de óleo por kg de solo, não observaram alteração da germinabilidade, exceto na espécie *Desmodium glabrum* (Mill.) DC. (Fabaceae), onde houve diminuição. Esse resultado difere do encontrado no presente trabalho, onde houve diminuição da germinabilidade no tratamento T30, no qual provavelmente a concentração de óleo no solo era maior do que nos outros tratamentos, e a contaminação inicial também era maior (92 ml por kg de solo).

A altura maior das plantas jovens no solo controle (Figura 04) corrobora com os dados de Oliveira (2004), que estudou o comportamento de mudas de *S. terebinthifolius* em solo contaminado com petróleo. Diminuição no tamanho das mudas de *Lycopersicon esculentum* Mill. (Solanaceae) crescidas em solo contaminado por petróleo na concentração de 36, 48, 60 e 240 ml/kg de solo foi observada por Kuhn et al. (1998). O mesmo ocorreu com mudas de *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae), que cresceram em solo contaminado por petróleo na concentração de 15 e 120 ml/kg de solo e tiveram 50% a menos de crescimento do que as mudas do solo controle (Proffitt et al., 1995). Em ambos experimentos a contaminação foi feita diretamente no solo das mudas, ou seja, não houve tempo entre a contaminação e o plantio. Segundo Hester e Mendelssohn (2000), o crescimento das plantas pode ser prejudicado pelas alterações físicas e químicas causadas pelo óleo. Pode ter ocorrido um desequilíbrio nutricional nas plantas que cresceram em solo contaminado, explicando assim a menor altura destas.

As plantas crescidas em solo contaminado também apresentaram menor peso fresco e peso seco, quando comparadas com as plantas crescidas no solo não contaminado (Figuras 6 e 7). Esse efeito também foi observado no trabalho de Oliveira (2004) e Bona e Santos (2003), que analisaram o efeito do petróleo no solo, para *Schinus terebinthifolius*, *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L.B. Sm. & Downs (Euphorbiaceae) e *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). Outras espécies, *Allophylus edulis* (A. St.-Hil., Cambess. & A. Juss.) Radlk. (Sapindaceae), *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg (Myrtaceae) e *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl. (Podocarpaceae), analisadas da mesma forma por Bona e Santos (2003) não sofreram diminuição no peso fresco e seco das plantas, evidenciando que as espécies reagem de forma diferente à contaminação do solo. Merkl et al. (2004) e

Chaîneau et al. (1997) também encontraram uma redução significativa na produção de biomassa (peso fresco e seco das plantas) em indivíduos crescidos em solo contaminado por óleo cru. Uma redução de 85% e 99% na biomassa de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf (Poaceae) e *Panicum maximum* Jacq. (Poaceae), respectivamente, comparando com o solo controle, foi encontrada por Merkl et al. (2004).

A inibição do crescimento das plantas que crescem em solo contaminado por hidrocarbonetos pode ser causada pelos componentes tóxicos do óleo, como hidrocarbonetos aromáticos. Esses podem entrar pela membrana das células de passagem, desintegrando as membranas e em alguns casos, matando células (Merkl et al., 2004; Baker, 1970). Os hidrocarbonetos do óleo possuem propriedades hidrofóbicas, reduzindo a disponibilidade de água e nutriente para as plantas (Baker, 1970). Além disso, durante a degradação dos hidrocarbonetos pelos microorganismos presentes no solo, esses competem com as plantas por nutrientes como nitrogênio e fósforo. Assim, nas primeiras semanas do crescimento das plantas, os nutrientes presentes na semente tornam-se um importante diferencial na sobrevivência e crescimento das plantas (Merkl et al., 2004). Segundo Cuille e Blanchet (1958) a toxicidade do óleo nas plantas depende de três fatores: das propriedades do óleo, da quantidade de óleo no solo e das condições ambientais.

A viscosidade e o ponto de ebulição do óleo são conseqüências do tamanho das moléculas presentes nele. Ou seja, quanto maior o tamanho das moléculas, mais viscoso é o óleo e maior é o seu ponto de ebulição, causando um menor efeito tóxico nas plantas. Segundo Baker (1970), o óleo diesel é um combustível destilado, com baixo ponto de ebulição, podendo causar maior efeito tóxico nas plantas. apud Baker (1970) verificou que a alta umidade favorece os danos causados pelo óleo,

pois nestas condições os estômatos ficam abertos na maior parte do tempo, aumentando a penetração dos compostos voláteis do óleo nas plantas. A alta umidade foi característica no experimento do presente trabalho, visto que a casa de vegetação era nebulizada com freqüência. Isso pode ter aumentado a toxicidade do óleo diesel nas plantas jovens de *Schinus terebinthifolius*.

Os eofilos, também chamados de protofilos (Souza, 2003), são as folhas das plântulas ou plantas jovens, e no caso de *Schinus terebinthifolius*, são simples e opostos, assim como foi observado por Carmello-Guerreiro e Paoli (1999). O peso seco e área foliar do eofilo das plantas que cresceram em solo contaminado são menores quando comparados ao eofilo das plantas do solo sem contaminação (Figura 07 e 08). Oliveira (2004) não encontrou diferença entre as folhas de mudas de *Schinus terebinthifolius* que cresceram em solo contaminado em não contaminado, tanto no peso seco, quanto na área foliar e área específica foliar. Mayer (2005) também não observou diferença significativa entre o peso seco, área foliar e área foliar específica das folhas de mudas de *Campomanesia xanthocarpa* em solo contaminado por petróleo e solo sem contaminação. Esse fato evidencia que as plantas jovens são mais susceptíveis ao contaminante do que mudas desenvolvidas com 5 meses de idade. Porém Proffitt et al. (1995), estudando mudas de *Rizophora mangle* observou a diminuição do peso seco, área foliar e área específica foliar nos indivíduos crescidos em solo contaminado por petróleo, quando comparados com aqueles crescidos em solo sem contaminação. Farias (2005) também observou a redução do peso seco e área foliar nas folhas de *Rhynchospora corymbosa* (L.) Britton (Cyperaceae) crescidas em solo contaminado por petróleo.

Essa diminuição nas dimensões das folhas é devido ao balanço entre ganho de carbono e perda de água (Givnish, 1987). A planta que absorve menos nutrientes

e menor quantidade de água pouco desenvolve o seu sistema aéreo, visto que esses são essenciais para o crescimento da planta. A área específica foliar foi estatisticamente igual entre todos os tratamentos devido à razão entre o peso seco e a área foliar serem semelhantes, o que não evidencia características xeromórficas.

Em alguns eofilos e cotilédones das plantas crescidas em solo contaminado, principalmente plantas do tratamento T30, apresentaram coloração levemente avermelhada. Segundo Chupakhina e Maslennikov (2004), as plantas submetidas ao solo contaminado por óleo diesel tem uma tendência a acumular antocianina, ácido ascórbico e riboflavonóides, sendo que a antocianina é fortemente associada ao estresse causado pelo óleo no solo. Isso pode explicar a coloração avermelhada nos eofilos e cotilédones, sabendo que o tratamento T30 é o que possui a contaminação mais recente, causando um maior estresse nas plantas.

## 6. Conclusão

O óleo diesel afetou a germinação, diminuiu o crescimento e a área foliar dos eofilos das plantas jovens. O tempo após a contaminação do solo alterou a germinação apenas no tratamento T30, solo contaminado 30 dias após a contaminação. Até 180 dias após a contaminação do solo por óleo diesel houve redução do crescimento e da área foliar das plantas jovens.

## 7. Agradecimentos

Os autores deste trabalho agradecem ao Pesquisador da Embrapa Florestas, Antônio Carlos Medeiros, por ter fornecido os diásporos de *S. terebinthifolius* e à CAPES, pela bolsa de mestrado.

## 8. Referências Bibliográficas

Adam, G. e Duncan, H. J.: 1999, “Effect of Diesel Fuel on Growth of Selected Plant Species”, Environment Geochemistry and Health. **21**, 353-357.

Adam, G. e Duncan, H. J.: 2002, “Influence of Diesel Fuel on Seed Germination”, Environmental Pollution. **120**, 363-370.

Alkio, M.; Tabuchi, T. M.; Wang, X. e Colón-Carmona, A.: 2005, “Stress responses to polycyclic aromatic hydrocarbons in *Arabidopsis* include growth inhibition and hypersensitive response-like symptoms”, Journal of Experimental Botany. **56**, 2983-2994.

Baker, J.M.: 1970, “The effects of oils on plants”, Environmental Pollution. **1**, 27-44.

Bona, C.; Santos, G. O.: 2003, “Adaptações morfo-fisiológicas de espécies vegetais crescendo em solo contaminado com petróleo”. FUNPAR-UFPR, Relatório técnico.

Bossert, I. e Bartha, R.: 1985, “Plant growth on soil with a history of oil sludge disposal”, Soil Science. **140**, 75-77.

Carmello-Guerreiro, S. M.; Paoli, A. A. S.: 1998, “Morfologia e Desenvolvimento Pós-Seminal de *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl., *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allem. e *Astronium graveolens* Jaq. (Anacardiaceae)”, Naturalia. **24**, 127-138.

Chaîneau, C. H.; Yepremian, C.; Vidalie, J. F. ; Ducreux, J. ; Ballerini, D.: 2003, “Bioremediation of a crude oil-polluted soil : biodegradation, leaching and toxicity assessments”, Water, Air and Soil Pollution. **144**, 419-440.

Chupakhina, G. N.; Maslennikov, P. V.: 2004, “Plant adaptation to oil stress”, Russian Journal of Ecology. **35**, 290-295.

Cuille, J. e Blanchet, B.: 1958, “Low-volume spraying of tropical fruits: Oil base spray products with special reference to their phytotoxicity” **13**, 553-565.

Fasolo, P. J.; Bognola, I. A.; Carvalho, A. P.; Pooter, R. O. E Bhering, S. B.: 2002, “Levantamento de Reconhecimento dos Solos da Região Sudeste do Estado do Paraná (área 4, 5 e 6)”, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento – EMBRAPA.

Givnish, T.J.: 1987, “Comparative studies of leaf form: assessing the roles of selective pressures and phylogenetic constraints”, New Phytologist. **106**, 131-160.

Green, B.T.; Wiberg, C.T; Woodruff, J.L.; Miller, E.W.; Poage, V.L.; Childress, D.M.; Feulner, J.A.; Froshc, S.A.; Runkel, J.A.; Wanderscheid, D.M.; Wierma, M.D.; Yang, X.; Choe, H.T. & Mercurio, S.D.: 1996, “Phytotoxicity observed in *Tradescantia* correlates with diesel fuel contamination in soil”, Environmental and Experimental Botany. **6**, 313-321.

Hester, M.W.; Mendelssohn, I.A.: 2000, “Long-term recovery of a Louisiana brackish marsh plant community form oil-spill impact: vegetation response and mitigation effects of marsh surface elevation”, Marine Environmental Research. **49**, 339-347.

Kuhn, W.; Gambino, R.; Al-Awadhi, N.; Balba, M.T.; Dragun, J.: 1998, “Growth of tomato plants in soil contaminated with Kuwait crude oil”, Journal of Soil Contamination. **7**, 801-806.

Labouriau, L. G.: 1983, A germinação de Sementes. Washington, D.C.: OEA, 240 pp.

Larcher, W.: 2000, Ecofisiologia Vegetal. RiMa, São Carlos, 365 pp.

Li, X.; Feng, Y.; Sawatsky, N.: 1997, “Importance of soil-water reltions in assessing the endpoint of bioremediated soils”, Plant and Soil. **192**, 219-226.

Lorenzi, H.: 1992, Árvores Brasileiras; Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil, 1 ed. Instituto Plantarum.

Maguire, J. D.: 1962, “Speed of germination–aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor”, Crop Science. **2,** 176-177.

Malallah, G.; Afzal, M.; Gulshan, S.; Kurian, M.; Dhami, M. S. I.: 1996, “*Vicia faba* as a bioindicator of oil pollution”, Environmental Pollution. **92**, 213-217.

_____; Afzal, M.; Kurian, M.; Gulshan, S.; Dhami, M.S.I.: 1998, “Impact of oil pollution on some desert plants” Environment International. **24**, 919-924.

Mayer, J.L.S. Impacto do solo contaminado com petróleo no crescimento e desenvolvimento de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. (Myrtaceae). Curitiba 2004. 82 f. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Muratova, A. Y.; Turkovskaya, O. V.; Hübner, T. E Kuschk, P.: 2003, “Studies of the Efficacy of Alfalfa and Reed in the Phytoremediation of Hydrocarbon-Polluted Soil”, Applied Biochemistry and Microbiology. **39**, 681-688.

Oliveira, L. S.: 2004, “Influência do solo contaminado com petróleo na morfologia e fisiologia de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)”. Dissertação de Mestrado em Botânica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, pp. 63.

Posthuma, J.: 1970, “The composition of petroleum”, Rapp. P. v. reun. Cons. perm. int. Explor. Mer. **171,** 7-16.

Proffitt, C. E., Devlin, D. J.; Lindsey, M.: 1995, "Effects of oil on mangrove seedlings grow under different environmental conditions", Marine Pollution Bulletin. **30**, 788-793.

Racine, C.H.: 1994, "Long-term recovery of vegetation on two experimental crude oil spills in interior Alaska black spruce taiga", Canadian Journal of Botany. **72**, 1171-1177.

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

## 9- Anexos: Tabelas e Figuras

Tabela 1: Resultado da análise química e física de solo contaminado e não contaminado (controle) por óleo diesel.

| Amostra | PH | | $Al^{+3}$ | $H^{+}Al^{+3}$ | $Ca^{+2}$ | $Mg^{+2}$ | $K^{+}$ | SB | T | P | S | C | V | M | Ca/Mg | Argila |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $CaCl_2$ | SMP | $cmol_c/dm^3$ | | | | | | | $Mg/ dm^3$ | | $g/ dm^3$ | % | % | | g/kg |
| Solo Contaminado | 5.60 | 6.10 | 0.00 | 4.60 | 12.80 | 7.00 | 0.43 | 20.23 | 24.83 | 7.00 | - | 38.9 | 81 | 0 | 1.8 | 400.0 |
| Solo Controle | 6.10 | 6.60 | 0.00 | 3.20 | 12.20 | 7.40 | 0.71 | 20.31 | 23.51 | 8.80 | - | 30.5 | 86 | 0 | 1.6 | 400.0 |

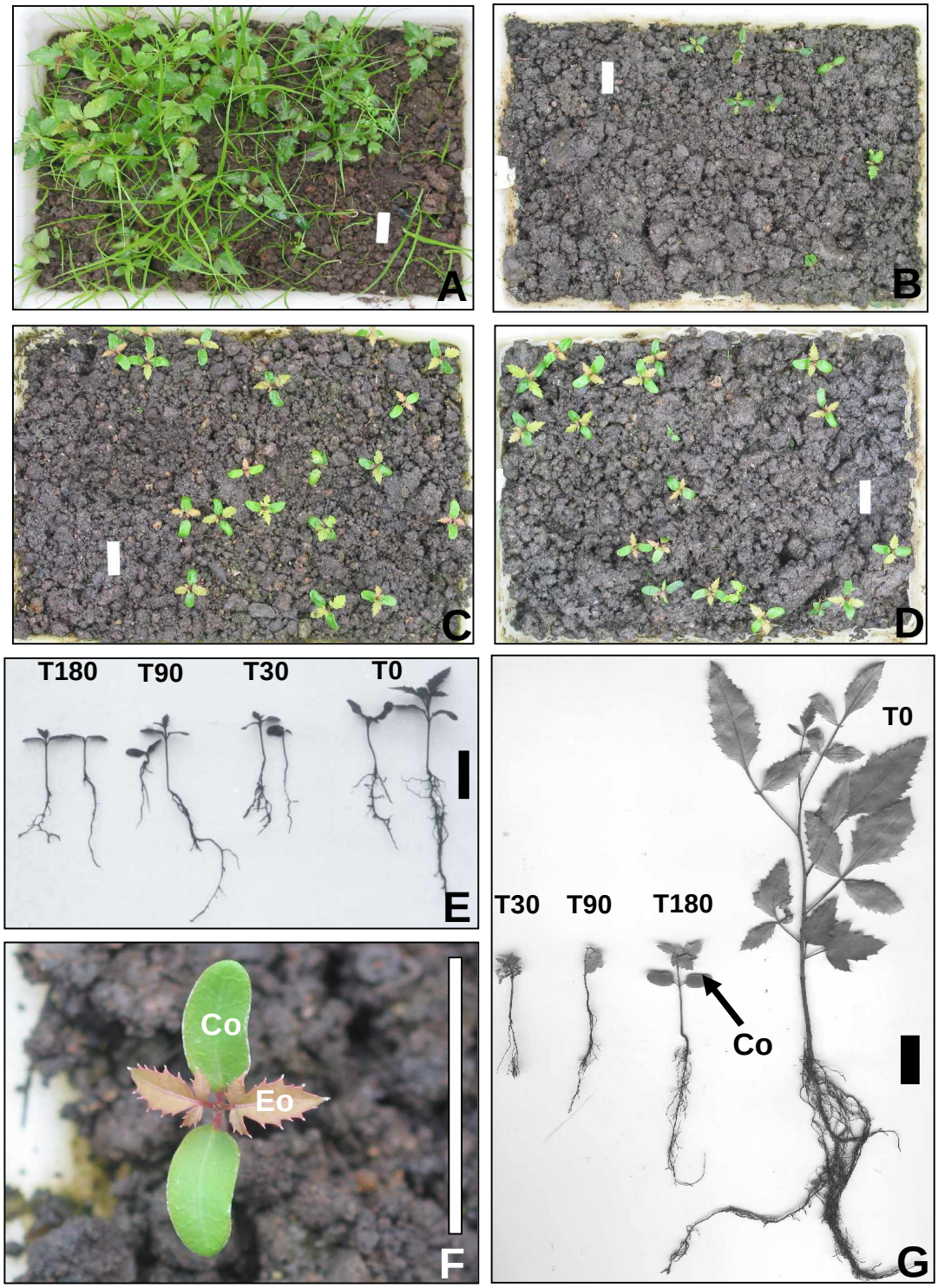



Figura 1: Plantas jovens de *Schinus terebinthifolius* 45 dias após o plantio. A- solo não contaminado (T0); B- solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30); C- solo contaminado 90 dias antes do

plantio (T90) e D- solo contaminado 180 dias antes do plantio (T180); E- plantas jovens após 30 dias do plantio; F- planta jovem (após 45 dias do plantio) crescendo em solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30); G- plantas jovens após 90 dias do plantio. Co = cotilédone; Eo = eofilo. Barra = 2 cm.

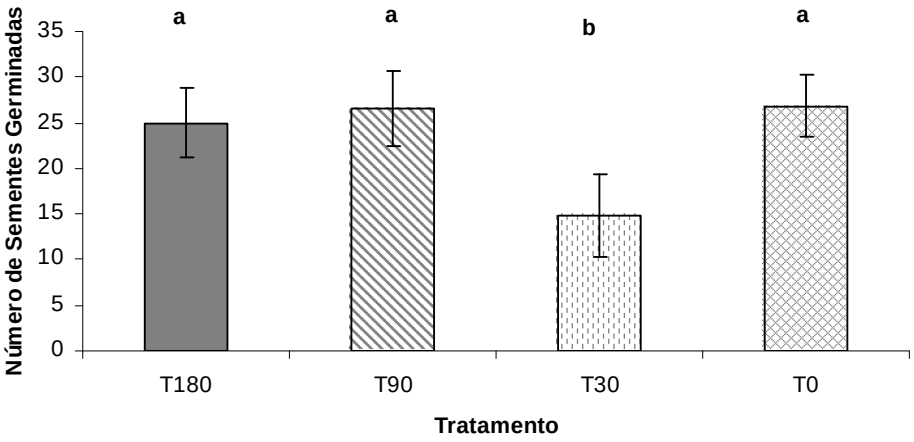



Figura 2: Número de sementes de *Schinus terebinthifolius* Raddi germinadas até 20 dias após o plantionos tratamentos T180 (solo contaminado 180 dias antes do plantio), T90 (solo contaminado 90 dias antes do plantio), T30 (solo contaminado 30 dias antes do plantio) e T0 (solo sem contaminação) ($r^2$ = 0,46; $F_{3,19}$ = 4,51; P < 0,05).

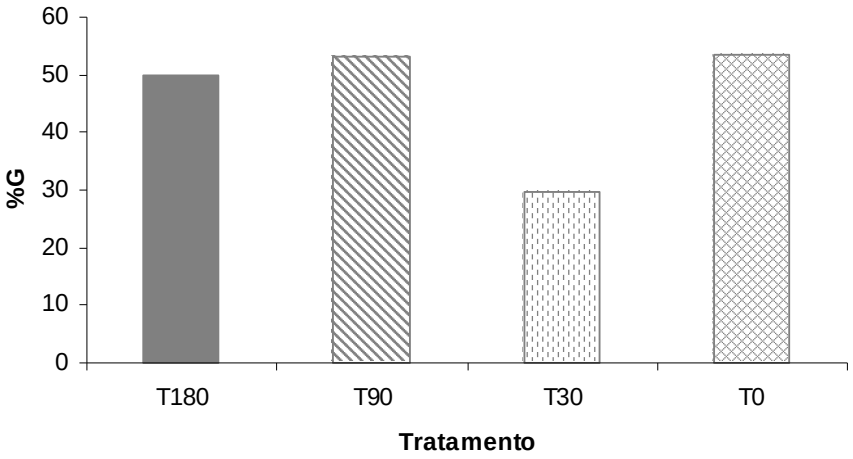


Figura 3: Germinabilidade (%G) das sementes de *Schinus terebinthifolius* Raddi dos tratamentos T180 (solo contaminado 180 dias antes do plantio), T90 (solo contaminado 90 dias antes do plantio), T30 (solo contaminado 30 dias antes do plantio) e T0 (solo sem contaminação).

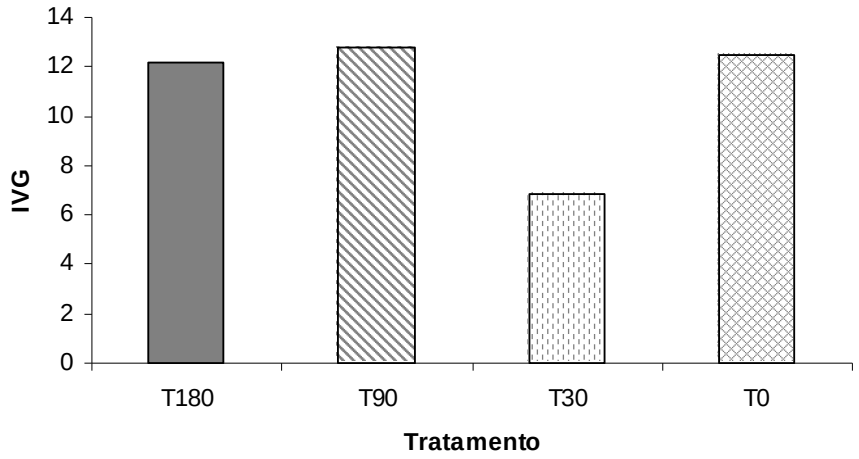



Figura 4: Índice de velocidade de germinação das sementes de *Schinus terebinthifolius* Raddi dos tratamentos T180 (solo contaminado 180 dias antes do plantio), T90 (solo contaminado 90 dias antes do plantio), T30 (solo contaminado 30 dias antes do plantio) e T0 (solo sem contaminação).

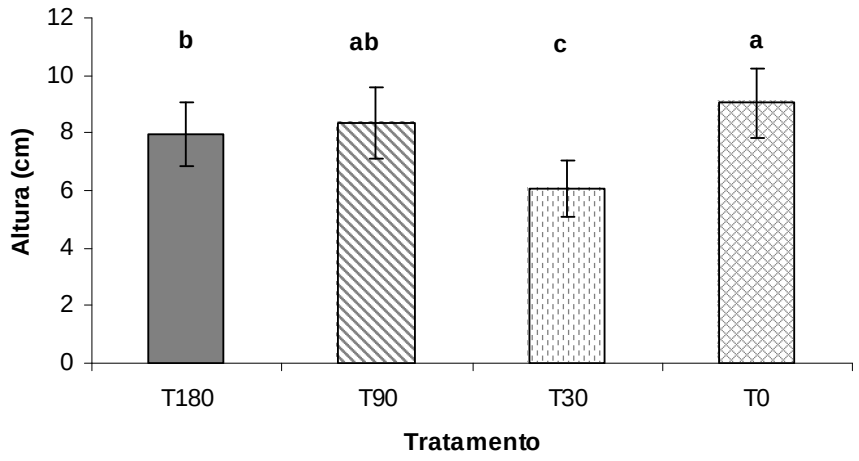



Figura 5: Altura total das plantas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (30 dias após o plantio) dos tratamentos T180 (solo contaminado 180 dias antes do plantio), T90 (solo contaminado 90 dias antes do plantio), T30 (solo contaminado 30 dias antes do plantio) e T0 (solo sem contaminação) ($r^2$ = 0,50; $F_{3,99}$ = 31,56; P < 0,05).

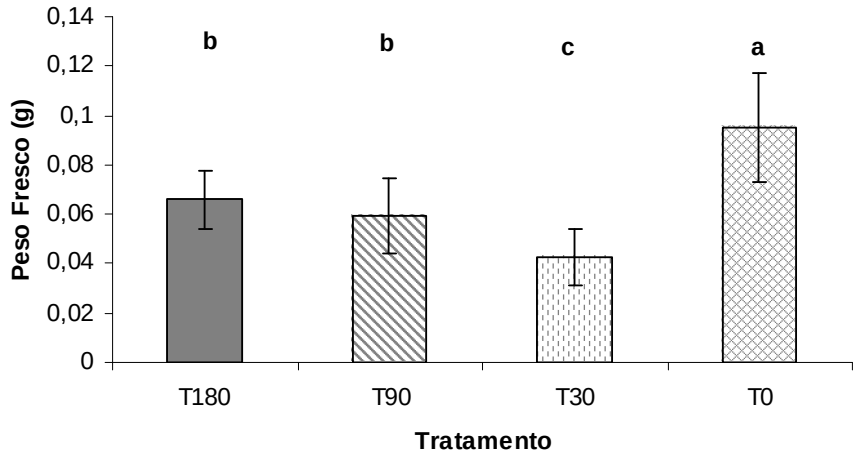



Figura 6: Peso fresco das plantas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (30 dias após o plantio) dos tratamentos T180 (solo contaminado 180 dias antes do plantio), T90 (solo contaminado 90 dias antes do plantio), T30 (solo contaminado 30 dias antes do plantio) e T0 (solo sem contaminação) ($r^2$ = 0,60; $F_{3,99}$ = 49,32; P < 0,05).

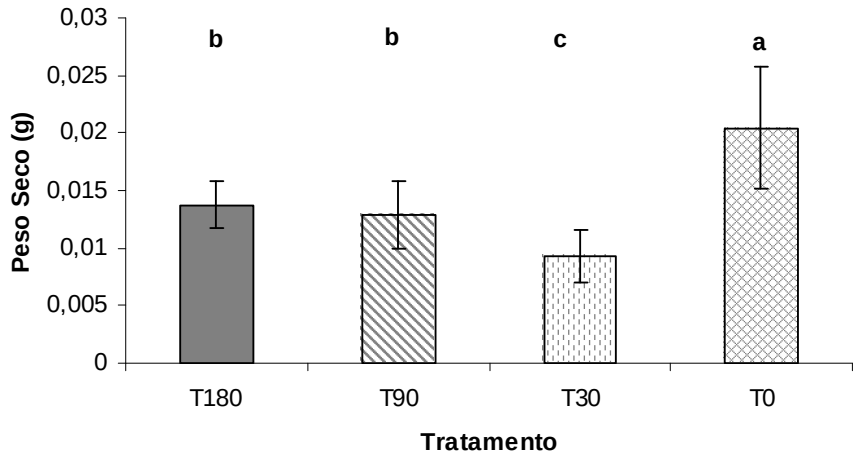



Figura 7: Peso seco das plantas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (30 dias após o plantio) dos tratamentos T180 (solo contaminado 180 dias antes do plantio), T90 (solo contaminado 90 dias antes do plantio), T30 (solo contaminado 30 dias antes do plantio) e T0 (solo sem contaminação) ($r^2 = 0,59$; $F_{3,99} = 47,44$; $P < 0,05$).

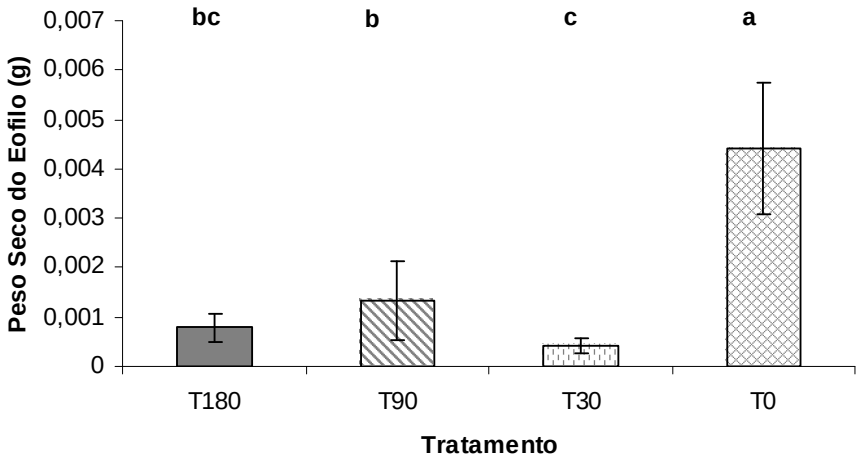



Figura 8: Peso seco do eofilo das plantas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (30 dias após o plantio) dos tratamentos T180 (solo contaminado 180 dias antes do plantio), T90 (solo contaminado 90 dias antes do plantio), T30 (solo contaminado 30 dias antes do plantio) e T0 (solo sem contaminação) ($r^2 = 0,50$; $F_{3,99} = 31,56$; $P < 0,05$).

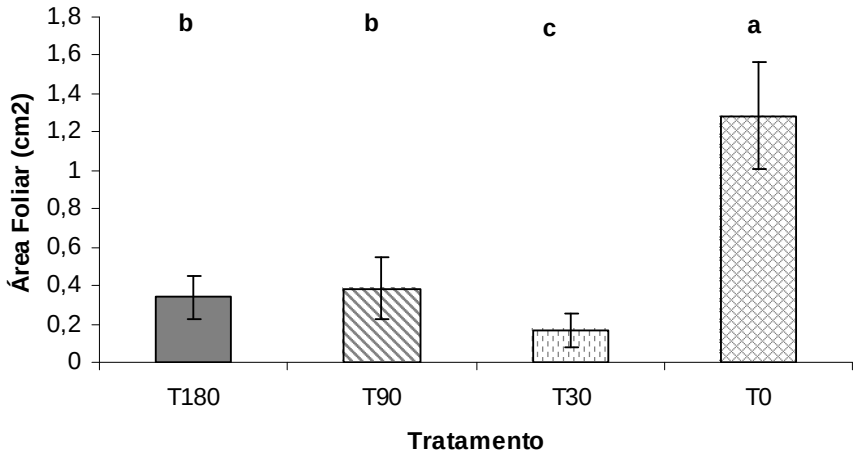



Figura 9: Área foliar do eofilo das plantas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (30 dias após o plantio) dos tratamentos T180 (solo contaminado 180 dias antes do plantio), T90 (solo contaminado 90 dias antes do plantio), T30 (solo contaminado 30 dias antes do plantio) e T0 (solo sem contaminação) ($r^2 = 0,87$; $F_{3,99} = 209,35$; $P < 0,05$).

**Capítulo II: Efeito do Solo Contaminado por Óleo Diesel na Estrutura Anatômica da Raiz e Eofilo das Plantas Jovens de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae).**

**Efeito do Solo Contaminado por Óleo Diesel na Estrutura Anatômica da Raiz e Eofilo de Plantas Jovens de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae).**

**1. Resumo:** Estudos envolvendo a anatomia de plantas que crescem em solo contaminado por petróleo e derivados são raros e de suma importância para a maior compreensão dos efeitos danosos do óleo nas plantas. O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito do solo contaminado com óleo diesel, na anatomia de plantas jovens de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) e verificar se o tempo após a contaminação interfere no efeito do óleo diesel. O experimento foi montado em casa de vegetação com quatro tratamentos: solo contaminado 30, 90 e 180 dias antes do plantio das sementes e solo controle, sem contaminação. As plantas foram analisadas anatomicamente 30 dias após o plantio. Lâminas histológicas do ápice, zona de ramificação e eofilo foram confeccionadas. Foram mensurados: diâmetro da raiz, raio do córtex, área lacunar do córtex e diâmetro do cilindro vascular nas raízes. Alguns eofilos foram submetidos à análise de microscopia eletrônica de varredura. Testes microquímicos para detectar a presença de lipídeos, amido e compostos fenólicos foram realizados. O diâmetro da raiz, raio do córtex e diâmetro do cilindro vascular foram maiores nos tratamentos de solo contaminado. Em microscopia eletrônica de varredura foram registradas deformações celulares nos eofilos das plantas do solo contaminado. Os testes microquímicos indicaram mais compostos fenólicos nos eofilos e raízes de plantas do solo contaminado. O solo contaminado aumentou a concentração de compostos fenólicos e causou necroses superficiais nos eofilos, e nas raízes, induziu a formação de aerênquima, que aumentou, conseqüentemente, o diâmetro da raiz e raio do córtex.

**Palavras-Chave:** Anatomia ecológica, Poluição, Aroeira.

## 2. Introdução

Atualmente o petróleo e seus derivados são a forma de energia mais utilizada no mundo todo. Entretanto, a extração, transporte e armazenamento de petróleo trazem um risco em potencial e podem causar danos irreparáveis se este for acidentalmente derramado no ambiente. Acidentes envolvendo derramamentos de petróleo e derivados vêm ocorrendo freqüentemente nos últimos anos. Estes derramamentos, em sua maioria, geram efeitos negativos na flora e fauna local dos habitas atingidos (Nicolotti e Egli, 1998).

A proteção ambiental contra as várias formas de poluição é uma questão urgente (Chupakhina e Maslennikov, 2003). Ambientes contaminados por hidrocarbonetos se tornam hidrofóbicos e não absorvem a capacidade máxima de água, causando assim efeitos deletérios no crescimento das plantas (Li et al., 1997). Os sintomas de injúrias são inúmeros e geralmente não são específicos. A mesma substância pode induzir diferentes efeitos em espécies diferentes e, por outro lado, o mesmo sintoma pode ser produzido por diferentes substâncias (Baker, 1970; Larcher, 2000). Sendo assim, torna-se imprudente tirar conclusões a partir de um sintoma isolado. Padrões de resposta envolvendo vários critérios proporcionam bases mais seguras para um diagnóstico a respeito da poluição como um fator de estresse (Larcher, 2000).

Os sintomas mais comuns e mais importantes observados em plantas contaminadas por óleos são: a erosão da cera epicuticular (Baker, 1970), degradação da clorofila (Baker, 1970; Malallah et al., 1996; Malallah et al., 1998), alterações no mecanismo estomático (Baker, 1970), distúrbios na fotossíntese e respiração (Baker, 1970; Larcher, 2000), aumento das taxas de fitormônios

relacionados ao estresse (Larcher, 2000) e acumulação de substâncias tóxicas ou de seus derivados nos tecidos vegetais (Baker, 1970; Larcher, 2000).

Após um derramamento de óleo a mortalidade de plantas e seus microorganismos associados são imediatos. A degradação dos hidrocarbonetos presentes no petróleo é feita naturalmente pelos processos de evaporação, fotooxidação e biodegradação, todavia é um processo lento. O uso da fitorremediação tem se tornado uma prática usualmente bem sucedida, todavia as espécies devem ser estudadas e indicadas para tal uso. Assim, torna-se de suma importância a identificação dos mecanismos internos da planta que as permitem crescer em solo contaminado, bem como é importante também conhecer os danos morfo-anatômicos causados por tal poluente (Lin et al., 2002).

Estudos envolvendo a anatomia de plantas que crescem em solo contaminado por óleo ainda são raros. Como estudos mais relevantes podemos citar Bona e Santos (2003), que estudaram as alterações morfológicas causadas pelo solo contaminado por petróleo em espécies como *Schinus terebinthifolius*, *Campomanesia xanthocarpa* (Myrtaceae), *Sebastiania commersoniana* (Euphorbiaceae), *Eugenia uniflora* (Myrtaceae). Oliveira (2004) também estudou os efeitos morfológicos e fisiológicos do solo contaminado por petróleo na raiz, caule e folhas de *Schinus terebinthifolius*, assim como Rodrigues (2005) observou os efeitos do solo contaminado por petróleo no lenho jovem de *Campomanesia xanthocarpa* e *Sebastiania commersoniana* (Euphorbiaceae). Ainda estudando os efeitos do solo contaminado por petróleo, Farias (2005) utilizou a espécie *Rhynchospora corymbosa* (Cyperaceae) para verificar os danos morfológicos causados pelo poluente.

Alkio et al. (2005) observaram o efeito de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, freqüentemente presentes no petróleo e derivados, em sementes e plântulas de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae). Essas tiveram redução no crescimento radiculares, redução no tamanho e no número de folhas, inibição da formação de pêlos radiculares e tricomas deformados. Em altas concentrações, o poluente matou as plantas com 30 dias de crescimento. Em alguns casos, houve a formação de manchas brancas, principalmente nas folhas, causando necrose.

*Schinus terebinthifolius*, conhecida popularmente como aroeira, foi testada com a finalidade de verificar sua resistência ao solo contaminado com óleo diesel. Segundo Bona e Santos (2003) e Oliveira (2004), mudas da espécie toleram bem o solo contaminado com petróleo, reduzindo o estresse provocado pelo contaminante. O objetivo deste trabalho é estudar o efeito do solo contaminado com óleo diesel na estrutura anatômica da raiz e do eofilo de plantas jovens de *S. terebinthifolius*.

## 3. Material e Métodos

### 3.1 Montagem do experimento

Os diásporos de *S. terebinthifolius* foram coletados e embalados em saco plástico. Antes de serem plantados, os diásporos foram re-hidratados e em seguida descascados, deixando apenas as sementes prontas para a semeadura.

O solo foi coletado em Araucária-PR, onde a espécie ocorre naturalmente, e posteriormente foi seco, peneirado, homogeneizado e colocado em bandejas com aproximadamente 3 kg de solo seco. O solo foi umedecido com 50% de sua capacidade máxima de retenção (CRM), tomando por base os trabalhos de Muratova et al. (2003) e Li et al. (1997), que utilizaram 40% e 70% de CRM, respectivamente. A quantidade de óleo diesel por kg de solo foi definida pela

quantidade máxima retida no solo previamente hidratado com 50% de sua CRM, sendo que o valor obtido foi de 92.4 mL de óleo diesel por kg de solo.

Após a contaminação do solo, as bandejas ficaram em casa-de-vegetação expostas à nebulização interna de 15 segundos a cada 3 horas até o momento do plantio. Após o plantio a nebulização foi alterada para 15 segundos a cada 1 hora e a temperatura variou de 8,7ºC a 37,8ºC. O experimento foi montado com 4 tratamentos e 5 repetições (bandejas). Os tratamentos diferiram pelo tempo de contaminação, ou seja, 180 (T180), 90 (T90) e 30 (T30) dias antes do plantio. O plantio das sementes foi realizado em janeiro de 2005 para todos os tratamentos ao mesmo tempo.

Para cada repetição (bandeja) foram plantadas 50 sementes, totalizando um n = 250 sementes por tratamento. O experimento foi analisado de acordo com um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC).

### 3.2 Análise Anatômica

Para a análise anatômica, amostras das raízes e dos eofilos de 10 plântulas de cada tratamento foram coletadas 30 dias após o plantio. Posteriormente, essas foram fixadas em FAA 50 (Johansen 1940). Amostras do ápice das raízes laterais, da zona de ramificação, também das raízes laterais (a ± 1 cm do ápice) e do terço médio dos eofilos foram desidratadas em série alcoólico-etílica e infiltradas em meta-acrilatoglicol (Historresina) da marca Leica, seguindo as técnicas de Feder e O'brien, (1968) e as indicações do fabricante. Secções longitudinais foram feitas no ápice da raiz e secções transversais no eofilo e na zona de ramificação da raiz, com micrótomo de rotação, obtendo-se secções com cerca de 6 µm de espessura. Essas

foram coradas com fuccina e azul de astra (Alves de Brito e Alquini, 1996) e/ou azul de toluidina (O'brian et al., 1965). Algumas secções da raiz foram submetidas a testes microquímicos com lugol (Foster, 1949), Sudan III e cloreto férrico (Johansen, 1940) para detectar a presença de amido, lipídios e compostos fenólicos, respectivamente. Secções do eofilo foram submetidas a testes com cloreto férrico.

Os eofilos foram analisados em microscópio eletrônico de varredura. Esses foram fixados em FAA 70 (Johansen, 1940), desidratados em série etanólica, submetidos ao ponto critico no equipamento Balzers CPC 10 e cobertos com ouro no equipamento Balzers Sputtering SCD 030. As amostras foram analisadas e as imagens digitalizadas no equipamento MEV Jeol JSM-6360 LV.

As mensurações dos diâmetros da raiz, raio do córtex e diâmetro do cilindro vascular foram realizadas em microscópio óptico Olympus e lente ocular milimetrada. Para mensuração dos espaços intercelulares do córtex a imagem foi projetada com câmara clara e desenhada em papel. Essas imagens foram escaneadas e analisadas no programa Sigma-Pro Versão 2.1, sendo calculada a porcentagem de espaços por área conhecida. As ilustrações foram feitas através de registro fotográfico digital com câmera Sony Cybershot 7.1 MP em microscópio óptico Zeiss.

### 3.3 Análises estatísticas

O diâmetro da raiz, raio do córtex e diâmetro do cilindro vascular foram estatisticamente analisados. As análises estatísticas dos dados obtidos basearam-se na análise de variância (ANOVA), sendo determinado o DMS pelo teste de Tukey, a um nível de significância de 5%. O programa estatístico utilizado foi o JUMP 5.0.1.

## 4. Resultados

### 4.1 Raiz

A estrutura do ápice das raízes, em secção longitudinal, foi semelhante entre os tratamentos (Figuras 1-4). Todas apresentaram coifa normal com meristema apical típico de dicotiledôneas. As células do promeristema, protoderme, meristema fundamental e procâmbio tiveram aspecto normal em todos os tratamentos.

As raízes de *Schinus terebinthifolius*, em corte transversal (Figura 5-8), possuem epiderme unisseriada, com células arredondadas de parede periclinal externa mais espessa (Figura 5). Em algumas regiões, a epiderme foi destacada deixando a exoderme exposta.

Internamente a epiderme, a primeira camada do córtex é a exoderme, composta por apenas uma camada de células com paredes delgadas, as quais acumulam compostos fenólicos. Internamente à exoderme, encontra-se o tecido parenquimático, que possui várias camadas de células. Nas raízes das plantas que cresceram em solo contaminado (Figuras 6-8), o tecido parenquimático possui amplas áreas lacunares, caracterizando a formação de aerênquima de origem lisígena. O mesmo não ocorre nas raízes das plantas do tratamento sem contaminação (Figura 5), que possui espaços intercelulares menores e triangulares. A endoderme, que é a camada mais interna do córtex, é unisseriada e apresenta células com paredes delgadas, que se coram mais intensamente do que as outras células corticais devido ao acúmulo de compostos fenólicos.

O periciclo possui natureza parenquimática e é composto por uma única camada (Figura 5). Os tecidos vasculares, xilema e floema, apresentam-se dispostos em cordões alternados. A raiz é tetrarca e encontra-se em desenvolvimento primário. Em algumas raízes observa-se o metaxilema diferenciado, ocupando posição

central, e o floema com canais resiníferos (Figuras 5-8). Não houve alteração anatômica visível no cilindro vascular entre as plantas dos diferentes tratamentos.

O diâmetro total da raiz foi menor no tratamento T0, intermediário nos tratamentos T90 e T180 e maior no tratamento T30 (Figura 9). O raio do córtex também foi menor no tratamento T0, intermediário nos tratamentos T90 e T180 e maior no tratamento T30 (Figura 10). O diâmetro do cilindro vascular não diferiu entre os tratamentos contaminados e não contaminado, havendo diferença apenas entre as plantas do tratamento T180 e T90 (Figura 11). Os maiores espaços intercelulares mensurados no córtex das raízes foram os do tratamento T30, com 45% de área lacunar, seguido pelo tratamento T90, com 24%, e o tratamento T180, com 21%. Os menores espaços intercelulares foram registrados nas raízes das plantas do tratamento T0, com apenas 4%.

Os testes microquímicos realizados nas raízes laterais a ± 1 cm do ápice com lugol, Sudan III e cloreto férrico revelaram uma pequena presença de amido nas células parenquimáticas do xilema, ausência de lipídios e presença de compostos fenólicos na exoderme, endoderme e em algumas células do parênquima cortical.

### 4.2 Eofilo

Em microscopia eletrônica de varredura foi verificado que o eofilo de *S. terebinthifolius* possui tricomas tectores e glandulares em ambas as faces, mas principalmente na face adaxial (Figuras 12-15). A folha é hipoestaomática e sua epiderme possui cutícula estriada (Figuras 16-19). Os eofilos das plântulas dos tratamentos T30, T90 e T180 possuem áreas com alterações celulares, onde as células encontram-se deformadas e com cutícula alterada (Figuras 21-23), o que não ocorre com os eofilos do tratamento T0 (Figura 20). As maiores alterações celulares

foram registradas na face abaxial dos eofilos das plantas de todos os tratamentos contaminados (Figuras 21-23).

Os eofilos de *Schinus terebinthifolius*, em secção transversal (Figuras 24-27), possuem células epidérmicas da face adaxial maiores que as da face abaxial. Os estômatos encontram-se no mesmo nível das demais células epidérmicas em todos os tratamentos. O mesofilo é heterogêneo, formado por duas ou três camadas de parênquima clorofiliano paliçádico e de três a seis camadas de parênquima clorofiliano lacunoso. Os eofilos dos tratamentos com solo contaminado, principalmente nos tratamentos T30 e T90, parecem ter maior número de camadas de células de parênquima lacunoso. Algumas células do mesofilo se destacam pela coloração intensa, devido à presença de compostos fenólicos nas plantas dos tratamentos T30 e T90. A epiderme da face abaxial apresenta células maiores e de formato mais irregular em relação às plantas do tratamento T0.

A nervura central em secção transversal (Figuras 28-31) revela epiderme uniestratificada com paredes espessadas tanto na face adaxial quanto na abaxial, em todos os tratamentos. Internamente a epiderme, existe colênquima subepidérmico em ambas as faces. O feixe vascular é circundado pela endoderme que se destaca pelo conteúdo denso, devido aos compostos fenólicos. Estes reagem mais intensamente nos tratamentos T180, T90 e T30 (Figuras 29-31). A nervura central é composta por um ou dois feixes vasculares de grande porte, com xilema pouco desenvolvido e floema contendo canais resiníferos. Também não se observam diferenças estruturais em células e tecidos na nervura central, a não ser pelo maior desenvolvimento desta no tratamento sem contaminação T0.

## 5. Discussão

A formação de aerênquima lisígeno nas raízes das plantas de *Schinus terebinthifolius* que cresceram em solo contaminado é acentuada (Figuras 5-8), visto que a porcentagem de área lacunar é maior nas plantas do solo contaminado. Oliveira (2004), estudando raízes secundárias de *Schinus terebinthifolius* crescendo em solo contaminado por petróleo não encontrou diferença na disposição dos tecidos e nem danos celulares entre as raízes das plantas do solo contaminado e controle, provavelmente pelo fato do córtex primário não ter sido analisado. Farias (2005), estudando indivíduos de *Rynchospora corymbosa* (L.) Britton (Cyperaceae) crescendo em solo contaminado por petróleo também não encontrou diferença entre raízes de solo contaminado e controle. Segundo Baker (1970), essa formação de aerênquima se deve à presença de hidrocarbonetos no solo, e quanto maior a concentração desses, mais acentuada é a formação de aerênquima. Os hidrocarbonetos recobrem a superfície de absorção de água das raízes, causando assim, deficiências hídricas, respiratórias e nutricionais na planta (Baker, 1970). Esse tipo de estresse aumenta as concentrações de etileno nas raízes, o que causa a lise de algumas células do córtex, aumentando o espaço de armazenamento de ar. De acordo com Sifton (1945), a falta de oxigênio nas raízes é provavelmente o fator que desencadeia a formação das cavidades. Drew (1987), refere que a indução de aerênquima por exposição das raízes a uma baixa concentração de $O_2$ parece estimular a biossíntese de etileno. Kawase e Whitmoyer (1980) citam que a presença de etileno parece ser fundamental para o desenvolvimento de aerênquima do tipo lisígeno, pelo fato do gás aumentar a atividade da celulase, que atua na desestruturação das paredes. Portanto, como o observado, quanto maior a concentração de hidrocarbonetos no solo, maior a formação de aerênquima.

Portanto, é provável que tenha havido a redução de oxigênio nos solos contaminados.

Os resultados dos testes microquímicos revelaram a presença de amido e compostos fenólicos, corroborando com os resultados de Oliveira (2004), que encontrou grandes quantidades de células contendo compostos fenólicos, no floema, parênquima axial e radial, principalmente nas raízes das plantas do solo contaminado. A mesma autora também encontrou pequena quantidade de amido nas células parenquimáticas do xilema nas raízes das plantas de ambos os tratamentos. Mayer (2005), registrou um provável aumento de compostos fenólicos e redução de amido nas raízes de plantas de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg (Myrtaceae) que cresceram em solo contaminado com petróleo. Farias (2005), não constatou alterações anatômicas nas raízes de *Rynchospora corymbosa* que cresceram em solo contaminado por petróleo cerca de 2 anos após a contaminação. Como constatado por Adam e Duncan (2002), o efeito do óleo nas plantas é espécie-específico e em cada espécie pode apresentar respostas diferentes. Além disso, o trabalho de Oliveira (2004), Faria (2005) e Mayer (2005) foram desenvolvidos em épocas diferentes de contaminação, e provavelmente, o solo se encontrava com menores níveis de hidrocarbonetos.

O maior diâmetro total da raiz, maior raio do córtex e maior diâmetro do cilindro vascular (Figura 9-11) que apresentaram as raízes de *Schinus terebinthifolius* em solo contaminado contrasta com os resultados obtidos por Farias (2005), que não observou diferença entre o diâmetro total e o diâmetro do cilindro vascular das raízes de *Rynchospora corymbosa* crescendo em solo contaminado e solo controle. Pelo contrário, o autor observou a diminuição da espessura do córtex nas raízes das plantas crescidas em solo contaminado. Segundo esse autor, tal resultado pode ser

associado à diminuição na disponibilidade de água causada pela presença do petróleo aderido ao sistema radicular. O aumento do diâmetro total, espessura do córtex e cilindro vascular das raízes de *Schinus terebinthifolius* em solo contaminado pode ser interpretado pela formação do aerênquima, que expande o córtex, aumentando conseqüentemente o diâmetro total e a espessura do córtex.

Áreas com alterações celulares são observadas nos eofilos das plantas dos tratamentos de solo contaminado (Figuras 15, 17-19 e 21-23), o que não ocorre no controle, embora os danos parecem serem superficiais, já que em corte transversal a epiderme do eofilo das plantas de todos os tratamentos não apresentem lesões nem danos aparentes. Esses danos superficiais podem ter ocorrido pela ação dos compostos voláteis presentes no óleo diesel, como descrito por Adam e Duncan (2002). Alkio et al (2005) trabalhando com contaminação por hidrocarbonetos encontraram lesões nas folhas de *Arabidopsis thaliana*, onde foram observadas manchas brancas que por fim lesionaram e necrosaram as folhas.

Os eofilos tiveram algumas diferenças estruturais entre os tratamentos, tanto no limbo (Figuras 24-27), quanto na nervura central (Figuras 28-31). As principais diferenças estão relacionadas ao estádio de desenvolvimento do eofilo nos diferentes tratamentos, estando mais jovens nos solos contaminados. Porém foi observado a presença de compostos fenólicos principalmente na primeira camada de parênquima paliçádico, nos eofilos das plantas que cresceram em solo contaminado, tanto no limbo quanto na nervura central. A presença de compostos fenólicos foi observada nas folhas de *Schinus terebinthifolius* por Oliveira (2004).

Os compostos fenólicos, presentes nas raízes e eofilo de *Schinus terebinthifolius* , são originados a partir da via do ácido chiquímico e acumulam-se no vacúolo das células. Os fenóis são comuns na família Anacardiaceae, responsável

principalmente pela toxicidade da família (Harbone e Baxter, 1995). Segundo Larcher (2000), os compostos fenólicos são característicos nas plantas que crescem em ambientes estressados, o que é o caso do presente experimento.

## 6. Conclusão

As plantas de *Schinus terebinthifolius* que cresceram em solo contaminado com óleo diesel apresentaram formação de aerênquima no córtex da raiz, acúmulo de compostos fenólicos na raiz e eofilo e pequenas alterações celulares na epiderme do eofilo, diferentemente das plantas que cresceram em solo sem contaminação. Os efeitos danosos foram mais intensos nas plantas do solo contaminado 30 dias após o plantio e menos intenso no tratamento de 180 dias, evidenciando que os compostos voláteis tem ação tóxica sobre as plantas jovens de *Schinus terebinthifolius.*

## 7. Referências Bibliográficas

Adam, G. e Duncan, H. J.: 2002, “Influence of Diesel Fuel on Seed Germination”, Environmental Pollution. **120**, 363-370.

Alkio, M.; Tabuchi, T. M.; Wang, X. e Colón-Carmona, A.: 2005, “Stress responses to polycyclic aromatic hydrocarbons in *Arabidopsis* include growth inhibition and hypersensitive response-like symptoms”, Journal of Experimental Botany. **56**, 2983-2994.

Alves de Brito, C.J.F.; Alquini, Y.: 1996, “A new method for staining botanical material embebed in glycol methacryate (GMA)”, Arquivos de Biologia e Tecnologia. **39**, 949-950.

Baker, J.M.: 1970, “The effects of oils on plants”, Environmental Pollution. **1**, 27-44.

Bona, C.; Santos, G. O.: 2003, “Adaptações morfo-fisiológicas de espécies vegetais crescendo em solo contaminado com petróleo”. FUNPAR-UFPR, Relatório técnico.

Chupakhina, G. N.; Maslennikov, P. V.: 2004, “Plant adaptation to oil stress”, Russian Journal of Ecology. **35**, 290-295.

Cuille, J. e Blanchet, B.: 1958, “Low-volume spraying of tropical fruits: Oil base spray products with special reference to their phytotoxicity” **13**, 553-565.

Farias, L. H. M.: 2005, “ Efeito do solo contaminado por petróleo nas folhas e nas raízes de *Rynchosphora corymbosa* (L.) Britt. (Cyperaceae)”, Dissertação de Mestrado em Botânica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

Feder, N.; O’brian, T.P.: 1968, “Plant microtechnique: some principles and new methods”, American Journal of Botany. **55**, 123-142.

Johansen, D. A.: 1940, “Plant microtechnique”. New York: McGraw-Hill Book Company.

Larcher, W.: 2000, Ecofisiologia Vegetal. RiMa, São Carlos, 365 pp.

Li, X.; Feng, Y.; Sawatsky, N.: 1997, “Importance of soil-water reltions in assessing the endpoint of bioremediated soils”, Plant and Soil. **192**, 219-226.

_____; Mendessohn, I.A.; Suidan, M.T.; Lee, K.; Venosa, A.D.: 2002, “The dose-response relationship between Nº. 2 fuel oil and the growth of the salt marsh grass, *Spartina Alterniflora*”, Marine Pollution Bulletin. **44**, 897-902.

Malallah, G.; Afzal, M.; Gulshan, S.; Kurian, M.; Dhami, M. S. I.: 1996, "*Vicia faba* as a bioindicator of oil pollution", Environmental Pollution. **92**, 213-217.

_____; Afzal, M.; Kurian, M.; Gulshan, S.; Dhami, M.S.I.: 1998, "Impact of oil pollution on some desert plants" Environment International. **24**, 919-924.

Mayer, J.L.S. Impacto do solo contaminado com petróleo no crescimento e desenvolvimento de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. (Myrtaceae). Curitiba 2004. 82 f. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

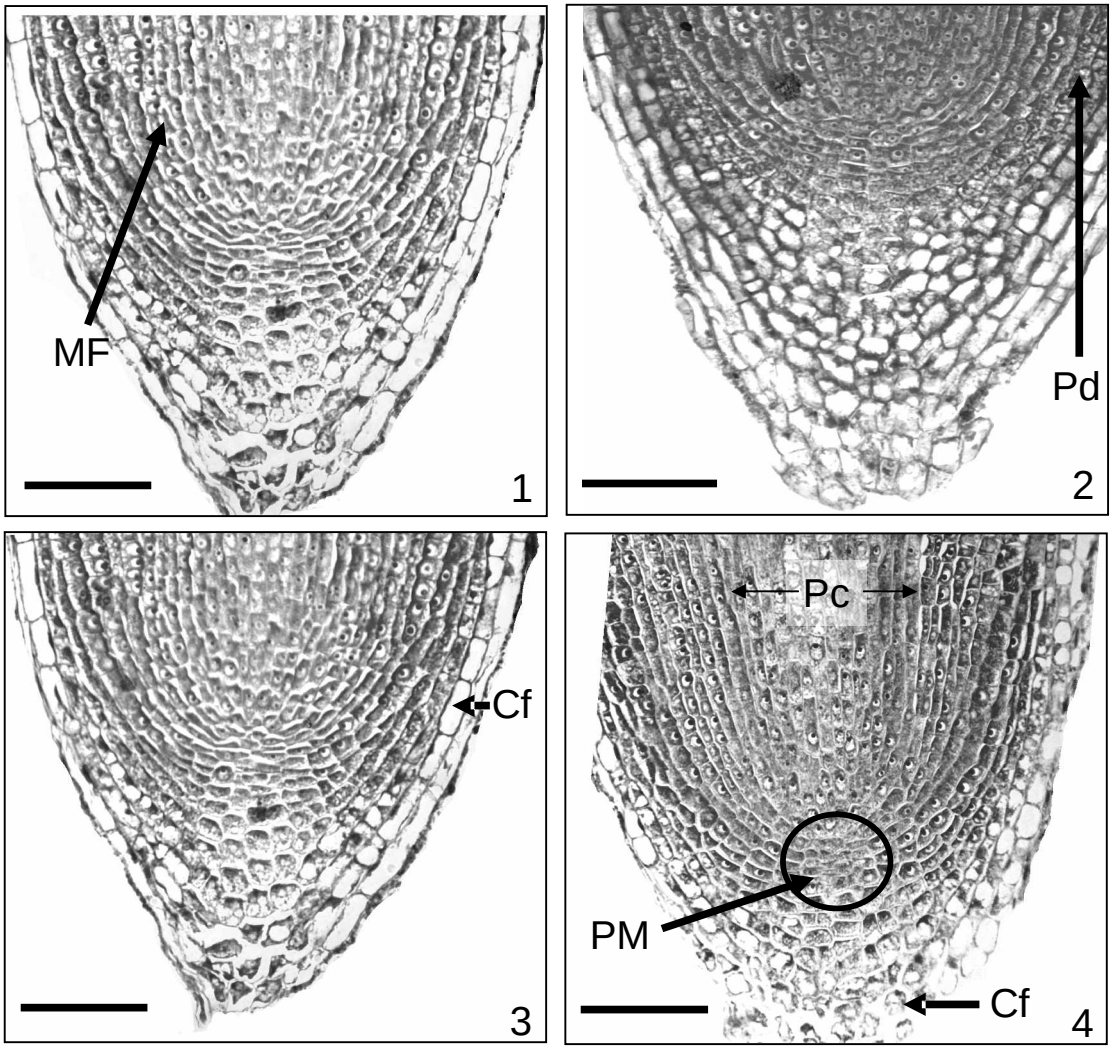
Muratova, A. Y.; Turkovskaya, O. V.; Hübner, T. E Kuschk, P.: 2003, "Studies of the Efficacy of Alfalfa and Reed in the Phytoremediation of Hydrocarbon-Polluted Soil", Applied Biochemistry and Microbiology. **39**, 681-688.

Nicolotti, G.; Egli, S.: 1998, "Soil contamination by crude oil: impact on the mycorrhizosphere and on the revegetation potential of forest trees", Environmental Pollution. **99**, 37-43.

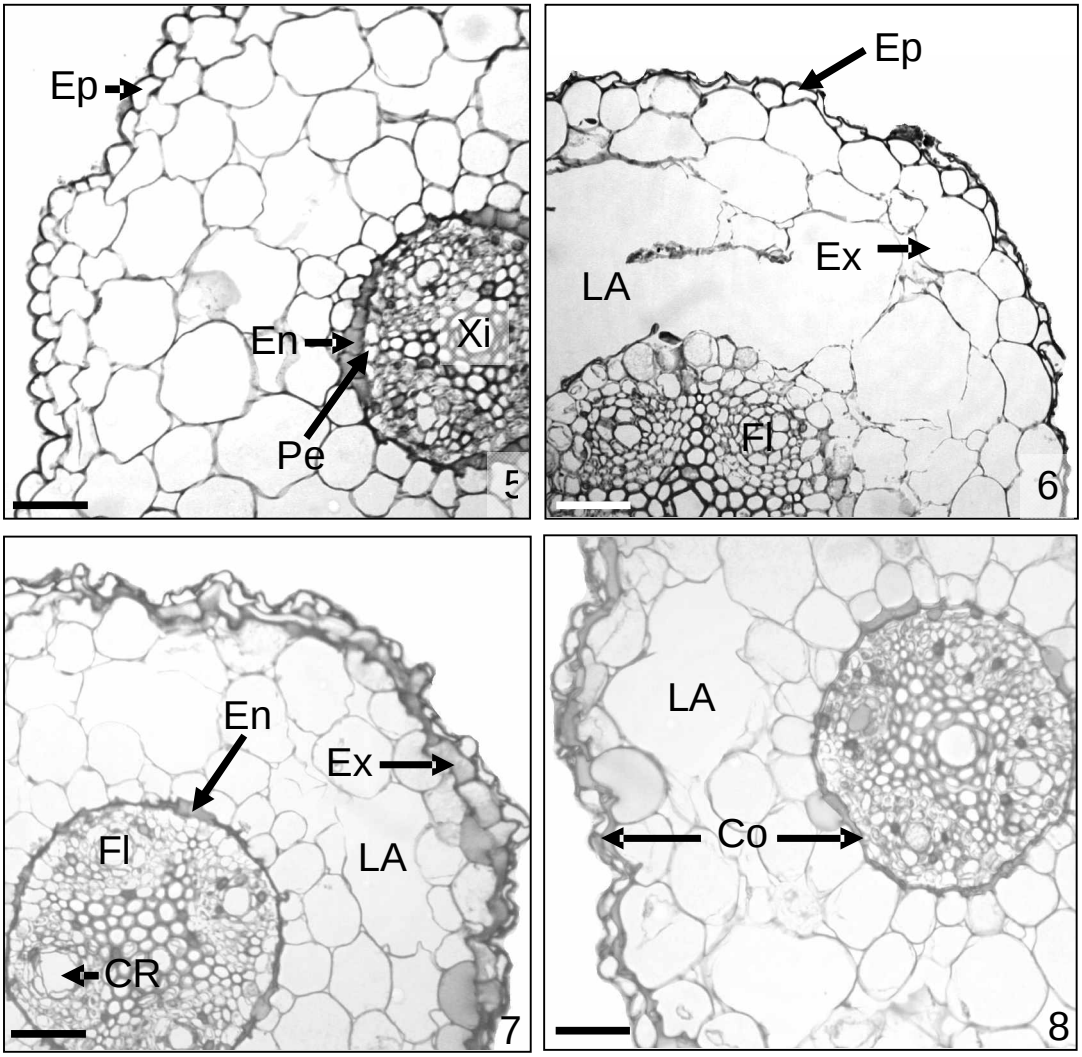
O'brien, T. P.; Feder, N.; Mccully, M.E.: 1965, "Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O", Protoplasma. **59**, 368-373.

Oliveira, L. S.: 2004, "Influência do solo contaminado com petróleo na morfologia e fisiologia de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)". Dissertação de Mestrado em Botânica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, pp. 63.

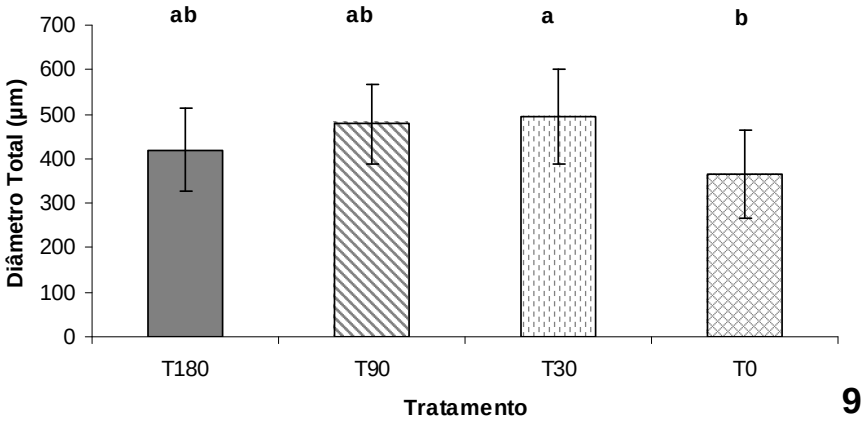
Proffitt, C. E., Devlin, D. J.; Lindsey, M.: 1995, "Effects of oil on mangrove seedlings grow under different environmental conditions", Marine Pollution Bulletin. **30**, 788-793.



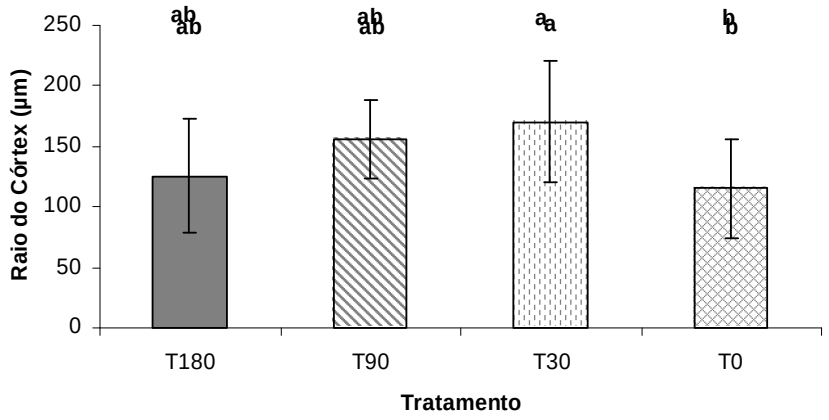

Figuras 1-4: Secções longitudinais do ápice da raiz de planta jovem (30 dias) de *Schinus terebinthifolius* Raddi crescendo em solo contaminado por óleo diesel. 1- solo não contaminado (T0); 2- solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30); 3- solo contaminado 90 dias antes do plantio (T90) e 4- solo contaminado 180 dias antes do plantio (T180). Cf = coifa; MF = meristema fundamental;Pc = procâmbio; Pd = protoderme; PM = promeristema. Barra = 30 µm.



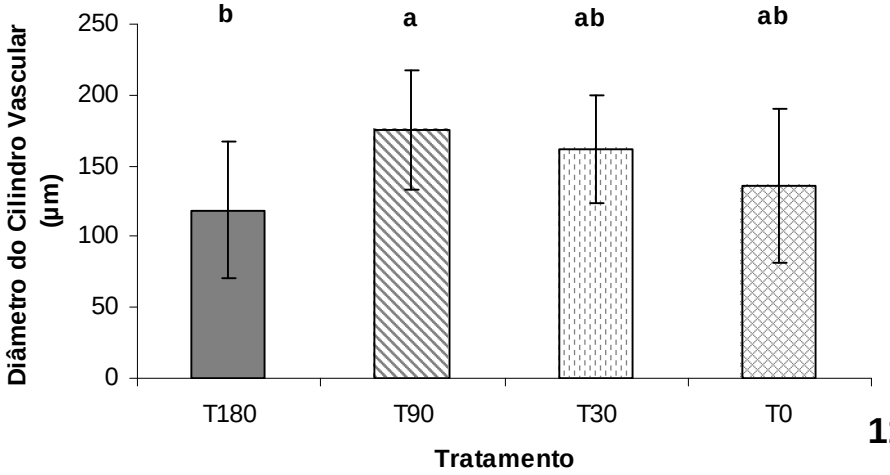

Figuras 5-8: Secções transversais da raiz de planta jovem (30 dias) de *Schinus terebinthifolius* Raddi crescendo em solo contaminado por óleo diesel. 5- solo não contaminado (T0); 6- solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30); 7- solo contaminado 90 dias antes do plantio (T90) e 8- solo contaminado 180 dias antes do plantio (T180). Co = córtex; CR = canal resinífero En = endoderme; Ep = epiderme; Ex = exoderme; Fl = Floema; LA = lacuna; Pe = periciclo; Xi = xilema. Barra = 50 µm.




9

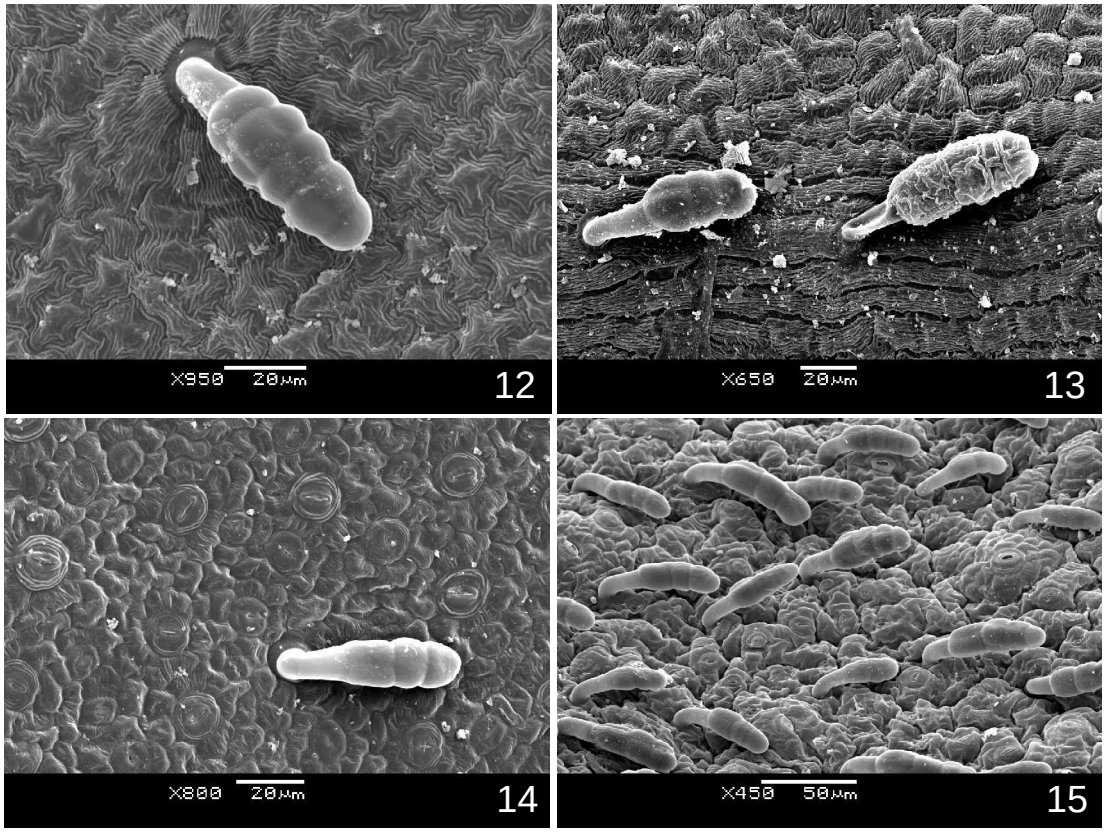



10

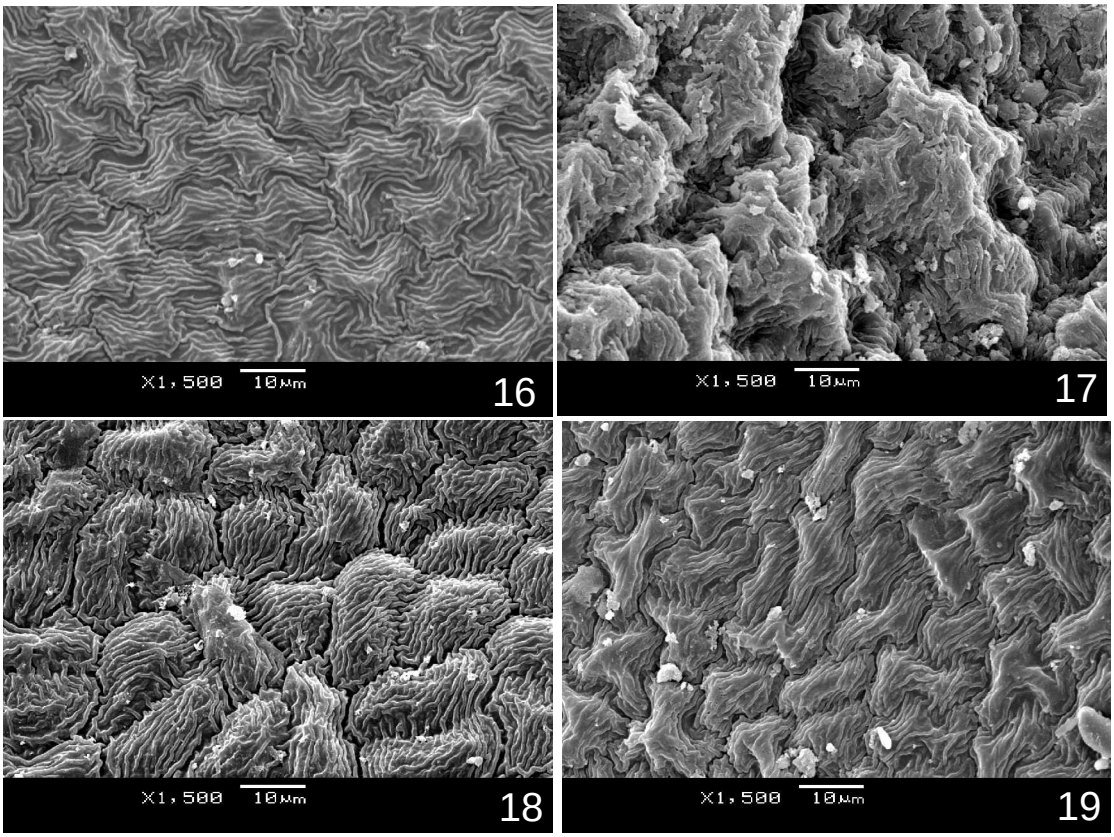



11

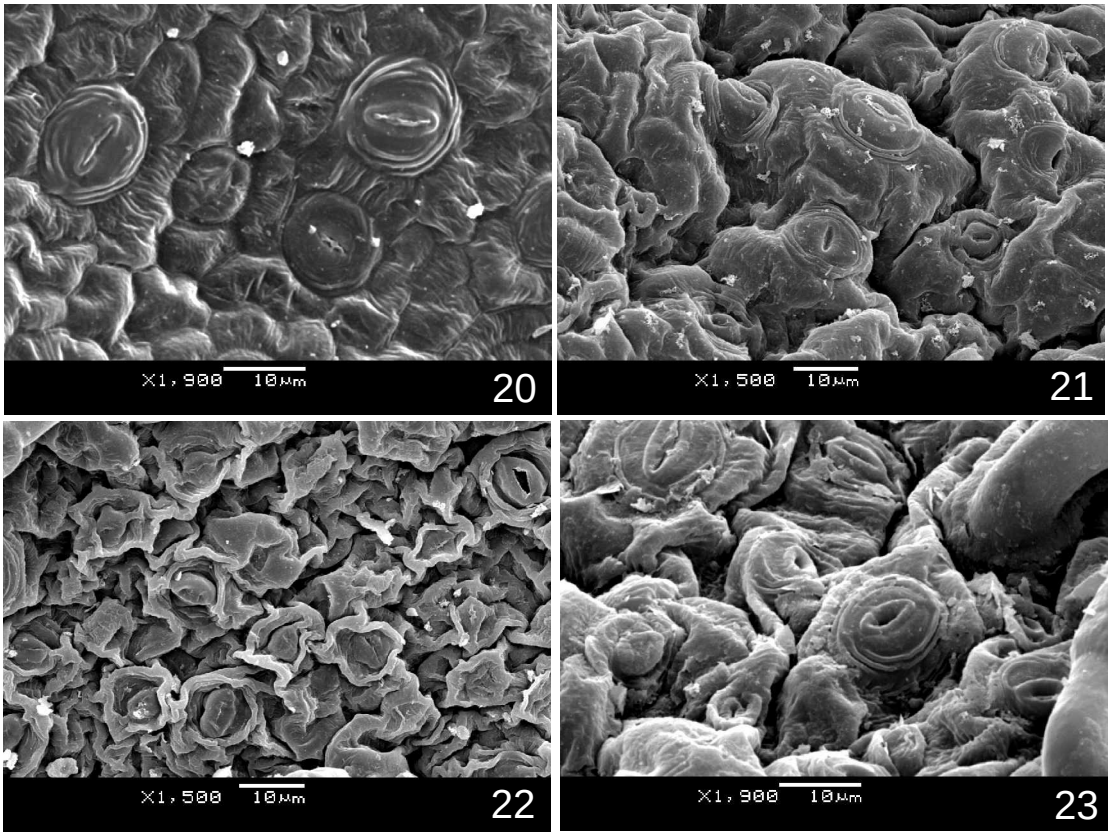
Figuras 9-11: Mensurações da raiz das plantas de *Schinus terebinthifolius* Raddi em solo contaminado por óleo diesel. T0- solo não contaminado; T30- solo contaminado 30 dias antes do plantio; T90- solo contaminado 90 dias antes do plantio e T180- solo contaminado 180 dias antes do plantio. 9- Diâmetro total ($r^2$ = 0,25; $F_{3,39}$ = 3,8; P < 0,05); 10- raio do córtex ($r^2$ = 0,23; $F_{3,39}$ = 3,53; P < 0,05) e 11- diâmetro do cilindro vascular ($r^2$ = 0,20; $F_{3,39}$ = 3,01; P < 0,05).



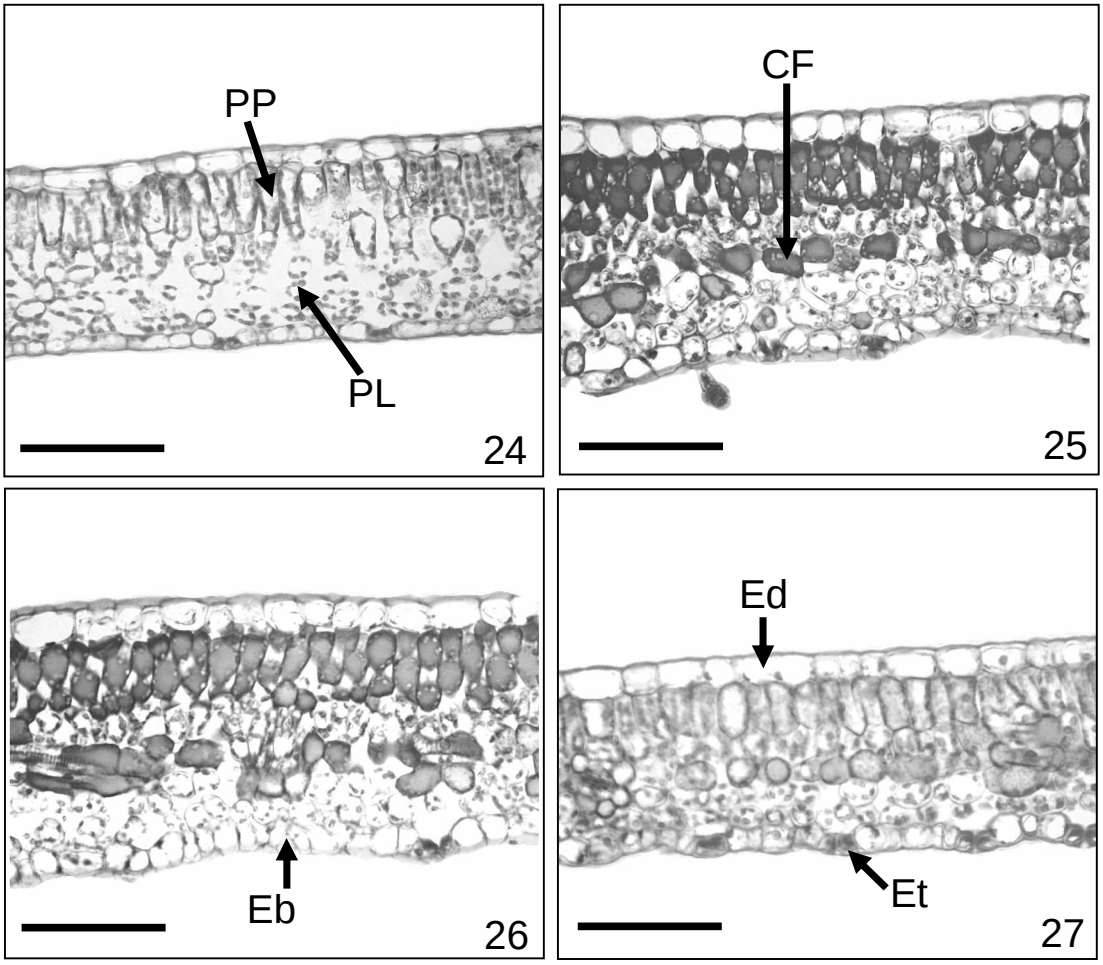

Figuras 12-15: Vista frontal da face adaxial da epiderme dos eofilos de plantas jovens (30 dias) de *Schinus terebinthifolius* Raddi crescendo em solo contaminado por óleo diesel. 12 e 14- solo não contaminado (T0); 13 e 15- solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30).



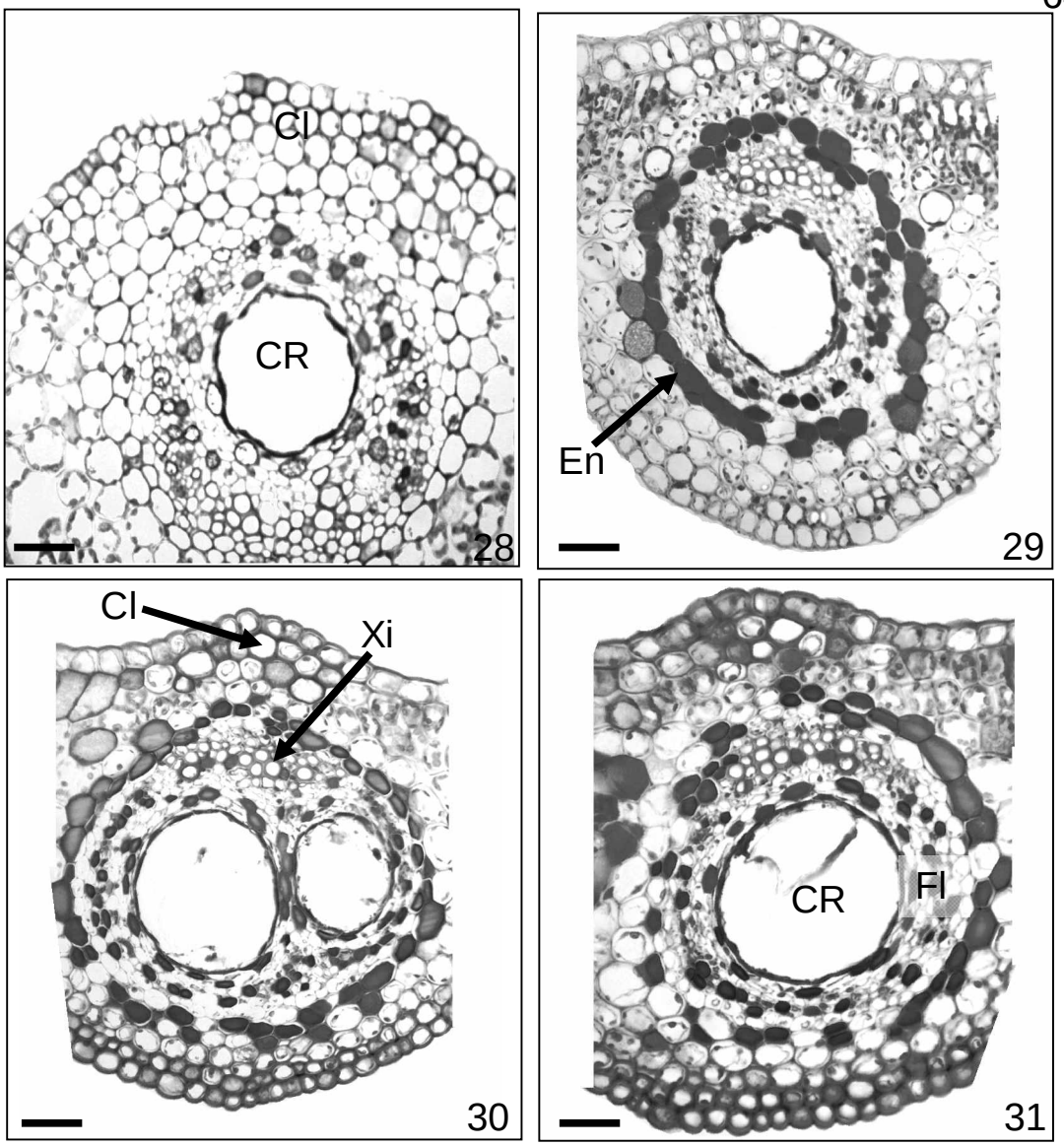

Figuras 16-19: Vista frontal da face adaxial da epiderme dos eofilos de plantas jovens (30 dias) de *Schinus terebinthifolius* Raddi crescendo em solo contaminado por óleo diesel. 16- solo não contaminado (T0); 17- solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30); 18- solo contaminado 90 dias antes do plantio (T90) e 19- solo contaminado 180 dias antes do plantio (T180).




Figuras 20-23: Vista frontal da face abaxial da epiderme dos eofilos de plantas jovens (30 dias) de *Schinus terebinthifolius* Raddi crescendo em solo contaminado por óleo diesel. 20- solo não contaminado (T0); 21- solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30); 22- solo contaminado 90 dias antes do plantio (T90) e 23- solo contaminado 180 dias antes do plantio (T180).




Figuras 24-27: Secções transversais dos eofilos de plantas jovens (30 dias) de *Schinus terebinthifolius* Raddi crescendo em solo contaminado por óleo diesel. 24- solo não contaminado (T0); 25- solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30); 26- solo contaminado 90 dias antes do plantio (T90) e 27- solo contaminado 180 dias antes do plantio (T180). CF = compostos fenólicos; Eb = epiderme abaxial; Ed = epiderme adaxial; Et = estômato; PL = parênquima clorofiliano lacunoso; PP = parênquima clorofiliano paliçádico. Barra = 50 µm.




Figuras 28-31: Secções transversais da nervura central dos eofilos de plantas jovens (30 dias) de *Schinus terebinthifolius* Raddi crescendo em solo contaminado por óleo diesel. 28- solo não contaminado (T0); 29- solo contaminado 30 dias antes do plantio (T30); 30- solo contaminado 90 dias antes do plantio (T90) e 31- solo contaminado 180 dias antes do plantio (T180). Cl = colênquima; CR = canal resinífero; En = endoderme; Fl = Floema. Barra = 10 µm.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- *Schinus terebinthifolius* tem a germinação afetada no tratamento T30, com a menor velocidade de germinação e germinabilidade.

- O plantio da semente de *Schinus terebinthifolius* até 180 dias após a contaminação do solo por óleo diesel causou diminuição da altura, peso fresco e seco das plantas; área foliar e peso seco dos eofilos, impedindo o bom desenvolvimento das plantas jovens espécie em solo contaminado por óleo diesel, pelo menos até 180 dias após a contaminação.

- As raízes das plantas que cresceram em solo contaminado tiveram formação de aerênquima e seus eofilos acumulam mais compostos fenólicos.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ADAM, G. e DUNCAN, H. J. Effect of Diesel Fuel on Growth of Selected Plant Species. **Environment Geochemistry and Health**. Amsterdam, v. 21, p. 353-357, 1999.

ADAM, G. e DUNCAN, H. J.Influence of Diesel Fuel on Seed Germination. **Environmental Pollution.** Kidlington, v. 120, p. 363-370, 2002.

AMAKIRI, J. O.; ONOFEGHARA, F. A. Effects of crude oil on the germination of *Zea mays* and *Capsicum frutescens*. **Environmental Pollution.** Kidlington, v. 35, p. 159-167, 1984.

BAKER, J.M. The effects of oils on plants. **Environmental Pollution**, Kidlington, v. 1, n. 1, p. 27-44, 1970.

BEAL, B. H.; MANFREDINI, R. C.; VOIGT, E. L. Aspectos fisiológicos da germinação das sementes de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). Livro de Resumos Universidade do Vale do Itajaí, 2003.

BONA, C.; SANTOS, G. O. **Adaptações morfo-fisiológicas de espécies vegetais crescendo em solo contaminado com petróleo**. Curitiba: FUNPAR-UFPR, 2003. Relatório técnico.

BUJOKAS, W.M. **Impacto da poeira de cimento em *Schinus terebenthifolius* Raddi (Anacardiaceae)**. Curitiba 2001. 95 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

CARMELLO-GUERREIRO, S. M.; PAOLI, A. A. S. Morfologia e Desenvo0lvimento Pós-Seminal de *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl., *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allem. e *Astronium graveolens* Jaq. (Anacardiaceae). **Naturalia**, São Paulo, v. 24, p. 127-138, 1998.

CHAÎNEAU, C. H.; YEPREMIAN, C.; VIDALIE, J. F. ; DUCREUX, J. ; BALLERINI, D. Bioremediation of a crude oil-polluted soil : biodegradation, leaching and toxicity assessments. **Water, Air and Soil Pollution,** Paris, v. 144, p. 419-440, 2003.

CHUPAKHINA, G. N.; MASLENNIKOV, P. V. Plant adaptation to oil stress. **Russian Jounal of Ecology**, Moscou, v. 35, n. 5, p. 290-295, 2004.

CUNNINGHAM, S. D.; ANDERSON, T. A.; SCHWAB, A. Phytoremediation of Soils Contaminated with Organic Pollutants. **Adv. in Agro**., Cidade, v. 56, p. 55-113, 1996.

DE JONG, E. The Effect of a Crude Oil Spill on Cereals. **Environmental Pollution.** Kidlington, v. 22, p. 187-196, 1980.

Farias, L. H. M., **Efeito do solo contaminado por petróleo nas folhas e nas raízes de *Rynchosphora corymbosa* (L.) Britt. (Cyperaceae),** Dissertação de Mestrado em Botânica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005

FLEIG, M. Anacardiáceas **Flora ilustrada catarinense** (R. Reitz, ed.). Herbário Barbosa Rodrigues - HBR/Empresa Catarinense de pesquisa Agropecuária, Itajaí, 1989.

GREEN, B.T.; WIBERG, C.T; WOODRUFF, J.L.; MILLER, E.W.; POAGE, V.L.; CHILDRESS, D.M.; FEULNER, J.A.; FROSHC, S.A.; RUNKEL, J.A.; WANDERSCHEID, D.M.; WIERMA, M.D.; YANG, X.; CHOE, H.T. & MERCURIO, S.D. Phytotoxicity observed in *Tradescantia* correlates with diesel fuel contamination in soil. **Environmental and Experimental Botany,** Amsterdam, v. 6, n. 3, p. 313-321, 1996.

KINAKO, P. D. S. Short-Term Effects of Oil Pollution on Species Numbers and Productivity of a Simple Terrestrial Ecosystem. **Environmental Pollution**, Kidlington, v. 26, p. 87-91, 1981.

KRAUS, J. E.; SCATENA, V. L.; LEWINGER, M. E.; TRENCH, K. U. S. Morfologia Externa e Interna de Quatro Espécies de *Paepalanthus* Kunth. **Boletim de Botânica da Universidade se São Paulo**. v. 15, p. 45-53, 1996.

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

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: RiMa, 2000.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**; Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil, 1 ed. Instituto Plantarum, 1992.

MALALLAH, G.; AFZAL, M.; GULSHAN, S.; KURIAN, M.; DHAMI, M. S. I. *Vicia faba* as a bioindicator of oil pollution. **Environmental Pollution**, Kidlington, v. 92, n. 2, p. 213-217, 1996.

_____; AFZAL, M.; KURIAN, M.; GULSHAN, S.; DHAMI, M.S.I. Impact of oil pollution on some desert plants. **Environment International**, New York, v. 24, n. 8, p. 919-924, 1998.

MÁRQUEZ-ROCHA, F. J.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, V.; LAMELA, M. T. Biodegradation of diesel oil in soil by a microbial consotium. **Water, Air and Soil Pollution**. Cidad del Mexico, v. 128, p. 313-320, 2001.

MAYER, J.L.S. **Impacto do solo contaminado com petróleo no crescimento e desenvolvimento de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. (Myrtaceae)**. IV Congresso Brasileiro de Unidades de Conservação, Curitiba, 2004.

MEDEIROS, A. C. S.; ZANON, A. Substratos e Temperaturas para Teste de Germinação de Sementes de Aroeira Vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Comunicado Técnico – EMBRAPA**. Curitiba, n. 32, p. 1-3, 1998.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Phytoremediantion in the tropics – The effect of oil on the growth of tropical plants. **Bioremediaton Journal**. v. 8, p. 177-184, 2004.

MOSCHETA, I. S. **Morfologia e Desenvolvimento dos Furtos, Sementes e Plântulas de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart., *Guarea kunthiana* A. Juss. e *Trichilia catigua* A. Juss. (Meliaceae-Melioideae)**. Rio Claro, 1995. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista.

MOURÃO, K. S. M.; BELTRATI, C. M. Morfologia dos frutos, sementes e plântulas de *Platonia insignis* Mart. (Clusiaceae) I. Aspectos anatômicos dos frutos e sementes em desenvolvimento. **Acta Amazônica**. Manaus, v. 25, n.1-2, p. 11-32, 1995.

MOURÃO, K. S. M. **Morfologia e desenvolvimento de Frutos, Sementes e Plântulas de *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy e *Mammea americana* L. (Clusiaceae Lindley).** Rio Claro, 1997. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista.

MURATOVA, A. Y.; TURKOVSKAYA, O. V.; HÜBNER, T. e KUSCHK, P. Studies of the Efficacy of Alfalfa and Reed in the Phytoremediation of Hydrocarbon-Polluted Soil. **Applied Biochemistry and Microbiology**. Moscou, v. 39, n. 6, p. 681-688, 2003.

NICOLOTTI, G.; EGLI, S. Soil contamination by crude oil: impact on the mycorrhizosphere and on the revegetation potential of forest trees. **Environmental Pollution**, Kidlington, v. 99, n. 1, p. 37-43, 1998.

OLIVEIRA, D. M. T. **Morfologia e desenvolvimento dos frutos, sementes e plântulas de *Ingá fagifolia* Willd e *I. uruguensis* Hook. Et Arn. (Fabaceae, Mimosoideae).** Rio Claro, 1991. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista.

OLIVEIRA, L. S. **Influência do solo contaminado com petróleo na morfologia e fisiologia de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)**. Curitiba 2004. 63 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

PEREZ, S. C. J. G. A.; FANTI, S. C.; CASALI, C. A. Influência da Luz na Germinação de Sementes de Canafístula Submetidas ao Estresse Hídrico. **Bragantia**. Campinas, v. 60, n. 3, p. 155-166, 2001.

POSTHUMA, J. 1970. The composition of petroleum. **Rapp. P. v. reun. Cons. perm. int. Explor. Mer**.: 171:7-16.

PROFFITT, C. E., DEVLIN, D. J.; LINDSEY, M. Effects of oil on mangrove seedlings grow under different environmental conditions. **Marine Pollution Bulletin**, Kidlington, v. 30, n. 12, p. 788-793, 1995.

RACINE, C.H. Long-term recovery of vegetation on two experimental crude oil spills in interior Alaska black spruce taiga. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 72, n. 8, p. 1171-1177, 1994.

REITZ, R. M.; KLEIN, R. M.; REIS, A. Projeto da Madeira do Rio Grande do Sul. **Sellowia**. Itajaí, p. 34-35, 1983.

SCATENA, V. L.; LEMOS-FILHO, J. P.; LIMA, A. A. A. Morfologia do Desenvolvimento Pós-Seminal de *Syngonanthus elegans* (Eriocaulaceae). **Acta Botanica Brasilica**. São Paulo, v. 10, n. 1, p. 85-91, 1996.

SOUZA, L. A. Desenvolvimento anatômico do hipocótilo e do caule de *Cassia cathartica* Mart. (Leguminosae). **Revista Unimar**. Maringá, v.4, n.1, p. 15-22, 1982.

_____. **Morfologia e Anatomia Vegetal**. Ponta Grossa: UEPG, 2003.

_____; MOSCHETA, I. S. Morfo-anatomia do fruto e da plântula de *Aspidosperma polyneuron* M. Arg. (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Biologia**. São Paulo, v. 52, n. 3, p. 439-447, 1992.

SOUZA, S.L. 1999. **Revegetação de área de biorremediação contaminada por resíduos oleosos de petróleo**. Curitiba, Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais)- Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

WANG, Z.; FINGAS, M.; OWENS, E. H.; SIGOUIN, L.; BROWN, C. E. Long-Term fate and persistence of the spilled Metula oil in a marine salt marsh environment degratdation of petroleum biomarkers. **Journal of Chromatography**. Ottawa, v. 926, p. 275-290, 2001.

WILLIAN, A.; PATTERSON, I.I.I. & OLSON, J.J. 1982. Effects of heavy metals on radicle growth of selected woody species germinated on filter paper, mineral and organic soil substrates. **Canadian Journal For Res**. 13:233-38.

WOODMASSEE, M. Welcome to the Schinus state. Disponível em:<everglades.fiu.edu/fiu/idh4007/woodmansee1.htm/> Acesso em: jul. 2002.

# Livros Grátis

( http://www.livrosgratis.com.br )

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo