

LIEGE DA SILVA OLIVEIRA

**INFLUÊNCIA DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO NA MORFOLOGIA
E FISIOLOGIA DE *Schinus terebinthifolius* RADDI (ANACARDIACEAE)**

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

Orientadora: Prof^a. Dr.^a Cleusa Bona

Co-orientadora: Prof^a. Dr.^a Katia Christina
Zuffellato-Ribas

Co-orientador: Prof. Dr. Henrique Soares Koehler

CURITIBA

-2004-

Dedico este trabalho ao meu marido Ricardo,
meu filho Mateus
e aos meus pais Ailton e Regina.

Agradecimentos

À Professora Dra. Cleusa Bona por sua orientação ao longo da minha vida profissional, principalmente pela sua confiança no meu trabalho e por me ensinar.

À Professora Dra. Kátia Christina Zuffellato Ribas, pelos seus raciocínios e apoio na área de fisiologia vegetal.

Ao professor Henrique Soares, pelo seu apoio na árdua área de estatística, por seu tempo dedicado às minhas correções.

Ao Professor Gedir Oliveira Santos, pelas idéias trocadas ao longo do trabalho.

Ao Professor Yedo Alquini, pela ajuda e pelo conhecimento que me passou de microtécnica.

Ao Professor Armando Carlos Cervi, pelo apoio e amizade.

À Professora Thelma Alvim Veiga Ludwig, pela confiança, trocas de idéias e pela amizade.

Ao professor Renato Marquês, por me ajudar na área de nutrição mineral.

A todos os professores do Departamento de Botânica, que contribuíram para melhorar meu conhecimento.

Ao Nilson Belém Filho, por suas incríveis dicas nos momentos difíceis e principalmente pela sua amizade.

A Petrobras por se preocupar com a questão ambiental e especialmente por abrir espaço para a pesquisa, apoio e financiamento do trabalho.

À FUNPAR, pelo apoio prestado.

À EMBRAPA, Floresta pelo fornecimento das mudas.

A Isabela Dias Fernandes, Mariza Kampfert e Thelma Stresser da Biblioteca do Setor de Ciências Biológicas, que sempre me atenderam com muito carinho.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos durante os dois anos de curso.

Aos colegas e amigos Mariza, Juliana, Leila, Fernanda, Eliane, Claudia, Silvana, Giovana, Renata, Cristine, Cristiane e Luís, pelo companheirismo e amizade.

À minha amiga Maria da Graça, que me apoiou na língua inglesa.

A Maria de Fátima Martins, que sempre foi meu braço direito em casa durante meu trabalho.

À família Stavis por sua força e compreensão na minha ausência.

Aos meus pais, Ailton e Regina eternos estudantes.

Ao meu querido filho Mateus, pela sua presença e pelos seus livres pensamentos.

Ao meu marido Ricardo, que sempre me acompanha e me apóia com todo o carinho.

"Somos a personificação local de um Cosmos que cresceu pelo autoconhecimento. Começamos a contemplar nossas origens: material estelar meditando sobre estrelas; assembléias organizadas de dezenas de bilhões de bilhões de bilhões de átomos considerando a evolução dos átomos, traçando a longa jornada através da qual, pelo menos aqui, a consciência surgiu. Nossas lealdades são para com a espécie e com o planeta. Nós respondemos pela Terra. Nossa obrigação quanto à sobrevivência é devida não somente a nós mesmos, mas também a esse Cosmos, antigo e vasto, do qual surgimos."

Carl Sagan

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	04
2.1 <i>Schinus terebinthifolius</i> (RADDI).....	04
2.2 Petróleo.....	06
2.3 Petróleo nas plantas.....	08
2.4 Planta e solo.....	12
2.5 Anatomia ecológica.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Característica da área do acidente.....	17
3.2 Espécie.....	17
3.3 Montagem do experimento.....	18
3.4 Análise do petróleo.....	19
3.5 Análise química de solo e folhas.....	19
3.6 Análise de sobrevivência e crescimento.....	20
3.7 Determinação de clorofilas.....	21
3.8 Análise morfológica.....	21
3.9 Análise estatística.....	23
4 RESULTADOS E DICUSSÃO	27
4.1 Análise química do solo e das folhas.....	27
4.2 Taxa de sobrevivência.....	29
4.3 Análise de crescimento.....	31
4.4 Determinação de clorofilas.....	38
4.5 Morfologia externa e interna.....	41
4.5.1 Raiz	41
4.5.2 Caule.....	43
4.5.3 Folha.....	44
6 REFERÊNCIAS.....	53

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Vista externa da estufa onde foi conduzido o experimento.....	25
FIGURA 2	Aspecto geral do experimento.....	25
FIGURA 3	Fotografia aérea da REPAR onde foi coletado o solo.....	26
FIGURA 4	Gráficos da altura do caule de <i>Schinus terebinthifolius</i>	33
FIGURA 5	Gráficos do diâmetro do caule de <i>Schinus terebinthifolius</i>	34
FIGURA 6	Altura média de <i>Schinus terebinthifolius</i>	48
FIGURA 7	Sistema radicular das plantas.....	48
FIGURA 8	Secção transversal da raiz de <i>Schinus terebinthifolius</i> solo não contaminado sem adubo.....	49
FIGURA 9	Secção transversal da raiz de <i>Schinus terebinthifolius</i> em solo contaminado sem adubo.....	49
FIGURA 10	Secção transversal do caule de <i>Schinus terebinthifolius</i> em solo não contaminado sem adubo.....	50
FIGURA 11	Secção transversal do caule de <i>Schinus terebinthifolius</i> em solo não contaminado com adubo.....	50
FIGURA 12	Secção transversal do caule de <i>Schinus terebinthifolius</i> em solo contaminado sem adubo.....	50
FIGURA 13	Secção transversal do caule de <i>Schinus terebinthifolius</i> solo contaminado com adubo.....	50
FIGURA 14	Secção transversal do folíolo de <i>Schinus terebinthifolius</i> em solo não contaminado sem adubo.....	51
FIGURA 15	Secção transversal do folíolo de <i>Schinus terebinthifolius</i> em solo não contaminado com adubo.....	51
FIGURA 16	Secção transversal do folíolo de <i>Schinus terebinthifolius</i> em solo contaminado sem adubo.....	51
FIGURA 17	Secção transversal do folíolo de <i>Schinus terebinthifolius</i> em solo contaminado com adubo.....	51

FIGURA 18	Secção transversal da nervura central de <i>Schinus terebinthifolius</i> em solo não contaminado sem adubo.....	51
FIGURA 19	Secção transversal da nervura central de <i>Schinus terebinthifolius</i> em solo não contaminado com adubo.....	51
FIGURA 20	Secção transversal da nervura central de <i>Schinus terebinthifolius</i> em solo contaminado sem adubo.....	51
FIGURA 21	Secção transversal da nervura centra de <i>Schinus terebinthifolius</i> em solo contaminado com adubo.....	51

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Composição elementar média do petróleo.....	07
TABELA 2	Sintomatologia da toxidez por alguns metais pesados.....	12
TABELA 3	Análise de metais presentes no petróleo.....	19
TABELA 4	Análise química do solo.....	28
TABELA 5	Análise química das folhas.....	29
TABELA 6	Análise estatística das variáveis altura, diâmetro e peso seco.....	32
TABELA 7	Resultado do teste de comparação de médias da altura do caule (cm) <i>Schinus terebinthifolius</i>	32
TABELA 8	Resultado do teste de comparação de médias do diâmetro do caule e peso seco total de <i>Schinus terebinthifolius</i>	32
TABELA 9	Análise estatística das variáveis clorofila <u>a</u> , <u>b</u> e total.....	39
TABELA 10	Resultado do teste de comparação de médias de clorofila total, <u>a</u> e <u>b</u> de <i>Schinus terebinthifolius</i> em experimento de estufa.....	39
TABELA 11	Análise estatística das variáveis área foliolar, área foliolar específica, e espessura do parênquima	47
TABELA 12	Resultado do teste de comparação de médias da área total do folíolo, área foliolar específica e espessura do parênquima de <i>Schinus terebinthifolius</i>	47

RESUMO

Em julho de 2000 ocorreu um vazamento de petróleo no oleoduto que liga o terminal de São Francisco do Sul – Santa Catarina à Refinaria Presidente Getúlio Vargas (REPAR), localizada em Araucária - Paraná. Aproximadamente 4 milhões de litros de petróleo vazaram, dos quais 2 milhões e 700 mil litros penetraram no solo da refinaria. Estudos em áreas continentais contaminadas com petróleo são raros, por este motivo, pesquisas nesta área merecem uma atenção especial. Objetivo deste trabalho foi analisar as alterações morfológicas e fisiológicas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) crescendo em solo contaminado e não contaminado com petróleo. O solo para montagem do experimento foi coletado na área da REPAR e transferido para estufa. As mudas com aproximadamente cinco meses de idade foram plantadas em estufa em sacos plásticos em solo contaminado e não contaminado com petróleo, com e sem adição de adubo. As variáveis analisadas foram: taxa de sobrevivência, altura do caule, diâmetro do caule, peso seco total, teor de clorofila, área foliolar, área foliar específica, espessura total do limbo, espessura do parênquima paliçádico e do parênquima lacunoso. Foram feitas análises químicas dos solos e das folhas. Análise estatística foi realizada com um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e oito repetições. Foi usado o teste de Bartlett para testar a homogeneidade das variâncias. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As plantas que estavam em solo contaminado com petróleo tiveram o crescimento prejudicado. O petróleo no solo não prejudicou a síntese de clorofila, mas reduziu a biomassa. As análises morfológicas indicaram uma tendência ao xeromorfismo das plantas em condição de solo contaminado. *Schinus terebinthifolius* mostrou ser uma planta tolerante à contaminação do solo com petróleo, apresentando um comprometimento aceitável no crescimento das plantas que cresceram em solo contaminado com petróleo. A espécie tem potencial para a revitalização da área contaminada pelo petróleo.

ABSTRACT

In July 2000, a petroleum spill occurred in the petroleum pipeline that connects São Francisco do Sul terminal station to Presidente Getúlio Vargas Refinery (REPAR) located in Araucária - PR. Approximately 4 million petroleum liters spilled from which, 2.700.000 penetrated the refining plant soil. Studies in petroleum contaminated continental areas are rare. For this reason, researches deserve special attention. The aim of this study was analysing the morphological and physiological changing of the *Schinus terebinthifolius Raddi (Anacardiaceae)* growing in petroleum contaminated soil and non contaminated soil. The soil used in the experiment was collected in the area of REPAR and transferred to the greenhouse. Nearly five-month old seedling were grown inside a greenhouse in plastic bags in petroleum contaminated soil and non contaminated soil, with or without compost addiction. The varieties analysed were: survival rate; stem height; stem diameter; total dry weight; total limbo thickness; and palisade and lacunate parenchyma thickness. Soil and leaf chemical analyses were carried out. Statistical analysis was done at random with four treatments and eight repetitions. The Bartlett test was used to test the variance homogeneity. The average was compared by Tukey test at 5 % level probability. The plants which were in the petroleum contaminated soil had their growth damaged. The petroleum in the soil did not damaged the chlorophyl synthesis but there was a decreased in the biomass. Morphological analyses showed a tendency to plant xeromorphism in the contaminated soil. *Schinus terebinthifolius* proved to be tolerant of contaminated soil. It also showed meaningful changes in plants grown in petroleum contaminated soil. The species may help revitalizing the petroleum contaminated site.

1 INTRODUÇÃO

Com a revolução industrial o mundo não foi mais o mesmo, mudou a economia, a política, a sociedade, a cultura e o ambiente. O homem disparou com novas invenções e tecnologias, contudo, com a industrialização veio o desgaste ambiental. O excesso de poluição se origina principalmente da queima de combustíveis fósseis, os quais até o presente momento, são os propulsores da economia mundial. Neste novo século os olhares estão apontados para a sustentabilidade global e a biologia é o centro das atenções, onde os organismos vivos serão usados para reduzir o impacto ambiental causado pelos processos industriais.

A sociedade moderna é dependente do petróleo, pois são necessários meios de transportes, estradas, plástico, queima de combustível nos processos industriais, produção de fertilizantes agrícolas. O petróleo é responsável por cerca de 34% da energia utilizada no Brasil, mais da metade da energia do planeta (PETROBRAS, 2002a).

Em julho de 2000, ocorreu um vazamento de petróleo no oleoduto que liga o terminal de São Francisco do Sul – Santa Catarina à Refinaria Presidente Getúlio Vargas localizada em Araucária - Paraná. Aproximadamente 4 milhões de litros de petróleo vazaram, dos quais 2 milhões e 700 mil litros penetraram no solo da refinaria e 1 milhão e 300 mil litros escorreram para os rios Barigui e Iguaçu (RIO IGUAÇU, 2000). O primeiro impacto após o derramamento foi a morte da vegetação local.

Após o acidente ambiental que ocorreu na Refinaria Presidente Getúlio Vargas (REPAR), ocorreram vários outros acidentes no mundo. No ano de 2000 ocorreram dois grandes acidentes com oleoduto na Nigéria (INCÊNDIO, 2003). No santuário ecológico de Galápagos, em janeiro de 2001, houve derramamento de 1,1 milhão de litros de óleo diesel no mar (CAPITÃO, 2003). Na costa leste da África do Sul, em setembro de 2002, ocorreu um vazamento de mil toneladas de óleo diesel e petróleo; local que, segundo a Unesco, é área de proteção ambiental de pássaros e tartarugas (VAZAMENTO, 2003). No Japão, em novembro de 2002, vazou de um navio 1,3 toneladas de petróleo no mar (NAUFRÁGIO, 2003). Na Espanha em dezembro de 2002, vazaram 9 mil toneladas de petróleo de um navio. A mancha negra foi tão grande que se espalhou nos países vizinhos (GREENPEACE, 2003).

Os acidentes ocorrem em áreas povoadas e prejudicam a vida e a economia da população local, ou ocorrem em áreas de preservação ambiental trazendo danos incalculáveis. Os impactos do petróleo e de seus derivados a médio e longo prazo são desconhecidos, devem ser estudados com mais atenção para dar subsídios à recuperação de áreas degradadas.

As plantas respondem rapidamente às mudanças ambientais, sendo desta forma um termômetro para avaliar a qualidade do nosso meio (JEFFREY; MADDEN 1994, LARCHER, 2000). A maioria das plantas não tolera a contaminação com petróleo, diminuindo a diversidade das espécies vegetais da região (WILLIAN et al., 1982, XIONG et al., 1997).

Segundo o Centro de Apoio Científico em Desastres (CENAID, 2000), a dispersão de óleo sobre os vegetais pode causar impacto significativo, principalmente para a vegetação de pequeno porte da margem de rios, pois o óleo

aderido às plantas acarreta o fechamento dos estômatos levando a planta à morte. Além disso, água com óleo impede a absorção de água e sais minerais por parte das raízes.

Trabalhos sobre petróleo em região marinha são encontrados com mais freqüência, pois no mar ocorre o maior número de acidentes. Estudos relatam que os estômatos das plantas marinhas se fecham impedindo a entrada e saída de gases, quando ocorre a contaminação (CHIAVENATO, 1989).

Trabalhos relacionados com petróleo nas plantas abordam mais a morfologia externa e a fisiologia, avaliando menos a morfologia interna. Pesquisas botânicas em áreas fluviais contaminadas com petróleo são raras, por este motivo o acidente no rio Barigüi e Iguaçu - Paraná merece uma atenção especial.

A área industrial da REPAR (Refinaria Presidente Getúlio Vargas) em Araucária - PR, está sendo estudada sob diferentes enfoques, após o acidente com petróleo. Trabalhos com outras plantas nativas semelhantes estão sendo desenvolvidos (BONA; SANTOS, 2003, MARANHO 2004, MAYER, 2004).

Este trabalho teve como objetivo analisar as alterações morfológicas e fisiológicas no corpo vegetativo de *Schinus terebinthifolius* (Raddi), provocadas pelo solo contaminado com o petróleo e pela adubação. Identificar se a espécie, que é nativa da região da REPAR (Refinaria Presidente Getúlio Vargas), pode ser utilizada para reflorestar a área afetada pelo acidente.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Schinus terebinthifolius* (Raddi)

A espécie *Schinus terebinthifolius* pertence à família Anacardiaceae. É popularmente conhecida como aroeira vermelha, aroeira, aroeira precoce, aroeira-pimenta, aroeira-da-praia, aroeira-do-brejo, aroeira-negra, aroeira-branca, aroeira-do-campo, aroeira-do-sertão, fruto-de-raposa, aroeira-do-paraná, fruto-de-sabiá, bálsamo cambuí e pimenta-brasileira (LORENZI, 1992).

Essa espécie apresenta grande plasticidade ecológica, se distribui desde o Nordeste do Brasil, passando pelo Estado do Rio Grande do Sul, Argentina e Paraguai. Ocorre desde a planície costeira até 1.200 m de altitude (BAGGIO, 1988). Segundo a FUNDAÇÃO ANDRÉ TOSELLO (2003), a aroeira é encontrada também na transição do cerrado e mata mesófila. Apresenta grande representatividade na floresta ombrófila mista da região da Refinaria Presidente Getúlio Vargas, local do acidente com petróleo (SIQUEIRA, 2001).

Os indivíduos apresentam de 5 até 15 m de altura com 20 a 60 cm de diâmetro (REITZ et al., 1983). O tronco é geralmente tortuoso, curto com casca grossa escura e rugosa. Sua madeira é bastante resistente e de grande durabilidade. Suas folhas apresentam de 10-15 cm de comprimento por 2-3 cm de largura, são compostas imparipinadas e com três a dez pares de folíolos (LORENZI, 1992).

A planta é perenifólia, heliófita e pioneira, comum em beira de rios, córregos e em várzeas úmidas de formações secundárias; crescendo também em terrenos secos e pobres. O solo argiloso é indicado para a produção de mudas. Floresce

durante os meses de setembro a janeiro e frutifica predominantemente de janeiro a julho (LORENZI, 1992).

A árvore é muito ornamental, principalmente pelo grande período em que os frutos persistem na planta. É uma das espécies mais procuradas pela avifauna, sendo portanto, útil nos reflorestamentos heterogêneos destinados à recuperação de áreas degradadas de preservação permanente (LORENZI, 1992). É indicada também para reflorestamentos em reservatórios das hidroelétricas por se tratar de uma espécie heliófita e pioneira com grande agressividade sobre os campos (REITZ; et al., 1983).

Estudos em *Schinus terebinthifolius* através do biomonitoramento indicam que a espécie é apta para recuperação de áreas degradadas por poeira de cimento, pois é tolerante a este tipo de estresse (BUJOKAS, 2001). A aroeira foi utilizada em estudo com borra oleosa (descarte dos resíduos de petróleo) e com biorremediação, obtendo uma taxa de sobrevivência satisfatória (SOUZA, 1999).

Schinus terebinthifolius foi introduzida nos EUA como ornamental em meados de 1800. Hoje é uma planta invasora que está prejudicando as comunidades nativas na Flórida, onde se desenvolve tecnologia de controle (WOODMASSEE, 2002). A aroeira é muito utilizada pela população desde a época dos jesuítas, que preparavam o “Bálsamo das Missões” com sua resina, famosa no Brasil e no exterior, devido suas propriedades terapêuticas, sendo indicada popularmente contra gastrite, azia, febre, uretrite, diarreia, tosse, reumatismo, dor de dente e micoses. São utilizados folíolos, sementes, frutos, cascas e óleos resiníferos. Os princípios ativos são formados pelos óleos essenciais

ricos em mono e sesquiterpenos, taninos, resinas, alcalóides, flavonoídes, saponinas, esterídes e triterpenos (KRÖKER, 2003).

MELO et al. (2002) concluiu que o extrato de *S. terebinthifolius* apresenta resultados positivos no combate à infecções alveolares provocadas por *Enterococcus*, *Bacillus corineforme*, *Streptococcus viridans* e *S. beta-emolytic*. O extrato da planta é mais eficiente que o antibiótico usado atualmente. Em 1996 e 1997 uma empresa norte americana patenteou dois medicamentos com base no poder bactericida da aroeira (KRÖKER, 2003).

2.2 PETRÓLEO

O petróleo é uma mistura de 90% de hidrocarbonetos (variando de 1 a 60 carbonos na cadeia), compostos orgânicos sulfurados, nitrogenados, oxigenados e metais (chumbo, zinco, cobre, ferro, manganês, níquel e vanádio). Todos os tipos de petróleo apresentam os mesmos hidrocarbonetos, em diferentes quantidades. A quantidade de seus componentes varia de acordo com a origem do petróleo, modificando as propriedades físico-químicas como cor, odor, densidade, viscosidade e o rendimento dos derivados. O petróleo é classificado em três grupos de acordo com o tipo predominante de hidrocarboneto presente em sua constituição: parafínicos (predominância de alcanos normais e ramificados com 1 a 42 átomos de carbono), naftênicos (predominância de cicloalcanos) e aromáticos (predominância de anel benzênico) (FARAH,1996). Apresentando, nessa mesma ordem, um aumento de toxicidade (CRAFTS¹ et al.; apud BAKER, 1970). Apesar das diferenças, existe uma composição elementar média do petróleo (tabela 1).

¹ CRAFTS, S. A., RIBERT, H. G. Herbicidal properties of oils. **Hilgardia**, v. 18, p.77-156, 1962

O petróleo é processado nas refinarias, originando derivados como gás de cozinha (8%), nafta para indústria petroquímica (8%), gasolina (20%), querosene (7%), óleo diesel (34%), óleos combustíveis (18%), asfaltos e lubrificantes (5%) (FARAH, 1996).

TABELA 1- COMPOSIÇÃO ELEMENTAR MÉDIA DO PETRÓLEO.

ELEMENTO	% EM PESO
CARBONO	83.00 a 87.00
HIDROGÊNIO	11.00 a 14.00
ENXOFRE	0.06 a 8.00
NITROGÊNIO	0.11 a 1.70
OXIGÊNIO	0.5
METAIS (Fe, Zn, V, Cr, Pb)	0.3

FONTE: PETROBRAS (2002b)

Segundo a PETROBRÁS (2003), o petróleo que vazou da REPAR é do tipo parafínico, sendo composto por 71% de compostos saturados, 18% de compostos aromáticos, 10% de resina e 1% de asfaltenos. Por ser um petróleo do tipo parafínico apresenta toxicidade menor em relação a outros tipos de petróleo.

Compostos saturados, compostos insaturados, compostos aromáticos apresentam, nesta ordem, aumento da toxicidade. A viscosidade e a tensão superficial limitam o efeito tóxico do petróleo. Pequenas moléculas de hidrocarbonetos apresentam baixa viscosidade e penetram com maior facilidade nos tecidos vegetais. Moléculas de hidrocarbonetos muito grandes possuem um grau menor de penetração devido à sua viscosidade, embora sejam mais tóxicas (BAKER, 1970). Dessa forma, petróleo mais pesado apresenta menor toxicidade às

plantas quando comparado ao petróleo mais leve (DORN et al., 1998). Entre os compostos que aparecem em maior quantidade estão os hidrocarbonetos com cadeias de 10 a 14 carbonos, ou seja, cadeias com capacidade de penetrar na planta (BOYLES² apud BAKER, 1970).

2.3 PETRÓLEO NAS PLANTAS

A toxicidade do petróleo nas plantas depende do tipo de petróleo, quantidade, condições ambientais e espécies vegetais envolvidas (PROFFITT et al., 1995, MALALLAH et al., 1998, PEZESHK et al., 2000). As respostas à contaminação incluem a mortalidade, redução no crescimento, inibição da fotossíntese e na fixação do nitrogênio e redução no sucesso reprodutivo (BAKER, 1970, GAUR; KUMAR, 1981, CHEN; CHIU, 1985, SINGH; GAUR, 1988, GAUR; SINGH, 1990, SINGH; KUMAR, 1991).

Uma forma de medir o estresse provocado pelo petróleo é medir a taxa de fixação de CO₂ e a redução da produtividade das comunidades vegetais (SMITH et al., 1981). O solo contaminado por petróleo provocou alterações morfológicas, redução na germinação ou no crescimento da maioria das espécies estudadas por: ADAN e DUCAN (1999) (dez espécies de Gramineae, quatro Leguminosae, duas Brassicaceae e duas Linaceae), SOUZA (1999) (três espécies de Myrtaceae, duas espécies de Fabaceae, uma espécie de Leguminosae, Mimosaceae, Cupressaceae, Casuarinaceae, Bignoniaceae, Anacardiaceae e Aquifoliaceae) e BONA e SANTOS (2003) (*Campomanesia xanthocarpa*, *Schinus terebintifolius*, *Sebastiania*

² BOYLES D. T. Thesis. Dept of Botany (Plant Physiology, Imperial College), 1967.

commersoniana, *Allophylus edulis*, *Eugenia uniflora*, *Mimosa scabrela* e *Podocarpus lambertii*).

Estudos sobre os efeitos do petróleo em *Salix interior* indicam uma grande redução nas trocas de CO₂, associada com cloroses e necroses foliares (GOUDEY et al., 1985). *Spartina alterniflora* (fitoplancton) tolerou bem a contaminação com petróleo, tendo um decréscimo na taxa de fotossíntese e biomassa (DELAUNE et al., 1979, SMITH et al., 1981). Em *Campomanesia xanthocarpa* (guabiroba) a contaminação por petróleo aumentou o teor de clorofila e não alterou a matéria seca das plantas (MAYER et al., 2003). O petróleo derramado no solo produz uma rápida redução nas taxas de trocas de gases, mas quando este solo é tratado ocorre melhora na fixação do CO₂ pelas plantas (PEZESHKI et al., 2000).

Em um estudo aprofundado do impacto ambiental causado por derramamento de petróleo no Kuwait, algumas plantas aumentaram o teor de clorofila em solo contaminado, outras diminuíram, cada espécie vegetal apresentou uma resposta diferente perante a contaminação. As plantas em solo contaminado com petróleo tiveram aumento das proteínas e dos aminoácidos, como reflexo da eficiência na fixação do nitrogênio (MALALLAH et al., 1998). Sabe-se que a poluição ambiental induz a síntese de proteínas em certas espécies (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Técnicas de biorremediação são usadas para minimizarem a contaminação do petróleo. A biorremediação inclui a inoculação de microrganismos hábeis para a degradação, aplicação de enzimas e o uso de plantas para conter e transformar poluentes que estão no solo (BOLLAG et al., 1994).

Solo contaminado com óleo diesel e com adição de bactérias decompositoras, quando recebe vegetação se recupera mais rápido do que o solo

que não recebeu cobertura vegetal (ADAN; DUCAN, 1999). A fitorremediação do solo está relacionada principalmente com espécies vegetais resistentes a contaminação, pois, criam em suas raízes um ambiente para abrigar os decompositores (KRUGER et al., 1997). O processo de degradação do petróleo está intimamente ligado às propriedades químicas específicas das plantas, além da presença de microorganismos (WALTON et al., 1994).

SOUZA (1999) estudou treze espécies vegetais nativas da região da REPAR, dentre as quais a aroeira, analisando o efeito da contaminação de resíduos oleosos de petróleo em solo biorremediado. Algumas espécies não cresceram em solo contaminado, outras tiveram a taxa de crescimento muito reduzida e duas espécies tiveram um incremento na altura.

Os metais pesados fazem parte da composição do petróleo. Como definição, metais pesados são elementos que apresentam densidade de 5 g/cm^3 ou que apresentam número atômico superior a vinte (MALAVOLTA, 1994). É importante salientar que alguns elementos como manganês, zinco e cobre são elementos essenciais para o desenvolvimento dos vegetais, porém são necessários em pequenas quantidades (LARCHER, 2000). Espécies lenhosas apresentam menor grau de tolerância a níveis tóxicos de metais pesados (ELTROP et al., 1991).

A toxicidade produzida por um metal na planta vai depender da concentração do elemento no solo, desta forma a planta terá diferentes respostas ao mesmo metal. Há muitos graus de resistência à toxicidade dos metais como, mecanismos fisiológicos, amplitude e distribuição das espécies e inclusive variedades e ecótipos dentro de uma mesma espécie (BARCELÓ; POSCHENRIEDER, 1992). A maioria das espécies vegetais que cresce em solo

contaminado com metais pesados, geralmente, não consegue evitar absorção dos metais, mas conseguem limitar sua translocação, acumulando-os em diferentes regiões da planta (BAKER, 1981).

As plantas podem acumular metais nos diversos órgãos e em concentrações diferentes, dependendo da espécie. A baixa translocação de metais para a parte aérea reflete a tolerância destas espécies ao excesso de metais pesados no solo. Espécies mais tolerantes apresentam índice elevado desses elementos no caule (SOARES et al., 2001). Em *Lavandula angustifolia* crescendo em solo contaminado com metais, houve uma concentração de cobre, manganês e ferro na raiz e cádmio e zinco nas folhas (ZHELJAZKOV; NIELSEN, 1996). Sabe-se que metais pesados diminuem a taxa fotossintética, inibem o crescimento e podem levar as plantas à morte (CLIJSTERS; ASSCHE, 1985).

Sebertia acuminata (Sapotaceae) é uma planta que acumula níquel (JAFFRÉ et al., 1976) e *Thalpi caerulesens* (Brassicaceae) é excelente hiperacumuladora de cádmio e zinco (CUNNINGHAM; OW, 1996). São conhecidas aproximadamente 400 espécies de plantas com capacidade para hiperacumular metais. Durante muitos anos se acreditou que o acúmulo de metais pesados poderia funcionar como um mecanismo contra a herbivoria, logo esta hipótese foi descartada. Não se sabe muito bem quais são os mecanismos moleculares que permitem às espécies vegetais tolerarem e metabolizarem metais pesados, estudos indicam a existência de alguns genes envolvidos (WABGENSTEEN, 2002).

Sabe-se que algumas moléculas facilitam o transporte de metais pesados para o interior das plantas. Essas substâncias orgânicas são denominadas quelantes, formam íons complexos com os metais. Muitos componentes orgânicos

são facilmente absorvidos pelas plantas, como pesticidas organoclorados, hidrocarbonetos poliaromáticos, tricloroetilenos e fertilizantes (MALAVOLTA, 1980, WABGENSTEEN, 2002). Os quelatos formam complexos solúveis com cátions, como ferro e cálcio, nos quais o cátion é retirado por força iônica e não por ligação covalente. Os cátions que formam quelatos estão fisicamente mais disponíveis para as plantas (TAIZ; ZEIGER, 2004). Altos teores de metais pesados no substrato podem provocar o aparecimento de necroses, cloroses, diminuição da clorofila e redução da massa seca (ALI, 1993, SOARES et al., 2001). A tabela 2 resume o efeito dos metais pesados em excesso nas plantas. É importante conhecer a capacidade de absorção, acúmulo e distribuição de metais pesados nas espécies para se obter sucesso de fitorremediação (HUANG; CUNNINGHAM, 1996).

TABELA 2- SINTOMATOLOGIA DA TOXIDAZ POR ALGUNS METAIS PESADOS

ELEMENTO	SINTOMAS
Cd	Folhas com margens pardas; clorose; pecíolos e nervuras avermelhadas; enrolamento das folhas; raízes pardas e curtas.
Co	Clorose nas folhas novas; extremidades e margens esbranquiçadas; extremidades das raízes danificadas.
Cr	Clorose nas folhas novas; raízes pouco desenvolvidas.
Cu	Folhas inicialmente verde escuras; depois cloroses em manchas aquosas e podem ficar quase negras. Desfolhamento e raízes mal formadas.
Fe	Folhas verde escuras; redução no crescimento da parte aérea e raízes; folhas avermelhadas.
Mn	Amarellecimento ou cor parda nas folhas; raízes pouco desenvolvidas.
Pb	Folhas verde escuras; murchamento das folhas mais velhas; parte aérea pouco desenvolvida.
Zn	Clorose e bronzeamento das folhas mais novas, atraso no crescimento; raízes semelhantes à arame farpado.
Ni	Clorose internerval das folhas ou cor verde cinza; raízes pardas e curtas.

FONTE: MALAVOLTA, 1980 e 1994

2.4 PLANTA E SOLO

A presença de elementos químicos nas plantas é reflexo da composição do solo no qual as plantas estão crescendo. A maioria dos elementos encontrados nas

plantas são absorvidos como íons a partir da solução do solo. Fungos e bactérias presentes no solo interferem na absorção dos elementos químicos. A presença ou ausência de determinados elementos químicos influencia o crescimento e desenvolvimento do vegetal (LARCHER, 2000, RAVEN, 2001).

A raiz absorve os nutrientes através de três formas: a) elementos contidos na solução do solo; b) por meio de trocas iônicas; c) por mobilização de nutrientes quimicamente ligados, quando ocorre um aumento na capacidade de redução da raiz e liberação de substâncias orgânicas de baixo peso molecular capazes de formar complexos solúveis (quelatos). Desta forma, elementos-traço tornam-se disponíveis para a planta. A eficiência de absorção de nutrientes pela raiz é determinada geneticamente; depende também da disponibilidade do elemento na rizosfera, da taxa específica de difusão de cada íon e do fluxo de massa (LARCHER, 2000).

O transporte de íons pela raiz ocorre via transporte apoplástico no parênquima cortical, logo esse processo é interrompido pelas estrias de Caspary e o transporte passa a ocorrer via simplástica até os vasos condutores. Em distâncias maiores, os nutrientes minerais são transportados via xilema e floema. Através da corrente transpiratória os elementos são rapidamente redistribuídos. O transporte do floema (longa distância) é tão importante, quanto à via xilema, na distribuição das substâncias nutritivas. Há muitos pontos de anastomoses entre os dois sistemas, especialmente na região da raiz e dos nós do caule. Na parte aérea, os nutrientes são transportados ativamente dos vasos condutores para as células parenquimáticas (LARCHER, 2000).

Os bioelementos diferem quanto à facilidade de retranslocação. Os metais pesados e os íons alcalinos terrosos são de difícil translocação e podem se acumular no final da via xilemática nas folhas. A proporção dos bioelementos pode ser fortemente determinada pela espécie vegetal, família, órgão ou estágio de desenvolvimento (LARCHER, 2000). Alguns elementos como potássio, magnésio, nitrogênio, fósforo, alumínio, cálcio, ferro e manganês variam em quantidade conforme a espécie e o grau de desenvolvimento das folhas; outros elementos com zinco e cobre não apresentam mudanças significativas (ERNST, 1975). MEZIANE e SHIPLEY (1999) relacionaram a maior disponibilidade de nutrientes com aumento de área foliolar específica.

O pH do solo afeta a disponibilidade de nutrientes, de microorganismos e conseqüentemente afeta o crescimento do vegetal. A necessidade dos elementos minerais muda ao longo do crescimento e desenvolvimento da planta. Análise do solo reflete os níveis de nutrientes potencialmente disponíveis para as raízes, mas a análise do solo não informa a quantidade de minerais necessários ou absorvidos pela planta. Essa informação é determinada melhor por análise do tecido vegetal (TAIZ; ZEIGER, 2004).

O crescimento da raiz normalmente é favorecido em solos levemente ácidos com pH 5,5 e 6,5. O pH do solo determina a disponibilidade de nutrientes, pois a acidez promove a intemperização das rochas, que liberam K^+ , Mg^+ , Ca^+ , Mg^+ e aumentam a solubilidade de carbonatos, sulfatos e fosfatos (TAIZ; ZEIGER 2004). O nitrogênio é o macronutriente aniônico mais abundante no planeta. A absorção do nitrogênio é acompanhada pela variação no pH, no sentido inverso (MALAVOLTA, 1980).

O alumínio é o metal mais comum encontrado no solo; em solo ácido torna-se solúvel, é absorvido pelas raízes inibindo o crescimento da planta. O alumínio exerce um efeito direto na disponibilidade de fosfato e possui efeito tóxico sobre o metabolismo do vegetal. As plantas produtoras de ácido cítrico conseguem crescer bem em altas concentrações de alumínio no solo (MALAVOLTA, 1980, PINTRO et al., 1995, RAVEN, 2001). Apesar da toxicidade do alumínio, algumas plantas do Cerrado se beneficiam com as altas concentrações deste elemento, aumentam a biomassa da espécie dentro da comunidade, apresentando vantagem competitiva (HARIDASAN, 2000).

2.5 ANATOMIA ECOLÓGICA

As adaptações das plantas ao ambiente, mais descritas na literatura se referem às modificações que ocorrem nas folhas, pois este órgão é de rápido crescimento e renovação constante. Como conseqüências adaptativas as folhas podem responder com alterações anatômicas à poluição, disponibilidade de água, temperatura, radiação e a concentrações de nutrientes (LLERAS, 1977, MEDRI; LEERAS 1979, ESAU, 1981, VOLTAN et al., 1992, CHAZDON; KAUFMANN, 1993, VOGELMANM, 1994, BOEGER et al., 1997, MEDEIROS; STEFANI, 1997, BOEGER et al., 1998, MEZIANI; SHIPLEY, 1999, BÜNDCHEN, 2001, MENEZES et al., 2003).

Respostas às mudanças ambientais ocorrem de acordo com a plasticidade fenotípica de cada espécie. Vegetais com maior plasticidade fenotípica, apresentam uma faixa de variação mais ampla, quando comparados com vegetais que possuem

uma estreita plasticidade fenotípica (MEDRI; LLERAS, 1979, MEZIANI; SHIPLEY, 1999).

Em condições cada vez mais xéricas as folhas reduzem a área foliar, aumentam o número de estômatos, aumentam a espessura do mesofilo e a quantidade de tecidos vasculares (MEDRI; LLERAS, 1979, VOLTAN et al., 1992, BOEGER et al., 1998). Segundo FAHN (1990), a redução da área foliolar e o aumento de camadas no parênquima paliçádico, resulta no aumento da atividade fotossintética. Ocorre um aumento do número de estômatos por mm² para compensar a redução da área. As folhas podem apresentar aumento da espessura da cutícula, presença de hipoderme e aumento na quantidade de esclerênquima (SOBRADO; MEDINA, 1980).

Ambientes oligotróficos induzem as folhas à esclerofilia, podendo apresentar, além das características citadas anteriormente, um aumento de cristais e epiderme múltipla (BOEGER et al., 1997). A alta concentração de alumínio também pode induzir as folhas à esclerofilia, uma vez que os sintomas de toxicidade são semelhantes aos da deficiência de nutrientes (GOODLAND, 1971).

Ambiente poluído com material particulado pode alterar a fisiologia e a estrutura anatômica de folhas. As diferenças podem ocorrer na área foliolar, peso seco, densidade estomática, área foliar específica, espessura do mesofilo e no teor de clorofila (BUJOKAS, 2001, BÜNDCHEN, 2001). As adaptações fotossintetizantes estão, usualmente associadas com as mudanças anatômicas e fisiológicas na folha (KLICH, 2000).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CARACTERÍSTICAS DA ÁREA DO ACIDENTE

A Refinaria Presidente Getúlio Vargas localiza-se em Araucária, município ao sul da região metropolitana de Curitiba, no Primeiro Planalto paranaense. O clima da região, segundo a classificação de Koeppen, é do tipo Cfb- temperado com média anual de temperatura de 16,5°C. A precipitação média anual é de 1400mm, porém, valores de 936mm e 2009mm já foram registrados. A área de onde foi retirado o solo se caracteriza como: “ Complexo Neossolo Flúvico Ta Eutrófico A moderado textura média fase relevo plano raso vegetação floresta higrófila de várzea e campo subtropical higrófilo de várzea moderadamente bem drenado- Gleissolo Háplico Ta Eutrófico Típico mesoeutrófico A proeminente textura argilosa fase relevo plano vegetação floresta subtropical higrófila de várzea mal drenado” (SIQUEIRA et al., 2001)

3.2 ESPÉCIE

A espécie utilizada para o presente estudo foi *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) da família Anacardiaceae. As mudas foram fornecidas pela Embrapa Florestas do Município de Colombo-PR, as quais foram produzidas a partir de sementes da mesma matriz.

O presente estudo foi desenvolvido em experimento de estufa, no Centro Politécnico, Setor de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, da UFPR (figuras 1 e 2).

3.3 MONTAGEM DO EXPERIMENTO

Para montagem do experimento foi coletado solo na REPAR; numa região contaminada pelo petróleo (4c) e outra região não contaminada (4nc) próxima ao local do acidente, numa área mais elevada (figura 3). O solo coletado foi retirado até 30 cm profundidade, posteriormente foi transferido para estufa, peneirado, homogeneizado e acondicionado em sacos plásticos de 5 litros. Com base na análise do solo contaminado e não contaminado foram definidas as doses recomendadas de nutrientes. Foram aplicados 0.52 g de MAP (N, P) e 0.052 g de KCl por saco plástico. Cada saco de solo contaminado continha 5,6 Kg, enquanto que os sacos com solo não contaminado continham 4,86 Kg. Essa diferença ocorreu devido a presença do petróleo no solo.

Para o plantio das mudas, retirou-se a embalagem plástica de origem e em seguida as mudas foram transplantadas para os sacos de 5 Kg, mantendo-se o solo inicial preso às raízes. As mudas, com cerca de cinco meses de idade, foram plantadas em abril de 2002 e coletadas em abril de 2003.

Os tratamentos testados foram:

C/SA - solo contaminado sem adição de nutrientes

C/CA - solo contaminado com adição de nutrientes

NC/SA - solo não contaminado sem adição de nutrientes

NC/CA - solo não contaminado com adição de nutrientes

3.4 ANÁLISE DO PETRÓLEO

A caracterização física e química do petróleo derramado na REPAR em julho de 2000 foi fornecida pela Petrobras. Os resultados das análises do petróleo indicam 71% de compostos saturados, 18% de composto aromáticos, 10% resinas e 1% de asfaltenos. O resultado da análise cromatográfica do petróleo tipo cusiana indicou perfil parafínico na faixa predominante de compostos com cadeias de C₁₀ a C₁₄, com ponto de ebulição de 174 a 483°C. Também foram encontrados os teores de metais presentes no petróleo (tabela 3) (PETROBRAS, 2003).

TABELA 3- ANÁLISE DE METAIS PRESENTES NO PETRÓLEO

METAIS	mg/kg
Cálcio	9
Fósforo	< 15
Ferro	3
Manganês	< 2
Cobre	< 1
Zinco	< 2
Níquel	3
Vanádio	5
Chumbo	< 10
Bário	< 5
Silício	< 100
Cloro	103

FONTE: PETROBRAS, 2003

3.5 ANÁLISE QUÍMICA DE SOLO E FOLHAS

Amostras de solo contaminado e não contaminado de aproximadamente 1 Kg foram separadas para análise química no início e no final do experimento. Foram somadas todas as folhas de seis plantas de cada tratamento, posteriormente as

folhas foram levadas a estufa para secagem e na seqüência foram trituradas, pesadas e misturadas duas a duas, totalizando três amostras mistas.

Para caracterização da fertilidade do solo, os parâmetros analisados foram determinados usando-se os métodos descritos por MARQUES e MOTTA (2003). A análise de nitrogênio total, tanto no solo quanto na planta, foi realizada pelo processo semi-micro Kjeldahl.

Para a análise química dos tecidos foliares, foram utilizadas as amostras já citadas anteriormente. Os teores de alumínio, magnésio, cálcio, potássio, fósforo, ferro, manganês, cobre e zinco nos tecidos, foram determinados após digestão em mufla a 500°C e solubilização em HCl 3 mol/L. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro de absorção atômica (Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn, Al); por emissão atômica (K) e por colorimetria (P).

As amostras de solo e folhas foram analisadas no Laboratório de Biogeoquímica e Nutrição de Plantas do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola da UFPR.

3.6 ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA E CRESCIMENTO

O crescimento das plantas foi analisado a partir de mensurações mensais da altura e diâmetro do caule, e do peso seco total feito após a coleta das mudas, segundo o procedimento proposto por BENINCASA (1986). O diâmetro do caule (na região do colo) foi medido com paquímetro de marca Mitutoyo-530312-Br com precisão de 0,02 mm e a altura do caule foi mensurada com trena milimetrada.

Para análise do peso seco total, as plantas foram retiradas do solo, lavadas com água destilada e desidratadas em estufa a 60°C até peso constante.

Posteriormente, folhas, caule e raiz foram pesados separadamente com balança de precisão.

3.7 DETERMINAÇÃO DE CLOROFILAS

A extração de clorofila foi realizada no final do experimento, a partir do folíolo da região mediana de folha do 6º nó, no qual foi coletada uma amostra por indivíduo. Os folíolos foram acondicionados em papel alumínio numa caixa de isopor com gelo, ficando ao abrigo da luz e calor até serem transportados para o laboratório. As amostras para extração foram retiradas da região mediana dos folíolos, pesadas e maceradas em acetona 80% e o extrato depois de centrifugado foi levado ao espectrofotômetro. A leitura foi realizada em espectrofotômetro modelo U-2001 da marca Hitachi®, calibrado para determinação da absorbância dos pigmentos foliares (clorofila a, b e total) nos comprimentos de onda de 645 e 663 nm (ARNON, 1949).

3.8 ANÁLISE MORFOLÓGICA

A análise macroscópica do material foi realizada observando-se a coloração e morfologia das folhas e caule durante todo o período do experimento, e a morfologia da raiz após a coleta das plantas.

Para área foliolar e peso seco foliolar foram utilizados folíolos provenientes do segundo par (contado a partir do ápice da folha) de folhas oriundas do 6º nó (a partir do ápice do caule). Foram selecionadas cinco amostras de cada um dos oito indivíduos de cada tratamento. Os folíolos foram prensados em papel jornal e desidratados em estufa a 60°C. A área foliolar, em cm², foi calculada a partir das

imagens escaneadas e lidas através do *software* Sigma- pro versão 2.1. O peso seco foi mensurado em balança de precisão. A partir dos dados de área foliolar e peso seco foliolar foi calculada a área específica foliar através da fórmula proposta por WITKOWSKI e LAMONT (1991).

$$\text{AFE (cm}^2\text{/g)} = \frac{\text{área foliolar (cm}^2\text{)}}{\text{peso foliolar (g)}}$$

Foram feitas análises da morfologia interna da raiz, caule e folhas através de lâminas histológicas semipermanentes e permanentes. As variáveis mensuradas foram: área foliolar, peso foliolar, espessura total do limbo, espessura das células epidérmicas, espessura do parênquima paliçádico e lacunoso.

Para mensuração dos tecidos foliares foram coletadas três amostras de cada um dos oito indivíduos de cada tratamento. As espessuras de limbo, epiderme e tecidos fotossintetizantes foram definidos através da mensuração em microscópio com ocular micrometrada e o valor encontrado multiplicado pelo coeficiente de correção.

Para a análise morfológica qualitativa (organização e distribuição de tecidos) foram coletadas amostras de raiz, caule e folhas de três indivíduos por tratamento. Para anatomia de raiz foram coletadas amostras de raízes secundárias a 3 cm do ápice. As amostras de caule foram coletadas no quinto entrenó e as folhas no 6º nó, do ápice em direção à base. As amostras de folha foram retiradas do terço médio do folíolo do segundo par (a partir do ápice da folha). Essas amostras foram analisadas a fresco ou fixadas em FAA 70 por 48 horas (JOHANSEN,1940) e conservadas em etanol 70%.

Lâminas semipermanentes foram preparadas com material fresco e fixado, para mensurações de tecidos do limbo e para análises microquímicas. Secções transversais foram realizadas à mão livre, utilizando isopor de densidade consistente para dar suporte ao material.

Foram realizados testes microquímicos na raiz, caule e folha com cloreto férrico (JOHANSEN, 1940) para compostos fenólicos e lugol (ROTH, 1964) para detectar amido. Os testes foram feitos com material fixado, seccionado à mão livre ou em micrótomo com 7 μm de espessura quando emblocado em historresina. Após a reação as lâminas foram montadas com glicerina a 30% ou água destilada e analisadas em microscópio fotônico.

Para preparação das lâminas permanentes as amostras foram desidratadas em série etílica e incluídas em metacrilatoglicol (historresina - JB4 da Polyscience), conforme as especificações do fabricante e a técnica de FEDER e O'BRIEN (1968).

O material incluído foi seccionado em micrótomo rotativo 820 Spencer, com 5 e 7 μm de espessura. As secções foram distendidas nas lâminas com auxílio de água e secas em mesa térmica. Após esse procedimento, o material foi submetido à coloração com azul de toluidina (SAKAI, 1973) ou com fucsina básica e azul de astra (BRITO; ALQUINI, 1996), e as lâminas montadas com resina sintética (Entellan®).

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

No experimento realizado os dados foram analisados segundo um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e oito repetições. Nesse experimento os tratamentos representaram o arranjo fatorial de dois tipos de solo, contaminado e não contaminado, na ausência e presença de adubação. As

variáveis analisadas foram: taxa de sobrevivência, altura do caule, diâmetro do caule, peso seco da planta, clorofila a, b e total, área foliolar, área foliar específica, espessura total do limbo, espessura do parênquima paliçádico e lacunoso. As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto sua homogeneidade pelo teste de Bartlett e, quando necessário, os dados foram transformados tomando-se o logaritmo ou a raiz quadrada dos valores encontrados. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



FIGURAS 1 e 2 - Aspecto geral do local do experimento. 1- Vista externa da estufa no Setor de Ciências Biológicas da UFPR. 2- Aspecto geral do experimento em estufa.

FOTOGRAFIA AÉREA COM A LOCALIZAÇÃO DAS PARCELAS NA ÁREA DA REFINARIA PRESIDENTE GETÚLIO VARGAS

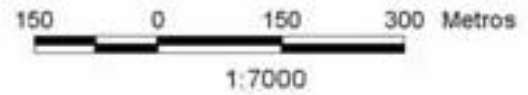
Localização



Legenda

- Solo contaminado
- Solo não contaminado
- ∩ Drenagem

Escala



Informações

Aerofoto - 1:15000 de Set/2000
 Sistema - UTM
 Datum - SAD 69
 Fonte UFPR



3- Foto aérea da área da Refinaria Presidente Getúlio Vargas - Araucária Paraná, onde foi coletado o solo não contaminado (4NC) e contaminado com petróleo (4C). Escala 1; 15000; fonte UFPR.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO E DAS FOLHAS

As análises dos solos contaminados (C/SA e C/CA) e não contaminados (NC/SA e NC/CA) mostraram valores semelhantes de macronutrientes. Os solos contaminados apresentaram um pH mais ácido e uma quantidade e disponibilidade maior de alumínio e manganês. Os valores de bases trocáveis foram mais baixos nos solos contaminados quando comparados com os valores dos solos não contaminados (tabela 4). Essas diferenças podem ter interferido no crescimento da aroeira.

O alumínio é o metal mais encontrado no solo, tornando-se solúvel e sendo absorvido pelas raízes em solos mais ácidos. Exerce um efeito direto e negativo na disponibilidade de fosfato, podendo reduzir o crescimento da planta (MALAVOLTA, 1980, PINTRO et al., 1995, RAVEN, 2001). Mesmo havendo diferença na disponibilidade de alumínio dos solos contaminados e não contaminados, a quantidade desse elemento nas folhas foi praticamente a mesma (tabela 5).

Os níveis de metais pesados no solo (ferro, manganês, cobre, zinco, níquel e vanádio) mostraram valores aceitáveis dentro dos limites toleráveis conforme os dados da SANEPAR (1999), LARCHER (2000) e CETESB (2001), não havendo contaminação destes metais no solo contaminado com o petróleo. Áreas de perfuração de petróleo ativas e inativas também não indicaram contaminação do solo por cobre, zinco, cádmio e chumbo (XIONG et al., 1997).

A quantidade de macronutrientes e micronutrientes analisados nas folhas apresentaram pouca diferença entre as plantas dos solos contaminados e não

contaminados com petróleo; o manganês foi o único elemento que apresentou grande diferença entre os tratamentos (tabela 5). Segundo MALAVOLTA (1980), em pH mais ácido o manganês pode se tornar tóxico em maiores concentrações no solo, nas folhas pode causar encarquilhamento, pontuações de cor marrom nas nervuras e entre as nervuras, redução da área foliar e morte de ramos. Entretanto, a aroeira não exibiu sintomas de toxidez por manganês.

TABELA 4 - ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO NO INÍCIO E NO FINAL DO EXPERIMENTO

Amostra de solo	NC/SA		NC/CA		C/AS		C/CA	
	início	fim	início	fim	início	Fim	início	Fim
pH CaCl ₂	5,40	5,50	4,90	5,20	4,50	4,50	4,40	4,50
Al ⁺³ (mg/kg)	0,00	0,00	0,40	0,00	1,20	3,00	2,90	3,20
H + Al (mg/kg)	5,80	5,40	7,80	5,00	10,50	11,30	13,10	9,70
Ca ⁺² + Mg (mg/kg)	13,90	13,20	14,40	15,60	12,40	12,50	12,00	11,40
Ca ⁺² (mg/kg)	7,70	7,90	8,50	12,30	6,80	8,00	7,20	7,20
K ⁺ (mg/kg)	0,21	0,47	0,33	0,40	0,28	0,41	0,32	0,25
T (mg/kg)	19,91	19,07	22,52	21,00	23,18	24,21	25,42	21,35
P (mg/kg)	4,6	10,4	10,1	8,5	6,5	5,2	7,0	7,6
C (mg/kg)	27,5	25,7	22,0	16,0	38,3	22,0	34,1	22,0
N g/Kg	-	1,1	-	1,3	-	3,2	-	2,9
pH SMP	5,80	5,90	5,40	6,00	5,00	4,90	4,70	5,10
V %	70,87	71,68	65,38	76,19	54,70	53,3	48,47	54,57
Fe (mg/Kg)	-	115,5	-	212,0	-	184,0	-	197,0
Mn (mg/Kg)	-	19,9	-	83,0	-	253,0	-	221,0
Cu (mg/Kg)	-	1,6	-	2,1	-	3,1	-	3,1
Zn (mg/Kg)	-	15,2	-	5,4	-	30,0	-	23,2
Ni (mg/Kg)	9	-	-	-	-	2	-	-
V (mg/Kg)	91	-	-	-	-	43	-	-

NC/SA- SOLO NÃO COTAMINADO SEM ADUBO
 NC/CA- SOLO NÃO COTAMINADO COM ADUBO
 C/SA- SOLO COTAMINADO SEM ADUBO
 C/CA- SOLO COTAMINADO COM ADUBO

TABELA 5 - ANÁLISE DOS ELEMENTOS QUÍMICOS DA FOLHA DE *Schinus terebinthifolius*, CRESCENDO EM SOLO CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO COM PETRÓLEO, ADUBADO E NÃO ADUBADO

Amostra de folha	N (g/Kg)	P (g/Kg)	K (g/Kg)	Ca (g/Kg)	Mg (g/Kg)	Fe (mg/Kg)	Mn (mg/Kg)	Cu (mg/Kg)	Zn (mg/Kg)	Al (mg/Kg)
Solo não contaminado sem adubo	13,42	1,72	18,44	9,99	2,69	176,33	63,40	14,06	189,90	116,30
Solo não contaminado com adubo	10,60	1,90	14,98	11,82	2,66	219,00	38,60	12,43	272,93	166,00
Solo contaminado sem adubo	14,60	1,50	20,07	10,45	1,78	238,33	177,53	14,10	234,33	166,00
Solo contaminado com adubo	14,53	2,55	22,19	12,14	1,90	209,66	135,90	16,60	279,93	157,60

NC/SA- SOLO NÃO COTAMINADO SEM ADUBO
 NC/CA- SOLO NÃO CONTAMINADO COM ADUBO
 C/SA- SOLO COTAMINADO SEM ADUBO
 C/CA- SOLO COTAMINADO COM ADUBO

4.2 TAXA DE SOBREVIVÊNCIA

A taxa de sobrevivência das plantas foi de 100% em todos os tratamentos. Provavelmente a alta taxa de sobrevivência se deve a um conjunto de fatores associados. Depois de um ano e sete meses do acidente ocorreu evaporação das frações leves do petróleo. Provavelmente tenha ocorrido uma degradação parcial e natural do petróleo, embora existisse petróleo visível durante a coleta do solo. Segundo FRICK et al. (1999), muitos microorganismos naturalmente presentes no solo proporcionam a degradação dos hidrocarbonetos.

Em locais contaminados com petróleo apenas espécies mais tolerantes sobrevivem, havendo um decréscimo do número de espécies vegetais. Estimou-se que são necessários oito anos para haver restabelecimento da flora (XIONG et al., 1997). Entretanto, foi observada a recuperação evidente da cobertura vegetal após quatro anos em uma área pantanosa contaminada com petróleo, embora análises químicas mostrassem altos níveis de hidrocarbonetos no solo (HESTER; MENDELSSOHN, 2000).

Algumas espécies mais sensíveis não toleram a contaminação com petróleo. A concentração de 0,48% de petróleo foi capaz de provocar a morte de 100% dos indivíduos de *Lycopersicon esculentum* (tomate) após trinta dias, mas em concentrações menores ocorreu tolerância da espécie (KUHN et al., 1998). Em *Tradescantia correlates* ocorreu um aumento na mortalidade dos indivíduos com o aumento da concentração de óleo diesel; sendo que a concentração de 100 ppm foi suficiente para uma taxa de mortalidade de 100%. Em concentrações menores de contaminante, alguns indivíduos apresentaram morte aparente, secando e após algum tempo rebrotando (GREEN et al., 1996).

Avicennia germinans apresentou mortalidade de 100%, enquanto que nas mesmas condições *Rhizophora mangle* teve uma taxa de sobrevivência de 75% (PROFFITT et al., 1995). A concentração de 50 ppm de óleo foi capaz de interferir negativamente em mais de 50% na taxa de germinação de vinte e duas espécies vegetais estudadas (ADAN; DUNCAN, 1999).

Cada espécie vegetal apresenta uma resposta diferente à contaminação com petróleo. Essa resposta poderá variar de acordo com a sensibilidade à contaminação, que é dada pela capacidade adaptativa, plasticidade fenotípica e evolutiva a novas situações (GAUR; KUMAR, 1981, DORN et al. 1998, HESTER; MENDELSSOHN, 1999, ADAM; DUNCAN, 1999). As condições ambientais podem amenizar ou aumentar os danos causados às plantas que foram contaminadas com petróleo. Altas temperaturas (35 - 40°C) intensificaram os danos causados pelo óleo derivado do petróleo, aumentando a mortalidade vegetal (PROFFITT et al., 1995).

A aroeira apresenta uma grande capacidade adaptativa, crescendo em solos argilosos, secos e pobres (LORENZI, 1992). A planta mostrou ser tolerante à

contaminação por poeira de cimento (BUJOKAS, 2001) e por borra de petróleo com solo biorremediado (SOUZA, 1999). Esses dados sobre *S. terebinthifolius* confirmam a alta taxa de sobrevivência das plantas em solo contaminado com petróleo.

4.3 ANÁLISE DE CRESCIMENTO

O resultado da análise de variância para a variável altura do caule mostrou que não houve interação entre os fatores contaminação e adubação, somente o fator contaminação apresentou resultado significativo (tabela 6). As plantas que estavam em solo não contaminado cresceram significativamente mais em altura do que as plantas que estavam em solo contaminado (tabela 7; figuras 4 e 6). Não houve diferença significativa na altura das plantas dos tratamentos com e sem adubo (tabela 7).

Houve interação significativa entre a contaminação e a adubação para as variáveis diâmetro do caule e peso seco total das plantas (tabela 6). No solo contaminado o adubo não teve efeito sobre o diâmetro das plantas, enquanto que no solo não contaminado o adubo exerceu influência positiva aumentando o diâmetro do caule (tabela 8, figura 5). As plantas que apresentaram maior peso seco total foram as do solo não contaminado. O adubo aumentou significativamente o peso seco total das plantas em solo não contaminado, enquanto que no solo contaminado não houve influência da adubação (tabela 8).

TABELA 6 - ANÁLISE DAS VARIÁVEIS: ALTURA (cm), DIÂMETRO (mm), PESO SECO (g) DE *Schinus terebinthifolius*, CRESCENDO EM SOLO CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO COM PETRÓLEO, ADUBADO E NÃO ADUBADO

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADO MÉDIO		
		Altura ¹ (cm)	Diâmetro ¹ (mm)	Peso Seco ¹ (g)
Solo contaminado e não contaminado	1	8,591**	0,711**	0,293**
Solo adubado e não adubado	1	0,097 ^{ns}	0,139 ^{ns}	0,038*
Contaminação x adubação	1	1,178 ^{ns}	0,276*	0,088**
ERRO	28	0,646	0,050	0,008
Total	31			
Teste de Bartlett χ^2		1,617 ^{ns}	3,376 ^{ns}	1,147 ^{ns}
Coefficiente de variação %	19,17	8,30	7,32	6,34

ns= não significativo

* significativo a 5% de probabilidade

** significativo a 1% de probabilidade

(1) dados transformados por logaritmo

TABELA 7- COMPARAÇÃO DE MÉDIAS DA ALTURA (cm) DO CAULE DE *Schinus terebinthifolius*, CRESCENDO EM SOLO CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO COM PETRÓLEO, ADUBADO E NÃO ADUBADO

Fator	Altura (cm)		
Solo não contaminado	104,76	(±12,67)	A
Solo contaminado	84,43	(±18,40)	B
Solo não adubado	95,36	(±15,29)	A
Solo adubado	93,82	(±20,01)	A

Médias (desvio padrão) seguidas por letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

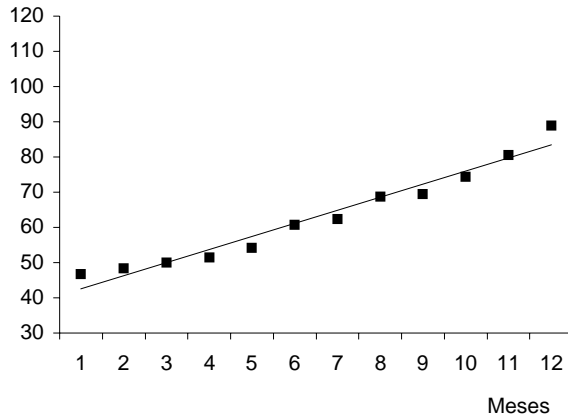
TABELA 8 - COMPARAÇÃO DE MÉDIAS DO DIÂMETRO (mm) DO CAULE E PESO SECO TOTAL (g) DE *Schinus terebinthifolius*, CRESCENDO EM SOLO CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO COM PETRÓLEO, ADUBADO E NÃO ADUBADO

	Diâmetro (mm)		Peso seco total (g)	
	Solo não contaminado	Solo contaminado	Solo não contaminado	Solo contaminado
Solo adubado	11,42 (±1,16) A a	8,78 (±0,51) B a	48,26 (±29,63) A a	20,96 (±3,03) B a
Solo não adubado	9,34 (±1,93) A b	8,65 (±0,87) A a	28,07 (±6,76) A b	22,85 (±4,26) B a

Médias (desvio padrão) seguidas por letras diferentes maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

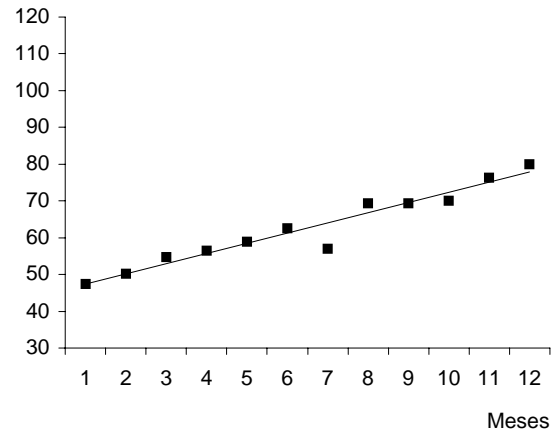
Solo contaminado sem adubo

Altura do caule (mm)
 $Y = 37,51 + 3,81X$
 $R^2 = 0,95$



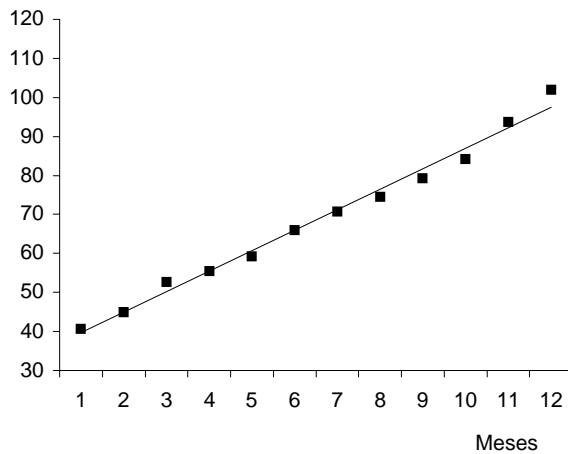
Solo contaminado com adubo

Altura do caule (mm)
 $Y = 44,69 + 2,76X$
 $R^2 = 0,93$



Solo não contaminado sem adubo

Altura do caule (mm)
 $Y = 34,45 + 5,25X$
 $R^2 = 0,98$



Solo não contaminado com adubo

Altura do caule (mm)
 $Y = 49,10 + 5,03X$
 $R^2 = 0,91$

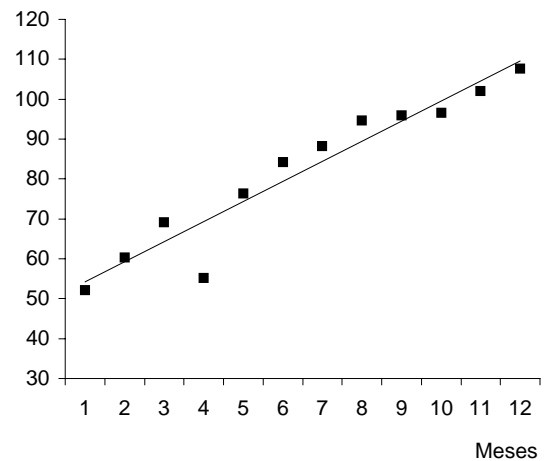
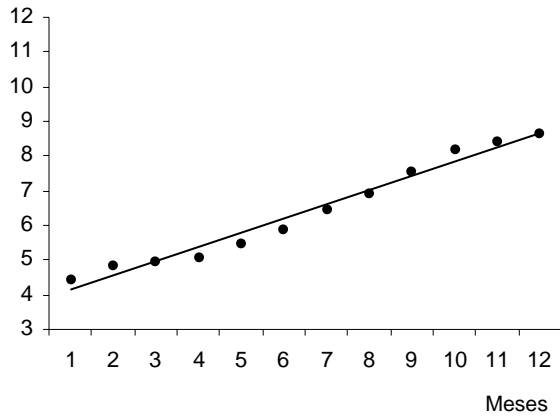


FIGURA 4- Crescimento médio em altura do caule e tendência de *Schinus terebinthifolius* sob condições diferentes de crescimento, ao longo de doze meses.

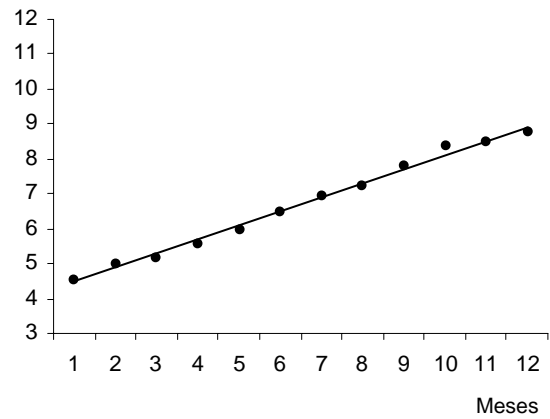
Solo contaminado sem adubo

Diâmetro do caule (mm)
 $Y = 3,7 + 0,41X$
 $R^2 = 0,97$



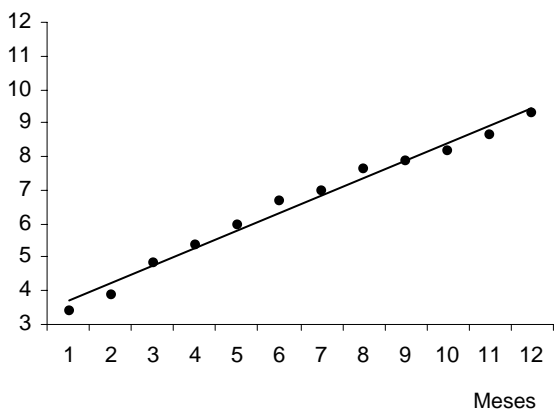
Solo contaminado com adubo

Diâmetro do caule (mm)
 $Y = 4,07 + 0,40X$
 $R^2 = 0,99$



Solo não contaminado sem adubo

Diâmetro do caule (mm)
 $Y = 3,71 + 0,41X$
 $R^2 = 0,97$



Solo não contaminado com adubo

Diâmetro do caule (mm)
 $Y = 4,66 + 0,59X$
 $R^2 = 0,97$

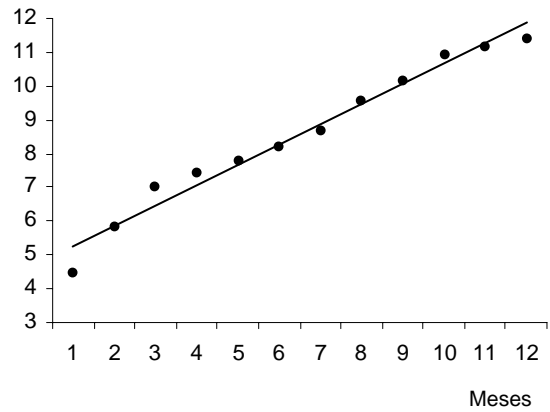


FIGURA 5- Crescimento médio do diâmetro do caule de *Schinus terebinthifolius* sob condições diferentes de crescimento, ao longo de doze meses.

A maioria dos trabalhos consultados fazem estudos comparativos de várias espécies vegetais crescendo em solo contaminado com petróleo (PROFFITT et al., 1995, MALALLAH et al., 1998). Outros estudos variam o tipo do petróleo ou a concentração do poluente, interferindo no crescimento da planta (PROFFITT et al., 1995, GREEN et al., 1996, KUHN et al., 1998). Poucos trabalhos tentam explicar porque e como o petróleo no solo influenciou o crescimento e o metabolismo da planta.

As plantas acondicionadas em recipientes com solo não contaminado com petróleo tiveram um aumento no crescimento de 24% na altura, 7% no diâmetro e 22% no peso seco, quando comparadas àquelas em solo contaminado. Segundo HESTER e MENDELSSOHN (2000), as alterações físicas e químicas provocadas pelo petróleo contribuem significativamente para o estresse nas plantas, prejudicando seu crescimento.

Para uma boa produção de matéria seca é necessário um metabolismo balanceado e com desenvolvimento desimpedido, os nutrientes principais e os elementos-traço devem estar disponíveis em solução e, também, devem ser absorvidos em proporções balanceadas (SANTOS, 1991, LARCHER, 2000). Os nutrientes no solo melhoram as propriedades físicas e químicas do solo mediante a promoção no crescimento vegetal (MALAVOLTA, 1981). O aporte de nutrientes pode contribuir para diminuir a situação de estresse provocada por petróleo (FRICK et al., 1999).

O petróleo no solo diminui a capacidade de retenção de água do solo (BONA; SANTOS, 2003), interferindo dessa forma no crescimento das plantas. As plantas que estavam em solo não contaminado, tiveram um solo com mais água.

Esse fato indica que o adubo foi solubilizado pela água, sendo facilmente absorvido pelas plantas que estavam em solo não contaminado, proporcionando um maior crescimento. O petróleo impermeabilizou parcialmente o solo, pois a água adicionada durante a irrigação era parcialmente eliminada pelas pequenas aberturas do saco plástico. Dessa forma os nutrientes não foram disponibilizados adequadamente para a planta e o sistema radicular se desenvolveu mais como resposta de uma deficiência hídrica.

É provável que tenha ocorrido um desequilíbrio nutricional nas plantas que estavam em solo contaminado com petróleo, mesmo com nutrientes presentes no solo. Um possível desequilíbrio nutricional foi citado por SOUZA (1999) como provável causa da baixa taxa de crescimento da altura, diâmetro do caule e peso seco de *Schinus terebinthifolius* e outras plantas que estavam em solo contaminado com borra de petróleo.

Assim como ocorreu com a aroeira, outras espécies vegetais também tiveram uma redução do crescimento em altura. Em plantas do deserto do Kuwait houve inibição no crescimento e diminuição de fertilidade em indivíduos que estavam em ambiente contaminado com petróleo (MALALLAH et al., 1996, 1997). Em *Lycopersicon esculentum* (tomate) houve um comprometimento na altura em plantas submetidas a 0,24% de petróleo parafínico no solo (KUHN et al., 1998). Diferenças na altura (mm) de *Rhizophora mangle* foram observadas após trinta e cinco semanas do tratamento com petróleo e ao final de cinquenta semanas, o comprometimento na altura das plantas foi mais de 50% (PROFFITT et al., 1995).

Plantas de aroeira submetidas à contaminação com poeira de cimento apresentaram em média uma redução de 7,14% na altura quando comparadas as

plantas do controle (BUJOKAS, 2001). Este valor sugere que a contaminação por poeira de cimento foi menos prejudicial à planta, quando comparada com a contaminação por petróleo desse experimento.

Houve uma diminuição de biomassa em aroeira nas plantas que foram submetidas ao solo contaminado. Nas mesmas condições deste experimento, houve uma diminuição no peso seco do branquilha (*Sebastiania commersoniana*) e pitanga (*Eugenia uniflora*), em plantas que estavam em solo contaminado com petróleo (BONA; SANTOS, 2003). Porém em Vacum (*Allophylus edulis*), guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) e podocarcus (*Podocarpus lambertii*), não houve diminuição significativa no peso seco das plantas (BONA; SANTOS, 2003).

Em *Spartina alterniflora* o petróleo foi bem tolerado, havendo apenas um pequeno decréscimo de biomassa (DELAUNE et al., 1979). Em *Sagittaria lancifolia* houve um pequeno acréscimo de biomassa quando comparada com o controle, porém, em *Spartina patens* ocorreu diminuição significativa de biomassa em plantas submetidas a contaminação com petróleo (PEZESHKI et al., 2000).

A resposta à contaminação com petróleo varia em função da espécie vegetal e das condições ambientais (PROFFITT et al., 1995, KUHN et al., 1998; SOUZA, 1999). Fica claro que existe o comprometimento do crescimento em plantas que se encontram em solo contaminado com petróleo, pois, as plantas submetidas ao tratamento controle quase sempre apresentam uma média superior no crescimento (altura, diâmetro do caule e peso seco). O comprometimento do crescimento das plantas que cresceram em solo contaminado com petróleo, pode ocorrer devido às alterações físicas provocadas pelo petróleo ou por absorção de algum hidrocarboneto que tenha interferido no metabolismo da planta.

Trabalhos de biorremediação descrevem que, após o tratamento do solo com microorganismos, ocorre uma diminuição do estresse provocado pelo petróleo no solo (GREEN et al., 1996, DORN et al., 1998, FRICK et al., 1999, HESTER; MENDELSSOHN, 2000). No mesmo solo contaminado com petróleo deste experimento, em condições de campo, a aroeira se adaptou muito bem e teve um incremento de aproximadamente 60% na altura, 200% no diâmetro e 400% no peso seco, quando comparada com a aroeira que estava em casa de vegetação (BONA; SANTOS, 2003).

Os elementos ferro, manganês, cobre, zinco e vanádio (Fe, Cu, Zn, Ni e V) não tiveram nenhum efeito negativo no crescimento das plantas, pois não atingiram níveis tóxicos (SANEPAR, 1999, LARCHER, 2000, CETESB, 2001). Entretanto, pelo petróleo ser um produto extremamente complexo, contendo vários subprodutos na sua constituição (benzeno, toluenos, clorobenzenos, enxofre) estudos mais específicos sobre absorção, ultraestrutura e metabolismo deveriam ser realizados para ampliar o conhecimento nesta área de contaminação.

4.4 DETERMINAÇÃO DE CLOROFILAS

Segundo a análise de variância não houve interação entre contaminação e a adubação para as variáveis, clorofila a, b e total (tabela 9). As plantas do solo contaminado apresentaram valores de clorofila a, b e total estatisticamente superiores aos das plantas do solo não contaminado, enquanto que as plantas do solo adubado apresentaram diminuição de todas as clorofilas (tabela 10).

TABELA 9 - ANÁLISE DAS VARIÁVEIS: CLOROFILA a, b E TOTAL DE *Schinus terebinthifolius*, CRESCENDO EM SOLO CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO COM PETRÓLEO, ADUBADO E NÃO ADUBADO

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADO MÉDIO		
		CLOROFILA ¹ <u>a</u>	CLOROFILA ¹ <u>b</u>	CLOROFILA ¹ TOTAL
SOLO CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO	1	0,138**	0,113**	0,133**
SOLO ADUBADO E NÃO ADUBADO	1	0,058*	0,054*	0,058*
CONTAMINAÇÃO X ADUBAÇÃO	1	0,105 ^{ns}	0,033 ^{ns}	0,030 ^{ns}
ERRO	28	0,11	0,010	0,011
TOTAL	31			
TESTE DE BARTLETT X ²		3,913 ^{ns}	2,987 ^{ns}	3,708 ^{ns}
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO %	19,17	5,34	6,14	4,79

ns= não significativo

* significativo a 5% de probabilidade

** significativo a 1% de probabilidade

(1) dados transformados por logaritmo

TABELA 10 - COMPARAÇÃO DE MÉDIAS DE CLOROFILA a, b E TOTAL (mg/g) DE *Schinus terebinthifolius* CRESCENDO EM SOLO CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO COM PETRÓLEO, ADUBADO E NÃO ADUBADO

Fator	Clorofila total	Clorofila <u>a</u>	Clorofila <u>b</u>
Solo não contaminado	128,04 (±25.22) B	88.52 (±18.37) B	39.55 (±7.67) B
Solo contaminado	177,35 (±62.80) A	123.88 (±44.31) A	53.52 (±18.75) A
Solo não adubado	169,97 (±65.81) A	118.14 (±46.25) A	50.87 (±19.85) A
Solo adubado	135,42 (±30.15) B	94.25 (±22.91) B	41.20 (±7.72) B

Médias (desvio padrão) seguidas por letras diferentes na vertical diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os teores de clorofilas, bem como, carotenóides, açúcares, amido, compostos fenólicos, proteínas são usados para associar qualidade ambiental e poluição (KNABE, 1982, AGRAWAL, 1992, MALALLAH 1998). Entretanto, existem poucos trabalhos relacionados à contaminação com petróleo e teor de clorofila.

Neste trabalho o aumento nos teores de clorofilas a, b e total nas folhas das plantas que estavam em solo contaminado com petróleo não se refletiu no aumento

da biomassa das plantas. BONA e SANTOS (2003), relatam que nessas condições, vacum (*Allophylus edulis*) e bracatinga (*Mimosa scabrela*) também tiveram aumento no teor de clorofila. MAYER (2004) observou que em guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*, nas mesmas condições deste experimento, as folhas das plantas que estavam em solo contaminado tiveram aumento no teor de clorofila, sendo que não ocorreu diferença na biomassa das plantas.

Em *Launaea mucronata* e *Picris babylonica* ocorreu aumento de clorofilas a, b, e total, em ambiente contaminado com petróleo (MALALLAH et al., 1998). Esses resultados podem ser comparados com os da aroeira. Resultados opostos, foram observados em várias espécies, com o aumento da concentração do petróleo (SING; GAUR, 1988, MALALLAH et al., 1998, GREEN et al., 1996). Entretanto, em *Spartina alterniflora* e *S. patens* não foi registrada alteração no teor de clorofila após cinco anos do desastre ambiental em ambiente pantanoso na Louisiana, nos Estados Unidos (HESTER; MENDELSSOHN, 2000).

Outros trabalhos analisam o estresse provocado pelo poluente através do consumo de CO₂, taxa de fotossíntese e biomassa (BEKER, 1970, DELAUNE, PATRICK, 1979, GOUDEY, 1985 et al., HESTER, MENDELSSOHN 2000, PESZESHKI et al. 2000). SMITH et al. (1981) descreveu uma grave diminuição da taxa de fotossíntese em *Spartina alterniflora*, com a diminuição da biomassa.

A relação do teor de clorofila, capacidade fotossintética e biomassa são influenciadas por outros fatores como disponibilidade hídrica, condutância estomática, macronutrientes, micronutrientes e condições do solo (WACHOWICZ et al., 2002).

Em aroeira neste experimento, o petróleo não influenciou negativamente a biossíntese da clorofila. Outro fator foi limitante para diminuição de biomassa, como por exemplo, a água. Segundo TAIZ e ZIEGER (2004) as rotas de síntese das moléculas de clorofilas consistem em mais de uma dúzia de etapas. Os processos da fotossíntese podem ser influenciados por fatores internos e externos que podem comprometer o rendimento total das plantas (LARCHER, 1984, 2000). É provável que o petróleo aderido às raízes tenha reduzido à absorção de água, interferindo diretamente na taxa de fotossíntese e na biomassa. MCCOWN³ apud RACINE (1993) concorda que existe um comprometimento na relação da água e da planta, com alteração no metabolismo dos indivíduos que estão em contato com petróleo.

4.5 MORFOLOGIA EXTERNA E INTERNA

Estudos realizados com morfologia e poluição do ar são mais freqüentes (LOATS; REBBECK, 1999, BUJOKAS 2001, BÜNDCHEN, 2001) do que trabalhos com contaminação por petróleo em plantas terrestres. Os estudos que relacionam plantas e petróleo visam mais os aspectos da morfologia externa do que da morfologia interna, dificultando essa discussão.

4.5.1 Raiz

As plantas de aroeira que estavam em solo contaminado apresentaram um sistema radicular mais ramificado e denso, quando comparadas com as raízes das plantas que estavam em solo não contaminado (figura 7). Nas mesmas condições desse experimento, foram observadas as mesmas características morfológicas na raiz de podocarpus (*Podocarpus lambertii*) e bracatinga (*Mimosa scabrela*) (BONA;

³ MCCOWN B. H. et al., The response of Alasck terrestrial plant communities to the presence of petroleum. **Symposium on the impact of oil resource on norther plant communities**, v. 1, p. 34-

SANTOS, 2003). O maior crescimento das raízes em solo contaminado se deve ao fato que o petróleo aderido nas raízes diminui a capacidade de absorção de água, criando um ambiente xerofítico. Segundo TAIZ e ZEIGER (2004) quando a planta sofre por falta de água, as raízes apresentam um crescimento mais acentuado das raízes secundárias que crescem “em busca de água”.

ADAM e DUNCAN (1999), também descreveram um aumento das raízes laterais em plantas crescendo em solo contaminado com petróleo. Detectaram que as raízes migravam para áreas não contaminadas quando tinham esta opção. Em outro trabalho foi observado um crescimento de nódulos de raiz em soja contaminada com 0.75% de petróleo no solo (CARR⁴ apud BAKER, 1970).

O maior crescimento das raízes pode descartar a contaminação com alguns metais pesados proveniente do petróleo, pois quando ocorre esse tipo de contaminação, há redução no crescimento das raízes (BARCELÓ, 1992, SOARES, 2001), o que não ocorreu com a aroeira. Os resultados das análises dos solos também descartam a contaminação com ferro, manganês, cobre, zinco e níquel que não chegaram à níveis tóxicos (MALAVOLTA, 1980, SANEPAR, 1999, LARCHER, 2000, CETESBE 2001).

Na morfologia interna da raiz não ocorreu diferença visível, na disposição dos tecidos ou danos celulares, entre os tratamentos. A raiz da aroeira, em crescimento secundário, apresenta periderme com canais resiníferos, parênquima cortical estreito com feixes de fibras junto ao floema. Na região do floema ocorre grande quantidade de células contendo compostos fenólicos. O xilema secundário é composto de elementos de vaso solitários, múltiplos ou em séries radiais, parênquima apotraqueal

43, 1973.

⁴ CARR, R. H. vegetative growth in soils containing crude petroleum. **Soil science**, v. 8, 67-68.

difuso, fibras e raios estreitos (figuras 8 e 9). Pouca quantidade de amido foi encontrada nas células do parênquima do xilema. As células do parênquima axial e radial se destacam pela presença de compostos fenólicos. Nas plantas do solo contaminado foi observada uma quantidade discretamente superior de compostos fenólicos, porém, testes quantitativos não foram realizados (figura 8 e 9). Porém, nas mesmas condições deste experimento, em guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*), foi visível que as plantas que estavam em solo contaminado apresentaram uma quantidade superior de compostos fenólicos e inferior de amido (MAYER, 2004). Este resultado corrobora com o encontrado em aroeira, indicando que testes quantitativos complementares poderiam ser realizados nesta área.

5.5.2 Caule

Não foram observadas diferenças na disposição de tecidos, danos celulares na estrutura interna do caule e nem indício de petróleo no sistema vascular. O caule de aroeira se encontra em crescimento secundário, apresenta periderme evidente e córtex parenquimático. O floema é amplo e apresenta calotas de fibras periféricas, canais resiníferos e células parenquimáticas ricas em compostos fenólicos (figuras 10 a 13). O xilema secundário é composto de elementos de vaso solitários, múltiplos em séries radiais, fibras e raios estreitos. Diferentemente da raiz os raios não apresentaram compostos fenólicos em nenhum dos tratamentos. A medula é parenquimática e possui canais resiníferos dispostos de maneira aleatória e células com compostos fenólicos (figura 13).

No caule não foram visualizadas diferenças na de quantidade de compostos fenólicos entre os tratamentos (figuras 10 a 13). Nas plantas que estavam em solo não contaminado de ambos os tratamentos (com e sem adubo) não foi observado

amido na região da medula, enquanto que no solo contaminado foi observado uma pequena quantidade.

Testes microquímicos para compostos fenólicos e amido não evidenciaram diferenças claras entre os tratamentos. Ocorreram pequenas diferenças na quantidade de amido entre indivíduos do mesmo tratamento. Talvez um estudo mais específico e com um número maior de indivíduos consiga detectar se há ou não diferenças entre os tratamentos. Entretanto, em guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*), foi visível uma quantidade superior de composto fenólicos e inferior de amido, nas plantas que estavam em solo contaminado com petróleo, nas mesmas condições deste experimento (MAYER, 2004).

Em aroeira a quantidade de amido e compostos fenólicos não foram evidentes como em guabiroba (MAYER, 2004). Mais uma vez fica evidente que cada espécie vegetal pode apresentar respostas diferentes ao contaminante e que testes quantitativos para amido e compostos fenólicos poderão complementar este trabalho.

5.5.3 Folha

As folhas não apresentaram diferenças visíveis na coloração e na área foliar entre os tratamentos. Entretanto, mesmo sendo semelhantes, as folhas das plantas contaminadas possuíam mais clorofila. Da mesma forma, *Tradescantia correlates* crescendo em óleo combustível, não teve mudança morfológica, mesmo com alteração no teor de clorofila (GREEN et al., 1996).

Na área foliolar total e área foliar específica não houveram diferenças estatísticas entre as folhas das plantas que foram submetidas ao solo contaminado e não contaminado (tabela 11 e 12). Entretanto, foi observada uma tendência na

diminuição da área foliolar total das folhas das plantas que estavam em solo contaminado (tabela 12). PROFFITT et al. (1995), observou uma diminuição das folhas de *Rizophora mangle* tratadas com petróleo. Esse resultado assim como em aroeira, sugere uma redução de área foliar, uma característica xeromórfica.

Em secção transversal, a folha, apresenta células epidérmicas da face adaxial maiores que as da face abaxial. Internamente à epiderme da face adaxial ocorre uma camada de células sub-epidérmicas aclorofiladas. Essas células são mais volumosas nas plantas dos tratamentos com solo adubado (figuras 14 a 17). Os estômatos estão presentes somente na face abaxial, o que caracteriza a folha como hipoestomática. As células epidérmicas não apresentaram diferenças na altura e na espessura da parede entre os tratamentos (figuras 14 a 17).

O mesofilo é formado por duas ou três camadas de células de parênquima paliçádico e quatro a seis camadas de parênquima lacunoso. As plantas do solo contaminado e adubado apresentaram um ligeiro aumento na espessura do limbo, devido principalmente ao alongamento das células do parênquima paliçádico (tabelas 11 e 12; figuras 14 a 17). Compostos fenólicos são encontrados principalmente na primeira camada de células do parênquima paliçádico nas plantas de todos os tratamentos.

Não houve interação entre os fatores contaminação e adubação, também não houve diferença significativa para a variável área foliolar, área foliar específica, espessura do limbo, espessura dos parênquimas paliçádico e lacunoso (tabela 11 e 12). Porém a área foliolar apresentou uma redução na média dos folíolos das plantas que estavam em solo contaminado. Soma-se a este resultado um aumento das médias da espessura do limbo, do parênquima paliçádico e lacunoso das folhas

das plantas em solo contaminado. Pode existir uma tendência ao xeromorfismo (ESAU, 1981, RAVEN, 2001, MENEZES et al., 2003) nas folhas das plantas que cresceram em solo contaminado com petróleo. Esta tendência também foi observada em podocarpus (*Podocarpus lambertii*) (MARANHO, 2004). Entretanto, diferenças estatísticas na espessura dos tecidos fotossintetizantes e espessura total do limbo não foram observadas por BONA e SANTOS (2003) em bracatinga (*Mimosa scabrela*), vacum (*Allophylus edulis*) e podocarpus (*Podocarpus lambertii*).

A nervura central se caracteriza por apresentar colênquima subepidérmico em ambas as faces da folha e dois ou três feixes vasculares de grande porte. Os feixes vasculares se destacam pelo floema bem desenvolvido, contendo canais resiníferos e grande quantidade de compostos fenólicos, sendo que esses últimos estão concentrados nas células parenquimáticas e endoderme. Não foram constatadas diferenças estruturais nas folhas das plantas dos diferentes tratamentos (figuras 18 a 21).

TABELA 11 - ANÁLISE DAS VARIÁVEIS: ÁREA FOLIOLAR, ÁREA FOLIAR ESPECÍFICA (AEF), ESPESSURA DO PARÊNQUIMA PALIÇÁDICO, ESPESSURA DO PARÊNQUIMA LACUNOSO, ESPESSURA TOTAL DO LIMBO DE *Schinus terebinthifolius*, CRESCENDO EM SOLO CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO COM PETRÓLEO, ADUBADO E NÃO ADUBADO

FONTE DE VARIAÇÃO	QUADRADO MÉDIO					
	GL	ÁREA FOLIOLAR	A. F. E.	ESPESSURA		
				PARÊNQUIMA PALIÇÁDICO	PARÊNQUIMA LACUNOSO	TOTAL LIMBO ²
SOLO CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO	1	0,570 ^{ns}	3964,951 ^{**}	743,55 ^{ns}	448,87 ^{ns}	0,011 ^{ns}
SOLO ADUBADO E NÃO ADUBADO	1	11,72 [*]	181,261 [*]	743,55 ^{ns}	36,95 ^{ns}	0,003 ^{ns}
CONTAMINAÇÃO X ADUBAÇÃO	1	0,554 ^{ns}	868,820 ^{ns}	9017 [*]	36,48 ^{ns}	0,004 ^{ns}
ERRO	28	0,450	307,234	205,210	98,96	0,002
TOTAL	31					
TESTE DE BARTLETT χ^2		0,469 ^{ns}	7,327 ^{ns}	0,1361 ^{ns}	0,682 ^{ns}	0,064 ^{ns}
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO %	19,17	18,54	12,66	14,17	19,97	1,97

ns= não significativo

* significativo a 5% de probabilidade

** significativo a 1% de probabilidade

(2) dados transformados por raiz quadrada

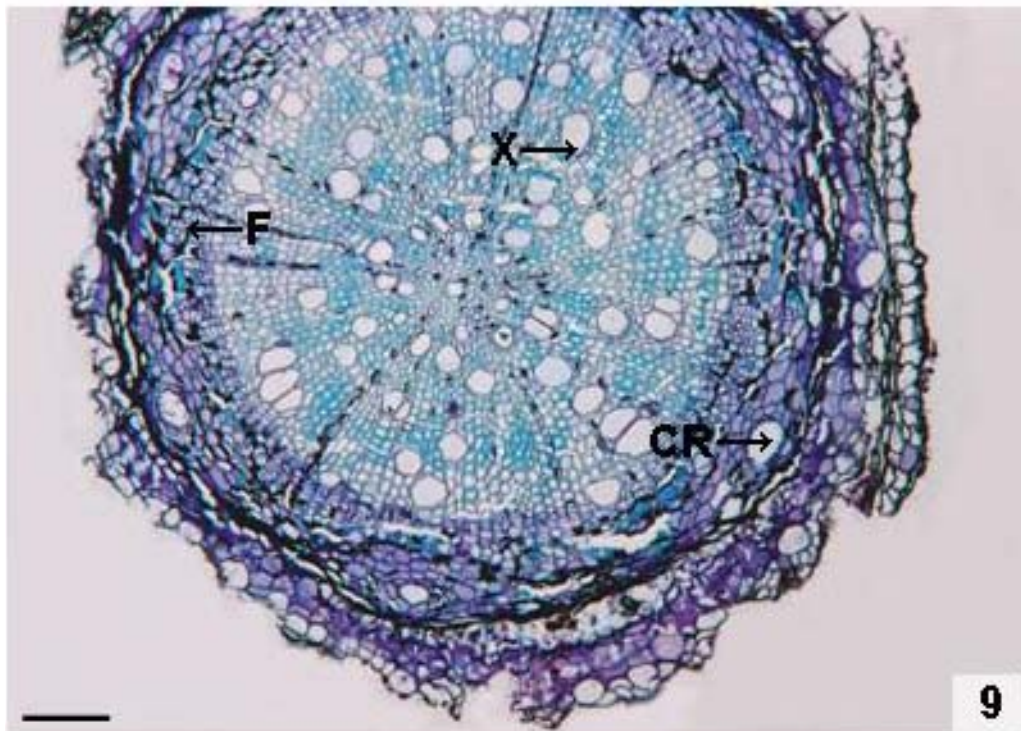
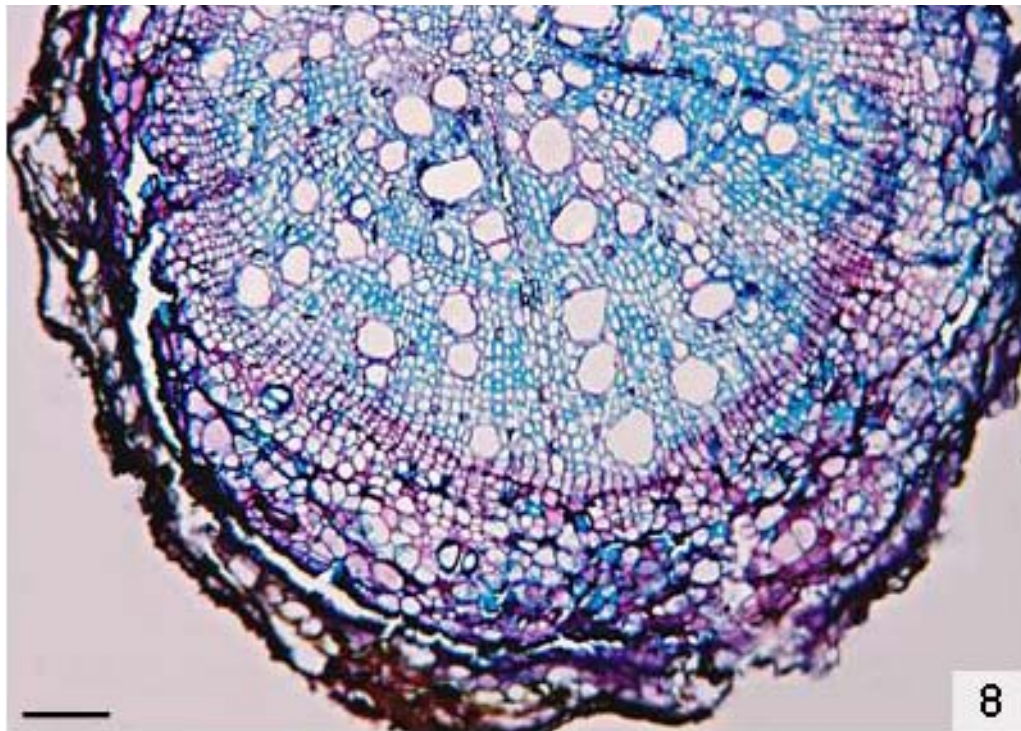
TABELA12 - COMPARAÇÃO DE MÉDIAS DA ÁREA TOTAL DO FOLÍOLO (cm), ÁREA FOLIAR ESPECÍFICA (cm²/g), ESPESSURA TOTAL DO LIMBO (µm) DE *Schinus terebinthifolius* CRESCENDO EM SOLO CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO COM PETRÓLEO, ADUBADO E NÃO ADUBADO

Fator	Área total do folíolo (cm ²)	Área foliar específica (cm ² /g)	ESPESSURA		
			parênquima paliçádico (µm)	parênquima lacunoso (µm)	total do limbo (µm)
			Solo não contaminado	7.53 (±0,85) A	127,29(±20,,59) A
Solo contaminado	6.96 (±0,95) A	149,55 (±14,81) A	106,05 (±17,94) A	53,55 (±9,30) A	194,75 (±29,08) A
Solo não adubado	8.47 (±0,75) A	136,04 (±16,70) A	106,05 (±13,81) A	48,73 (± 11,04) A	191,91 (±19,48) A
Solo adubado	6.05 (±0,59) B	140,80 (±24,83) A	96.413 (±15,60) A	50,88 (±9,75) A	193,82 (±21,22) A

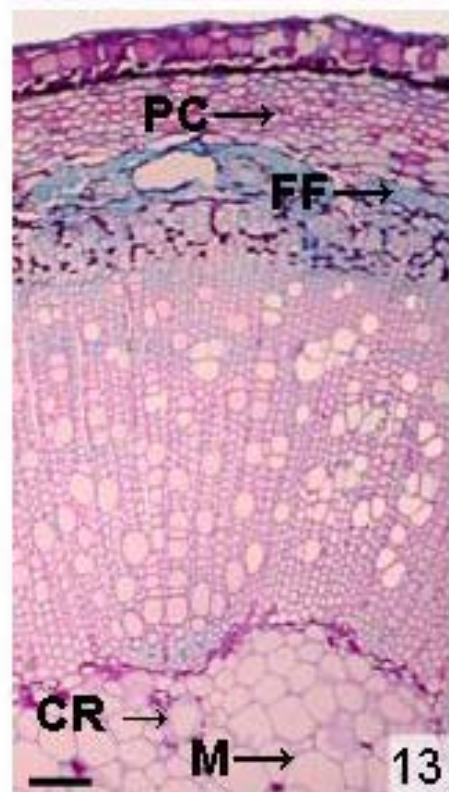
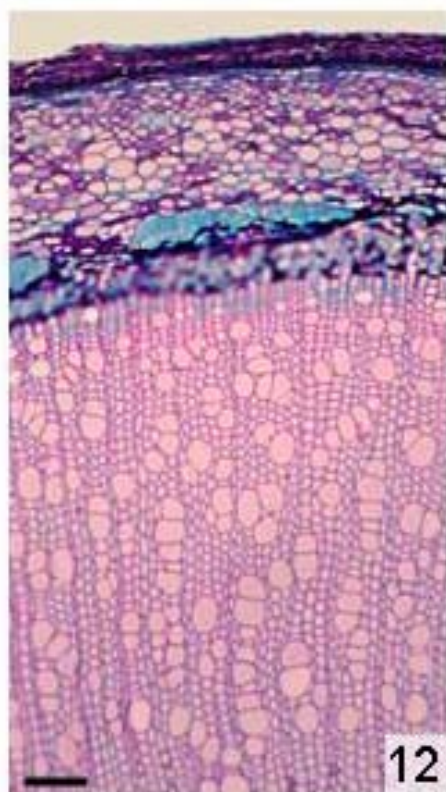
Médias (desvio padrão) seguidas pelas letras maiúsculas na horizontal, médias seguidas pelas letras minúsculas na vertical. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



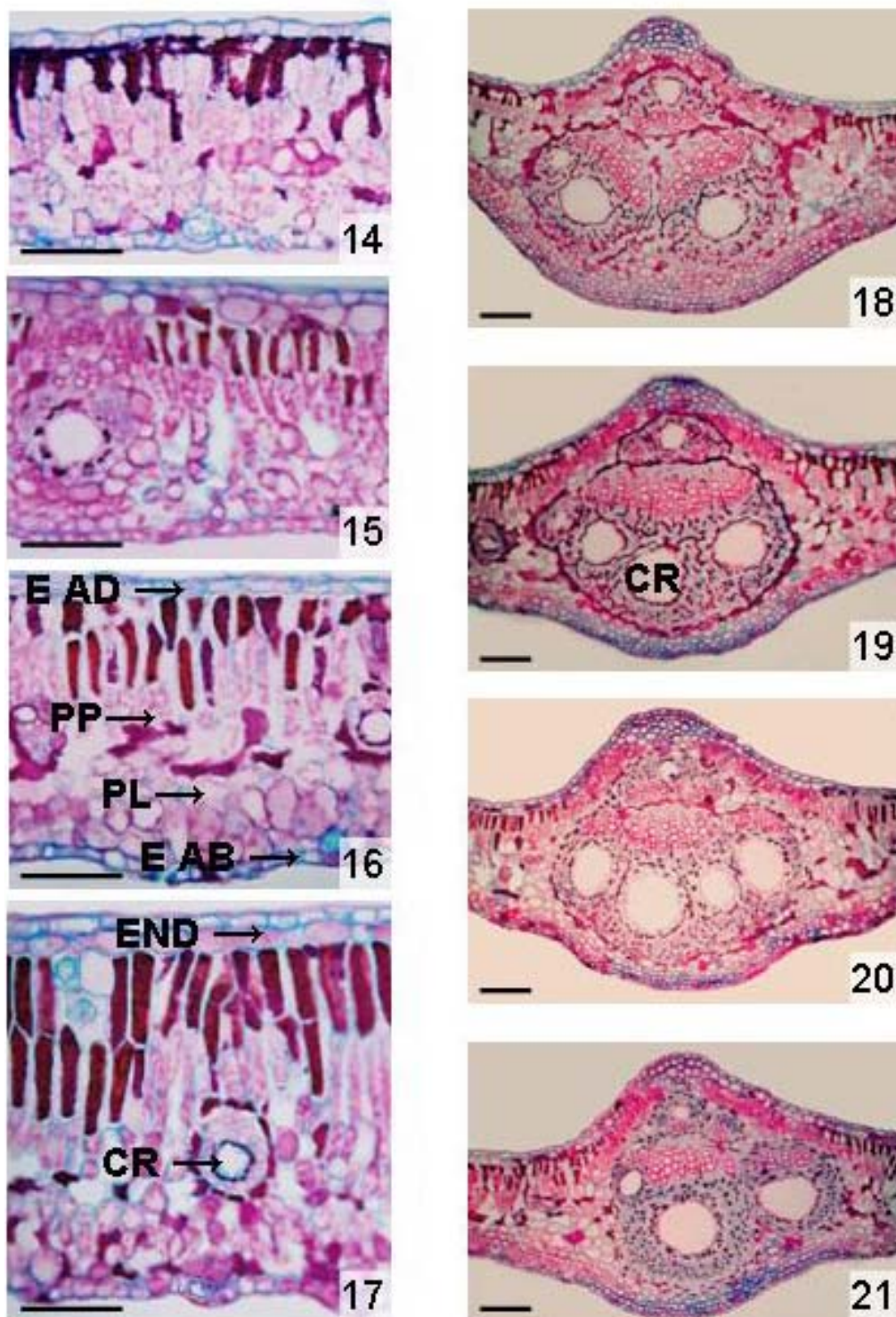
FIGURAS 6 e 7 - *Schinus terebinthifolius*. 6 - Aspecto geral e altura das plantas em solo contaminado e não contaminado com petróleo (fita =1m de altura). 7 - Sistema radicular das plantas após um ano de experimento; (c/sa) solo contaminado sem adubo, (c/ca) solo contaminado com adubo, (nc/sa) solo não contaminado sem adubo, (nc/ca) solo não contaminado com adubo, (barra = 15cm).



FIGURAS 8 e 9 – Secções transversais da raiz *Schinus terebinthifolius*. 8- Raiz em solo não contaminado sem adubo. 9- Raiz em solo contaminado sem adubo, (barra= 100 µm). (X) xilema, (F) floema, (CR) canal resinífero.



FIGURAS 10 a 13 – Secções transversais do caule de *Schinus terebinthifolius*. 10- Caule em solo não contaminado sem adubo. 11- Caule em solo não contaminado com adubo. 12- Caule em solo contaminado sem adubo. 13- Caule em solo contaminado com adubo, (barra= 100 μ m). (X) xilema, (F) floema, (CR) canal resinífero, (FF) fibras do floema, (PC) parênquima cortical, (M) medula.



FIGURAS 14 a 21 – Secções transversais da folha de *Schinus terebinthifolius*. 14 a 17- Limbo. 14- Solo não contaminado sem adubo. 15- Solo não contaminado com adubo. 16- Solo contaminado sem adubo. 17- Solo contaminado com adubo. 18 a 21 - Nervura central. 22- Solo não contaminado sem adubo. 23- Solo não contaminado com adubo. 24- Solo contaminado sem adubo. 25- Solo contaminado com adubo (barra= 100 µm). (E AD) epiderme da face adaxial, (E AB) epiderme da face abaxial, (PP) parênquima paliçádico, (PL) parênquima lacunoso, (END) endoderme, (CR) canal resinífero, (AM) amido.

5 CONCLUSÕES

Schinus terebinthifolius mostrou ser uma planta tolerante à contaminação com petróleo, apresentando alterações significativas no crescimento, teor de clorofila e pequenas alterações morfológicas das plantas que cresceram em solo contaminado com petróleo. A espécie parece ser apta na revitalização de áreas contaminadas por petróleo.

O solo contaminado com petróleo aumentou o teor de clorofila nas plantas, mas não refletiu num aumento na taxa de fotossíntese, pois não houve aumento no crescimento e na biomassa das plantas.

O adubo não causou diferença no crescimento das plantas em solo contaminado com petróleo.

Os resultados de crescimento e de morfologia indicam que houve um prejuízo na absorção de água, pois as características foram mais xeromólicas, como: raízes mais ramificadas, redução de área foliolar e aumento da espessura dos parênquimas. Estudos a médio e longo prazos em campo deveriam ser realizados para acompanhar o crescimento e desenvolvimento *Schinus terebinthifolius*. Este trabalho abre espaço para se fazer estudos complementares mais específicos de absorção, transporte e ultraestruturais.

6 REFERÊNCIAS

ADAN, G.; DUNCAN, J. H. Effect of diesel fuel on growth of selected plants species. **Environmental Geochemistry and Health**, Dordrecht, v. 21, p. 353-357, 1999.

AGRAWAL, S. B. Effect of supplemental UV-B radiation on photosynthetic pigment, protein and glutathione contents in algae. **Environmental and Experimental Botanical**, Amsterdam, v. 32, p. 137- 143, 1992.

ALI, E. A. Damage to plants due to industrial pollution and their use as bioindicators in Egypt. **Environmental Pollution**, Barking, v.81, p. 251-255, 1993.

ARNON, D. I.C. Cooper enzymes in isolated chloroplasts. Polyrenol oxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Washington, D.C., v. 24, p. 1-15, 1949.

BAGGIO, B.J. Aroeira como potencial para usos múltiplos na propriedade rural. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Curitiba, v. 17, p. 25-32, 1988.

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

BAKER, M. J. A. Accumulators and excluders - Strategies in the response of plants to heavy metals. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 3, p. 643-654, 1981.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER CH. Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. **Suelo y Planta**, Madrid, v. 2, p. 345-361, 1992.

BENINCASA, M.M.P. **Análise de Crescimento de Plantas**: noções básicas. Jaboticabal: FCAV-UNESP, 1986.

BOEGER, M.R.; ALVES, L.C.; NEGRELLE, R.R.B. Variações morfo-anatômicas dos folíolos de *Tapirira guianensis* em relação a diferentes estratos da floresta. **Biotemas**, Florianópolis, v. 11, n. 2, p. 27 – 38, 1998.

BOEGER, M.R.; BRITO, C. J. F.; NEGRELLE, R. R. B. Relação entre características morfo-anatômicas foliares e esclerofilia em oito espécies arbóreas de um trecho de Floresta Pluvial Atlântica. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 40, p. 493-503, 1997.

BOLLAG J.; MERTZ T.; OTJEN L. In: ANDERSON, T. A.; COASTS, J. R. (Eds) **Role of microorganisms in soil bioremediation**. Washington, DC: American Chemical society, 1994. p. 2-10. (ACS Symposium series, v.97, M. 563).

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

BRITO, C.J.F.A.; ALQUINI, Y. A new method for staining botanical material embedded in glycol methacrylate (GMA). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 39, p. 949-951, 1996.

BUJOKAS, M. W. **O impacto da poeira de cimento em *Schinus therebinthifolius* Raddi**. Curitiba, 2001. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

BÜNDCHEN, M. **Respostas morfo-anatômicas e fisiológicas em folhas de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze (Araucariaceae) sujeitas à poluição urbana**. Curitiba, 2001. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

CAPITÃO DO CARGUEIRO QUE POLUIU GALÁPAGOS É PRESO. Disponível em: <http://www.bbc.co.uk/portuguese/noticias/2001/010125_galapagos.shtml>. Acesso em: 03 fev. 2003.

CENAID - CENTRO DE APOIO CIENTIFICO EM DESASTRES AMBIENTAIS, Disponível em: <<http://www.ufpr.br/nimad/artigorenato.htm>>. Acesso em: 15 ago. 2000.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Relatório de abastecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. São Paulo, 2001. Relatório técnico.

CHAZDON, R.L.; KAUFMANN, S. Plasticity of leaf anatomy of two rain forest shrubs in relation to photosynthetic light acclimation. **Functional Ecology**, Oxford, v. 7, p. 385- 394, 1993.

CHEN, K.; CHIU, S.Y. The effect of diesel oil and dispersants on growth, photosynthesis and respiration of *Chorella salina*. **Archives Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 14, p. 325-331, 1985.

CHIAVENATO, J.J. **O massacre da natureza**. São Paulo: Editora Moderna, 1989.

CLIJSTERS, H.; ASSCHE, V. F. Inhibition of photosynthesis by heavy metals. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 7, p. 31-40, 1985.

CUNNINGHAM, S. D.; OW, D. W. Promises and prospects of phytoremediation. **Plant Physiology**, Washington, DC, v. 110, p. 715-719, 1996.

DELAUNE, R. D.; PATRICK, W.H., BURESH R. J. Effect of crude oil on a Louisiana *Spartina alterniflora* Salt Marsh. **Environmental Pollution**, Barking, v. 1, p. 21-31, 1979.

DORN, P. B. VIPOND T. E., SALANITRO J. P., WISNIEWSKI H. L. Assessment of the acute toxicity of crude oils in soils using earthworms, microtox and plants. **Chemosphere**, Oxford, v. 35, p. 845-860, 1998.

ELTROP, L.; BROWN, G.; JOACHIM, O.; BRINKMANN, K. Lead tolerance of *Betula* and *Salix* in the mining area of Mechernich/ Germany. **Plant and Soil**, The Hague, v. 131, p. 279-285, 1991.

ERNST, W. Variation in the mineral contents of leaves of trees in miombo woodland in south Central Africa. **The Journal of Ecology**, Oxford, v.61, p. 801-807, 1975.

ESAU K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: Edgard Blücher, 1981.

FAHN, A. **Plant anatomy**. Oxford: Pergamon, 1990.

FARAH, M. A. **Caracterização do petróleo e seus produtos- Parte1-combustíveis**. Curitiba: Refinaria Presidente Getúlio Vargas, 1996. Relatório técnico.

FEDER, N.; O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 55, p. 123-142, 1968.

FRICK, C. M.; FARRELL, R. E.; GERMIDA, J. J. **Assessment of phytoremediation as in-situ technique for cleaning oil-contaminated sites**. Saskatoon: Department of Soil Science, University of Saskatchewan, 1999. Relatório técnico.

FUNDAÇÃO ANDRÉ TOSELLO PESQUISA E TECNOLOGIA. **Base de dados tropical-BDT**. Disponível em :< <http://www.bdt.fdt.fat.org.br/iRead?23=flora.cerrado=410>>. Acesso em: 11 out. 2003.

GAUR, J. P.; KUMAR, H. D. Growth response of four microalgae to three crude oil and a furnace oil. **Environmental Pollution**, Barking, v. 25, p. 77-85, 1981.

GAUR, J. P.; SINGH, A. K. Growth, photosynthesis and nitrogen fixation of *Anabaena doliolim* exposed to assam crude extract. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 44, p. 494-500, 1990.

GOODLAND R. Oligotrofismo e alumínio no cerrado. In: **Simpósio sobre o cerrado** (3.: 1971: São Paulo, SP.). São Paulo: Edusp, São Paulo, 1971. p. 44-60.

GOUDEY, J. S.; DALE M.; HODDINOTT, J. The effects of oil spill chemicals on transpiration, CO² exchange, and cuticular structure in *Salix interior*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 63, p. 2340-2344, 1985.

GREEN, T. B., et al. Phytotoxicity observed in *Tradescantia correlates* with diesel fuel contamination in soil. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 36, p. 313-321, 1996.

GREENPEACE: VAZAMENTO ARRUINOU A PESCA NA ESPANHA. Disponível em: < http://www.bbc.co.uk/portuguese/economia/021119_greenpeaceae.shtml>. Acesso em: 3 fev. 2003.

HARIDASAN, M. Nutrição mineral de plantas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, p. 54-64, 2000.

HESTER, M. W.; MENDELSSOHN, I. A. Long-term of a Louisiana brackish marsh plant community from oil – spill impact: vegetation response and mitigating effects of marsh surface elevation. **Marine Environmental Research**, Barking, v. 49, p. 233-254, 2000.

HUANG, J. W.; CUNNINGHAM, S. D. Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation. **New Phytologist**, Cambridge, v. 134, p. 75- 84, 1996.

INCENDIO EM OLEODUTO NA NIGÉRIA. Disponível em: < http://www.bbc.co.uk/portuguese/noticias/2000/001130_nigeria.shtml>. Acesso em: 3 fev. 2003.

JAFFRÉ, T.; BROOKS, R. R.; LEE, J.; REEVES, R. D. *Sebertia acuminata*: A hiperaccumulator of nickel from New Caledonia. **Science**, Washington, DC, v. 193, p. 579-580, 1976.

JEFFREY, D. W.; MADDEN, B. Bioindicators and environmental management. London: **Academic Press**, 1994.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: Mc Graw Hill, 1940.

KLICH, M. G. Leaf variations in *Elaeagnus angustifolia* related to environmental heterogeneity. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 44, p. 171-183, 2000.

KNABE, W. Monitoring of air pollutants by wild plants and plant espessure. In: STEUBING, L.; JAGER, H.J. **Conitoring of air pollutants by plants**. Dordrecht: Junk, 1982. p. 59-72.

KRÖKER, E. A.P. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Disponível em: <http://www.2usp.br/portugues/usfacil/buscasp/frame.busca.php?num=20&q=anatomia+vegetal7submit.x=12&SUBMIT.Y=7>. Acesso em: 18 dez. 2003.

KRUGER, E.L., ANDERSON, T.A.; COATS, J.R. **Phytoremediation of soil an water contaminants**. Washington, DC: American Chemical Society, 1997. p. 2-17. (ACS Symposium series, M. 664).

KUHN, W.; GAMBINO R.; AL-AWADHI, N.; BALBA, T. M.; DRAGUN, J. Growth of tomato plants in soil contaminated Kuwait crude oil. **Journal of Soil Contamination**, Boca Raton, v. 7, p. 801-806, 1998.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária, 1984.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima Artes e Textos, 2000.

LLERAS, E. Differences in stomatal number per unit area within the same species under different micro-environmental conditions: a working hypothesis. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 7, p. 473- 476, 1977. LOATS, K. V.;

REBBECK, J. Interactive effects of ozone and elevated carbon dioxide on the growth and physiology of black cherry, green ash, and yellow-poplar seedlings. **Environmental Pollution**, Barking, v. 106, p. 237-248, 1999.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: Manual de identificação e cultura de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1992.

MADRI, M., LLERAS T. Pigment changes in Norway spruce induced by dust pollution. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 94, p. 247-258. 1979.

MALALLAH, G. A.; AFZAL, M.; GULSHAN, S.; ABRAHAM, D.; KURIAN, M.; DHAMI M. S. *Vicia faba* as a bioindicator for oil pollution. **Environmental Pollution**, Barking, v. 92, p. 213-217, 1996.

MALALLAH, G. A.; AFZAL, M.; KURIAN, A.; ABRAHAM, D.; Genotoxicity of oil pollution of some species of Kuwait flora. **Biologia**, Bratislava, v. 52, p. 61-70, 1997.

MALALLAH, G.; AFZA, M.; KURIAN, M.; GULSHAN S.; DHAMI M. S. I. Impact of oil pollution on some desert. **Environmental Pollution**, Barking, v. 24, p. 919-924, 1998.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1980.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola, adubos e adubação**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1981.

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

MARANHO, L. T. **O efeito do vazamento de petróleo nas folhas e lenho de *Podocarpus lamberti* (Podocarpaceae)**. Curitiba, 2004. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal), Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

MARQUES, R. MOTTA A. C. V. Análise química do solo para fins de fertilidade. LIMA M. R. et al. **Manual de diagnóstico da fertilidade e manejo dos solos agrícolas**. Curitiba: Editora UFPR, 2003.

MAYER J. L. S., BONA C., SANTOS. G. O. **Impacto do solo contaminado com petróleo no teor de clorofila e massa seca de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. (Myrtaceae)**. In: Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal (9.: 2003: Atibaia) Caderno de resumo. IX Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal: novas abordagens para antigos problemas [S.L.: S.M.], 2003, p. 288.

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

MEDEIROS, J.D.; STEFANI, M.R. Anatomia ecológica de la hoja de olandi *Calophyllum brasiliense* Camb. (Cusiaceae). **Biotemas**, Florianópolis, v. 10, p. 77 - 96, 1997.

MEDRI, M.E.; LLERAS, E. Anatomia foliar e ecologia de *Bertolletia excelsa* Humb. A. Benpl. (castanha-do-pará- Lecythidaceae). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 9, p. 15-25, 1979.

MELO; J. M.; RAPOSO, M.; LISBOA, A.; DINIZ, A.; MARCELINO, C.; SANT'ANA G. Medicinal plants in the healing of dry socket in rats: Microbiological and microscopic analysis. **Phytomedicine**, Jena, v. 9, p. 109-116, 2002.

MENEZES N. L.; SILVA D. C.; PINNA G. F. M. Folha. In: PAOLI, A. et al. **Anatomia Vegetal**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003.

MEZIANI, D.; SHIPLEY, B. Interacting determinants of specific leaf area in 22 herbaceous species: effects of irradiance and nutrient availability. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 22, p. 447-459, 1999.

NAUFRÁGIO PROVOCA DESASTRE ECOLÓGICO. Disponível em: <http://www.bb_bc.co.uk/portuguese/noticias/2002/021119_galeria1amt.shtml>. Acesso em: 4 fev. 2003.

PETROBRAS, a. Disponível em: <www.2.petrobras.com.br/portugues/index.asp#>. Acesso em: 10 maio 2002.

PETROBRAS, b. Disponível em: <www.petrobras/boletim/Boletim_45_1/identificacaodi<istribuicao.pdf />. Acesso em: 10 maio 2002.

PETROBRAS. **Caracterização física e química preliminar do óleo derramado na REPAR em julho de 2000**. Curitiba, 2003. 2p. Relatório técnico.

PEZESHKI, S.R.; DELAUNE, R.D.; JUGSUJINDA, A. The effects of crude oil and effectiveness of cleaner application following oiling on US Gulf of Mexico coastal marsh plants. **Environmental Pollution**, Barking, v. 112, p. 483-489, 2000.

PINTRO, J.; BARLOY J.; FALLAVIER P. Aluminium toxicity in plants cultivated in a low ionic strength solution, discrimination of two corn cultivars. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 7, p. 121-128, 1995.

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

RACINE, C. H. Long-term recovery on two experimental crude oil spills in interior Alasck black spruce taiga. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 72, p. 1171-1177, 1993.

RAVEN, E.E. **Biologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

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

RIO IGUAÇÚ: Balanço em 16 de agosto de 2000. {Curitiba} Petrobras, 2000 -1: Folder.

ROTH, I. **Microtecnica vegetal**. Caracas: Universidad Central de Venezuela, 1964.

SAKAI, S. W., Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue. **Stain Technology**, Baltimore, v. 48, 1973.

SANEPAR – Companhia de Saneamento do Paraná. **Uso e manejo do lodo de esgoto na agricultura**. Curitiba: Programa de Pesquisa em Saneamento Básico-PROSAB, 1999, 97 p. Relatório técnico.

SANTOS, Q.J. **Fundamentos da utilização de adubos e corretivos**. [Lisboa]: Europa-América, 1991.

SINGH, A. K.; GAUR, J. P. Effect of assam crude on photosynthesis and associated electron transport system in *Anabaena doliolum*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 41, p. 776-780, 1988.

SINGH, A. K.; KUMAR, H. D. Inhibitory effects of petroleum oil on photosynthetic electron transport system in the Cyanobacterium *Anabaena doliolum*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 47, p. 187-194, 1991.

SIQUEIRA P. D. J. et al. **Diagnóstico e monitoramento da cobertura vegetal da área de influência direta e indireta do vazamento de óleo da Refinaria Presidente Getúlio Vargas - REPAR, Araucária/ Pr**. Curitiba: Funpar-UFPR, 2001. 76p. Relatório técnico.

SMITH, C. J.; DELAUNE, R. D.; PATRICK, JR. H. W. A method for determining stress in wetland plant communities following an oil spill. **Environmental Pollution**, Barking, v. 26, p. 297- 304, 1981.

SOARES, C.; ACCIOLY A.; MARQUES T.; SIQUEIRA J.; MOREIRA F.; Acúmulo e distribuição de metais pesados nas raízes, caule e folhas de mudas de árvores em solo contaminado por rejeitos de indústria e zinco. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, p. 302-315, 2001.

SOBRADO, M. A.; MEDINA, E. General morphology, anatomical structure, and nutrient content of sclerophyllous leaves of the "bana" vegetation of Amazonas. **Oecologia**, Berlin, v. 45, p. 341-345, 1980.

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

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

VAZAMENTO DE ÓLEO AMEAÇA A COSTA SUL AFRICANA. Disponível em: <http://www.bbc.co.uk/portuguese/ciencia/020913_oleomp.shtml>. Acesso em : 4 fev. 2003.

VOGELMANM, T. Light within the plant. In: KENDRICH, R. E; KROENBERG, G.H.M. **Photomorphogenesis in plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994.

VOLTAN, R.B.Q.; FAHL, J.I.; CARELLI, M.L.C. Variação na anatomia foliar de cafeeiros submetidos a diferentes intensidades luminosas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 4, p. 99-105, 1992.

WABGENSTEEN, O. Plantas que lo chupan tudo. **Ciência digital**. Disponível em: < www.cienciadigital.net/mayo2002/fito.html >. Acesso em: 10 abr. 2002.

WACHOWICZ, M. C. et al. **Fisiologia Vegetal: Produção de pós-colheita**. Curitiba: Champagnat, 422 p., 2002.

WALTON B. T., GUTHRIE E. A. , HOYLMAN. In: ANDERSON, T. A.; COASTS, J. R. (Eds) **Bioremediation through rhizosphere technology**. Washington, DC.: American Chemical society, 1994. p. 11-26. (ACS Symposium series, v.97, M. 563).

WILLIAN, A.; PATERSON, III.; OLSON, J. J. Effects of heavy metals on radicle growth of selected woody species germinated on filter paper, mineral and organic soil substrates. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v.13, p. 233-238, 1982.

WITKOWSKI, E. T. F. ; LAMONT, B. B. Leaf Specific mass confounds leaf density and thickness. **Oecologia**, Berlin, v. 88, p. 486-493, 1991.

WOODMASEE, M. Welcome to the sun Schinus state. Disponível em: <everglades.fiu.edu/fiu/idh4007/woodmansee1.htm/>. Acesso em: 24 jul. 2002.

XIONG, Z.T.; HU, H.X.; WANG Y. X.; FU, G. H.; TAN, Z. Q.; YAN, G.A. Comparative analyses of soil contaminant levels and plant species diversity at developing and disused oil well sites in Qianjiang Oilfield, China. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 58, p. 667-672, 1996.

ZHELJAZKOV, D. V.; NIELSEN E. N. Studies on the effect of heavy metals (Cd,Pb, Cu, Zn and Fe) upon the growth, productivity and quality of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 8, p. 259 – 274, 1996.