

MICHELLA YAMAMURA BARDELLI DA SILVA

**INFLUÊNCIA DO SOLO CONTAMINADO COM ÓLEO DIESEL NA
GERMINAÇÃO, CRESCIMENTO E MORFOANATOMIA DE
Sebastiania commersoniana (Baill.) L. B. Sm. & Downs
(EUPHORBIACEAE)**

CURITIBA
2006

MICHELLA YAMAMURA BARDELLI DA SILVA

**INFLUÊNCIA DO SOLO CONTAMINADO COM ÓLEO DIESEL NA
GERMINAÇÃO, CRESCIMENTO E MORFOANATOMIA DE
Sebastiania commersoniana (Baill.) L. B. Sm. & Downs
(EUPHORBIACEAE)**

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

Orientadora: Profa. Dra. Cleusa Bona

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz A. de Souza

CURITIBA
2006

Ao meu filho, Leonardo, por não dedicar-lhe o tempo em que estive mergulhada na feitura desta obra.

A meus pais, Amir e Yae, por me dispensarem um olhar confiante a minhas escolhas.

AGRADECIMENTOS

À prof. Dra. Cleusa Bona, pela orientação, paciência e confiança no decorrer desta pesquisa, e também por me acolher mesmo sabendo de minhas dificuldades em anatomia vegetal.

Ao prof. Dr. Luiz Antonio de Souza, pela co-orientação e amizade, sempre pronto a transmitir seus conhecimentos com muito carinho e atenção.

Ao prof. MSc. Gedir de Oliveira Santos, pelas correções e auxílio na realização desta pesquisa.

Ao biólogo Nilson Belém Filho, pelo auxílio no Laboratório de Botânica Estrutural, e principalmente pela amizade.

Ao funcionário José Carlos, pela atenção e amizade.

À Embrapa Florestas, em especial ao Dr. Antonio Carlos Medeiros, por fornecer as sementes utilizadas para a realização deste trabalho.

À CAPES, pela concessão da bolsa de pesquisa.

Aos professores do tempo do Curso de Graduação em Engenharia Florestal, que fizeram parte de minha formação acadêmica e transmitiram boa parte de seus conhecimentos, em especial a: Décio J. de Figueiredo, Carlos Veloso Roderjan, Franklin Galvão, Henrique Soares Koehler, Elide Pereira dos Santos, Márcio Pereira da Rocha, Antonio Carlos Batista, Daniela Biondi Batista e Júlio Eduardo Arce.

Aos amigos do Mestrado que fizeram parte do meu dia-a-dia: Ana, Daniel, Luis, Dieter, Cleto, Elton, Leonardo e Kwok Chiu.

Aos queridos amigos do Mestrado, com quem compartilhei alegria e também muito esforço, além de me distraírem em momentos preciosos com “aquele cafezinho”, ou com “aquela cervejinha”: Cristiane Piccinini, Pedro Bond, Tiago Daros e Rodrigo Volpi.

Em especial, ao querido e grande amigo do Mestrado, Igor Mendonça de Rezende, que esteve sempre compartilhando idéias e informações sobre nossa pesquisa, além de me aconselhar e apoiar nos momentos em que mais precisei. Deixo aqui, meu muitíssimo obrigada pela sua amizade.

Aos grandes amigos de graduação que fizeram parte da minha vida acadêmica, e que ainda são meus companheiros nesta jornada: Helena R. Pereira, Ângela Nunes, Klaus Lindner, Gustavo Egg, Guilherme Bandeira, Daniel Nauiack, Marcel R. dos Santos, Fábio L. Paes, Guilherme Hoffmann, Alexandre Cavalheiro, Enrique Orellana, Pyramon Accioly, Fernando Moro, Marcos Alves, e tantos outros, que me perdoem o esquecimento.

Às amigas do coração, que espero sempre preservar, Carla Pereira, Andrea Arzua, Maria Fernanda R. Chaves, Janaína Rosa, Maria Alice Moura e Amanda Negrelle, por fazerem parte de boas lembranças, e estarem sempre pacientes para escutar minhas lamentações.

Ao grande amigo de infância Paulo Henrique Jaschek, pela enorme amizade e companheirismo, e por me alegrar e aconselhar com seu humor único sempre que precisei.

A todos os meus amigos, mesmo àqueles que me distanciei pela dedicação à pesquisa, sou muito grata pelos bons momentos que proporcionaram. É uma pena não poder citar tantos nomes, mas saibam que sem vocês, eu não teria ânimo e disposição para chegar até aqui.

À minha família, em especial a meus pais que tanto amo e sempre acreditaram em mim, Amir Bardelli da Silva e Yae Yamamura da Silva, pelo apoio, carinho, atenção, e principalmente por cuidarem com tanto amor do meu filho Leonardo durante meus estudos. Ao meu irmão Giancarlo, pela realização do abstract, revisão dos textos, por emprestar seu computador nos momentos em que precisei, mas principalmente pela sua amizade e apoio. Ao meu filho Leonardo, que sempre me trouxe alegria, esperança e mesmo não sabendo, deu-me forças para persistir em meus objetivos.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMO	xiv
ABSTRACT.....	xv
I. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1. OBJETIVOS	4
1.1. Objetivos gerais	4
1.2. Objetivos específicos.....	4
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. Petróleo e derivados e seus efeitos nas plantas.....	5
2.2. <i>Sebastiania commersoniana</i> (Baillon) Smith & Downs.....	12
2.3. Matas ciliares.....	13
2.4. Revegetação em áreas degradadas.....	14
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15
II. CAPÍTULO 1 – GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE <i>Sebastiania commersoniana</i> (Baill.) L. B. Sm. & Downs (EUPHORBIACEAE) EM SOLO CONTAMINADO COM ÓLEO DIESEL	22
RESUMO.....	23
ABSTRACT.....	24
1. INTRODUÇÃO.....	25
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3. RESULTADOS.....	30
4. DISCUSSÃO.....	37
5. CONCLUSÃO.....	41
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
III. CAPÍTULO 2: EFEITO DO SOLO CONTAMINADO COM ÓLEO DIESEL NA MORFO-ANATOMIA DAS PLANTAS JOVENS DE <i>Sebastiania commersoniana</i> (Baill.) L. B. Smith & Downs (EUPHORBIACEAE).....	45
RESUMO.....	46
ABSTRACT.....	47
1. INTRODUÇÃO.....	48

2. MATERIAL E MÉTODOS	50
3. RESULTADOS	54
3.1. <i>Morfologia</i>	54
3.2. <i>Anatomia</i>	56
3.2.1. Raiz	56
3.2.2. Eofilo.....	60
4. DISCUSSÃO	65
5. CONCLUSÃO	69
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
IV. CONSIDERAÇÕES FINAIS	75
ANEXOS	76

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1: Temperaturas mínima, média e máxima (°C) do interior da estufa durante os meses de julho de 2004 a março de 2005.....	28
Tabela 2: Análise físico-química do solo contaminado com óleo diesel e não contaminado.....	28

CAPÍTULO 2

Tabela 1: Temperaturas mínima, média e máxima (°C) do interior da estufa durante os meses de julho de 2004 a março de 2005.....	51
Tabela 2: Análise físico-química do solo contaminado com óleo diesel e não contaminado.....	52
Tabela 3: Medidas anatômicas da raiz de plantas jovens de <i>Sebastiania commersoniana</i> cultivadas em solo com óleo diesel: contaminado 210 dias antes do plantio (T210), 120 dias antes do plantio (T120), 60 dias antes do plantio (T60) e em solo não contaminado (T0).....	57

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1: Freqüência relativa da germinação de *Sebastiania commersoniana* cultivada em solo contaminado com óleo diesel 210 dias (T210), 120 dias (T120) e 60 dias (T60) após a contaminação e em solo não contaminado (T0).....30
- Figura 2: Número médio de sementes de *Sebastiania commersoniana* germinadas em solo contaminado com óleo diesel após 210 dias (T210), 120 dias (T120), 60 dias (T60) da contaminação e sem contaminação (T0).....31
- Figura 3: Plantas jovens de *Sebastiania commersoniana* após 30 dias do plantio em solo contaminado com óleo diesel 210 dias antes do plantio (T210).....31
- Figura 4: Plantas jovens de *Sebastiania commersoniana* após 30 dias do plantio em solo contaminado com óleo diesel 120 dias antes do plantio (T120).....31
- Figura 5: Plantas jovens de *Sebastiania commersoniana* após 30 dias do plantio em solo contaminado com óleo diesel 60 dias antes do plantio (T60).....31
- Figura 6: Plantas jovens de *Sebastiania commersoniana* após 30 dias do plantio em solo não contaminado (T0).....31
- Figura 7: Germinação acumulada de *Sebastiania commersoniana* em solo contaminado com óleo diesel 210 dias (T210), 120 dias (T120) e 60 dias (T60) após a contaminação e solo não contaminado (T0).....32
- Figura 8: Índice de velocidade de germinação de *Sebastiania commersoniana* plantada em solo contaminado com óleo diesel: 210 dias antes do plantio (T210), 120 dias antes do plantio (T120), 60 dias antes do plantio (T60) e em solo não contaminado (T0).....32

Figura 9: Efeito do óleo diesel no desenvolvimento de <i>Sebastiania commersoniana</i> em solo contaminado 210 dias antes do plantio (T210), 120 dias antes do plantio (T120), 60 dias antes do plantio (T60) e em solo não contaminado.....	35
Figura 10: Plantas jovens de <i>Sebastiania commersoniana</i> 30 dias após o plantio em solo contaminado com óleo diesel (T210, T120 e T60) e solo não contaminado (T0).....	36
Figura 11: Plântula de <i>Sebastiania commersoniana</i> com necrose cotiledonar 15 dias após o plantio no T60.....	36
Figura 12: Plântulas saudias de <i>Sebastiania commersoniana</i> do controle (T0) 15 dias após o plantio.....	36
Figura 13: Plantas de <i>Sebastiania commersoniana</i> com 60 dias em solo contaminado com óleo diesel (T210, T120 e T60) e solo não contaminado (T0).....	36
Figura 14: Plantas de <i>Sebastiania commersoniana</i> no tratamento T210 após 180 dias do plantio evidenciando a presença de cloroses e necroses.....	36
Figura 15: Plantas de <i>Sebastiania commersoniana</i> no tratamento T120 após 180 dias do plantio evidenciando a presença de cloroses e necroses.....	36
Figura 16: Plantas saudias de <i>Sebastiania commersoniana</i> no controle (T0) após 180 dias do plantio.....	36

CAPÍTULO 2

Figura 1: Montagem do experimento com a distribuição das bandejas no interior da estufa.....	50
Figura 2: Plantas de <i>Sebastiania commersoniana</i> após 30 dias do plantio em solo não contaminado (T0).....	55

Figura 3: Plantas de <i>Sebastiania commersoniana</i> após 30 dias do plantio em solo contaminado com óleo diesel 210 dias antes do plantio (T210).....	55
Figura 4: Plantas de <i>Sebastiania commersoniana</i> após 30 dias do plantio em solo contaminado com óleo diesel 120 dias antes do plantio (T120).....	55
Figura 5: Plantas de <i>Sebastiania commersoniana</i> após 30 dias do plantio em solo contaminado com óleo diesel 60 dias antes do plantio (T60), evidenciando plântula com ápice radicular dilatado e necrose cotiledonar.....	55
Figura 6: Secção longitudinal do meristema apical da raiz de <i>Sebastiania commersoniana</i> no tratamento T0.....	58
Figura 7: Secção longitudinal do ápice da raiz de <i>Sebastiania commersoniana</i> , mostrando detalhe da epiderme e córtex no tratamento T0.....	58
Figura 8: Secção longitudinal do meristema apical da raiz de <i>Sebastiania commersoniana</i> no tratamento T210.....	58
Figura 9: Secção longitudinal do ápice da raiz de <i>Sebastiania commersoniana</i> , mostrando detalhe da epiderme e córtex no tratamento T210.....	58
Figura 10: Secção longitudinal do meristema apical da raiz de <i>Sebastiania commersoniana</i> no tratamento T120.....	58
Figura 11: Secção longitudinal do ápice da raiz de <i>Sebastiania commersoniana</i> , mostrando detalhe da epiderme e córtex no tratamento T120.....	58
Figura 12: Secção longitudinal do meristema apical da raiz de <i>Sebastiania commersoniana</i> no tratamento T60.....	58
Figura 13: Secção longitudinal do ápice da raiz de <i>Sebastiania commersoniana</i> , mostrando detalhe da epiderme e córtex no tratamento T60.....	58
Figura 14: Secção transversal da raiz de <i>Sebastiania commersoniana</i> , vista geral em T0.....	59

Figura 15: Secção transversal da raiz de <i>Sebastiania commersoniana</i> , detalhe da epiderme e córtex em T0.....	59
Figura 16: Secção transversal da raiz de <i>Sebastiania commersoniana</i> , vista geral em T210.....	59
Figura 17: Secção transversal da raiz de <i>Sebastiania commersoniana</i> , detalhe da epiderme e córtex em T210.....	59
Figura 18: Secção transversal da raiz de <i>Sebastiania commersoniana</i> , vista geral em T120.....	59
Figura 19: Secção transversal da raiz de <i>Sebastiania commersoniana</i> , detalhe da epiderme e córtex em T120.....	59
Figura 20: Secção transversal da raiz de <i>Sebastiania commersoniana</i> , vista geral em T60.....	59
Figura 21: Secção transversal da raiz de <i>Sebastiania commersoniana</i> , detalhe da epiderme e córtex em T60.....	59
Figura 22: Superfície adaxial do eofilo de <i>Sebastiania commersoniana</i> (MEV) do tratamento sem contaminação (T0).....	62
Figura 23: Superfície abaxial do eofilo de <i>Sebastiania commersoniana</i> (MEV) do tratamento sem contaminação (T0).....	62
Figura 24: Superfície adaxial do eofilo de <i>S. commersoniana</i> (MEV) do tratamento com 210 dias após a contaminação (T210).....	62
Figura 25: Superfície abaxial do eofilo de <i>Sebastiania commersoniana</i> (MEV) do tratamento com 210 dias após a contaminação (T210).....	62
Figura 26: Superfície adaxial do eofilo de <i>Sebastiania commersoniana</i> (MEV) do tratamento com 120 dias após a contaminação (T120).....	62

Figura 27: Superfície abaxial do eofilo de <i>Sebastiania commersoniana</i> (MEV) do tratamento com 120 dias após a contaminação (T120).....	62
Figura 28: Superfície adaxial do eofilo de <i>Sebastiania commersoniana</i> (MEV) do tratamento com 60 dias após a contaminação (T60).....	62
Figura 29: Superfície abaxial do eofilo de <i>Sebastiania commersoniana</i> (MEV) do tratamento com 60 dias após a contaminação (T60).....	62
Figura 30: Superfície abaxial do eofilo de <i>Sebastiania commersoniana</i> (MEV) em solo não contaminado com óleo diesel (T0).....	63
Figura 31: Superfície abaxial do eofilo de <i>Sebastiania commersoniana</i> (MEV) em solo contaminado com óleo diesel 210 dias antes do plantio (T210).....	63
Figura 32: Superfície abaxial do eofilo de <i>Sebastiania commersoniana</i> (MEV) em solo contaminado com óleo diesel 120 dias antes do plantio (T120).....	63
Figura 33: Superfície abaxial do eofilo de <i>Sebastiania commersoniana</i> (MEV) em solo contaminado com óleo diesel 60 dias antes do plantio (60).....	63
Figura 34: Espessura do limbo (μm) de <i>Sebastiania commersoniana</i> em solo contaminado com óleo diesel 210 dias (T210), 120 dias (T120), 60 dias (T60) antes do plantio e solo não contaminado (T0).....	63
Figura 35: Secção transversal da nervura central do eofilo de <i>Sebastiania commersoniana</i> em solo não contaminado (T0).....	64
Figura 36: Secção transversal do limbo foliar de <i>Sebastiania commersoniana</i> em solo não contaminado (T0).....	64
Figura 37: Secção transversal da nervura central do eofilo de <i>Sebastiania commersoniana</i> em solo contaminado com óleo diesel 210 dias antes do plantio (T210).....	64

Figura 38: Secção transversal do limbo foliar de <i>Sebastiania commersoniana</i> em solo contaminado com óleo diesel 210 dias antes do plantio (T210).....	64
Figura 39: Secção transversal da nervura central do eofilo de <i>Sebastiania commersoniana</i> em solo contaminado com óleo diesel 120 dias antes do plantio (T120).....	64
Figura 40: Secção transversal do limbo foliar de <i>Sebastiania commersoniana</i> em solo contaminado com óleo diesel 120 dias antes do plantio (T120).....	64
Figura 41: Secção transversal da nervura central do eofilo de <i>Sebastiania commersoniana</i> em solo contaminado com óleo diesel 60 dias antes do plantio (T60).....	64
Figura 42: Secção transversal do limbo foliar de <i>Sebastiania commersoniana</i> em solo contaminado com óleo diesel 60 dias antes do plantio (T60).....	64

RESUMO

Acidentes que ocorrem durante o transporte de petróleo e derivados têm sido uma das principais causas de poluição ambiental nos últimos anos. Pesquisas que estudam as alterações na germinação e na estrutura das plântulas causadas por poluentes derivados do petróleo são raras, sendo pouco conhecidos os efeitos causados nas plantas ao longo do tempo. O presente estudo teve como objetivo analisar o efeito da poluição por óleo diesel na germinação, crescimento e morfo-anatomia das plântulas de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs (branquilha) em diferentes períodos após a contaminação do solo. *S. commersoniana* é uma espécie pioneira e nativa que geralmente assume dominância sobre outras espécies da mata ciliar. O experimento foi montado em estufa com quatro tratamentos (solo contaminado 60, 120 e 210 dias antes do plantio e solo não contaminado) e cinco repetições com 50 sementes cada. A porcentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG) foram menores no tratamento de 60 dias quando comparado aos demais tratamentos. A porcentagem de germinação foi de 58,4% no tratamento T210, 70% em T120, 32,4% em T60 e 75,6% no controle. O IVG foi de 20,01 no tratamento T210, 24,07 em T120; e 10,81 em T60; e 23,67 no controle. O peso fresco e seco das plântulas, comprimento da raiz, comprimento da parte aérea, diâmetro do hipocótilo, área foliar, área específica foliar e peso seco dos eofilos foram menores nos tratamentos com solo contaminado. As raízes das plântulas do solo contaminado apresentaram maior diâmetro, formação de aerênquima, e cilindro vascular mais desenvolvido que nas plântulas do controle. O óleo diesel causou alterações na porcentagem de germinação, no IVG, no crescimento das plântulas e na morfo-anatomia da raiz e eofilos, porém quanto maior o tempo após a contaminação, menor foi o efeito danoso sobre as plântulas.

Palavras-chave: óleo diesel; germinação; morfologia; anatomia; *Sebastiania commersoniana*.

ABSTRACT

Oil spill, especially those occurred during transportation, has been one of the major causes of environmental pollution. There are very few researches on alteration in germination and structure of the seedlings caused by petroleum derivatives. Long-term effects of such substances on plants are almost unknown. This study aims to analyze the effects of diesel fuel pollution on germination, growth and morphology of *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs in different periods after soil contamination. *S. commersoniana* is a Brazilian pioneer and native species that generally assumes dominance over other riparian tree species. The experiment was conducted in greenhouse in four different treatments (non-contaminated soil and other 3 contaminated soils, with 60, 120 and 210 days of contamination) and 5 repetitions with 50 seeds each. The percentage of seed germination and the germination speed index (GSI) were lower in the 60 day treatment in comparison to the other ones. The percentage of germination was 58,4% in treatment T210, 70% in T120, 32,4% in T60 and 75,6% in the control. The fresh and dry weight of the seedlings, the root length, the aerial part length, the hypocotyl diameter, the leaf area and the dry weight of the eophylls were minor in the treatments with contaminated soil. The seedlings roots in the contaminated soils presented larger diameter, formation of aerenchyma and more developed vascular cylinder than the seedlings from the control. The diesel fuel caused alterations in the percentage germination, in the GSI, in the seedlings growth and in the morphology of the root and eophylls; however, the damage to the seedlings were minor in those whose soil was less recently contaminated.

Key-words: diesel fuel; germination; morphology; anatomy; *Sebastiania commersoniana*.

I. INTRODUÇÃO GERAL

O petróleo e seus derivados, entre eles o óleo diesel, são os combustíveis mais utilizados atualmente devido à amplitude de suas aplicações, podendo ser usado para movimentar automóveis e também unidades geradoras de energia. Porém, freqüentes acidentes que ocorrem durante o transporte de petróleo e derivados têm sido uma das principais causas de poluição ambiental nos últimos anos.

Em julho de 2000, ocorreu um vazamento de petróleo na Refinaria Getúlio Vargas (REPAR), localizada no município de Araucária-PR, provocando o maior desastre ambiental já registrado no Paraná. Este acidente contaminou drasticamente o solo, o lençol freático e os Rios Barigüi e Iguaçu, causando grande impacto para a flora e a fauna. Entre os acidentes ocorridos especificamente com óleo diesel, pode-se citar o vazamento de cerca de 50 mil litros em fevereiro de 2001 em Morretes-PR, o qual provocou um prejuízo incalculável ao meio ambiente, pois contaminou vários rios da região e atingiu um dos trechos da Mata Atlântica mais bem preservados do Brasil, considerado reserva da biosfera (FOLHA DO PARANÁ E GAZETA DO POVO, 2004). Outro acidente marcante e recente ocorreu em novembro de 2004 em Paranaguá, onde mais de 30 quilômetros de áreas de mangue, praias, ilhas e rios foram contaminados com óleo (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O DESENVOLVIMENTO DE LIDERANÇAS, 2005).

Acidentes em áreas continentais atingem o lençol freático, contaminando rios e por conseqüência as plantas que compõem a vegetação ciliar. A recuperação destas áreas afetadas por acidentes decorrentes do vazamento de petróleo é bastante lenta, pois além da retirada do óleo da água e do solo, há também a reação das plantas ao contaminante.

Algumas espécies de plantas são capazes de crescer em ambientes contaminados através do desenvolvimento de mecanismos de desintoxicação (ERNST, 1976). Há uma considerável variação genética, na habilidade de várias espécies, para tolerar elementos tóxicos não essenciais (WOOLHOUSE, 1983). Em algumas espécies, os elementos são absorvidos somente até um grau limitado (TAYLOR, 1978). Em outras os elementos se acumulam na raiz, com pequeno transporte para o caule. Em outras, ainda, tanto a raiz quanto o caule contém uma

quantidade mais alta de tais elementos, podendo viver com eles. Estas representam as verdadeiras espécies tolerantes.

Estudos do comportamento de espécies nativas sujeitas à contaminação com derivados de petróleo são importantes, porém ainda são poucos, principalmente os que envolvem alterações estruturais. Segundo FLORES-AYLAS (1999), espécies arbóreas e nativas utilizadas em programas de revegetação apresentam, dentre outras vantagens, fornecimento de alimentos aos animais silvestres, adaptação ao clima do local, garantia ou manutenção da presença de polinizadores e predadores que mantêm o equilíbrio do ecossistema.

Além de causar efeitos negativos nas plantas, a poluição por petróleo e derivados pode contribuir indiretamente a outros aspectos da deterioração do habitat, como por exemplo, a erosão. Isto pode ocorrer quando a recuperação da vegetação for lenta após um derramamento. A superfície do solo sem vegetação pode ser exposta para vários agentes de desmatamento antes do estabelecimento da cobertura de plantas protetoras (KINAKO,1981). Dessa forma é importante saber após quanto tempo da contaminação as sementes germinarão e as plantas crescerão sem danos morfológicos.

Devido à maioria dos acidentes ocorrerem em regiões costeiras, pouco se conhece sobre a recuperação da vegetação ciliar afetada por estes contaminantes. Portanto, estudos científicos de plantas nativas e pioneiras utilizadas para revegetação que sobrevivem em ambientes poluídos devem ser realizados para fornecer dados que acelerem a recuperação destas áreas degradadas.

WILLIAN et al. (1982) e BONA & SANTOS (2003) verificaram que o solo contaminado por petróleo fica completamente estéril, sendo necessário introduzir sementes e mudas para revegetar estas áreas. Além disto, WILLIAM et al. (1982) enfatizam que a germinação e o estabelecimento de plantas são afetados em ambientes estressados, diminuindo o vigor e, por consequência, reduz as expectativas para o estabelecimento da cobertura vegetal. Porém, não há informações de como as sementes e plantas jovens de espécies nativas arbóreas se comportam em solo contaminado com derivados de petróleo, e também ainda são pouco conhecidos os impactos causados sobre a vegetação ao longo do tempo, pois as pesquisas botânicas mostram em sua maioria os efeitos iniciais do vazamento.

Segundo ALMEIDA (2004), a maioria dos programas de revegetação tem sido por meio de plantios de mudas, porém alguns estudos indicam que a implantação de florestas via semeadura direta no campo pode ser uma alternativa viável principalmente devido à redução dos custos. A semeadura direta de espécies florestais é um sistema de regeneração em que as sementes são espalhadas diretamente no local a ser florestado, sem a necessidade da formação de mudas (TOUMEY, citado por FLORES-AYLAS, 1999). Os estudos do comportamento de espécies nativas nascidas em solo contaminado com óleo diesel, desde a germinação até o desenvolvimento da planta, serão de suma importância ecológica, podendo indicá-las para planos de recuperação através da semeadura direta.

A escolha da espécie foi baseada em estudos fitossociológicos realizados em florestas de galeria, onde *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs (Euphorbiaceae) geralmente assume o maior Índice de Valor de Importância, se tornando uma espécie dominante formando 60 a 80% do estrato contínuo das florestas de galeria (SMITH et al., 1988; BARDDAL et al., 2004).

Este trabalho está sendo realizado almejando contribuir para os planos de recuperação de matas ciliares através do estudo da germinação e desenvolvimento da plântula de *Sebastiania commersoniana* em solo contaminado com óleo diesel. A análise de germinação fornecerá dados que podem viabilizar a utilização da semeadura direta nas áreas a serem revegetadas. O acompanhamento das plântulas em diferentes períodos após a contaminação do solo fornecerá subsídios para indicar a resistência da espécie ao contaminante, bem como o momento adequado para realizar a semeadura.

A análise anatômica das plantas jovens nascidas em solo contaminado com óleo poderá identificar as alterações celulares e explicar a possível tolerância de *S. commersoniana* ao poluente. Conhecendo-se as reações desta espécie sujeita à poluição do solo, pode-se também colaborar no aperfeiçoamento dos processos de biorremediação. Por isso, é necessário saber após quanto tempo da contaminação a germinação ocorre sem danos morfológicos e quais as alterações celulares que podem ocorrer.

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivos gerais

Os objetivos do presente trabalho são analisar o efeito do óleo diesel na germinação das sementes e na morfologia das plantas de *Sebastiania commersoniana* e verificar se o tempo após a contaminação interfere neste processo.

1.2. Objetivos específicos

- a) Calcular a taxa de germinação (%) e o índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *S. commersoniana* plantadas em solo contaminado com óleo diesel;
- b) Avaliar a morfologia da planta jovem em questão, identificando possíveis alterações causadas pelo óleo diesel através das seguintes variáveis: peso fresco e seco da planta jovem inteira, comprimento da raiz e porção aérea, diâmetro do hipocótilo, peso seco do eofilo e área foliar do eofilo.
- c) Mensurar o diâmetro total da raiz, raio do córtex, diâmetro do cilindro vascular e espessura do eofilo, avaliando quantitativamente as possíveis alterações anatômicas ocasionadas pelo óleo diesel.
- d) Avaliar qualitativamente os efeitos do óleo diesel na espécie em questão, observando o desenvolvimento da planta jovem desde a germinação e por meio de análises microscópicas.
- d) Analisar se há diferenças na germinação e morfo-anatomia das plantas jovens quando semeadas em solo contaminado 210, 120 e 60 dias antes do plantio.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Petróleo e derivados e seus efeitos nas plantas

O óleo diesel é um combustível moderadamente volátil e de composição complexa. É constituído basicamente por hidrocarbonetos parafínicos, oleofínicos e aromáticos e, em menor quantidade, por substâncias cuja fórmula química contém átomos de enxofre, nitrogênio, metais, oxigênio, entre outros. Estes hidrocarbonetos são formados por moléculas constituídas normalmente de 8 a 40 átomos de carbono (REFINARIA ALBERTO PASQUALINI, 2004). Este combustível contém componentes voláteis e não voláteis, sendo que a fração volátil corresponde a aproximadamente 5 a 10% do produto total (ADAM & DUNCAN, 2002). As substâncias fitotóxicas presentes no óleo diesel são relativamente persistentes no solo, podendo interferir no desenvolvimento normal da planta (ADAM & DUNCAN, 1999).

Certas espécies de plantas possuem capacidade de crescer em solos contaminados, desenvolvendo mecanismos de desintoxicação, onde os efeitos do acúmulo de substâncias tóxicas (metais) podem ser minimizados (ERNST, 1976). Atualmente, existem vários métodos para minimizar os efeitos negativos da contaminação do solo. Os métodos que menos afetam os locais danificados são os de biorremediação, que incluem a inoculação de microorganismos hábeis para a degradação (microrremediação) e o uso de plantas para conter e transformar poluentes que estão no solo (fitorremediação) (BOLLAG et al., 1994). A fitorremediação utiliza a vegetação para aumentar a dissipação ou estabilização de contaminantes ambientais (KULAKOW, 2000). Este método não utiliza biofiltros nem processos de biodegradação, e sim a capacidade da natureza inativar os contaminantes e assim se recompor (GATLIF, 1994). De acordo com SOUZA (1999), que desenvolveu um dos poucos trabalhos realizados com espécies nativas do Brasil usando a biorremediação de área contaminada por resíduos oleosos de petróleo, a fitorremediação destaca-se pela capacidade das plantas degradarem contaminantes e absorverem metais pesados pela rizosfera.

As plantas, na maioria das vezes, são os primeiros organismos a serem atingidos por derramamento de óleo (MALALLAH et al., 1996). Os efeitos da

poluição nas plantas podem variar de acordo com o tipo e a quantidade de óleo envolvido, a idade da planta, a época do ano e as espécies de plantas atingidas (BAKER, 1970). O óleo pode causar efeitos crônicos ou agudos, podendo causar interferência nas relações hídricas da planta. Essa interferência, acompanhada das condições anaeróbicas e hidrofóbicas, vem a ser o efeito mais importante em relação à germinação de sementes e ao crescimento das plantas (RACINE, 1994).

O grau de biodegradação de hidrocarbonetos em solos contaminados é extremamente dependente em quatro fatores: criação de ótimas condições ambientais para estimular a atividade de biodegradação; os tipos de hidrocarbonetos predominantes no petróleo; a matriz contaminada; e a biodisponibilidade dos contaminantes para os microorganismos. A degradação de hidrocarbonetos de petróleo também é afetada pela composição molecular dos hidrocarbonetos, característica com a qual está diretamente relacionada com a biodisponibilidade destas combinações e como conseqüência, a taxa de biodegradação pode ser alterada (HAUSEMANN, 1995).

A fim de minimizar o impacto ecológico causado por derramamentos de petróleo, LINDSTEDT-SILVA (1979) realizou um trabalho que apresenta vários procedimentos a serem tomados em tal situação, incluindo protocolos de limpeza do óleo para cada habitat. Recomenda-se identificar as áreas mais sensíveis ao derramamento, formulando estratégias de proteção, para que as áreas protegidas possam servir como centro de repopulação de áreas vizinhas.

Quando um solo contaminado é tratado adequadamente, aperfeiçoando o potencial de biodegradação, grande parte dos hidrocarbonetos podem ser eliminados mais rapidamente. Isto foi observado por CHAÎNEAU et al. (2003), que realizaram um estudo com a combinação do destino e efeitos dos hidrocarbonetos presentes no solo contaminado com óleo cru durante 480 dias em uma experiência de campo, cujas taxas de remoção de hidrocarbonetos, mobilidade dos metabólitos e toxicidade potencial foram avaliadas. Foi observado que aproximadamente 76% dos hidrocarbonetos iniciais foram afastados por biodegradação sob ótimas condições. Os resultados sugerem que até em baixas taxas, os hidrocarbonetos residuais ou subprodutos metabólicos podem causar perturbações sérias no metabolismo celular da planta devido aos danos estruturais causados. SOUZA (1999), avaliou treze espécies vegetais nativas sob o efeito da contaminação de

resíduos oleosos de petróleo, nas quais constatou alterações no crescimento de algumas espécies, mesmo crescidas em solo biorremediado.

A atividade microbiana presente na rizosfera é capaz de reduzir os efeitos danosos nas plantas causados pelo óleo (ADAM & DUNCAN, 1999). A fitorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos foi analisada no trabalho de MURATOVA et al. (2003) em alfafa, *Medicago sativa* (Fabaceae), e cana, *Phragmites australis* (Poaceae). Os resultados mostram que as duas espécies intensificam o processo de degradação de poluentes, principalmente a degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. A flora bacteriana associada à alfafa degrada mais rapidamente os hidrocarbonetos do que a flora bacteriana associada à cana. MÁRQUEZ-ROCHA et al. (2001) estudaram a biodegradação do óleo diesel através de um consórcio microbiano, no qual os resultados mostraram que houve redução de até 15% na concentração de óleo diesel no solo com inoculação de bactérias em um período de cinco semanas.

A concentração de óleo diesel no solo tem alto grau de correlação entre a porcentagem de plantas mortas e murchas após uma semana do plantio (GREEN et al., 1996). No trabalho realizado pelos autores com *Tradescantia* (Commelinaceae), as plantas que se encontravam em solo com concentrações mais altas de poluente não chegaram a produzir flores ou gemas, além de haver um decréscimo na concentração de clorofila. Este decréscimo também foi encontrado em *Vicia faba* (Fabaceae), que é uma eficiente indicadora de poluição por hidrocarbonetos (MALALLAH et al., 1996). Este autor desenvolveu o trabalho investigando a espécie como bioindicadora de poluição por hidrocarbonetos, encontrando níveis maiores de açúcar, fenóis, proteínas e aminoácidos livres nas mudas que cresceram em solo contaminado.

O decréscimo na concentração de clorofila em plantas crescidas em solo contaminado por petróleo e derivados foi relatado por diversos autores (GREEN et al., 1996; MALALLAH et al., 1996; SINGH & GAUR, 1988). Por outro lado, em outros trabalhos realizados com petróleo, foi registrado aumento no teor de clorofila em plantas submetidas à contaminação (MALALLAH et al., 1998; MAYER, 2004 e OLIVEIRA, 2004). Além da diferença entre as espécies, outros fatores como disponibilidade hídrica, condutância estomática, macronutrientes, micronutrientes e

condições do solo podem influenciar a relação do teor de clorofila, capacidade fotossintética e biomassa (WACHOWICZ & CARVALHO, 2002).

No trabalho de PROFFITT et al. (1995), as mudas de *Rhizophora mangle* L. (Rizosporaceae) e *Avicennia germinans* L. (Verbenaceae) foram testadas a fim de analisar os efeitos causados por óleo lubrificante. Os resultados mostram que há forte relação entre a contaminação do mangue e suas condições ambientais, sendo que a maior mortalidade encontrada foi em mudas de *R. mangle* mantidas sob condições de campo. Também foram observadas, tendências na diminuição da área foliar e da área específica foliar nas plantas submetidas à contaminação. Resultados semelhantes foram observados por FARIAS (2005) com *Rhynchospora corymbosa* (L.) Britt., que apresentou menores valores para o comprimento, largura, peso seco e área foliar em plantas crescidas em solo contaminado por petróleo.

Segundo KINAKO (1981), que realizou experimentos com derramamentos de óleo no campo em gramíneas tropicais, a poluição tende a causar uma lenta recomposição da vegetação nos habitats descobertos. Os resultados mostraram que houve redução no número de espécies de plantas e a produtividade das áreas afetadas variou de 67 a 92% em um período de 10 meses, sendo que o efeito foi maior em espécies herbáceas. DE JONG (1980) estudou os efeitos de um derramamento de óleo cru ocorrido em 1974 no Canadá em uma plantação de trigo. Houve considerável redução no crescimento e rendimento das, bem como na germinação de sementes. O óleo também reduziu o conteúdo de N disponível no solo e reduziu a captação de água pelo trigo das camadas contaminadas ou nas camadas mais subsuperficiais.

O óleo diesel é fitotóxico para as plantas mesmo em concentrações relativamente baixas (ADAM & DUNCAN, 1999). Segundo os autores, que estudaram dez espécies de Gramineae, quatro Leguminosae, duas Brassicaceae e duas Linaceae, a tolerância das espécies estudadas e a habilidade para germinar variaram consideravelmente entre as espécies, sendo que as maiores diferenças foram observadas entre as gramíneas. As plantas crescidas em solo contaminado por óleo diesel apresentaram-se raquíticas quando comparadas com as crescidas em solo não contaminado. Este efeito não pode ser atribuído diretamente ao atraso da emergência da radícula, pois algumas espécies germinaram tão bem quanto os controles, contudo o desenvolvimento delas foi prejudicado na presença do

contaminante. As raízes evitam as áreas de solo contaminado e tendem a procurar áreas sem contaminação, onde a disponibilidade de água é maior, formando raízes adventícias. Alteração no desenvolvimento das raízes também foi relatada por BONA & SANTOS (2003), que estudaram a capacidade de adaptação de mudas de espécies plantadas em áreas contaminadas com petróleo na REPAR em Araucária - PR. Nesse trabalho foi concluído que, dentre as espécies plantadas, as que mais possuem potencial para revegetação são *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), a pitanga, *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) e o branquilha, *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs (Euphorbiaceae).

As espécies crescidas em solos contaminados com hidrocarbonetos sofrem atraso na germinação e formação dos eófilos e redução no peso das plântulas. Em alguns casos, a alta concentração de hidrocarbonetos no solo pode até inibir a germinação das sementes. Esta análise foi realizada por CHUPAKHINA & MASLENNIKOV (2004), que estudaram plântulas com 25 dias de crescimento, germinadas em solo contaminado por hidrocarbonetos. Resultados semelhantes foram observados em *Schinus terebinthifolius* (REZENDE et al., 2005) e *Sebastiania commersoniana* (BARDELLI-DA-SILVA et al., 2005), que, além de apresentarem menor porcentagem de germinação em solo contaminado com óleo diesel, mostraram redução na altura, peso fresco e seco das plântulas, na área foliar específica, na área foliar e no peso seco dos eófilos.

O efeito inibitório do óleo na germinação pode ser atribuído pela morte do embrião devido à entrada de óleo na semente, ou pela redução da absorção de água e oxigênio devido à camada impermeabilizante formada ao redor da semente pelo óleo (BAKER, 1970). Em sementes de dicotiledôneas, o óleo pode penetrar via micrópila ou através de injúrias no tegumento. O tegumento da semente varia muito entre as espécies e é um requisito essencial para a resistência à penetração de óleo nas células do embrião (AMAKIRI & ONOFEHARA, 1984).

ADAM & DUNCAN (2002) realizaram um trabalho envolvendo a germinação em óleo diesel de 25 espécies incluindo gramíneas, leguminosas, ervas e espécies comerciais. Algumas espécies mostraram notável tolerância enquanto outras eram completamente intolerantes com contaminação de combustível diesel. Os resultados também mostraram que houve atraso na germinação em algumas espécies, o que pode ter sido causado pela fração volátil do óleo diesel. Quando a concentração de

hidrocarbonetos voláteis que cercam a semente era reduzida, a germinação procedeu a uma taxa mais alta. Porém, também foi concluído que o óleo forma uma camada ao redor da semente que age como barreira física, provocando a redução de água e transferência de oxigênio para a semente. Esta barreira pode ser um fator adicional dentro da inibição da germinação com óleo diesel.

Certas plantas são capazes de absorver hidrocarbonetos, causando redução no crescimento da raiz e diminuição no tamanho e número de folhas. Isto foi observado por ALKIO et al. (2005) em *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. crescidas com fenantrene, um composto de hidrocarboneto aromático policíclico com três anéis de benzeno que é fluorescente quando exposto à luz UV. A partir de análises realizadas em microscopia fluorescente, foi constatada a presença de fenantrene no interior das raízes e folhas de *Arabidopsis*, sugerindo que a absorção do contaminante ocasionou as alterações na raiz e nas folhas.

Alguns trabalhos realizados com plantas submetidas à contaminação resultaram na ausência de alterações estruturais em indivíduos crescidos em solo contaminado. OLIVEIRA (2004) não observou diferenças na disposição de tecidos, danos celulares na estrutura interna da raiz e do caule e nem indício de petróleo no sistema vascular de *Schinus terebinthifolius*. Em *Rhynchospora corymbosa*, também não foram observados sinais de danos nem diferenças na disposição e formato das células nas folhas e raízes (FARIAS, 2005). MAYER (2004), analisando *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg, também não registrou danos celulares e apenas verificou um possível aumento no número de elementos de vaso do xilema em indivíduos crescidos em solo contaminado.

Por outro lado, MARANHO (2004) estudou os efeitos da poluição por petróleo na estrutura da folha e do lenho de *Podocarpus lambertii* Klotzsch (Podocarpaceae) após um ano do acidente ocorrido na Refinaria Getúlio Vargas, em Araucária - PR. Apesar de ser uma das poucas espécies sobreviventes ao acidente, os resultados mostram que *P. lambertii* também reagiu à exposição por petróleo. Nos indivíduos expostos à poluição por petróleo, o comprimento, largura e área foliar foram menores que o controle, enquanto que a densidade estomática, espessura dos tecidos foliares (nervura principal, epiderme e mesofilo) e espessura da cutícula se mostraram superiores ao controle. Quanto às alterações no lenho, o comprimento, diâmetro das traqueídes, a espessura e grau de lignificação da parede celular das

traqueídes foram menores nos indivíduos expostos ao contaminante. Alterações no lenho também foram observadas por RODRIGUES (2005), que analisou os efeitos do solo contaminado com petróleo na estrutura anatômica e estado nutricional de *Campomanesia xanthocarpa* e *Sebastiania commersoniana*. O comprimento dos vasos e o número de vasos por milímetro quadrado foram menores em ambas as espécies em solo contaminado. Todavia, o diâmetro dos vasos tendeu a ser maior nessas mesmas condições.

Estruturas da folha e lenho de *S. commersoniana* foram analisadas em um monitoramento da influência do derramamento de petróleo ocorrido na REPAR. A menor área foliar dos indivíduos submetidos à poluição por petróleo foi compensada pelo aumento na densidade estomática e pela maior espessura da epiderme e mesofilo, principalmente do parênquima clorofiliano paliçádico. Uma das respostas adaptativas às condições ambientais do derramamento foi a ocorrência de canais traumáticos nas plantas submetidas à contaminação. Quanto ao lenho, houve uma diminuição no comprimento e diâmetro dos elementos de vaso. As alterações estruturais na folha e no lenho são devido ao estresse hídrico causado pela redução da passagem de água, ocasionando redução nos elementos de vaso e aumento na superfície de transpiração sem comprometer a capacidade assimilatória das folhas (SILVA et al., 2004 e GARCIA et al., 2004).

Alterações estruturais em *S. commersoniana* também são observadas em indivíduos submetidos ao alagamento a fim de elucidar alguns aspectos de tolerância da espécie através da morfo-anatomia (KOLB et al., 1998). O alagamento induziu nas raízes aumento de espaços intercelulares no parênquima cortical, redução na espessura do cilindro central e aumento na espessura do córtex. As plantas sujeitas ao alagamento cresceram menos que as controle e desenvolveram lenticelas hipertróficas caulinares, algumas raízes laterais novas e algumas raízes adventícias. Foi observado também que as plantas-controle apresentaram aumento de amido nas células parenquimáticas corticais de caules e raízes, quando comparadas com as plantas alagadas, sugerindo que o decréscimo nas reservas durante o alagamento esteja relacionado à grande demanda de carboidratos exigida para o desenvolvimento das alterações morfoanatômicas observadas.

2.2. *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs

A espécie pertence à família Euphorbiaceae, que é considerada uma das maiores famílias das Angiospermas, reunindo cerca de 300 gêneros e 7300 espécies de árvores, arbustos, ervas e até lianas, distribuídas em todas as partes do mundo, embora com maior abundância nas regiões tropicais (CRONQUIST, 1969; MARCHIORI & SOBRAL, 2000). Segundo CRONQUIST (1988), essa espécie apresenta o seguinte posicionamento sistemático:

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Subclasse: Rosidae

Ordem: Euphorbiales

Família: Euphorbiaceae

Gênero: *Sebastiania*

Espécie: *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs

A espécie *Sebastiania commersoniana*, ou branquilho, é uma planta decídua, heliófita, seletiva higrófila e pioneira, muito indicada para a recomposição de áreas degradadas ao longo das margens de rios e reservatórios, devido a sua preferência por solos úmidos e brejosos. As folhas são simples, alternas, coriáceas, glabras e a face inferior é pubescente com 2-6 cm de comprimento (LORENZI, 1992). Esta espécie pode atingir até 15 m de altura e fuste irregular de até 50 cm de diâmetro (BACKES & IRGANG 2002). Floresce com maior intensidade de setembro a novembro e os frutos amadurecem entre janeiro e abril. A emergência ocorre dentro de quinze a vinte dias e, geralmente, é abundante (LORENZI, 1992).

Segundo SMITH et al. (1988), *S. commersoniana* é característica e quase exclusiva das planícies aluviais, onde, não raro, se torna a espécie dominante formando 60 a 80% do estrato contínuo das florestas de galeria. Essa espécie é um dos elementos que melhor caracteriza o estrato arbóreo das florestas ciliares encontradas em várzeas planas do segundo planalto paranaense, onde, na Bacia Hidrográfica do Rio Tibagi, ocupou a segunda posição no índice de valor de importância (IVI), com 237 indivíduos por hectare (SILVA et al., 1992). No Rio Moji-Guaçu, SP, essa espécie é a mais importante nos levantamentos das matas ciliares (GIBBS & LEITÃO-FILHO, 1978). Em estudos fitossociológicos realizados em um

trecho de floresta aluvial do Rio Barigui localizado em Araucária-PR, verificou-se que o branquilha é a principal espécie, assumindo também um maior IVI (BARDDAL et al., 2004).

A ocorrência da espécie é registrada nas regiões sudeste e sul do Brasil, nordeste da Argentina, leste do Paraguai e Uruguai. A espécie ocorre geralmente em agrupamentos, chegando a formar populações quase puras, e se desenvolve em ambientes abertos e beira de capões (LORENZI, 1992).

2.3. Matas ciliares

As matas ciliares são caracterizadas por apresentarem uma diversidade fisionômica e florística própria, resultante da alta diversidade de fatores bióticos e abióticos, que atuam em diferentes intensidades nos diferentes microhabitats, selecionando e distribuindo espécies vegetais ao longo dos cursos d'água (MANTOVANI, 1989). Além de proteger o solo, as matas ciliares dão as melhores condições tanto para a multiplicação de diversidade biológica quanto para sua preservação histórica e ecológica e ainda ajudam na dispersão de animais entre regiões (RODRIGUES & LEITÃO-FILHO, 2001).

Segundo REICHARD (1989), a floresta ciliar ou ripária ocorre nas porções de terreno que incluem tanto a ribanceira de um rio ou córrego, como também as superfícies de inundação chegando até as margens do corpo d'água. Pela própria natureza do ecossistema em declive, encontram-se transições físicas, químicas e gradientes de umidade do solo e de vegetação.

Muitas espécies são restritas a ecossistemas ripários, enquanto outras se distribuem mais amplamente embora ainda dependa destes ecossistemas. A recuperação de ambientes ciliares poderia aumentar a população de espécies que utilizam estes ambientes e desta forma aumentar a sua capacidade de colonizar outras áreas. Além disso, a revegetação destes ambientes aumenta a qualidade da água, estabiliza a superfície do solo e reduz a erosão e o assoreamento (LAMB et al., 1997). Em ambientes de margem dos rios ou córregos, dois tipos de plantas predominam, as tolerantes ou resistentes a distúrbios, com sistemas radiculares extensos e forte habilidade de rebrota e as oportunistas, de rápida recolonização de habitats após distúrbios (FORMAN, 1995).

2.4. Revegetação em áreas degradadas

O processo de recomposição florística de um ecossistema natural, seja perturbado naturalmente ou por ação antrópica, pode ser realizado utilizando-se técnicas de restauração, reabilitação e recuperação (HERRERA et al., 1993). A restauração é caracterizada pela manutenção dos meios de regeneração biótica, podendo recompor-se naturalmente ao longo do tempo, quando somente mantido em pousio e, melhor ainda, se receber ação antrópica; reabilitação é a formação de um novo ecossistema com características desejáveis, porém distintas da original; recuperação é a recomposição de algumas características mais importantes, que, segundo LAMB et al. (1997), é o restabelecimento da condição original de um ecossistema, de forma que este ambiente seja formado pelo mesmo conjunto de espécies e a mesma estrutura geral da floresta original. Contudo, a recuperação verdadeira é praticamente impossível de ser atingida, mas objetivos mais modestos podem ser alcançados, como o restabelecimento de uma comunidade rica em espécies e representativa de plantas e de animais.

No processo de revegetação deve-se priorizar a utilização de espécies arbóreas nativas, principalmente em áreas de proteção. Estas espécies apresentam uma série de vantagens para um programa de recuperação ambiental, favorecendo a conservação e biodiversidade regional, protegendo ou expandindo as fontes naturais de diversidade genética, não só das espécies vegetais, mas também da fauna local a elas associadas. O risco de perdas por dificuldade de aclimatação é reduzido e as chances de sucesso são relativamente maiores devido aos mecanismos naturais já existentes, como os agentes polinizadores e dispersores (OLIVEIRA FILHO, 1994). Plantas tolerantes, que melhoram as condições do local ou aquelas que aceleram o processo de colonização atraindo animais dispersores de sementes, são desejáveis. Espécies pioneiras devem ser utilizadas, indiscutivelmente, bem como espécies que têm maiores dificuldades de se estabelecerem ou atingirem o local (LAMB et al., 1997).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAM, G.; DUNCAN, H. Effect of diesel fuel on growth of selected plant species. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 21, p. 353-357, 1999.
- ADAM, G.; DUNCAN, H. Influence of diesel fuel on seed germination. **Environmental Pollution**, v. 120, p. 363-370, 2002.
- ALKIO, M.; TABUCHI, T. M.; WANG, X.; COLÓN-CARMONA, A. Stress responses to polycyclic aromatic hydrocarbons in *Arabidopsis* include growth inhibition and hypersensitive response-like symptoms. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 421, p. 2983-2994, 2005.
- ALMEIDA, N. O. **Implantação de matas ciliares por plantio direto utilizando-se sementes peletizadas**. Lavras, 2004. 268 f. Tese (Doutorado em Florestas de Produção) – Universidade Federal de Lavras.
- AMAKIRI, J. O.; ONOFEGHARA, F. A. Effects of crude oil pollution on the germination of *Zea mays* and *Capsicum frutescens*. **Environmental Pollution**, v. 35, p. 159-167, 1984.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O DESENVOLVIMENTO DE LIDERANÇAS-ABDL. **Vazamento de óleo provoca desastre ambiental**. Disponível em: <http://www.lead.org.br/article/view/1308>. Acesso em: 13 janeiro 2005.
- BAKER, J. M. The effects of oils on plants. **Environmental Pollution**, v. 1, n. 1, p. 27-44, Kidlington, 1970.
- BACKES, P.; IRGANG, B. **Árvores do Sul**; Guia de Identificação e Interesse Ecológico, ed. Instituto Souza Cruz, p.122-123, 2002.
- BARDDAL, M. L.; RODERJAN, C. V.; GALVÃO, F.; CURCIO, G. R. Caracterização florística e fitossociológica de um trecho sazonalmente inundável de floresta aluvial, em Araucária, PR. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 14, n. 2, p. 37-50, 2004.
- BARDELLI-DA-SILVA, M. Y.; BONA, C.; SOUZA, L. A.; SANTOS, G. O.; REZENDE, I. M. Efeito do solo contaminado com óleo diesel na germinação e no desenvolvimento das plântulas de *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith &

Downs (Euphorbiaceae). In: **56° Congresso Nacional de Botânica**, 2005, Curitiba, PR: UFPR, CD-ROM.

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, G. O. **Adaptações fisiológicas de espécies vegetais crescendo em solo contaminado com petróleo**. Curitiba: FUNPAR – UFPR, 2003. 133 p. Relatório Técnico.

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

CHUPAKHINA, G. N.; MASLENNIKOV, P. V. Plant adaptation to oil stress. **Russian Journal of Ecology**, v. 35, n. 3, p. 290-295, Moscou, 2004.

CRONQUIST, A. **Introducción a la botánica**. Tradução: Ramon Riba Y Nava Esparza. México: Companhia Editorial continental, S. A., 1969, 800 p.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. 2nd ed. New York: The New York Botanical Garden, 1988, 555 p.

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

ERNST, W. H. O. Physiological and biochemical aspects of metal tolerance. In MANSFIELD, I.A. **Effects of air pollutants on plants**. Cambridge Univ. Press, Cambridge, p. 115-33, 1976.

FARIAS, L. H. M. **Efeitos do solo contaminado por petróleo nas folhas e raízes de *Rhynchospora corymbosa* (L.) Britt. (Cyperaceae)**. Curitiba, 2005, 75 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

FLORES-AYLAS, W. W. **Desenvolvimento inicial de espécies arbóreas em semeadura direta: efeito de micorriza e de fósforo**, Lavras, 1999, 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo), Universidade Federal de Lavras.

FOLHA DO PARANÁ E GAZETA DO POVO. **Poluição por óleo diesel no Paraná.** Disponível em: <<http://www.ambicenter.com.br/petrobras.htm>> Acesso em: 24 janeiro 2004.

FORMAN, R. T. T. **Land Mosaics - the ecology of landscapes and regions.** Cambridge: Cambridge University Press, 1995, 632 p.

GARCIA, F. A.; ROCHA, B. C.; PREUSSLER, K. H.; RIBAS DE OLIVEIRA, C. M.; MARANHO, L. T. Monitoramento da Influência do derramamento de petróleo pela estrutura do lenho de *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith & Downs (Euphorbiaceae). In: **55° CONGRESSO NACIONAL e 26° Encontro Regional de Botânicos de MG, BA e ES**, 2004, Viçosa, MG: UFV, CD-ROM.

GATLIF, E. G. Vegetative remediation process offers advantages over traditional pump-and-treat technologies. **Remed. Summer**, v. 4, n. 3, p. 343-352, 1994.

GIBBS, P. E.; LEITÃO-FILHO, H. F. Floristic composition of an area of gallery forest near Moji-Guaçu, State of São Paulo, SP, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 1, p. 151-156, 1978.

GREEN, B. T.; WIBERG, C. T.; WOODRUFF, J. L.; MILLER, E. W.; POAGE, V. L.; CHILDRESS, D. M.; FEULNER, J. A.; PROSCH, S. A.; RUNKEL, J. A.; WANDERSCHIED, R. L.; WIERMA, M. D.; YANG, X.; CHOE, H. T. e MERCURIO, S. D. Phytotoxicity observed in *Tradescantia* correlates with diesel fuel contamination in soil. **Environmental and Experimental Botany**, v. 36, n. 3, p. 313-321, Londres, 1996.

HAUESEMANN, M. H. Predictive model for estimating the extent of petroleum hydrocarbon biodegradation in contaminated soils. **Environmental Science and Technology**, v. 29, p. 7, 1995.

HERRERA, M. A.; SALAMANCA, C. P.; BAREA, J. M. Inoculation of woody legumes with selected arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia to recover desertified Mediterranean ecosystems. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.59, p. 129-133, 1993.

KINAKO, P. D. S. Short-term effects of oil pollution on species numbers and productivity of a simple terrestrial ecosystem. **Environmental Pollution**, v. 26, p. 87-91, Nigéria, 1981.

KOLB, R. M.; MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J. A.; GILONI, P. C.; CORREA, G. T. Anatomia ecológica de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B.

Sm. & Downs (Euphorbiaceae) submetida ao alagamento. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 21, n. 3, p. 261-267, 1998.

KULAKOW, P. 2000. **Annual Report of the RTDF Phytoremediation Action Team-TPH subgroup Cooperative Field Trials**. Disponível on line em: www.rtdf.org/public.

LAMB, D.; PARROTTA, J.; KEENAN, R.; TUCKER, N., 1997. Rejoining habitat remnants: restoring degraded rainforest lands. In: **Laurance, W. F.; Bierregaard, R.O. (Eds.). Tropical forest remnants: ecology, management and conservation of fragmented communities**. 616 f., 1997, London, The University of Chicago Press.

LINDSTEDT-SILVA, J. Minimizing the ecological Impacts of Oil Spills. **Environment International**, v. 3, p. 185-188, Londres, 1979.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**; Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil, *Sebastiania commersoniana*, ed. Plantarum , p. 111, 1992.

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

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

MANTOVANI, W. **Conceituação e fatores condicionantes**. In Simpósio sobre Mata Ciliar (L.M. Barbosa, ed.). Fundação Cargil, Campinas, p.11-19, 1989.

MARANHO, L.T. **Efeitos da poluição por petróleo na estrutura da folha e do lenho de *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl. (Podocarpaceae)**. Curitiba, 2004. 200 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

MARCHIORI, J. N. C.; SOBRAL, M. **Dendrologia das angiospermas – das bixáceas às rosáceas**. Santa Maria, UFSM, 2000, 240 p.

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

MAYER, J. L. S. **Impacto do solo contaminado com petróleo no crescimento e desenvolvimento de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg (Myrtaceae)**. Curitiba, 2004, 81 f., Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

MURATOVA, A. Y.; TURKOVSKAYA, O. V.; HÜBNER, T. e KUSCHK, P. Studies of the efficacy of alfalfa and reed in the phytoremediation of hydrocarbon-polluted soil. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 39, n. 6, p. 681-688, Moscou, 2003.

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

OLIVEIRA-FILHO, A. T. Estudos ecológicos da vegetação como subsídios para programas de revegetação com espécies nativas: uma proposta metodológica. **Cerne**, Lavras, v.1, n.1, p.64-72, 1994.

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

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

REFINARIA ALBERTO PASQUALINI S/A-REFAP. **Óleo diesel**. Disponível em: <http://www.refap.com.br/produtos.asp>. Acesso em: 22 abril 2004.

REICHARDT, K. Relações água-solo-planta em Mata Ciliar. In: **Simpósio sobre Mata Ciliar (L.M. Barbosa, ed.)**. Fundação Cargil, Campinas, p. 20-24, 1989.

REZENDE, I. M; BONA, C.; SOUZA, L. A; SANTOS, G. O.; BARDELLI-DA-SILVA, M. Y. Efeito do solo contaminado com óleo diesel na germinação e no desenvolvimento das plântulas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anarcadiaceae). In: **56° Congresso Nacional de Botânica**, 2005, Curitiba, PR: UFPR, CD-ROM.

RODRIGUES, R. R. & LEITÃO FILHO, H. F. **Matas Ciliares, Conservação e Recuperação**, ed. Edusp, 2001, p. 231.

RODRIGUES, T. T. **Os efeitos do solo contaminado com petróleo na estrutura anatômica e estado nutricional do lenho jovem de *Campomanesia xanthocarpa* Berg (Myrtaceae) e *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith & Downs (Euphorbiaceae)**. Curitiba, 2005. 154 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

SILVA, M. P.; PREUSSLER, K. H.; RIBAS DE OLIVEIRA, C. M.; MARANHO, L. T. Monitoramento da Influência do derramamento de petróleo por meio da estrutura da folha de *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith & Downs (Euphorbiaceae). In: **55° Congresso Nacional (Encontro Regional de Botânicos de MG, BA e ES)**, 2004, Viçosa, MG: UFV, CD-ROM.

SILVA, S. M.; SILVA, F. C.; VIEIRA, A. O. S.; NAKAJIMA, J. N.; PIMENTA, J. A.; COLLI, S. Composição florística e fitossociologia do componente arbóreo das florestas ciliares da Bacia do Rio Tibagi, Paraná: 2. várzea do rio Bitumirim, Município de Ipiranga, PR. **Revista Inst. Florestal.**, v. 4, p. 192-198, 1992.

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.

SMITH, L. B.; DOWNS, J.; KLEIN, R. M. Euforbiáceas. In: **Flora Ilustrada Catarinense (R. Reitz, ed.)**. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, 1988, 408 p.

SOUZA, S. L. **Revegetação de área de biorremediação contaminada por resíduos oleosos de petróleo**. Curitiba, 1999, 103 p., Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

TAYLOR, G. E. JR. Plant and leaf resistance to gaseous air pollution stress. **New Phytol.**, v. 80, p. 523-534, 1978.

WACHOWICZ, C. M; CARVALHO, R. I. I. **Fisiologia vegetal: produção pós-colheita**. Ed.Champagnat, Curitiba, 2002, 422 p.

WILLIAN, A.; PATTERSON, I. I. I.; 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**, v. 13, p. 233-38, 1982.

WOOLHOUSE, H. W. Toxicity and tolerance in the responses of plants to metals. In: Lange, O.L., Nobel P.S., Osmond. C.B. Ziegler, M. (Eds.) **Encyclopaedia of plant physiology**, vol. 12 C, Responses to the chemical and Biological Environment. Springer, Berlin, p. 245-300, 1983.

II. CAPÍTULO 1 – GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs (EUPHORBIACEAE) EM SOLO CONTAMINADO COM ÓLEO DIESEL

RESUMO

O estudo de espécies nativas resistentes à contaminação por derivados de petróleo possui grande importância na recuperação de áreas contaminadas. Neste trabalho foi analisado o efeito da poluição por óleo diesel na germinação e no desenvolvimento de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs, em diferentes épocas após a contaminação. O experimento constou de três tratamentos: solo contaminado 60, 120 e 210 dias antes do plantio e controle (sem contaminação). Os tratamentos receberam 92,4 mL de óleo diesel por Kg de solo. A porcentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG) foram menores no tratamento de 60 dias. As plantas do tratamento de 60 dias tiveram os menores valores de massa fresca e seca, comprimento da raiz e parte aérea, diâmetro do hipocótilo, área e massa seca do eofilo, em relação ao controle. Provavelmente, a fração volátil do óleo diesel foi o principal fator inibidor da germinação, enquanto que a fração não-volátil, reduziu o crescimento.

Palavras-chave: Germinação; crescimento; poluição; óleo diesel; *Sebastiania commersoniana*

ABSTRACT

Researches on resistant to petroleum derivatives native species have a major role in the rehabilitation of contaminated areas. The current study aimed to analyze the effects of diesel fuel pollution on germination and growth of *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs, in different times after contamination. The experiment had four treatments: contaminated soils (60, 120 and 210 days after contamination) and non-contaminated one (control). The contaminated treatment took 92 milliliters of fuel per Kg of soil. The percentage of germination and the germination speed index (GSI) were minor in the 60 day contaminated soil. The plants in T60 had the lowest amount of hypocotyl diameter, dry and fresh weight, root and aerial part length in relation to the control. The volatile fraction of the diesel fuel was likely the principal inhibitor factor of the germination, while the non-volatile one had diminished the plantule growth.

Key words: germination; growth; diesel fuel; *Sebastiania commersoniana*

1. INTRODUÇÃO

Acidentes envolvendo derramamento de petróleo e derivados em áreas continentais podem atingir o lençol freático por percolação (CAVALCANTE & SABADIA, 1992), contaminando rios e, por conseqüência, as plantas que compõem a vegetação ciliar. As plantas, na maioria das vezes, são os primeiros organismos a serem atingidos por derramamento de óleo (MALALLAH et al., 1996). Os efeitos da poluição nas plantas podem variar de acordo com o tipo e a quantidade de óleo envolvido, a idade da planta, a época do ano e as espécies de plantas atingidas (BAKER, 1970). O óleo pode causar efeitos crônicos ou agudos, podendo causar interferência nas relações hídricas da planta. Essa interferência, acompanhada das condições anaeróbicas e hidrofóbicas, vem a ser o efeito mais importante em relação à germinação de sementes e ao crescimento das plantas (RACINE, 1994).

O óleo diesel, em geral, é uma mistura complexa de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e outras substâncias fitóxicas que são relativamente persistentes no solo, podendo interferir no desenvolvimento normal da planta (ADAM & DUNCAN, 1999). Este combustível contém componentes voláteis e não voláteis, sendo que a fração volátil corresponde a aproximadamente 5 a 10% do produto total da maioria dos combustíveis de diesel (ADAM & DUNCAN, 2002).

A recuperação de áreas contaminadas por petróleo é lenta (KINAKO, 1981), entretanto, certas espécies de plantas possuem capacidade de crescer em solos contaminados, desenvolvendo mecanismos de desintoxicação, cujos efeitos do acúmulo de substâncias tóxicas podem ser minimizados (ERNST, 1976). Dentre os métodos utilizados atualmente para minimizar os efeitos decorrentes da poluição destaca-se a fitorremediação, que é um processo no qual se utiliza a vegetação para aumentar a dissipação ou estabilização de contaminantes ambientais (KULLAKOW, 2000).

A maioria dos programas de revegetação tem sido realizada através do plantio de mudas, porém alguns estudos indicam que a implantação de florestas via semeadura direta no campo pode ser uma alternativa viável principalmente devido à redução dos custos (ALMEIDA, 2004). Estudos da germinação de espécies nativas que se desenvolvem em solo contaminado com óleo diesel são de suma importância

ecológica, pois essas plantas poderão ser indicadas para planos de recuperação através da semeadura direta.

A escolha da espécie, como objeto de investigação, foi baseada em estudos fitossociológicos realizados em florestas de galeria, onde *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs (Euphorbiaceae) geralmente assume o maior Índice de Valor de Importância, se tornando uma espécie dominante (SMITH et al., 1988; BARDDAL et al., 2004). Essa espécie ocorre nas regiões sudeste e sul do Brasil, nordeste da Argentina, leste do Paraguai e Uruguai e é muito indicada para a recomposição de áreas degradadas ao longo das margens de rios e reservatórios, devido a sua preferência por solos úmidos e brejosos (LORENZI, 1992). Novos estudos com essa espécie também são importantes, visto que BONA & SANTOS (2003) registraram tolerância desta aos solos contaminados com petróleo.

O objetivo do presente trabalho foi analisar o efeito do solo contaminado com óleo diesel na germinação e desenvolvimento de *S. commersoniana* e verificar se o tempo após a contaminação interfere nesse processo. O acompanhamento da germinação e do desenvolvimento da espécie em diferentes períodos após a contaminação do solo fornecerá subsídios para indicar a resistência da espécie ao poluente, bem como o momento adequado para realizar a semeadura.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs foram fornecidas pela Embrapa Florestas, localizada em Colombo – PR. Essas sementes foram coletadas no dia 06 de janeiro de 2005, a partir de cinco matrizes presentes na área da Embrapa Florestas, preservadas em câmara seca por 15 dias e conservadas em geladeira. Para a viabilização das sementes, foi feita hidratação em câmara úmida, por aproximadamente 48 horas antes do plantio.

O experimento foi realizado na estufa do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná. Foram montados três tratamentos (com contaminação) e o controle (solo não contaminado - T0). A contaminação do solo foi efetuada da seguinte forma: T210 – solo contaminado 210 dias antes do plantio; T120 – solo contaminado 120 dias antes do plantio; e T60 – solo contaminado 60 dias antes do plantio. Foram feitas cinco repetições (bandejas) para cada tratamento sendo semeadas 50 sementes em cada repetição, totalizando 1000 sementes. A distribuição das bandejas na estufa foi ao acaso para que não ocorressem efeitos diferenciais como luminosidade e disponibilidade de água.

O solo utilizado pertence à classe dos gleissolos melânicos, caracterizado por possuir textura argilosa, sendo encontrado em relevo plano de várzeas (FASOLO et al., 2002). O solo foi coletado a uma profundidade de 0 a 20 cm da superfície, no Município de Araucária, Paraná, Brasil, onde a espécie estudada ocorre naturalmente. A contaminação com o óleo diesel foi feita no solo com 50% de sua capacidade máxima de retenção de água, baseado no trabalho de LI et al. (1997) e MURATOVA et al. (2003). Cada Kg de solo, umedecido a 50% de sua capacidade máxima de retenção de água, foi contaminado com 92,4 ml de óleo diesel, sendo essa a capacidade máxima de retenção de óleo diesel deste solo. Cada bandeja foi montada com cerca de 3 quilos de solo contaminado e homogeneizado. Todos os tratamentos foram mantidos em estufa com nebulização intermitente de 15 segundos a cada 3 horas, com sombrite 50%. As temperaturas máxima e mínima foram registradas diariamente durante todo o experimento (Tabela 1).

Tabela 1: Temperaturas mínima, média e máxima (°C) do interior da estufa durante os meses de julho de 2004 a março de 2005

	Jul*	Ago	Set	Out*	Nov	Dez*	Jan	Fev	Mar
Temperatura Mínima	5.4	2.6	7.4	7.8	10.9	9.8	13.0	12.9	12.7
Temperatura Média	16.6	18.5	22.8	21.2	23.4	24.2	26.1	26.8	26.9
Temperatura Máxima	28.8	32.8	36.3	36.6	45.2	39.0	41.6	42.7	42.9

* Meses da contaminação

O plantio das sementes foi efetuado no dia 10 de fevereiro de 2005 para todos os tratamentos. No momento do plantio, a nebulização da estufa foi alterada para irrigar durante 5 segundos a cada 20 minutos devido à preferência de *S. commersoniana* por substratos úmidos.

Os resultados da análise físico-química do solo contaminado e não contaminado estão representados na Tabela 2. No solo contaminado, houve redução nos níveis de potássio (K^+) e fósforo (P) e aumento na porcentagem de carbono (C). Os outros componentes analisados, como alumínio (Al^{+3}), concentração de alumínio trocável (H^+Al^{+3}), cálcio (Ca^{+2}), magnésio (Mg^{+2}), soma de bases (SB), capacidade de troca catiônica total (T), pH, porcentagem de saturação (V), não mostraram diferenças expressivas entre o solo contaminado e não contaminado.

Tabela 2: Análise físico-química do solo contaminado com óleo diesel e não contaminado.

	Al^{+3}	H^+Al^{+3}	Ca^{+2}	Mg^{+2}	K^+	SB	T	Argila
	cmol _e /dm ³							g/kg
Solo Contaminado	0	4.6	12.8	7	0.43	20.23	24.83	400
Solo Controle	0	3.2	12.2	7.4	0.71	20.31	23.51	400

	pH		P	S	C	V	M	Ca/Mg
	CaCl ₂	SMP	mg/ dm ³	g/ dm ³	%	%		
Solo Contaminado	5.6	6.1	7	-	38.9	81	0	1.8
Solo Controle	6.1	6.6	8.8	-	30.5	86	0	1.6

A coleta de dados para a análise da germinação foi efetuada diariamente logo após o plantio das sementes até a estabilização da germinação. Foram determinados a porcentagem de germinação (%) e o índice de velocidade de germinação (IVG), com a seguinte fórmula sugerida por MAGUIRE (1962): $IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$, sendo que: G_1 , G_2 e G_n = número de plântulas

computadas na primeira, segunda e última contagem; N_1 , N_2 e N_n = número de dias após o plantio das sementes.

Para a análise morfológica das plantas foram coletados 25 indivíduos inteiros de cada tratamento (cinco em cada repetição) 30 dias após o plantio. Após a coleta, foram mensurados: a massa fresca e seca das plantas inteiras, o diâmetro do hipocótilo (na região do colo), o comprimento da raiz, o comprimento da parte aérea (hipocótilo e caule) e a área e massa seca dos eofilos. Para obtenção da massa seca das plantas e dos eofilos, as amostras foram prensadas, colocadas em estufa e pesadas em balança analítica de precisão. O diâmetro do hipocótilo, do comprimento da raiz e do caule foram mensurados com o auxílio de paquímetro e régua milimetrada. A área do eofilo foi obtida através da digitalização com scanner de mesa dos eofilos secos, utilizando o programa Sigma-Pro Versão 5.0. As análises estatísticas dos dados obtidos basearam-se na análise de variância (ANOVA), sendo determinado o DMS pelo teste de Tukey, a um nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS

A germinação iniciou no quarto dia após o plantio e a expansão total dos cotilédones foi observada a partir do décimo dia em todos os tratamentos. O pico de germinação, ou seja, o período em que houve maior número de sementes germinadas, ocorreu no sétimo dia para todos os tratamentos e se tornou praticamente constante a partir do vigésimo dia. A contaminação com óleo diesel, em diferentes períodos antes do plantio, não interferiu nos picos de germinação, mas, sim, no número de sementes germinadas (Figura 1). A porcentagem de germinação de *S. commersoniana* submetida ao solo contaminado com óleo diesel variou entre os tratamentos: 58,4% no T210, 70% no T120, 32,4% no T60 e 75,6% no controle (T0). O número total de sementes germinadas por tratamento foi de 146 sementes no T210, 175 no T120, 81 no T60 e 189 no T0. O número de sementes germinadas foi menor no T60 e T210 em relação ao controle. O menor tempo após a contaminação aumentou o efeito negativo sobre a germinação das sementes (Figuras 2 a 6). Os solos que foram contaminados tiveram o banco de sementes esterilizado, visto que não houve germinação de outras espécies (Figuras 3 a 5) enquanto que no solo não contaminado houve germinação de várias espécies além de *S. commersoniana* (Figura 6).

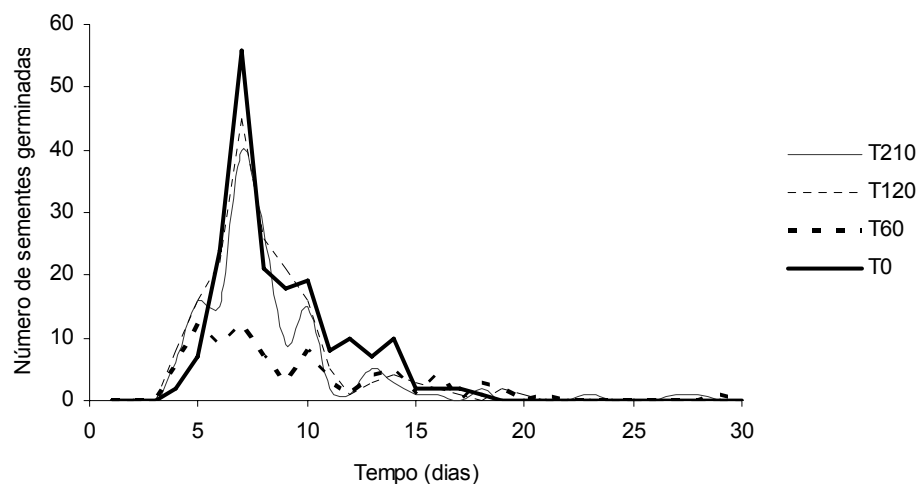


Figura 1: Freqüência relativa da germinação de *Sebastiania commersoniana* cultivada em solo contaminado com óleo diesel 210 dias (T210), 120 dias (T120) e 60 dias (T60) após a contaminação e em solo não contaminado (T0).

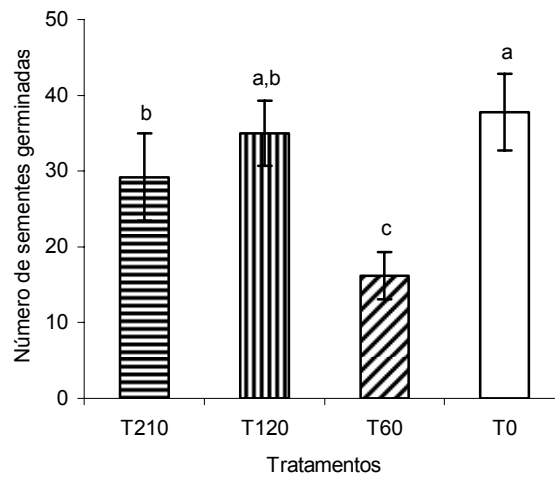
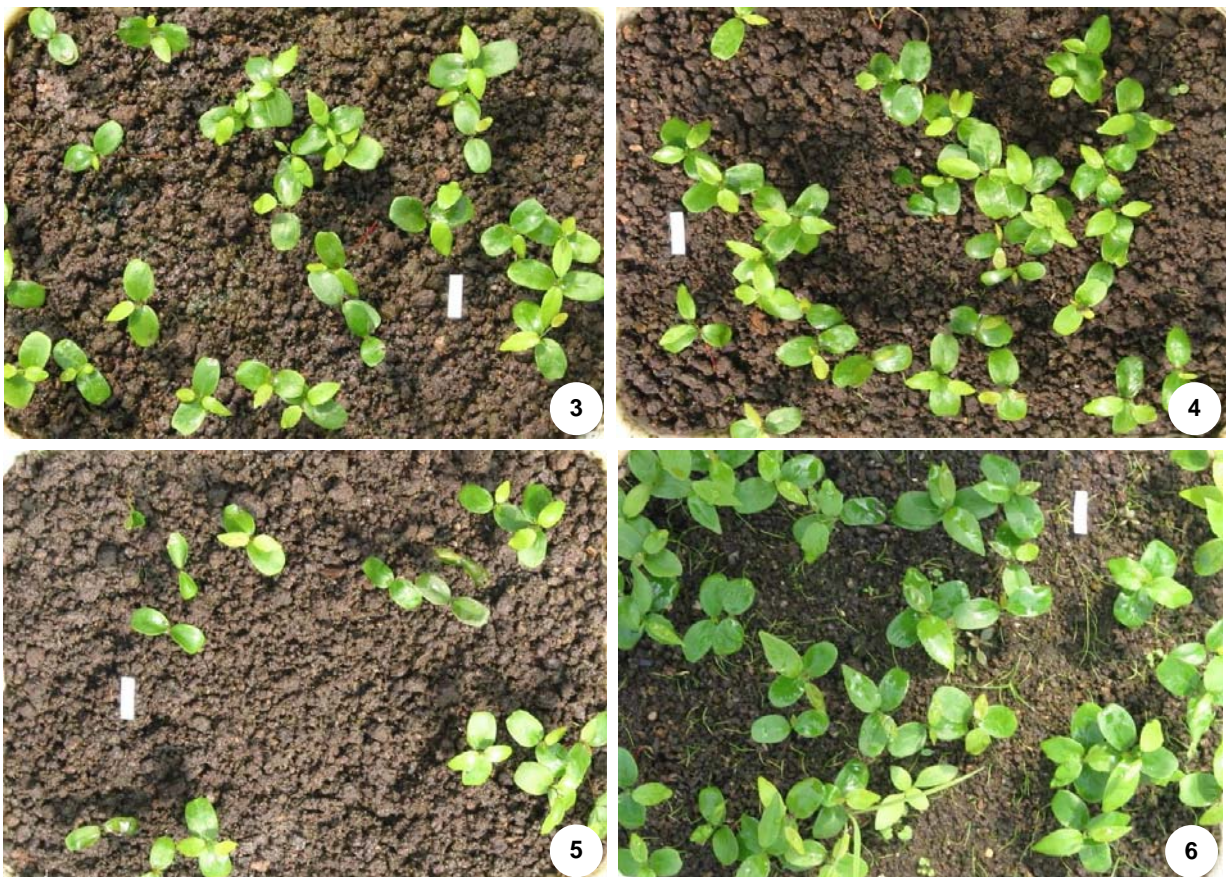


Figura 2: Número médio de sementes de *Sebastiania commersoniana* germinadas em solo contaminado com óleo diesel após 210 dias (T210), 120 dias (T120), 60 dias (T60) da contaminação e sem contaminação (T0). (Os valores seguidos da mesma letra não são significativamente diferentes baseados pelo Teste de Tukey ($p < 0.05$)).



Figuras 3 a 6: Plantas jovens de *Sebastiania commersoniana* após 30 dias do plantio em solo contaminado com óleo diesel. 3. solo contaminado 210 dias antes do plantio (T210). 4. solo contaminado 120 dias antes do plantio (T120). 5. solo contaminado 60 dias antes do plantio (T60). 6. solo não contaminado (T0). Barra = 2 cm.

O índice de velocidade de germinação também variou entre os tratamentos. Até o sétimo dia, a germinação foi mais rápida nos tratamentos contaminados e, após este período, houve considerável redução na germinação sob o tratamento T60 (Figura 7). As sementes do tratamento T60 apresentaram menor IVG comparado aos demais tratamentos e ao controle. O IVG das sementes dos tratamentos de 210 e 120 dias foi, estatisticamente, igual ao controle (Figura 8).

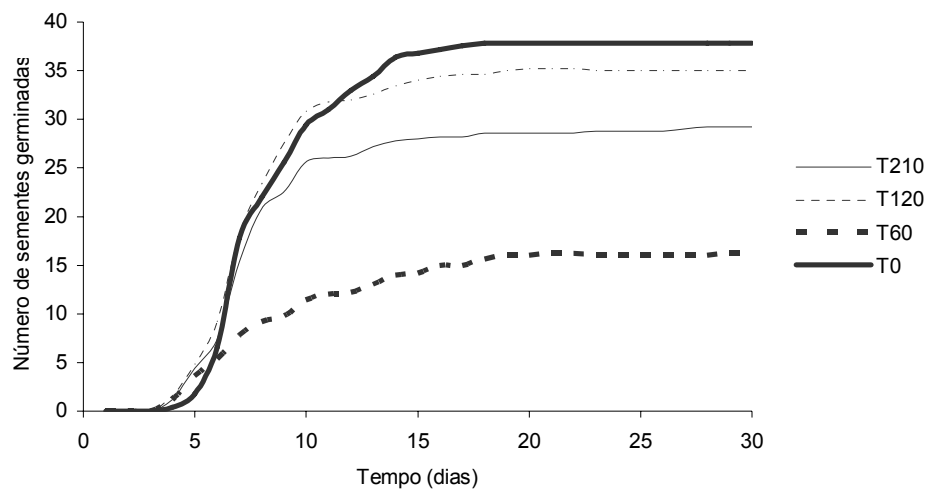


Figura 7: Germinação acumulada de *Sebastiania commersoniana* em solo contaminado com óleo diesel 210 dias (T210), 120 dias (T120) e 60 dias (T60) após a contaminação e solo não contaminado (T0).

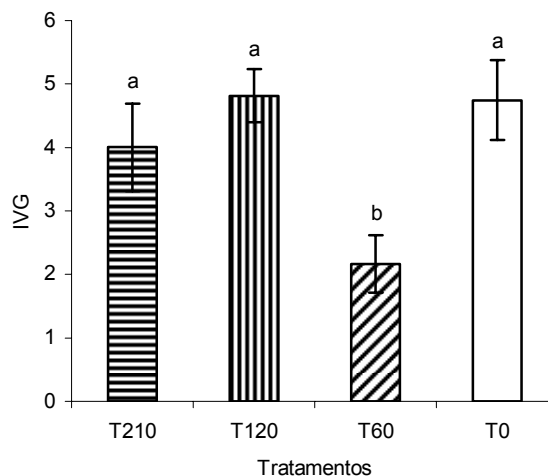


Figura 8: Índice de velocidade de germinação (IVG) de *Sebastiania commersoniana* plantada em solo contaminado com óleo diesel: 210 dias antes do plantio (T210), 120 dias antes do plantio (T120), 60 dias antes do plantio (T60) e em solo não contaminado (T0). (Os valores seguidos da mesma letra não são significativamente diferentes baseados pelo Teste de Tukey ($p < 0.05$)).

O tempo após a contaminação com óleo diesel interferiu no processo de germinação. O solo contaminado 60 dias antes do plantio (T60) teve maior efeito negativo sobre a germinação e o índice de velocidade de germinação. Apesar do tratamento T210 ter sido contaminado três meses antes de T120, não houve diferenças significativas entre os dois.

As plantas dos tratamentos contaminados apresentaram estádios de desenvolvimento diferentes do controle após 30 dias do plantio. Algumas plantas do tratamento T60 não desenvolveram metafilo (segunda folha), ou ainda não chegaram a formar eofilo, enquanto que as plantas do controle tiveram eofilos e metafílos bem desenvolvidos com o aparecimento das primeiras folhas verdadeiras. Nos demais tratamentos contaminados (T210 e T120), a maioria das plantas apresentaram eofilos e metafílos, porém com desenvolvimento inferior ao controle (Figuras 2 a 5).

As plantas dos tratamentos T210, T120 e T60 tiveram menor índice de massa fresca em relação às plantas do controle, sendo que o tratamento de 60 dias foi o mais afetado (Figura 9A). Quanto à massa seca, apenas as plantas do T60 foram diferentes e inferiores às plantas do controle (Figura 9B).

Todas as plantas dos tratamentos contaminados tiveram menor diâmetro do hipocótilo e comprimento da parte aérea, sendo as plantas do tratamento T60, as que apresentaram menor crescimento em altura (Figuras 9C e 9D). O comprimento das raízes das plantas do solo contaminado (T60) foi cerca de 50% menor em relação às plantas controle. Nos tratamentos T210 e T120 também houve redução significativa no crescimento das raízes, não apenas relacionado ao comprimento, mas também à formação de raízes secundárias (Figuras 9E e 10).

A área e a massa fresca do eofilo foram muito afetadas pelo óleo, sendo menores no tratamento de 60 dias e maiores no controle (Figuras 9F e 9G).

Analisando-se todas as variáveis, nota-se que houve menor crescimento nas plantas dos solos contaminados, sendo que o tratamento de 60 dias foi o mais afetado pelo óleo diesel, principalmente, em relação à área foliar, ao comprimento da parte aérea e à massa seca do eofilo. Um dos efeitos marcantes observados foi a presença de necroses cotiledonares em plântulas do tratamento T60, que morreram antes de formar os eofilos (Figuras 11 e 12).

Após 60 dias do plantio as diferenças no tamanho das plantas foram claramente visíveis, tanto na parte aérea quanto no sistema radicular. As plantas do controle cresceram cerca de 50% a mais que as plantas dos tratamentos com contaminação (Figura 13). Após 180 dias do plantio, as plantas dos tratamentos T210 e T120 apresentaram menor tamanho, menor número de folhas e folhas com coloração amarelada e com áreas necrosadas em relação às plantas controle (Figuras 14 a 16). Foi observado também em T210 e T120 a presença de cotilédones necrosados e aparente morte do meristema do ápice caulinar (Figuras 14 e 15). Nesse período não houve registro do tratamento T60, pois não restaram indivíduos devido ao menor número de sementes germinadas.

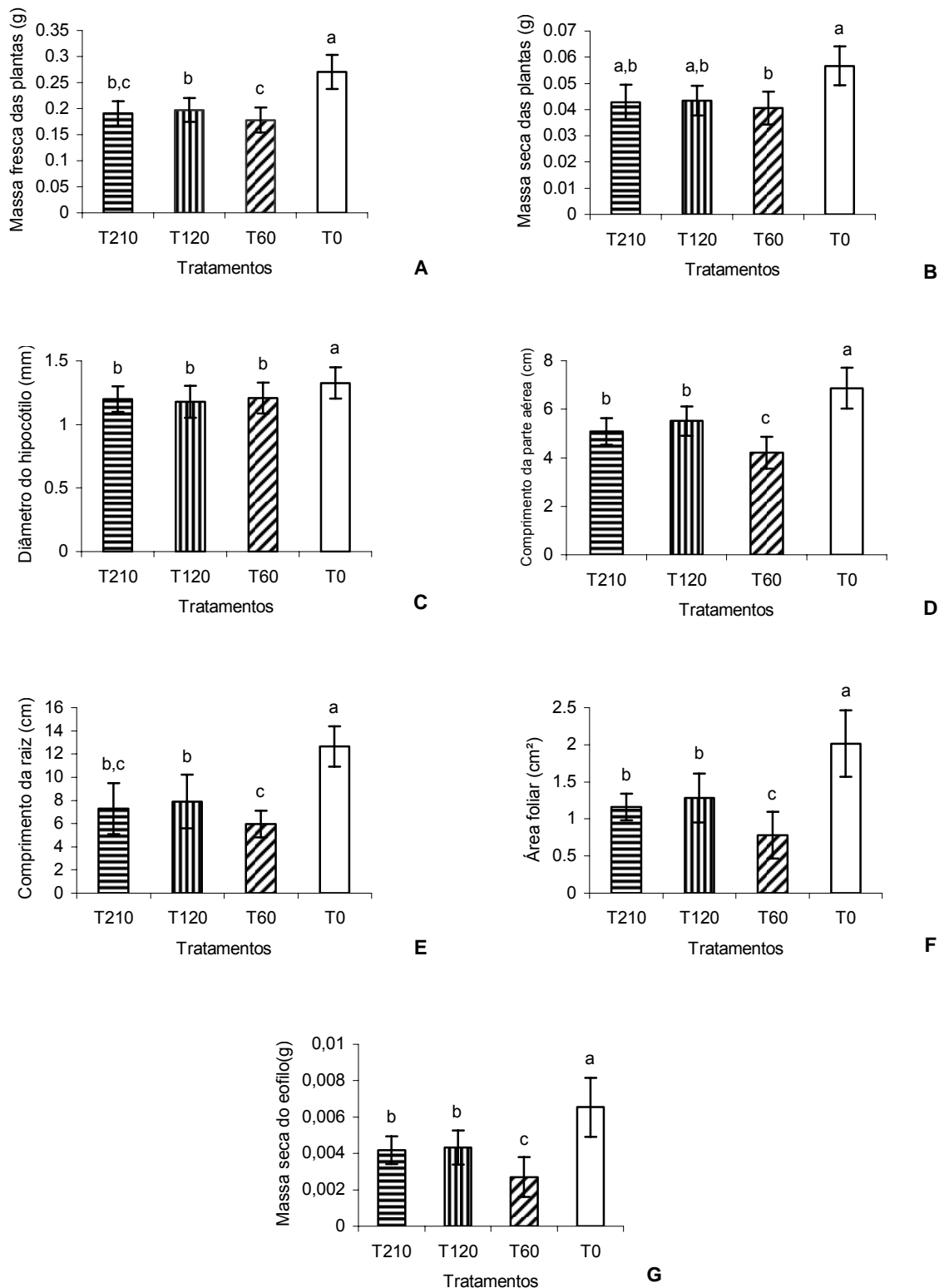
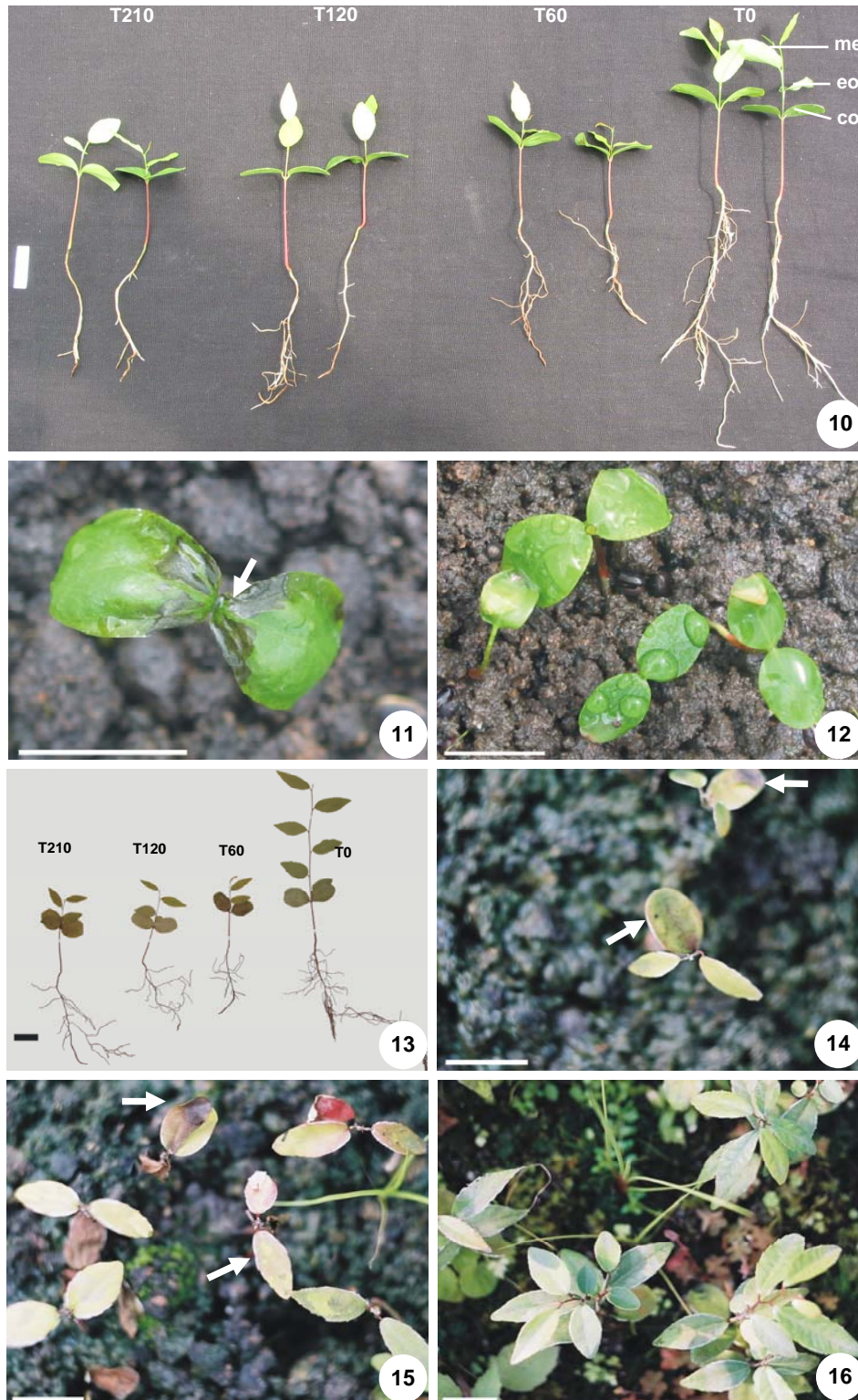


Figura 9: Efeito do óleo diesel no desenvolvimento de *Sebastiania commersoniana* em solo contaminado 210 dias antes do plantio (T210), 120 dias antes do plantio (T120), 60 dias antes do plantio (T60) e em solo não contaminado. (As médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes baseadas pelo Teste de Tukey ($p < 0.05$)).



Figuras 10 a 16: Plantas de *Sebastiania commersoniana* submetidas à contaminação com óleo diesel. 10. Plantas jovens 30 dias após o plantio em solo contaminado (T210, T120 e T60) e solo não contaminado (T0). 11. Plântula com necrose cotiledonar (seta) 15 dias após o plantio no T60. 12. Plântulas saudias do controle (T0) 15 dias após o plantio. 13. Plantas com 60 dias em solo contaminado (T210, T120 e T60) e solo não contaminado (T0). 14. Plantas do tratamento T210 após 180 dias do plantio evidenciando a presença de cloroses e necroses. 15. Plantas do tratamento T120 após 180 dias do plantio evidenciando a presença de cloroses e necroses. 16. Plantas saudias do controle (T0) após 180 dias do plantio. (co = cotilédone; eo = eófilo; me = metafílo). Barra= 2 cm.

4. DISCUSSÃO

O grau de biodegradação dos hidrocarbonetos depende das condições ambientais e da biodisponibilidade para os microorganismos (HAUSEMANN, 1995). A atividade microbiana presente na rizosfera é capaz de reduzir os efeitos danosos do óleo diesel nas plantas (ADAM & DUNCAN, 1999). A temperatura mais baixa no momento da contaminação do tratamento T210 pode ter interferido na volatilização dos componentes do óleo e no desenvolvimento da flora microbiana, o que pode ter aumentado os efeitos nas plantas.

O efeito tóxico dos hidrocarbonetos na germinação de sementes foi observado por vários autores (BAKER, 1970, AMAKIRI & ONOFEHGARA, 1984, DE JONG, 1980, ADAM & DUNCAN, 2002, CHAÎNEAU et al., 2003). O efeito inibitório do óleo na germinação pode ser atribuído pela morte do embrião devido à entrada de óleo na semente, ou pela redução da absorção de água e oxigênio devido à camada impermeabilizante formada pelo óleo ao redor da semente (BAKER, 1970). Em sementes de dicotiledôneas, o óleo pode penetrar via micrópila ou através de injúrias no tegumento. O tegumento da semente varia muito entre as espécies e é um aspecto importante na resistência à penetração de óleo nas células do embrião (AMAKIRI & ONOFEHGARA, 1984).

Em estudos que analisaram a viabilidade das sementes de *Linum usitatissimum* L., foi observado que apenas 2,5% das sementes tornaram-se inviáveis após a embebição com óleo diesel por 48 e 168 horas (ADAM & DUNCAN, 2002). AMAKIRI & ONOFEHGARA (1984), estudando a germinação de *Capsicum frutescens* L. e duas variedades de *Zea mays*, mostraram que houve variação entre as espécies, sendo que *C. frutescens*, apresentou 100% de viabilidade após 32 semanas de embebição em óleo cru, enquanto *Z. mays* apresentou 10-15%. Isso indica que a inibição da germinação pelo óleo diesel pode estar diretamente relacionada com a estrutura do envoltório do embrião.

Segundo ADAM & DUNCAN (2002), a redução na germinação provavelmente se deve à propriedade impermeável do óleo diesel. A camada de óleo ao redor da semente pode agir como uma barreira física, prevenindo ou reduzindo a entrada de água e oxigênio. A menor porcentagem de germinação das sementes de *S. commersoniana* do tratamento T60 pode ter ocorrido devido à redução de água e

oxigênio e entrada de componentes tóxicos do óleo na semente com conseqüente morte do embrião.

Durante o acompanhamento da germinação de *S. commersoniana* foi observado o crescimento de algumas gramíneas e herbáceas provindas do banco de sementes do solo controle, o que não foi constatado nos tratamentos com contaminação. Isto indica que as sementes, do banco de sementes, podem ter sido esterilizadas pelo óleo diesel. Algumas gramíneas podem ser consideradas intolerantes quando germinadas em solo contaminado com óleo diesel, mesmo em baixas concentrações, porém a tolerância e habilidade para germinar em solo contaminado com óleo diesel podem variar bastante entre as espécies. Algumas espécies de gramíneas podem apresentar alto grau de germinação, enquanto outras, baixa germinação (ADAM & DUNCAN, 2002).

O óleo diesel, além de afetar a germinação, interfere também no crescimento das plântulas. Foi observado que as plântulas de *S. commersoniana* do controle tiveram um crescimento acentuado e constante, enquanto que nos outros tratamentos o crescimento se estabilizou devido à presença do óleo diesel. Segundo CHAÎNEAU et al. (1997) os hidrocarbonetos, quando em altas concentrações, podem causar inibição no crescimento das plantas.

CHUPAKHINA & MASLENNIKOV (2004) estudaram plantas com 25 dias de crescimento, e mostraram que, em geral, todas as espécies germinadas em solo contaminado com hidrocarbonetos, apresentaram atraso no desenvolvimento dos eófilos e redução no peso das plantas. Em solo contaminado com petróleo, ocorreu uma tendência na diminuição da área foliar e área específica foliar em *Rizophora mangle* (PROFFITT et al., 1995). Esse efeito negativo também foi registrado nas plântulas de *S. commersoniana* no presente trabalho. ADAM & DUNCAN (1999) afirmam que a parte aérea pouco desenvolvida das plântulas crescidas em solo contaminado com óleo diesel não pode ser atribuída ao atraso na germinação, pois algumas espécies germinam tão bem quanto o controle, contudo, o desenvolvimento é prejudicado com a presença do contaminante. Isso explica os resultados obtidos neste trabalho, no qual o tratamento T120, mesmo com porcentagem de germinação semelhante ao controle e, ainda, maior IVG em relação a T60, sofreu atraso significativo no crescimento por se desenvolver no solo contaminado com óleo diesel.

A maioria dos estudos relacionados à poluição avalia os efeitos sobre as plantas em diferentes concentrações de hidrocarbonetos (GREEN et al., 1996, MALALLAH et al., 1996, CHAÎNEAU et al., 1997, ADAM & DUNCAN, 2002, CHUPAKHINA & MASLENNIKOV, 2004). ADAM & DUNCAN (2002) também estudaram o efeito do tempo após a contaminação e observaram que no plantio realizado após 3 semanas da contaminação do solo com óleo diesel, três das cinco espécies analisadas tiveram maior porcentagem de germinação quando comparadas às plantadas logo após a contaminação. Segundo estes autores, quando a concentração de componentes voláteis de diesel é mantida ao mínimo, há aumento significativo na porcentagem de germinação. Isso explica o maior efeito do óleo diesel sobre o tratamento T60, no qual o plantio foi realizado em época mais recente à contaminação, havendo redução na germinação e no crescimento das plantas, provavelmente devido à maior concentração de voláteis. Porém, a influência da fração volátil do óleo diesel não é o único fator que inibe a germinação e afeta o crescimento, pois nos demais tratamentos (T210 e T120), nos quais, provavelmente, a fração volátil era praticamente nula, houve baixo crescimento quando comparados ao controle, indicando que a presença de substâncias oriundas do óleo diesel que persistiram no solo geraram alto nível de toxidez para as plantas. Os resultados de germinação e desenvolvimento foram semelhantes nos tratamentos de 210 e 120 dias, indicando que, após a volatilização, os compostos do óleo diesel que persistiram no solo afetaram igualmente a espécie estudada.

Plantas que germinam em altas concentrações de hidrocarbonetos podem apresentar redução no tamanho das raízes e porção aérea (CHAÎNEAU et al., 1997). Redução no desenvolvimento do sistema radicular também foi observada por ALKIO et al. (2005) em *Arabidopsis thaliana* crescidas com fenantreno, um composto de hidrocarboneto aromático policíclico com três anéis de benzeno, que é fluorescente quando exposto à luz UV. Através de análises realizadas em microscopia fluorescente, foi constatada a presença de fenantreno no interior das raízes e folhas de *Arabidopsis*, sugerindo que a absorção do contaminante ocasionou redução no crescimento da raiz e diminuição no tamanho e número de folhas (ALKIO et al., 2005).

A absorção de água em solo contaminado é reduzida devido às propriedades hidrofóbicas do óleo, provocando perturbações no desenvolvimento das raízes

(AMAKIRI & ONOFEGHARA, 1983; UDO & FAYEMI, 1975) e redução de água e disponibilidade de nutrientes (BAKER, 1970). Em *S. commersoniana*, a redução do sistema radicular provavelmente foi causada pela ação dos componentes tóxicos do óleo diesel no meristema apical. Isto foi confirmado por BARDELLI-DA-SILVA (submetido), onde os ápices da maioria das plantas do solo contaminado se encontravam hipertrofiados, com coloração escura e menor atividade meristemática. O menor crescimento das raízes em solo contaminado pode ter reduzido a absorção de água e nutrientes, afetando o desenvolvimento das plantas.

O óleo é capaz de reduzir o conteúdo de nitrogênio disponível no solo (DE JONG, 1980), o que pode ocasionar o surgimento de necroses foliares (SILVA, 1991). Estudos sobre os efeitos do derramamento de óleo em *Salix interior*, resultaram em cloroses seguidas de necroses foliares apenas nas regiões que tiveram contato direto com o poluente (GOUDEY et al., 1985). A presença de necroses cotiledonares em alguns indivíduos de *S. commersoniana* no tratamento T60 pode ter sido ocasionada pela nutrição deficiente da plântula devido às alterações radiculares. Outra razão para este sintoma pode ser atribuída pela toxicidade do óleo diesel em contato com a superfície cotiledonar, visto que, desde a germinação, os cotilédones estiveram susceptíveis ao contato direto com o contaminante.

5. CONCLUSÃO

No caso de se utilizar *Sebastiania commersoniana* para revegetar áreas contaminadas com óleo diesel, o ideal é que a semeadura seja feita a partir de, no mínimo, 210 dias após a contaminação, pois até esse período, o desenvolvimento das plântulas foi afetado.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ADAM, G.; DUNCAN, H. Influence of diesel fuel on seed germination. **Environmental Pollution**, v. 120, p. 363-370, 2002.

ALKIO, M.; TABUCHI, T. M.; WANG, X.; COLÓN-CARMONA, A. Stress responses to polycyclic aromatic hydrocarbons in *Arabidopsis* include growth inhibition and hypersensitive response-like symptoms. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 421, p. 2983-2994, 2005.

ALMEIDA, N. O., 2004. **Implantação de matas ciliares por plantio direto utilizando-se sementes peletizadas**. Lavras, 2004, 103 p. Tese (Doutorado em Florestas de Produção) – Universidade Federal de Lavras.

AMAKIRI, J. O.; ONOFEGHARA, F. A. Effect of crude oil pollution on the growth of *Zea mays*, *Abelmoshus esculentus* and *Capsicum frutescens*. **Oil Petrochem Pollut.**, v. 1, p. 199-205, 1983.

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

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

BARDDAL, M. L.; RODERJAN, C. V.; GALVÃO, F.; CURCIO, G. R. Caracterização florística e fitossociológica de um trecho sazonalmente inundável de floresta aluvial, em Araucária, PR. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 14, n. 2, p. 37-50, 2004.

CAVALCANTE, I. N.; SABADIA, J. A. B. Potencial hídrico subterrâneo: um bem mineral ameaçado pela ação antrópica. Fortaleza, **Revista Geologia**, v. 5, p. 115-124, 1992.

CHAÎNEAU, C. H.; MOREL, J. L.; OUDOT, J. Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. **Journal of Environmental Quality**, v. 26, p. 1478-1483, 1997.

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

CHUPAKHINA, G. N.; MASLENNIKOV, P. V. Plant adaptation to oil stress. **Russian Journal of Ecology**, v. 35, n. 3, p. 290-295, 2004.

DE JONG, E. The effect of a crude oil spill on cereals. **Environmental Pollution**, v. 22, p. 187-196, 1980.

ERNST, W. H. O. Physiological and biochemical aspects of metal tolerance. In: Mansfield, I.A. **Effects of air pollutants on plants**. Cambridge Univ. Press, Cambridge, p. 115-133, 1976.

FASOLO, P. J.; BOGNOLA, I. A.; CARVALHO, A. P.; POOTER, R. O.; BHERING, S. B. **Levantamento de Reconhecimento dos Solos da Região Sudeste do Estado do Paraná**, 2002. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento – EMBRAPA.

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**, v. 63, p. 2340-2344, 1985.

GREEN, B. T.; WIBERG, C. T.; WOODRUFF, J. L.; MILLER, E. W.; POAGE, V. L.; CHILDRESS, D. M.; FEULNER, J. A.; PROSCH, S. A.; RUNKEL, J. A.; WANDERSCHIED, R. L.; WIERMA, M. D.; YANG, X.; CHOE, H. T.; MERCURIO, S. D. Phytotoxicity observed in *Tradescantia* correlates with diesel fuel contamination in soil. **Environmental and Experimental Botany**, v. 36, n. 3, p. 313-321, 1996.

HAUESEMANN, M. H. Predictive model for estimating the extent of petroleum hydrocarbon biodegradation in contaminated soils. **Environmental Science and Technology**, v. 29, p. 7, 1995.

KINAKO, P. D. S. Short-term effects of oil pollution on species numbers and productivity of a simple terrestrial ecosystem. **Environmental Pollution**, v. 26, p. 87-91, 1981.

KULLAKOW, P. Annual report of the RTDF phytoremediation action team-TPH subgroup cooperative field trials, 2000. Disponível on line em: www.rtdf.org/public.

LI, X.; FENG, Y.; SAWATSKY, N. Importance of soil-water relations in assessing the endpoint of bioremediated soils. **Plant and Soil**, v. 192, p. 219-226, 1997.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**, manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil, *Sebastiania commersoniana*, ed. Plantarum, 1992, p. 111.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

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

MURATOVA, A. Y.; TURKOVSKAYA, O. V.; HÜBNER, T.; KUSCHK, P. Studies of the efficacy of alfalfa and reed in the phytoremediation of hydrocarbon-polluted soil. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 39, n. 6, p. 681-688, 2003.

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

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

SILVA, D. B. Efeito do nitrogênio em cobertura sobre o trigo irrigado em sucessão à soja na região dos cerrados. **Revista PAB (Pesquisa Agropecuária Brasileira)**, v. 26, n. 9, p. 1387-1392, 1991.

SOUZA, L. A. **Morfologia e anatomia vegetal: célula, tecidos, órgãos e plântulas**. Editora UEPG, Ponta Grossa, 2003.

SMITH, L. B.; DOWNS, J.; KLEIN, R. M. **Euforbiáceas**. In: Flora Ilustrada Catarinense (R. Reitz, ed.). Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, 1988, 408 p.

UDO, E. J.; FAYEMI, A. A. A. The effect of oil pollution on germination growth and nutrient uptake of corn. **Journal of Environmental Quality**, v. 4, p. 537-540, 1975.

**III. CAPÍTULO 2: EFEITOS DO SOLO CONTAMINADO COM ÓLEO DIESEL NA
MORFO-ANATOMIA DAS PLANTAS JOVENS DE *Sebastiania commersoniana*
(Baill.) L. B. Sm. & Downs (EUPHORBIACEAE)**

Resumo

O efeito do solo contaminado por óleo nas plantas tem sido estudado freqüentemente nos últimos anos, mas ainda são poucos os resultados referentes às alterações morfo-anatômicas. O objetivo do presente trabalho foi analisar o efeito do óleo diesel na estrutura de plantas jovens de *Sebastiania commersoniana* em diferentes períodos após a contaminação do solo. O branquilha, *S. commersoniana*, é uma espécie nativa do Brasil que geralmente assume dominância na mata ciliar. O experimento foi montado em estufa com três tratamentos (solo contaminado 60, 120 e 210 dias antes do plantio) e solo não contaminado (controle) com cinco repetições. As plantas submetidas à contaminação com óleo diesel tiveram o sistema radicular e a porção aérea menos desenvolvidos. A raiz teve maior diâmetro, formação de aerênquima cortical, e cilindro vascular mais desenvolvido. O mesofilo dos eófilos das plantas dos tratamentos contaminados, após 30 dias do plantio, encontrava-se indiferenciado em relação ao controle. No tratamento de 60 dias também ocorreram deformações epidérmicas e redução na formação de ceras epicuticulares. O óleo diesel causou alterações morfológicas nas plantas, mas quanto menor o tempo entre a contaminação e o plantio, maior foi o efeito danoso.

Palavras-chave: Anatomia; poluição; óleo diesel; *Sebastiania commersoniana*

Abstract

Oil contaminated soil effects on plants have been often studied in the last years; however there are very few researches on morpho-anatomic alteration. This study aims to analyze the effects of diesel fuel pollution on the structure of *Sebastiania commersoniana* young plants in different periods of time after soil contamination. *S. commersoniana* is a Brazil's native specie that generally assumes dominance over riparian tree species. The experiment was done in greenhouse in four different treatments (non-contaminated soil and other 3 contaminated soils, with 60, 120 and 210 day contamination) and 5 repetitions. The plants under diesel contamination had their root system and aerial parts less developed. The root presented larger diameter, formation of cortical aerenchyma and more developed vascular cylinder. The mesophyll of the eopylls were not different from control in the plants after 30 days since cultivation. On the other hand, in the 60 day treatment there were epidermal deformation and reduction in epicuticular waxes formation. The diesel fuel caused morphological changings on plants; however, the shorter the gap between contamination and planting, the more the damage.

Key words: Anatomy; pollution; diesel fuel; *Sebastiania commersoniana*

1. INTRODUÇÃO

Uma das principais causas de poluição ambiental tem sido os acidentes ocorridos durante o transporte de petróleo e derivados. Derramamento de petróleo e derivados em áreas continentais atingem o lençol freático (CAVALCANTE & SABADIA, 1992), contaminando rios e por consequência as plantas que compõem a vegetação ciliar.

O óleo diesel, em geral, é uma mistura complexa de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e outras substâncias fitotóxicas que são relativamente persistentes no solo, podendo interferir no desenvolvimento normal da planta. O óleo diesel contém componentes voláteis e não voláteis, sendo que a fração volátil corresponde a aproximadamente 5–10% do produto total (ADAM & DUNCAN, 1999, 2002).

Geralmente, as plantas são os primeiros organismos a serem atingidos por derramamento de óleo (MALALLAH et al., 1996). Os efeitos da poluição nas plantas podem variar de acordo com o tipo e a quantidade de óleo envolvido, a idade da planta, a época do ano e as espécies de plantas atingidas (BAKER, 1970). O óleo pode causar efeitos crônicos ou agudos, podendo causar interferência nas relações hídricas da planta. Essa interferência, acompanhada das condições anaeróbicas e hidrofóbicas, vem a ser o efeito mais importante em relação à germinação de sementes e ao crescimento das plantas (RACINE, 1994). Os hidrocarbonetos podem ser absorvidos pela planta e ocasionar redução no crescimento das raízes e diminuição no tamanho e número de folhas (ALKIO et al., 2005).

Certas espécies de plantas possuem capacidade de crescer em solos contaminados, desenvolvendo mecanismos de desintoxicação, cujos efeitos do acúmulo de substâncias tóxicas podem ser minimizados (ERNST, 1976). Entre os métodos utilizados atualmente para minimizar os efeitos decorrentes da poluição destaca-se a fitorremediação, que é um processo no qual se utiliza a vegetação para aumentar a dissipação ou estabilização de contaminantes ambientais (KULLAKOW, 2000).

Pesquisas realizadas com petróleo e derivados que analisam as alterações estruturais das plantas ainda são raras. A maioria dos estudos que envolvem

contaminação analisam a germinação, a morfologia externa e o crescimento das plantas (KINAKO, 1981; AMAKIRI & ONOFEHGARA, 1983; GREEN et al., 1996; ADAM & DUNCAN, 2002; CHUPAKHINA & MASLENNIKOV, 2004). O efeito da poluição por petróleo na estrutura das plantas tem sido mais abordado recentemente por alguns autores brasileiros (OLIVEIRA, 2004; MAYER, 2004; MARANHO, 2004; FARIAS, 2005), sendo que alguns estudos analisaram os efeitos em *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs (SILVA et al., 2004; GARCIA et al., 2004; RODRIGUES, 2005).

O acompanhamento das plantas de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs em diferentes períodos após a contaminação do solo fornecerá subsídios para indicar a tolerância da espécie ao contaminante, bem como verificar se o óleo diminui a toxidez com o passar do tempo. A análise anatômica da raiz e dos eofilos das plântulas nascidas em solo contaminado com óleo poderá identificar as alterações celulares e explicar a possível tolerância de *S. commersoniana* ao poluente. Conhecendo-se as reações desta espécie sujeita à poluição do solo, pode-se também fornecer subsídios para o aperfeiçoamento dos processos de fitorremediação.

S. commersoniana, conhecida popularmente como branquilha, é a espécie com maior valor de importância verificada em estudos fitossociológicos em florestas ciliares (SMITH et al., 1988; BARDDAL et al., 2004) e é muito indicada para a recomposição de áreas degradadas ao longo das margens de rios e reservatórios devido a sua preferência por solos úmidos e brejosos. A espécie ocorre nas regiões sudeste e sul do Brasil, nordeste da Argentina, leste do Paraguai e Uruguai (LORENZI, 1992).

O objetivo do presente trabalho é analisar o efeito do solo contaminado com óleo diesel na morfoanatomia da raiz e eofilos de *S. commersoniana*, e verificar se o tempo após a contaminação interfere neste processo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs foram coletadas e fornecidas pela Embrapa Florestas, localizada em Colombo – PR. A coleta das sementes foi realizada a partir de cinco matrizes. Após a coleta, foram preservadas em câmara seca por 15 dias e conservadas em geladeira. Para a viabilização das sementes, foi feita hidratação por aproximadamente 48 horas antes do plantio em câmara úmida.

O experimento foi realizado em estufa no Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná. Foram montados quatro tratamentos: três em solo contaminado com óleo diesel e um em solo não contaminado (T0 - controle). A contaminação do solo foi efetuada da seguinte forma: a) solo contaminado 210 dias antes do plantio (T210); b) solo contaminado 120 dias antes do plantio (T120); e c) solo contaminado 60 dias antes do plantio (T60). Foram feitas cinco repetições (bandejas) para cada tratamento sendo semeadas 50 sementes em cada repetição, totalizando 1000 sementes. A distribuição das bandejas na estufa foi ao acaso para que não ocorressem efeitos diferenciais como luminosidade e disponibilidade de água (Figura 1).



Figura 1: Montagem do experimento com a distribuição das bandejas no interior da estufa.

O solo foi coletado na área no Município de Araucária - PR, onde a espécie estudada ocorre naturalmente. De acordo com FASOLO et al. (2002), esse solo pertence à classe dos gleissolos melânicos, caracterizado por possuir textura argilosa e por ser encontrado em relevo plano de várzeas. A contaminação com o óleo diesel foi feita no solo com 50% de sua capacidade máxima de retenção (CMR) de água, baseado no trabalho de MURATOVA et al. (2003) e LI et al. (1997). Cada Kg de solo foi contaminado com 92,4 mL de óleo diesel, sendo essa a capacidade máxima de retenção de óleo diesel deste solo com 50% de sua CMR. Cada bandeja foi montada com cerca de 3 quilos de solo contaminado e homogeneizado. Todos os tratamentos foram mantidos em estufa com nebulização intermitente de 15 segundos a cada 3 horas, com sombrite 50% e sem controle de temperatura. As temperaturas máxima e mínima foram registradas diariamente durante todo o experimento (Tabela 1).

Tabela 1: Temperaturas mínima, média e máxima (°C) do interior da estufa durante os meses de julho de 2004 a março de 2005

	Jul*	Ago	Set	Out*	Nov	Dez*	Jan	Fev	Mar
Temperatura Mínima	5.4	2.6	7.4	7.8	10.9	9.8	13.0	12.9	12.7
Temperatura Média	16.6	18.5	22.8	21.2	23.4	24.2	26.1	26.8	26.9
Temperatura Máxima	28.8	32.8	36.3	36.6	45.2	39.0	41.6	42.7	42.9

* Meses da contaminação

O plantio das sementes foi efetuado no mesmo dia para todos os tratamentos no mês de fevereiro de 2005. No momento do plantio, a nebulização da estufa foi alterada para irrigar durante 5 segundos a cada 20 minutos devido à preferência de *S. commersoniana* por substratos úmidos. Antes do plantio, foram coletadas amostras do solo contaminado e do solo não contaminado para análise físico-química. A análise físico-química foi realizada pelo Departamento de Solos do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, seguindo-se as técnicas usuais. Os resultados da análise do solo encontram-se expressos na Tabela 2.

Tabela 2: Análise físico-química do solo contaminado com óleo diesel e não contaminado.

	Al ⁺³	H ⁺ Al ⁺³	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	SB	T	Argila
	cmol _c /dm ³							g/kg
Solo Contaminado	0	4.6	12.8	7	0.43	20.23	24.83	400
Solo Controle	0	3.2	12.2	7.4	0.71	20.31	23.51	400

	pH		P	S	C	V	M	Ca/Mg
	CaCl ₂	SMP	mg/ dm ³	g/ dm ³	%	%		
Solo Contaminado	5.6	6.1	7	-	38.9	81	0	1.8
Solo Controle	6.1	6.6	8.8	-	30.5	86	0	1.6

Para a análise morfo-anatômica, foram coletadas 10 plantas (2 em cada repetição) 30 dias após o plantio. A terminologia utilizada para descrever o estágio de desenvolvimento das plantas e estruturas externas é a de com SOUZA (2003). Para microscopia fotônica, foram processadas amostras do ápice da raiz, a 1 cm do ápice e amostras do terço médio do eofilo. As amostras de raiz e eofilo foram fixadas em FAA 50 (ácido acético, formol e álcool etílico na proporção de 1:1:18) (JOHANSEN, 1940) e conservadas em álcool 70%. As amostras foram desidratadas em série alcoólico-etílica, infiltradas e incluídas em hidroxietilmetacrilato (historresina) da marca Leica® seguindo-se as técnicas de FEDER & O'BRIAN (1968) e as indicações do fabricante. As secções de 6 µm de espessura foram realizadas em micrótomo de rotação, distendidas em lâminas e coradas com azul de toluidina (O'BRIAN et al., 1965). Algumas secções foram submetidas a testes microquímicos com lugol (BERLYN & MIKSCHE, 1976), sudam III (SASS, 1951) e cloreto férrico 10% (JOHANSEN, 1940) a fim de detectar a presença de amido, lipídios e compostos fenólicos, respectivamente.

A análise anatômica da raiz e do eofilo foi feita de forma qualitativa e quantitativa. Para análise qualitativa, foram registradas as alterações histológicas visíveis, enquanto que para análise quantitativa, foi calculada a porcentagem de espaços intercelulares do córtex da raiz e foram mensurados, com auxílio de ocular milimetrada, o diâmetro total da raiz, o raio do córtex, o diâmetro do cilindro vascular e a espessura do eofilo. As observações foram efetuadas em microscópio Olympus

BX41TF, e o registro fotográfico no microscópio fotônico Zeiss Axiolab com câmera digital Sony Cyber-shot 7.1.

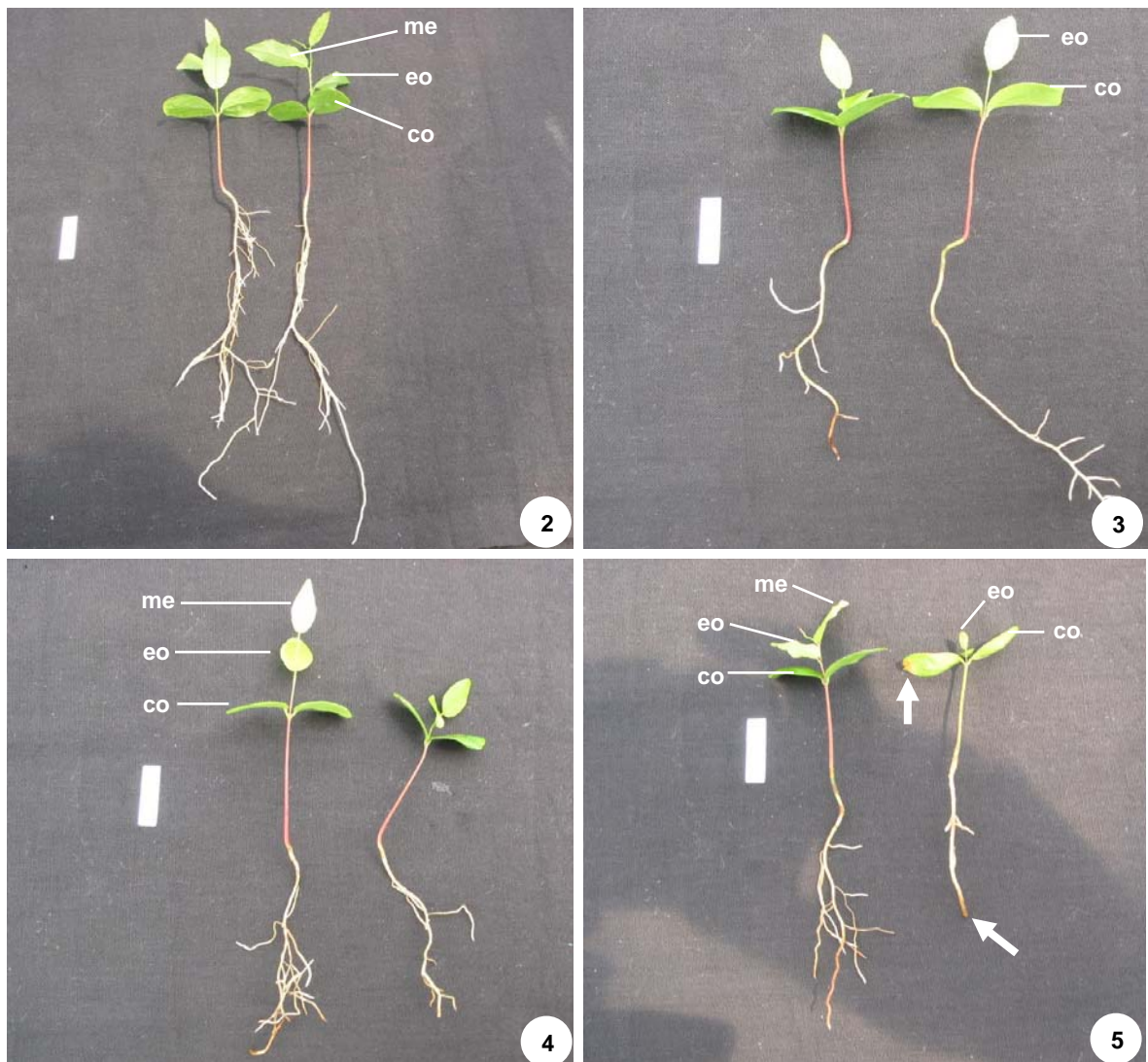
Para análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV) também foram utilizadas amostras do terço médio dos eofilos fixadas em FAA50 e desidratadas em série alcoólico-etílica. Em seguida, o material foi submetido ao método do ponto crítico no equipamento Balzers CPC 10. Após o ponto crítico, foi efetuada a metalização com ouro no equipamento Balzers Sputtering SCD 030. A análise e registro eletromicrográfico do material foram efetuados no MEV Jeol JSM-6360LV.

As análises estatísticas dos dados obtidos basearam-se na análise de variância (ANOVA), sendo determinado o DMS pelo teste de Tukey, a um nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS

3.1. Morfologia

Com 30 dias após o plantio, as plantas de *S. commersoniana* que se desenvolveram em solo contaminado (T210, T120 e T60) apresentaram menor tamanho em relação às do solo não contaminado (Figuras 2 a 5). Algumas plantas do tratamento T60 não desenvolveram metafilo (segunda folha), ou ainda não chegaram a formar eofilo (primeira folha), enquanto que as plantas do controle tiveram eofilos e metafilos bem desenvolvidos com o aparecimento das primeiras folhas verdadeiras. Nos demais tratamentos contaminados (T210 e T120), a maioria das plantas apresentaram eofilos e metafilos, porém com desenvolvimento inferior ao controle. O óleo diesel também causou redução no desenvolvimento do sistema radicular, provocando pouca formação de raízes secundárias. Além disso, foram observadas com frequência manchas escuras ao longo das raízes e ápices dilatados (Figura 5). Nas plantas submetidas à contaminação houve redução no tamanho das folhas e ocorreu atraso na formação dos eofilos e metafilos. No tratamento T60 foram observadas necroses cotiledonares e morte de algumas plântulas.



Figuras 2 a 5: Plantas de *Sebastiania commersoniana* após 30 dias do plantio. 2. solo não contaminado (T0). 3. solo conaminado 210 dias antes do plantio (T210). 4. solo contaminado 120 dias antes do plantio (T120). 5. solo contaminado 60 dias antes do plantio (T60), observar plântula com ápice radicular dilatado e necrose cotiledonar (seta). (co = cotilédone; eo = eofilo; me = metafilo). Barra = 2 cm.

3.2. Anatomia

3.2.1. Raiz

As plantas crescidas em solo contaminado (T210, T120 e T60) apresentaram pêlos radiculares persistentes na raiz principal. Entre as amostras analisadas, foi observado que houve mais pêlos radiculares nas plantas do tratamento T60 e menos, nas plantas do tratamento T210, não sendo observados nas plantas do tratamento T0 (controle).

Através de secções longitudinais do ápice das raízes foram evidenciadas diferenças na estrutura dos tecidos meristemáticos entre as plantas dos tratamentos com solo contaminado e não contaminado. A região meristemática no ápice da raiz é mais extensa nas plantas do solo não contaminado, sendo que a vacuolização e diferenciação celular ocorrem mais afastadas do promeristema (Figuras 6, 8, 10 e 12). Essa alteração na diferenciação celular foi mais marcante nas plantas do tratamento T60, cujas raízes apresentaram menor crescimento. Nas amostras dos tratamentos com contaminação foi freqüente a ocorrência de manchas pardas na parede das células sub-epidérmicas da raiz. Estas alterações na coloração da parede foram identificadas apenas em regiões onde houve injúrias na epiderme (Figuras 9, 11 e 13), não sendo constatadas no controle (Figura 7).

A raiz de *S. commersoniana*, em estrutura primária, apresenta epiderme unisseriada com presença de compostos fenólicos e exoderme unisseriada com a parede periclinal externa ligeiramente espessada e lignificada (Figuras 14 e 15). O córtex é parenquimático com espaços intercelulares de pequeno porte e presença de canais laticíferos. A endoderme possui estrias de Caspary visíveis e o cilindro vascular é composto por dois pólos de protoxilema (raiz diarca) alternados pelo floema (Figura 14, 16, 18 e 20).

As secções transversais mostram que as raízes das plântulas do solo contaminado e não contaminado, na mesma região, resultaram em estágio de desenvolvimento diferente. Na maioria das plantas submetidas ao solo contaminado, o córtex apresentou células rompidas, indicando princípio de formação de

aerênquima lisígeno, principalmente nos tratamentos T120 e T60 (Figuras 17,19,21). A porcentagem de espaços intercelulares do córtex foi de: 10,23% no controle, 11,59% no tratamento T210, 21,63% no tratamento T120 e 20,45% no tratamento T60. O cilindro vascular da maioria das plantas nos tratamentos com contaminação encontrava-se em estágio mais desenvolvido, com o câmbio instalado e início de crescimento secundário (Figuras 16,18,20).

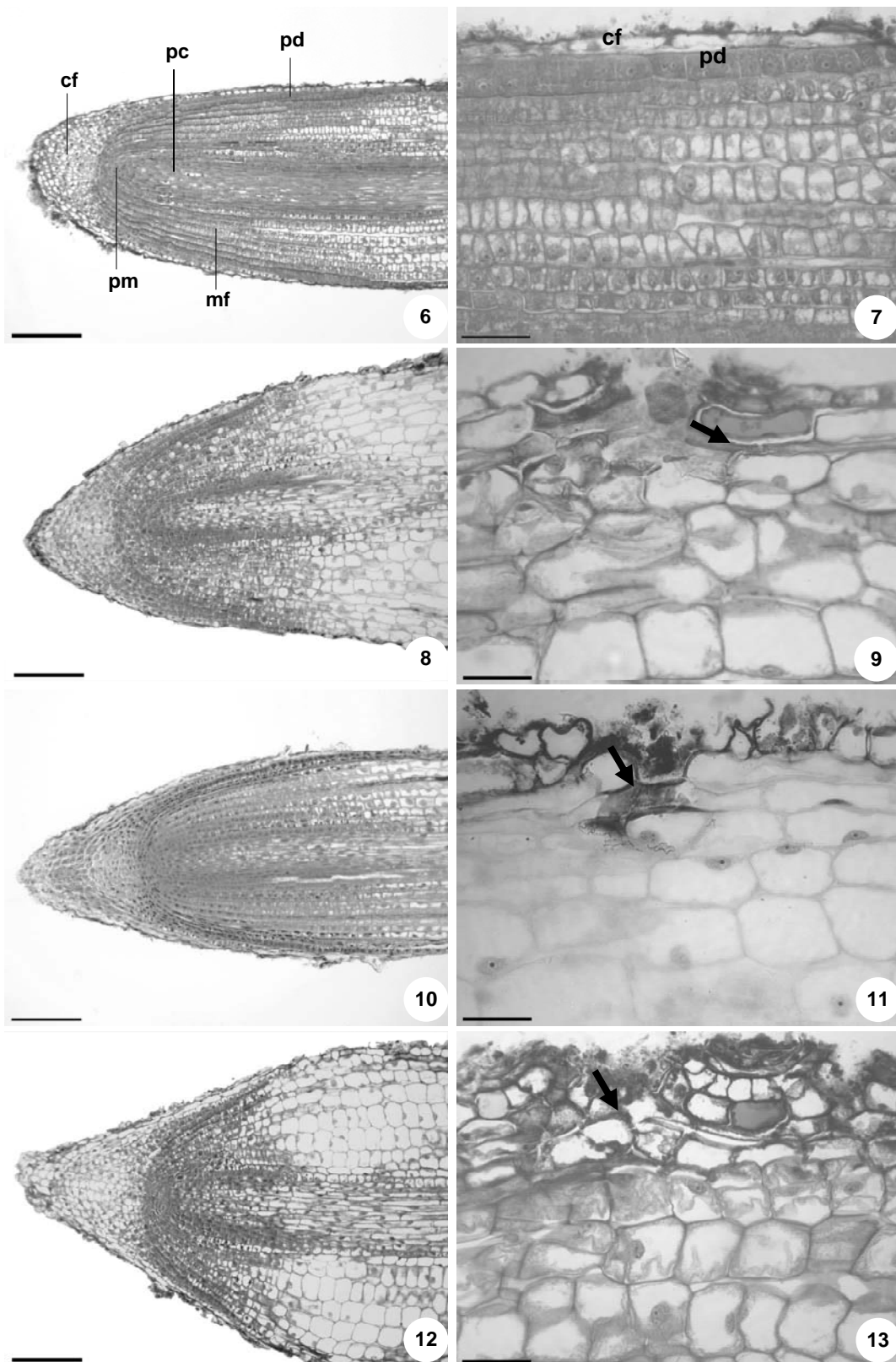
Observando-se os resultados dos testes microquímicos, foi constatada a presença de compostos fenólicos na epiderme da raiz e eofilo, tanto nas plantas do controle como nos tratamentos com contaminação. Verificou-se também a presença de amido no xilema secundário apenas nas raízes dos tratamentos com solo contaminado, sendo que o amido estava presente em maiores quantidades principalmente nas raízes que apresentaram cilindro vascular mais desenvolvido.

O diâmetro total, o raio do córtex e o diâmetro do cilindro vascular da raiz foram maiores, em relação a T0, nas plantas do tratamento T60, quando o plantio foi realizado em época mais recente da contaminação do solo (Tabela 3).

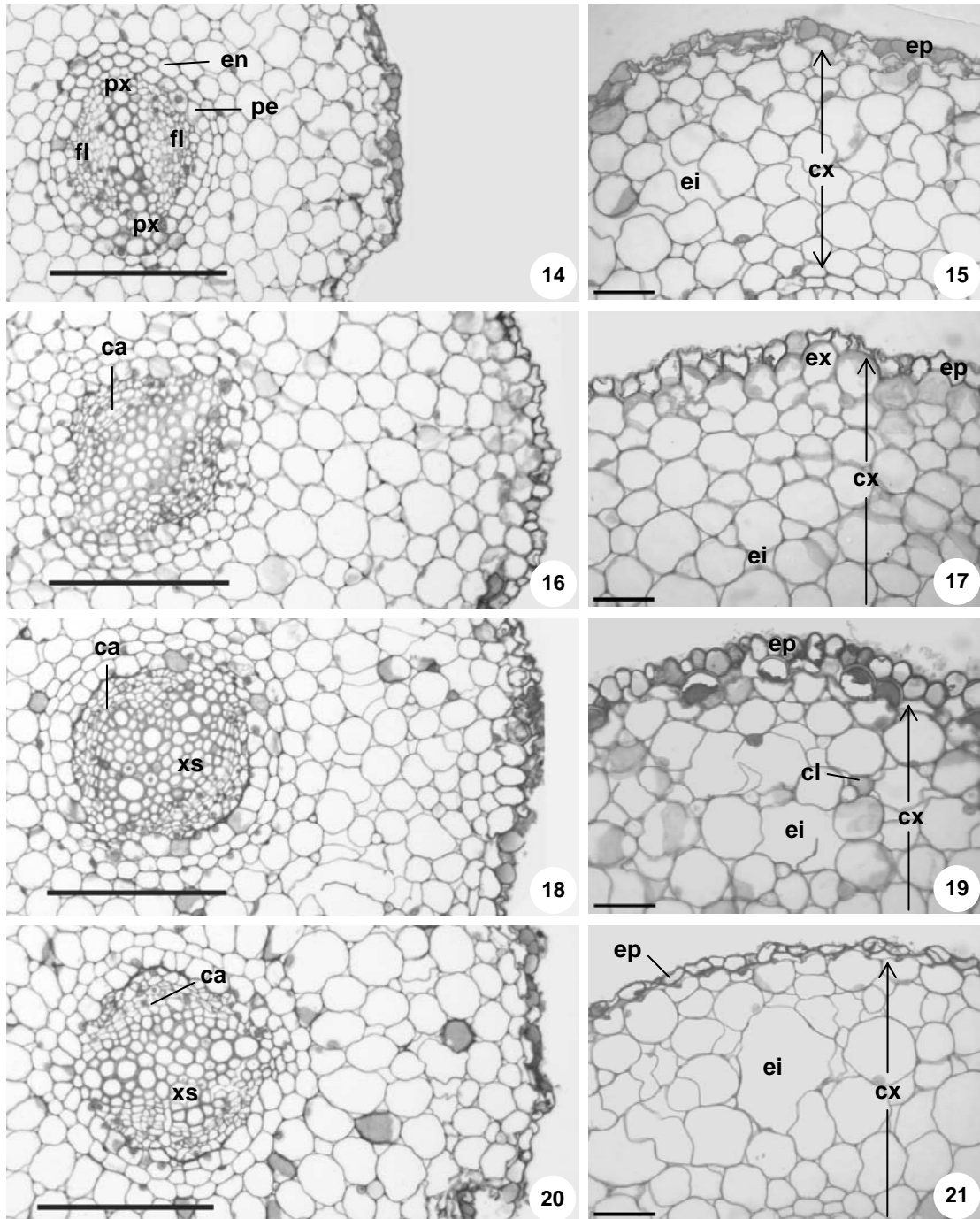
Tabela 3: Medidas anatômicas da raiz de plantas jovens de *Sebastiania commersoniana* cultivadas em solo com óleo diesel: contaminado 210 dias antes do plantio (T210), 120 dias antes do plantio (T120), 60 dias antes do plantio (T60) e em solo não contaminado (T0).

	Tratamentos							
	T210		T120		T60		T0	
Diâmetro total (μm)	876,97	$\pm 178,46$ (a,b)	784,56	$\pm 70,69$ (b)	909,59	$\pm 120,52$ (a)	646,57	$\pm 60,8$ (c)
Raio do córtex (μm)	290,5	$\pm 82,81$ (a)	247,34	$\pm 41,0$ (a,b)	302,12	$\pm 52,52$ (a)	208,76	$\pm 24,93$ (b)
Diâmetro do cilindro vascular (μm)	265,6	$\pm 32,26$ (a,b)	256,47	$\pm 18,12$ (b)	292,99	$\pm 32,75$ (a)	206,37	$\pm 12,89$ (c)

As médias seguidas da mesma letra nas linhas são significativamente iguais baseadas pelo Teste de Tukey ($p < 0.05$)



Figuras 6 a 13: Secções longitudinais do ápice da raiz de *Sebastiania commersoniana*. 6,8,10,12. Meristema apical em todos os tratamentos. 7,9,11,13. Detalhe da epiderme e córtex em todos os tratamentos, evidenciando manchas escurecidas (seta). 6,7. Tratamento T0. 8,9. Tratamento T210. 10-11. Tratamento T120. 12-13. Tratamento T60. (cf = coifa; mf = meristema fundamental; pc = procâmbio; pd = protoderme; pm = promeristema). Barras = 200 µm (6,8,10,12), 50 µm (7,9,11,13).



Figuras 14-21: Seções transversais da raiz de *Sebastiania commersoniana*. 14. Vista geral da raiz em T0. 15. Detalhe da epiderme e córtex em T0. 16. Vista geral da raiz em T210. 17. Detalhe da epiderme e córtex em T210. 18. Vista geral da raiz em T120. 19. Detalhe da epiderme e córtex em T120. 20. Vista geral da raiz em T60. 21. Detalhe da epiderme e córtex em T60. (ca = câmbio; cl = canais laticíferos; cx = córtex; ei = espaço intercelular; en = endoderme; ep = epiderme; ex = exoderme; fl = floema; pe = periciclo; px = protoxilema; xs = xilema secundário). Barras = 200 μ m (14,16,18,20), 50 μ m (15,17,19,21).

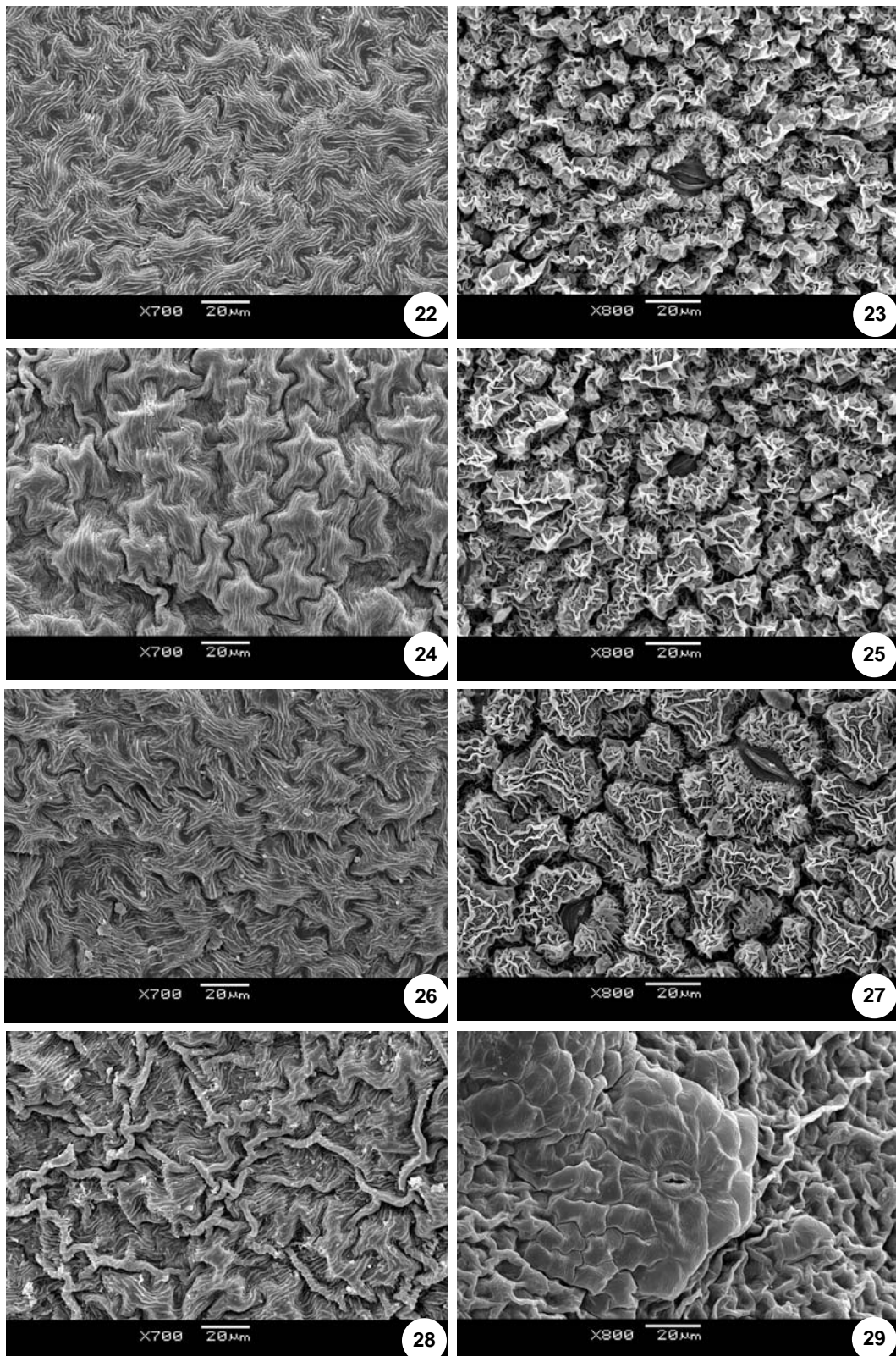
3.2.1. Eofilo

Os eofilos das plantas do solo não contaminado (T0) apresentaram epiderme da face adaxial com células de paredes anticlinais sinuosas e muitas estrias epicuticulares finas e curtas (Figura 22). Analisando-se a superfície epidérmica do eofilo em microscopia eletrônica de varredura, verificou-se alterações celulares, principalmente, nas plantas do solo contaminado 60 dias antes do plantio. Nas plantas dos tratamentos contaminados, notou-se alteração na forma das células (amassadas), mas as estrias, em geral, tiveram o mesmo padrão das plantas do tratamento controle (Figuras 24, 26, 28). A superfície abaxial encontrava-se revestida por ceras epicuticulares em forma de cristas onduladas nas plantas do solo não contaminado (Figura 23,30). Nos tratamentos T210 e T120, a superfície epicuticular teve características semelhantes às plantas do solo não contaminado, porém com leve redução na densidade das ceras (Figuras 25, 27, 31, 32). As plantas do tratamento T60 foram mais afetadas, apresentando irregularidades na superfície, com áreas proeminentes e retraídas (Figura 29). Neste tratamento também foi registrada a ausência de ceras na maior parte da superfície do eofilo (Figuras 29, 33).

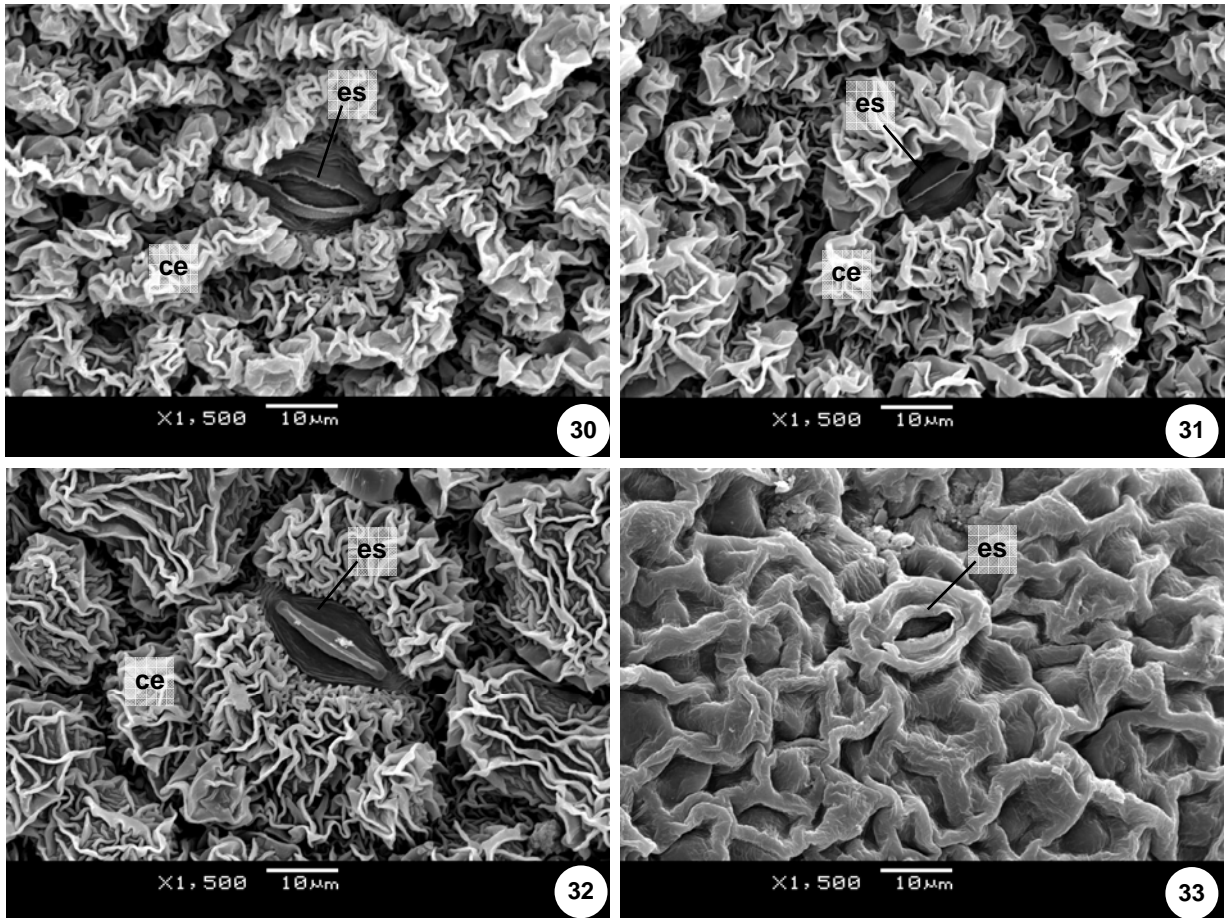
A folha (eofilo) de *S. commersoniana* se caracterizou por possuir epiderme unisseriada em ambas as faces, mesofilo heterogêneo e dorsiventral com uma camada de parênquima paliçádico e aproximadamente três camadas de parênquima lacunoso. Os estômatos estavam presentes apenas na superfície abaxial (folha hipoestomática). A espessura do limbo foi menor e significativamente diferente nas plantas crescidas em solo contaminado, porém, é importante salientar que os eofilos se encontravam mais jovens devido ao atraso no crescimento (Figura 34). Os eofilos das plantas do solo não contaminado apresentaram diferenciação mais avançada e maior frequência de espaços intercelulares quando comparados aos tratamentos com contaminação, principalmente, em relação ao T60 (Figuras 36, 38, 40, 42).

A nervura central do eofilo possui epiderme unisseriada em ambas as faces, com dimensões menores que as demais células epidérmicas. Na face adaxial da nervura, a camada sub-epidérmica é composta por parênquima paliçádico e colênquima na porção mais central; já na abaxial, o colênquima é distribuído ao

longo da nervura. O tecido vascular é composto por feixe colateral único, formado por xilema e floema (Figura 35). As plantas do solo contaminado tiveram os tecidos da nervura central menos diferenciados que nas plantas do controle, principalmente em T60 (Figuras 37, 39, 41).



Figuras 22 a 29: Superfície do eofilo de *Sebastiania commersoniana* (MEV). 22,24,26,28. Face adaxial. 23,25,27,29. Face abaxial. 22-23. Tratamento sem contaminação (T0). 24-25. Tratamento com 210 dias após a contaminação (T210). 26-27. Tratamento com 120 dias após a contaminação (T120), observar redução da cera epicuticular. 28-29. Tratamento com 60 dias após a contaminação (T60), observar deformações celulares e alterações nas estrias e na cera epicuticular.



Figuras 30-33: Superfície abaxial do eofilo de *Sebastiania commersoniana* em solo contaminado e não contaminado com óleo diesel (MEV). 30. Tratamento com solo não contaminado (T0). 31. Tratamento com solo contaminado 210 dias antes da semeadura (T210). 32. Tratamento com solo contaminado 120 dias antes do plantio (T120). 33. Tratamento com solo contaminado 60 dias antes do plantio (T60), observar ausência de cera epicuticular. (ce = cera epicuticular, es = estômato).

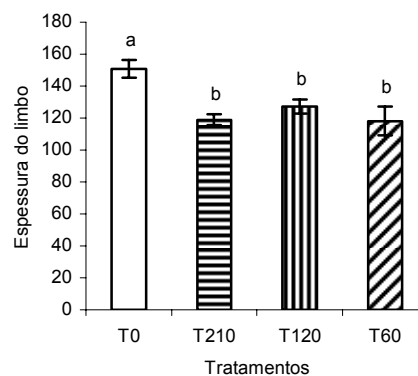
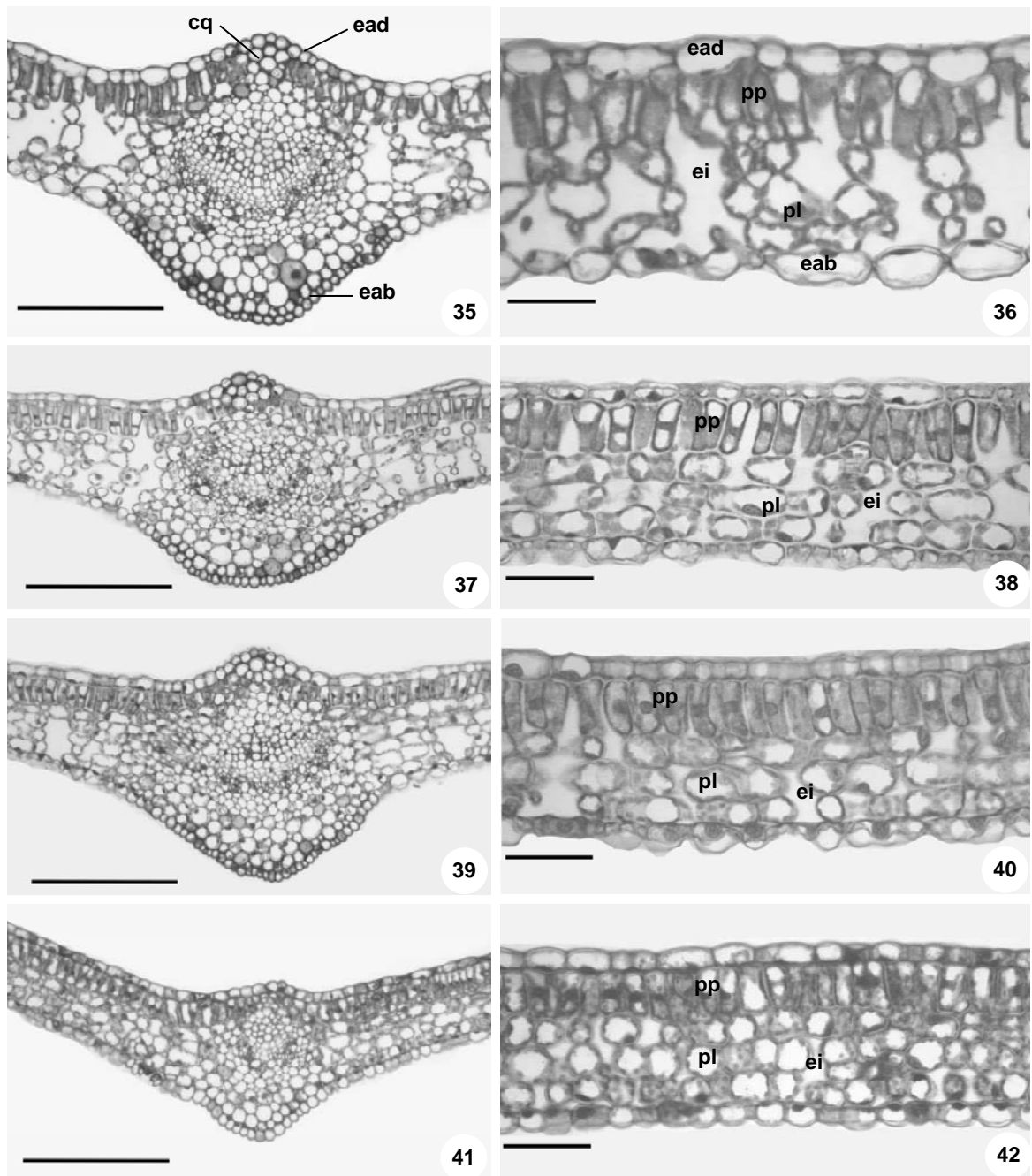


Figura 34: Espessura do limbo (μm) de *Sebastiania commersoniana* em solo contaminado com óleo diesel 210 dias (T210), 120 dias (T120), 60 dias (T60) antes do plantio e solo não contaminado (T0).



Figuras 35-42: Seções transversais do eofilo de *Sebastiania commersoniana* em solo contaminado e não contaminado com óleo diesel. 35,37,39,41. Nervura central. 36,38,40,42. Limbo foliar. 35-36. Tratamento sem contaminação (T0). 37-38. Tratamento contaminado 210 dias antes do plantio (T210). 39-40. Tratamento contaminado 120 dias antes do plantio (T120). 41-42. Tratamento contaminado 60 dias antes do plantio (T60). (cq = colênquima, eab = epiderme da face abaxial, ead = epiderme da face adaxial, ei = espaço intercelular, pl = parênquima lacunoso, pp = parênquima paliádico). Barras = 200 µm (35,37,39,41), 50 µm (36,38,40,42).

4. DISCUSSÃO

Segundo RODRIGUES (2005), a contaminação por petróleo pode causar alterações estruturais significativas no lenho jovem de *S. commersoniana* e *Campomanesia xanthocarpa*, tais como: redução no comprimento dos elementos de vasos, redução no número de vasos por milímetro quadrado compensada pelo aumento no diâmetro dos vasos. A mesma autora também relata que ocorreu redução na espessura da parede de fibras e presença de grandes máculas medulares no xilema secundário de *S. commersoniana* submetidas à contaminação. Por outro lado, GARCIA et al. (2004), ao estudar a mesma espécie submetida à contaminação com petróleo, encontrou diminuição no diâmetro e comprimento dos elementos de vaso, concluindo que o poluente impediu a passagem de água, submetendo *S. commersoniana* a condições de estresse hídrico. Resultados semelhantes foram obtidos por MARANHO (2004), que observou menor comprimento e diâmetro das traqueídes, menor espessura e grau de lignificação da parede celular das traqueídes em plantas adultas de *Podocarpus lambertii* expostas à poluição por petróleo por cerca de um ano. Segundo a autora, estas alterações serviram para evitar ou adiar o estado de dessecação das células ou tecidos, visto que o petróleo formou uma barreira impermeabilizante na superfície das raízes restringindo e/ou dificultando a entrada de água. Plantas expostas à poluição tendem a sofrer alterações estruturais de forma a minimizar as pressões causadas pelas condições de estresse hídrico (LARCHER, 2000). Isso indica que o estresse hídrico é um dos fatores causado pelo óleo diesel, que pode provocar alterações na estrutura celular de *S. commersoniana*.

A função dos pêlos radiculares é aumentar a superfície de absorção da planta (CUTTER, 1986; APEZZATO-DA-GLORIA & CARMELLO-GUERREIRO, 2003). A maior quantidade de pêlos radiculares observadas em *S. commersoniana* em solo contaminado pode indicar que ocorreu deficiência na absorção de água, provavelmente pela impermeabilização das raízes pelo óleo.

Os espaços intercelulares surgem tanto pelo afastamento das células na lamela média, como pela destruição ou lise das células (CUTTER, 1986). A formação de aerênquima pode ser induzida pela planta de forma a evitar o estresse hídrico (LEVITT, 1980). O acúmulo de ar no parênquima cortical está relacionado à

diminuição de oxigênio do ambiente, o que resulta na maior produção de etileno nas raízes (DREW et al., 1979; DREW, 1987). Esse aumento na produção de etileno estimula a produção de celulase, levando a desintegração das paredes celulares (MOORE, 1979). O aerênquima lisígeno formado nas raízes de *S. commersoniana* indica que ocorreu redução de oxigênio no solo contaminado.

A região meristemática mais curta do meristema apical da raiz nas plantas de *S. commersoniana* em solo contaminado pode indicar que ocorreu uma baixa taxa de crescimento, provavelmente, compensada pelo aumento em diâmetro da raiz. O baixo crescimento em comprimento da raiz de *S. commersoniana* em solo contaminado foi sugerido no capítulo anterior. Isso pode explicar a maior diferenciação dos tecidos condutores nas plantas do solo contaminado.

Segundo ESAU (1976), os fatores ambientais podem induzir alterações estruturais nas folhas, sendo a deficiência hídrica um desses fatores. Alterações nas estruturas foliares ocasionadas pela poluição por petróleo foram observadas em indivíduos adultos de *S. commersoniana* (SILVA et al., 2004) e *P. lambertii* (MARANHO, 2004). Em ambos estudos, foram registrados menor área foliar, aumento na densidade estomática e maior espessura dos tecidos foliares nas plantas expostas à contaminação. Plantas jovens de *S. commersoniana* também sofreram diminuição da área foliar quando submetidas à contaminação com óleo diesel (capítulo anterior), porém houve redução nas espessuras dos tecidos foliares. Este fato foi ocasionado pela contaminação com óleo diesel, que atrasou o crescimento do eofilo, estando este, com tecidos em diferenciação nos tratamentos contaminados em relação ao não contaminado, no qual os eofilos estavam já diferenciados. O mesmo pode ser atribuído em relação à nervura. MARANHO (2004), ao estudar as folhas adultas de *P. lambertii* em solo contaminado com petróleo, registrou maior espessura na nervura dos indivíduos expostos à poluição. Este fato não pôde ser constatado em *S. commersoniana* no presente trabalho, pois os eofilos encontravam-se em estágio de desenvolvimento diferente aos das plantas controle, devido ao lento crescimento.

O solo contaminado 60 dias antes do plantio (T60) teve maior efeito negativo na estrutura dos eofilos de *S. commersoniana*, principalmente na formação de cera epicuticular. Erosão da cera epicuticular é um entre os diversos critérios para um reconhecimento inicial de danos causados por poluição (LARCHER, 2000). A

qualidade das ceras epicuticulares e epiestomáticas ficou comprometida nas folhas de *Araucaria angustifolia* em área poluída por tráfego de veículos (BÜNDCHEN, 2001). Resultados semelhantes foram obtidos por SAUTER et al. (1987) em *Picea abies*, onde concluíram que algumas substâncias das emissões de motores de veículos são responsáveis pela degradação estrutural das ceras epiestomáticas, culminando com perda da viabilidade dos estômatos. Apesar dos trabalhos descritos estarem relacionados à poluição por emissões de motores, os resultados corroboram com o presente trabalho para *S. commersoniana*, visto que a volatilização de componentes combustíveis pode causar alterações nas ceras epicuticulares. Provavelmente, a redução na formação de cera epicuticular dos eofilos de *S. commersoniana* no tratamento T60 tenha sido ocasionada pela maior concentração de alguns compostos voláteis do óleo diesel.

Alguns trabalhos realizados com plantas submetidas à contaminação com petróleo não registraram alterações estruturais em indivíduos crescidos em solo contaminado. Em *Rhynchospora corymbosa*, que foi a primeira espécie a se estabelecer após um vazamento de petróleo, não foram registradas alterações estruturais na raiz e nem na folha, concluindo que a espécie é muito resistente a este poluente (FARIAS, 2005). OLIVEIRA (2004) não encontrou diferenças visíveis na disposição dos tecidos, danos celulares, ou indícios de petróleo no sistema vascular da raiz e caule de mudas de *Schinus terebinthifolius* plantadas em solo contaminado. Resultados semelhantes foram observados por MAYER (2004) em *Campomanesia xanthocarpa*, porém com aumento no número de elementos de vaso do xilema em indivíduos crescidos em solo contaminado. Vale ressaltar que, em ambos os trabalhos (OLIVEIRA, 2004; MAYER, 2004), as plantas analisadas tinham aproximadamente 5 meses de idade quando submetidas à contaminação, e que modificações estruturais podem ser mais agudas em plantas em início de desenvolvimento. A exposição da planta ao poluente desde a emissão da radícula, fase esta em que a planta se encontra com alto metabolismo e com paredes celulares mais delgadas, pode afetar de forma significativa o crescimento e as estruturas internas dos órgãos. Isso pode explicar a ocorrência das freqüentes manchas de coloração parda na epiderme e na parede de algumas células corticais da raiz de *S. commersoniana* em regiões que sofreram injúrias, possibilitando a entrada de óleo no interior da planta. Entretanto, para se afirmar que ocorreu

entrada do contaminante no interior da raiz, seriam necessárias análises mais específicas.

Entre os raros trabalhos em que foi constatada a presença de hidrocarbonetos no interior das plantas pode-se citar o de ALKIO et al. (2005), que analisaram o crescimento de *Arabidopsis thaliana* em fenantrene, um composto de hidrocarboneto aromático policíclico com três anéis de benzeno. Através de análises realizadas em microscopia fluorescente, foi constatada a presença de fenantrene no interior das raízes e folhas de *Arabidopsis*, sugerindo que a absorção do contaminante ocasionou redução no crescimento da raiz e diminuição no tamanho e número de folhas. Isso sugere que um dos fatores que pode ter influenciado a redução do crescimento de *S. commersoniana* é a absorção de componentes do óleo diesel pelas raízes.

5. CONCLUSÃO

A poluição por óleo diesel causou alterações anatômicas na raiz e no eofilo de plantas jovens de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs, sendo esses efeitos mais intensos quando a semeadura foi realizada em período mais próximo à contaminação do solo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ADAM, G.; DUNCAN, H. Influence of diesel fuel on seed germination. **Environmental Pollution**, v. 120, p. 363-370, 2002.

ALKIO, M., TABUCHI, T. M., WANG, X., COLÓN-CARMONA, A. Stress responses to polycyclic aromatic hydrocarbons in *Arabidopsis* include growth inhibition and hypersensitive response-like symptoms. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 421, p. 2983-2994, 2005.

AMAKIRI, J. O., ONOFEGHARA, F. A. Effect of crude oil pollution on the growth of *Zea mays*, *Abelmoshus esculentus* and *Capsicum frutescens*. **Oil Petrochem. Pollut.**, v. 1, p. 199-205, 1983.

APEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & CARMELLO-GUERREIRO, S.M. **Anatomia vegetal**. UFV. Viçosa, 2003, 438p.

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

BARDDAL, M. L.; RODERJAN, C. V.; GALVÃO, F.; CURCIO, G. R. Caracterização florística e fitossociológica de um trecho sazonalmente inundável de floresta aluvial, em Araucária, PR. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 14, n. 2, p. 37-50, 2004.

BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames, The Iowa State Press, 1976, 326p.

BÜNDCHEN, M. **Respostas anatômicas e fisiológicas em folhas de *Araucária angustifolia* (Bertol.) Kuntze (Araucariaceae) sujeitas à poluição urbana**, Curitiba, 2001, 80 p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

CAVALCANTE, I. N., SABADIA, J. A. B. Potencial hídrico subterrâneo: um bem mineral ameaçado pela ação antrópica. Fortaleza, **Revista Geologia**, v. 5, p. 115-124, 1992.

CHUPAKHINA, G. N.; MASLENNIKOV, P. V. Plant adaptation to oil stress. **Russian Journal of Ecology**, v. 35, n. 3, p. 290-295, Moscou, 2004.

CUTTER, E. **Anatomia Vegetal: Parte I – Células e tecidos**. 2 ed. São Paulo, Roca, 1986.

DREW, M. C.; JACSON, M. B.; GIFFARD, S. Ethylene promoted adventitious root and the development of cortical air spaces (aerenchyma) in roots may be adaptive responses to flooding in *Zea mays* L. **Planta**, v. 147, p. 83-88, 1979.

DREW, M. C. Mechanisms of acclimation to floodings and oxygen shortage in non-wetland species. In: CRAWFORD, R. M. M., 1987. **Plant life in aquatic and amphibious habitats**. Oxford, Blackwell Scientific Publications, p. 321-331, 1987.

ERNST, W. H. O. Physiological and biochemical aspects of metal tolerance. In MANSFIELD, I.A. **Effects of air pollutants on plants**. Cambridge Univ. Press, Cambridge, p. 115-33, 1976.

ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. Edgard Blucher, São Paulo, 1976.

FARIAS, L. H. M. **Efeitos do solo contaminado por petróleo nas folhas e raízes de *Rhynchospora corymbosa* (L.) Britt. (Cyperaceae)**. Curitiba, 2005, 75 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

FASOLO, P. J.; BOGNOLO, I. A.; CARVALHO, A. P.; POOTER, R. O.; BHERING, S. B. Levantamento de reconhecimento dos solos da Região Sudeste do Estado do Paraná. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento – EMBRAPA**, 2002

FEDER, N.; O'BRIAN, T. P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 55, n. 1, p. 123-142, 1968.

GARCIA, F.A.; ROCHA, B.C.; PREUSSLER, K.H.; RIBAS DE OLIVEIRA, C.M.; MARANHO, L.T., 2004. Monitoramento da Influência do derramamento de petróleo pela estrutura do lenho de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs (Euphorbiaceae). In: **55° CONGRESSO NACIONAL e 26° Encontro Regional de Botânicos de MG, BA e ES**, Livro de Resumos, 6, 2004, Universidade Federal de Viçosa, MG, CD-ROM.

GREEN, B. T.; WIBERG, C. T.; WOODRUFF, J. L.; MILLER, E. W.; POAGE, V. L.; CHILDRESS, D. M.; FEULNER, J. A.; PROSCH, S. A.; RUNKEL, J. A.; WANDERSCHIED, R. L.; WIERMA, M. D.; YANG, X.; CHOE, H. T. e MERCURIO, S. D. Phytotoxicity observed in *Tradescantia* correlates with diesel fuel contamination in soil. **Environmental and Experimental Botany**, v. 36, n. 3, p. 313-321, Londres, 1996.

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

KINAKO, P. D. S. Short-term effects of oil pollution on species numbers and productivity of a simple terrestrial ecosystem. **Environmental Pollution**, v. 26, p. 87-91, Nigéria, 1981.

KULLAKOW, P. 2000. **Annual Report of the RTDF Phytoremediation Action Team-TPH subgroup Cooperative Field Trials**. Disponível on line em: www.rtdf.org/public.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. RiMa, São Carlos, 2000.

LEVITT, J. **Responses of plants to environmental stress: water, radiation, salt and other stresses**. New York: Academic Press, v. 2, p. 25-280, 1980.

LI, X., FENG, Y., SAWATASKY, N.,. Importance of soil-water relations in assessing the endpoint of bioremediated soils. *Plant and Soil*, v. 192, p. 219-226, 1997.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**; Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil, *Sebastiania commersoniana*, ed. Plantarum , p. 111, 1992.

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

MARANHO, L.T. **Efeitos da poluição por petróleo na estrutura da folha e do lenho de *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl. (Podocarpaceae)**. Curitiba, 2004. 200 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

MAYER, J. L. S. **Impacto do solo contaminado com petróleo no crescimento e desenvolvimento de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg (Myrtaceae)**. Curitiba, 2004, 81 f., Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

MOORE, T. C. **Biochemistry and physiology of plant hormones**. Thomas C. Moore, New York, 1979.

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

O'BRIAN, T. P.; FEDER, N.; McCULLY, M. E. **Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue**, O. Protoplasma, 59 (2), p. 368-373, 1965.

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

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

RODRIGUES, T. T. **Os efeitos do solo contaminado com petróleo na estrutura anatômica e estado nutricional do lenho jovem de *Campomanesia xanthocarpa* Berg (Myrtaceae) e *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs (Euphorbiaceae)**. Curitiba, 2005. 154 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**, 2^a Ed. Ames, The Iowa State College Press, p. 98, 1951.

SAUTER, J. J.; KAMMERBAUER, L.; PAMBOR, L.; HOCK, B. Evidence for the accelerated micromorphological degradation of epistomatal waxes in Norway spruce by motor vehicle emissions. **European Journal of Forest Research**, v. 17, p. 444-448, 1987.

SILVA, M. P.; PREUSSLER, K. H.; RIBAS DE OLIVEIRA, C. M.; MARANHO, L. T., 2004. Monitoramento da Influência do derramamento de petróleo por meio da estrutura da folha de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs

(Euphorbiaceae). In: **55° Congresso Nacional (Encontro Regional de Botânicos de MG, BA e ES)**, Viçosa, MG: UFV, CD-ROM.

SMITH, L. B.; DOWNS, J.; KLEIN, R. M. Euforbiáceas. In: **Flora Ilustrada Catarinense (R. Reitz, ed.)**. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, 1988, 408 p.

SOUZA, L. A. **Morfologia e anatomia vegetal: célula, tecidos, órgãos e plântulas**. Editora UEPG, Ponta Grossa, 2003.

IV. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O efeito do óleo diesel em *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs se deve, entre outros fatores, à impermeabilização da raiz, submetendo a planta a uma condição de estresse hídrico e também uma provável condição de hipoxia, que provoca a formação de aerênquima. Todas as variáveis analisadas, desde a germinação até a análise morfo-anatômica das plantas jovens, indicam que o estresse hídrico é o principal fator relacionado às alterações decorrentes da poluição, pelo fato da redução na germinação e baixo crescimento, bem como maior formação de pêlos radiculares.

A absorção do óleo diesel pela planta não foi comprovada. Portanto, é necessária a realização de análises em microscopia fluorescente para afirmar se houve absorção de hidrocarbonetos do óleo, o que pode ter influenciado as alterações registradas.

A volatilização dos compostos do óleo diesel é um fator relevante, pois, quanto menor o tempo entre a contaminação e o plantio, maiores foram os efeitos negativos nas plantas. Porém, para obter resultados mais precisos quanto à volatilização, seria necessária a realização de um tratamento logo após a contaminação do solo, além da análise de hidrocarbonetos do solo ao longo do tempo.

ANEXOS

Anexo 1: Número de sementes germinadas por dia e a média diária por tratamento de *S. commersoniana* em solo contaminado com óleo diesel em diferentes períodos (T1 = 210 dias; T2= 120 dias; T3 = 60 dias e T4 = controle)

		DIAS																													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
T210	A	0	0	0	3	6	7	12	18	19	19	20	21	23	23	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
	B	0	0	0	0	4	7	15	20	22	26	26	26	27	27	27	27	27	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	29	29	29
	C	0	0	0	0	0	6	15	20	21	24	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	26	26	26	26	26	26	26	
	D	0	0	0	2	4	6	18	26	28	36	36	36	36	37	37	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	39	39	39
	E	0	0	0	1	8	11	17	20	23	23	23	23	25	27	27	27	27	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
	/	0	0	0	1,2	4,4	7,4	15,4	20,8	22,6	25,6	26	26,2	27,2	27,8	28	28,2	28,2	28,6	28,6	28,6	28,6	28,6	28,8	28,8	28,8	28,8	29	29,2	29,2	29,2
T120	A	0	0	0	0	0	2	11	22	28	33	33	34	35	36	38	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	
	B	0	0	0	1	5	9	17	19	24	30	31	31	31	32	32	32	32	32	33	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	
	C	0	0	0	0	3	7	22	28	34	36	36	36	36	36	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	
	D	0	0	0	4	9	16	21	22	26	29	32	32	34	35	35	†37	37	37	38	38	38	38	†38	38	38	38	38	38	38	
	E	0	0	0	3	7	12	20	26	26	26	27	27	27	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
	/	0	0	0	1,6	4,8	9,2	18,2	23,4	27,6	30,8	31,8	32	32,6	33,4	34	34,6	34,6	34,6	35	35,2	35,2	35,2	35,2	35,2	35,2	35,2	35,2	35,2	35,2	
T60	A	0	0	0	0	1	3	6	8	9	10	11	11	12	15	15	15	15	16	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17		
	B	0	0	0	2	4	6	7	9	11	15	16	17	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19		
	C	0	0	0	0	2	3	5	6	6	7	7	7	7	8	8	12	12	13	13	13	13	14	14	14	14	14	14	14		
	D	0	0	0	2	4	7	10	11	11	12	13	13	14	15	16	16	16	17	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	19	
	E	0	0	0	2	7	8	11	12	12	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	†13	13	13	13	13	13	13	
	/	0	0	0	1,2	3,6	5,4	7,8	9,2	9,8	11,4	12	12,2	13	14	14,2	15	15	15,6	16	16	16,2	16,2	16,2	16,2	16,2	16,2	16,2	16,2		
T0	A	0	0	0	0	1	6	20	27	31	32	32	32	33	33	33	33	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32			
	B	0	0	0	0	5	11	21	26	30	33	34	36	37	40	40	41	41	42	42	42	42	42	42	42	42	42	42			
	C	0	0	0	0	0	6	16	23	25	27	27	30	33	36	37	38	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39			
	D	0	0	0	0	0	4	14	15	18	27	28	28	29	30	31	31	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33			
	E	0	0	0	2	3	6	18	19	24	28	34	39	40	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43		
	/	0	0	0	0,4	1,8	6,6	17,8	22	25,6	29,4	31	33	34,4	36,4	36,8	37,2	37,6	37,8	37,8	37,8	37,8	37,8	37,8	37,8	37,8	37,8	37,8	37,8		

† Mortalidade de uma plântula

Anexo 2: Número de sementes germinadas (NG) e velocidade de germinação (VG) diários e índice de velocidade de germinação (IVG) diários e totais para os tratamentos com solo contaminado 60, 120 e 210 dias antes do plantio (T210, T120 e T60) e solo não contaminado (T0).

DIAS	T210			T120			T60			T0		
	NG	VG	IVG	NG	VG	IVG	NG	VG	IVG	NG	VG	IVG
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	6	1,5	1,5	8	2	2	6	1,5	1,5	2	0,5	0,5
5	16	3,2	4,7	16	3,2	5,2	12	2,4	3,9	7	1,4	1,9
6	15	2,5	7,2	22	3,6667	8,8667	9	1,5	5,4	24	4	5,9
7	40	5,7143	12,914	45	6,4286	15,295	12	1,7143	7,1143	56	8	13,9
8	27	3,375	16,289	26	3,25	18,545	7	0,875	7,9893	21	2,625	16,525
9	9	1	17,289	21	2,3333	20,879	3	0,3333	8,3226	18	2	18,525
10	15	1,5	18,789	16	1,6	22,479	8	0,8	9,1226	19	1,9	20,425
11	2	0,1818	18,971	5	0,4545	22,933	3	0,2727	9,3953	8	0,7273	21,152
12	1	0,0833	19,054	1	0,0833	23,016	1	0,0833	9,4787	10	0,8333	21,986
13	5	0,3846	19,439	3	0,2308	23,247	4	0,3077	9,7864	7	0,5385	22,524
14	3	0,2143	19,653	4	0,2857	23,533	5	0,3571	10,144	10	0,7143	23,238
15	1	0,0667	19,72	3	0,2	23,733	1	0,0667	10,21	2	0,1333	23,372
16	1	0,0625	19,783	2	0,125	23,858	4	0,25	10,46	2	0,125	23,497
17	0	0	19,783	1	0,0588	23,917	0	0	10,46	2	0,1176	23,614
18	2	0,1111	19,894	0	0	23,917	3	0,1667	10,627	1	0,0556	23,67
19	0	0	19,894	2	0,1053	24,022	2	0,1053	10,732	0	0	23,67
20	0	0	19,894	1	0,05	24,072	0	0	10,732	0	0	23,67
21	0	0	19,894	0	0	24,072	1	0,0476	10,78	0	0	23,67
22	0	0	19,894	0	0	24,072	0	0	10,78	0	0	23,67
23	1	0,0435	19,937	0	0	24,072	0	0	10,78	0	0	23,67
24	0	0	19,937	0	0	24,072	0	0	10,78	0	0	23,67
25	0	0	19,937	0	0	24,072	0	0	10,78	0	0	23,67
26	0	0	19,937	0	0	24,072	0	0	10,78	0	0	23,67
27	1	0,037	19,974	0	0	24,072	0	0	10,78	0	0	23,67
28	1	0,0357	20,01	0	0	24,072	0	0	10,78	0	0	23,67
29	0	0	20,01	0	0	24,072	1	0,0345	10,814	0	0	23,67
30	0	0	20,01	0	0	24,072	0	0	10,814	0	0	23,67
IVG		20,01			24,072			10,814			23,67	

Anexo 3: Dados mensurados para análise morfológica dos tratamentos com solo contaminado 210 dias e 120 dias antes do plantio (T210 e T120), onde: PF= peso fresco da plântula (g); PS= peso seco da plântula (g); D= diâmetro do hipocótilo (mm); H= comprimento da parte aérea (cm); R= comprimento da raiz (cm); AFe= área foliar do primeiro eofilo (cm²); PSe= peso seco do primeiro eofilo (g); e AEF_e= área específica foliar do eofilo (cm²/g).

	T210							T120								
	PF	PS	D	H	R	AFe	PSe	AEFe	PF	PS	D	H	R	AFe	PSe	AEFe
1	0,1487	0,0396	1,08	4,872	6,9	0,8518	0,0032	266,2023	0,1971	0,0439	1,06	4,726	5,9	0,7852	0,0032	245,3781
2	0,1813	0,0415	1,38	5,156	6,6	1,1184	0,0039	286,7684	0,1786	0,0408	0,26	5,058	8	1,4172	0,0048	295,2404
3	0,2125	0,0541	1,06	5,762	2,7	1,2028	0,0049	245,4702	0,2065	0,0408	0,18	5,192	12,6	1,0706	0,0037	289,3621
4	0,1901	0,0442	1,28	5,184	8,2	0,8874	0,0036	246,4964	0,2353	0,0507	0,38	6,864	8,8	1,4438	0,0043	335,7695
5	0,2216	0,047	1,22	5,402	5,4	1,2839	0,0046	279,1042	0,2208	0,0483	1,1	5,514	9,3	1,6559	0,0048	344,987
6	0,1547	0,0369	1,1	4,004	6,8	0,9463	0,0029	326,2932	0,2129	0,0449	1,02	5,67	14,5	1,2839	0,0047	273,1658
7	0,2038	0,0496	1,2	5,664	9,1	1,2883	0,005	257,6644	0,1996	0,0491	1,18	4,834	5,7	0,8296	0,0036	230,4541
8	0,1933	0,0382	1,28	6,406	4,7	1,3694	0,0045	304,3105	0,1809	0,043	1,26	5,628	7,2	1,1817	0,0039	303,0005
9	0,1953	0,0472	1,08	4,348	11	1,0662	0,0046	231,782	0,1728	0,0392	1,12	4,852	6,9	0,9351	0,0029	322,4634
10	0,186	0,0482	1,18	4,47	8,8	0,8618	0,0036	239,4008	0,2169	0,0532	1,22	5,984	10,8	1,6804	0,0067	250,8017
11	0,1938	0,0468	1,24	4,972	7,6	1,4294	0,005	285,8742	0,1844	0,0406	1,32	5,588	4,3	0,9063	0,0037	244,9372
12	0,1859	0,0435	1,2	5,344	9,9	1,2106	0,0035	345,8795	0,1776	0,0381	1,24	5,852	6,1	1,5804	0,0047	336,2586
13	0,2224	0,0446	1,22	4,776	4,8	1,4849	0,0055	269,9822	0,2257	0,0504	1,2	6,354	6,2	2,0613	0,007	294,4736
14	0,2003	0,0438	1,18	4,698	4,4	1,2683	0,0049	258,843	0,192	0,0457	1,06	5,266	7,4	1,0984	0,0044	249,6376
15	0,2122	0,0479	1,36	4,68	7,1	1,1617	0,0047	247,1725	0,2582	0,0551	1,34	5,472	7,2	1,245	0,0042	296,4304
16	0,1904	0,041	1,3	5,172	6,6	1,1684	0,0041	284,9694	0,201	0,0448	1,16	5,954	6,7	1,0007	0,0035	285,9059
17	0,2046	0,0497	1,06	5,648	6,9	0,9551	0,0035	272,8958	0,1598	0,0321	1,08	4,75	7,5	1,8536	0,0051	363,4566
18	0,1653	0,0425	1,14	4,76	5,9	1,1228	0,0038	295,484	0,1605	0,0387	1,18	5,272	11	1,1184	0,0039	286,7684
19	0,1755	0,042	1,14	4,28	5,6	1,1184	0,0038	294,3149	0,2097	0,0464	1,52	5,48	9,2	1,0851	0,0042	258,3519
20	0,2519	0,0217	1,32	5,168	12	1,3861	0,0053	261,5201	0,1987	0,0437	1,28	4,572	5,6	1,1795	0,0046	256,4089
21	0,1937	0,05	1,22	5,158	7,1	1,2828	0,0052	246,6863	0,193	0,0385	1,12	6,912	6,5	1,5937	0,0046	346,4659
22	0,1702	0,0395	1,18	5,752	7,3	1,0606	0,0036	294,6234	0,1948	0,0423	1,04	5,622	7,3	0,9685	0,0034	284,8419
23	0,1649	0,0332	1,02	5,286	6,9	1,3894	0,0037	375,5104	0,1817	0,0443	1,1	5,46	7,5	1,2106	0,0039	310,4047
24	0,1537	0,0349	1,36	4,684	9,7	1,0751	0,003	358,3608	0,1859	0,0393	1,04	5,382	8,2	1,4083	0,0038	370,5971
25	0,1897	0,0419	1,16	5,61	10	1,0962	0,0041	267,362	0,1918	0,0334	1,04	5,554	6,9	1,5293	0,0045	339,8504

Anexo 4: Dados mensurados para análise morfológica dos tratamentos com solo contaminado 60 dias antes do plantio (T60) e solo não contaminado (T0), onde: PF= peso fresco da plântula (g); PS= peso seco da plântula (g); D= diâmetro do hipocótilo (mm); H= comprimento da parte aérea (cm); R= comprimento da raiz (cm); AFe= área foliar do primeiro eofilo (cm²); PSe= peso seco do eofilo (g); e AEF_e= área específica foliar do eofilo (cm²/g).

	T60									T0						
	PF	PS	D	H	R	AFe	PSe	AEFe	PF	PS	D	H	R	AFe	PSe	AEFe
1	0,1787	0,0428	1,18	3,908	5,9	0,5064	0,0022	230,2017	0,2128	0,0417	1,2	6,026	11,3	2,4056	0,006	400,9346
2	0,1637	0,0382	1,54	3,056	5,4	0,3643	0,001	364,2841	0,2489	0,0679	1,38	6,984	14,5	2,0691	0,0075	275,8786
3	0,2104	0,0416	1,24	4,708	6,3	1,0484	0,0029	361,5267	0,2622	0,0521	1,14	7,322	11,8	1,9169	0,0057	336,3042
4	0,1769	0,0475	1,1	5,14	4,1	1,0562	0,0037	285,4599	0,2714	0,0626	1,18	7,368	13,6	2,2879	0,0076	301,0371
5	0,1837	0,0419	1,22	3,706	5,1	0,7574	0,0033	229,5286	0,3077	0,0563	1,3	7,212	12,4	1,8914	0,0057	331,8228
6	0,1567	0,0354	1,12	4,32	5,7	0,8785	0,0026	337,8855	0,3187	0,0584	1,5	6,5	12,9	2,2868	0,0076	300,891
7	0,2238	0,0533	1,42	4,588	5,7	1,0218	0,0046	222,1245	0,2451	0,0494	1,36	6,226	9,7	1,787	0,0064	279,2174
8	0,1737	0,0388	1,28	4,236	5,9	0,7841	0,0028	280,0355	0,3317	0,0681	1,5	5,972	12,3	1,345	0,0042	320,2294
9	0,182	0,0439	1,4	3,806	4,7	0,8241	0,0032	257,5255	0,2801	0,0672	1,46	7,896	11,5	2,5122	0,0075	334,9637
10	0,1427	0,0379	1,1	3,468	5,3	0,1733	0,0008	216,5713	0,2417	0,0523	1,32	7,316	11,8	1,8981	0,0057	332,9918
11	0,1965	0,0449	1,3	4,302	5	0,823	0,0029	283,7831	0,2725	0,0531	1,1	6,244	13,5	1,3816	0,0047	293,9604
12	0,1813	0,0349	1,18	3,78	3,8	0,4842	0,0022	220,1051	0,2725	0,0547	1,38	6,616	12,9	1,8703	0,007	267,184
13	0,224	0,0494	1,24	5,026	7,6	1,3061	0,0043	303,7423	0,3011	0,0616	1,44	5,292	13	1,8892	0,0063	299,868
14	0,1864	0,0407	1,12	4,052	5,7	0,7674	0,0025	306,976	0,2644	0,0607	1,54	5,712	13,3	2,0746	0,0064	324,1629
15	0,1388	0,0388	1,1	4,216	5	0,612	0,0019	322,0805	0,229	0,0474	1,18	6,596	14,6	2,0036	0,0059	339,5869
16	0,1725	0,0373	1,22	3,854	8,6	0,9662	0,0026	371,6313	0,297	0,0552	1,2	7,804	12,8	2,5855	0,0072	359,1012
17	0,1644	0,034	1,24	4,226	6,6	1,1995	0,0039	307,5569	0,2545	0,0575	1,44	6,774	7,1	2,2179	0,008	277,2391
18	0,1689	0,033	1,16	4,104	7,5	0,3021	0,0013	232,3764	0,2468	0,0573	1,28	8,052	13,8	1,6282	0,0056	290,745
19	0,1352	0,0292	1,18	3,432	6,7	0,4531	0,0014	323,6671	0,278	0,0481	1,14	6,47	14,4	1,3927	0,0055	253,2219
20	0,211	0,048	1,26	4,972	7,8	0,8841	0,0026	340,0213	0,2036	0,0733	1,34	8,94	11,6	3,504	0,0128	273,751
21	0,202	0,0519	1,04	5,744	6,8	1,2761	0,0043	296,7686	0,3214	0,0614	1,32	7,528	14,7	1,847	0,0051	362,15
22	0,1713	0,0378	1	4,498	5,5	0,8885	0,0025	355,3991	0,2525	0,0513	1,38	7,32	13,6	1,9503	0,0064	304,727
23	0,156	0,0302	1,26	2,962	5,6	0,281	0,0008	351,2343	0,2654	0,0537	1,3	6,172	11	1,6548	0,0064	258,5667
24	0,1928	0,0427	1,18	4,884	6,2	1,0073	0,0039	258,2909	0,3078	0,0539	1,38	5,986	13,9	1,9114	0,0055	347,5238
25	0,1704	0,0418	1,1	4,41	6,3	0,8996	0,0032	281,1263	0,2702	0,0522	1,36	7,298	14,6	2,0502	0,0069	297,1317

Anexo 5: Dados mensurados para análise anatômica em todos os tratamentos, onde DT = diâmetro total da raiz, RC = raio do córtex, e DC = diâmetro do cilindro central.

Amostra	Tratamento T0			Tratamento T210			Tratamento T120			Tratamento T60		
	DT (µm)	RC (µm)	DC (µm)	DT (µm)	EC (µm)	DC (µm)	DT (µm)	EC (µm)	DC (µm)	DT (µm)	EC (µm)	DC (µm)
1	688.9	187.32	215.8	830	282.2	249	920	323.7	290.5	1020	323.7	340.3
2	763.6	240.7	215.8	960	398.4	232.4	813.4	249	240.7	763.6	232.4	273.9
3	664	207.5	215.8	1200	415	315.4	672.3	199.2	249	672.3	207.5	232.4
4	605.9	182.86	207.5	1160	398.4	307.1	771.9	249	249	980	332	315.4
5	539.5	173.94	182.86	796.8	215.8	232.4	730.4	240.7	232.4	840	273.9	273.9
6	688.9	249	207.5	805.1	249	232.4	840	290.5	257.3	920	323.7	273.9
7	630.8	214.08	223	840	249	290.5	755.3	224.1	265.6	880	273.9	290.5
8	605.9	216.31	196.24	647.4	207.5	290.5	840	265.6	282.2	980	348.6	315.4
9	655.7	224.1	209.62	730.4	207.5	249	730.4	182.6	249	1000	365.2	282.2
10	622.5	191.78	189.55	800	282.2	257.3	771.9	249	249	1040	340.3	332
Média	646.57	208.759	206.367	876.97	290.5	265.6	784.56	247.34	256.47	909.59	302.12	292.99
Variância	3696.331	621.4295	166.0775	31847.04	6858.382	1041.004	4996.505	1680.916	328.3757	14525.84	2758.662	1072.388
DP	60.79746	24.92849	12.8871	178.4574	82.81535	32.2646	70.68596	40.99898	18.12114	120.5232	52.52296	32.74733
CV	9.403075	11.94128	6.244751	20.34932	28.50787	12.14782	9.009631	16.57596	7.065598	13.25028	17.3848	11.17694