

GEDIR DE OLIVEIRA SANTOS

**CRESCIMENTO, NUTRIÇÃO E ESTRUTURA DO LENHO JUVENIL DE TRÊS  
ESPÉCIES FLORESTAIS COM POTENCIAL DE FITORREMEDIÇÃO EM SOLOS  
CONTAMINADOS COM PETRÓLEO**

Tese apresentada como requisito parcial à  
Obtenção do grau de Doutor, pelo Curso de  
Pós-Graduação em Engenharia Florestal,  
Área de concentração em Silvicultura, do  
Setor de Ciências Agrárias da Universidade  
Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Bruno Reissmann

Co-orientadores: Prof. Dr. Renato Marques  
Prof. Henrique S. Koehler

CURITIBA

2006

## AGRADECIMENTOS

Ao programa de Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, pela oportunidade concedida.

Ao orientador Prof. Dr. Carlos Bruno Reissmann pelo convívio, confiança e oportunidade.

Aos professores Henrique Soares Koehler e Renato Marques pelas preciosas contribuições.

As colegas do Departamento de Botânica Professoras Cleusa Bona e Maria Cecília de C. Moço pelas sugestões apresentadas.

A Petrobras/ Repar pelo suporte financeiro do projeto “Adaptações morfo-fisiológicas de espécies vegetais crescendo em solo contaminado com petróleo” a qual esse trabalho esteve vinculado.

Aos acadêmicos do curso de Engenharia Florestal Davi Rauen, Bárbara Jarschel, Rodrigo de Lima e, especialmente Alberto Gappmayer Biscaia e Anderson Jones Bobko pela auxílio durante a execução desse trabalho bem como do projeto maior.

Aos colegas de curso.

Aos meus pais.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para execução desse trabalho.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	v
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	ix
<b>RESUMO</b> .....	xi
<b>ABSTRACT</b> .....	xiii
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	4
2.1 PETRÓLEO .....	4
2.2 EFEITO DO PETRÓLEO .....	9
2.2.1. Ecosistemas .....	9
2.2.1.1 Ambiente aquático .....	9
2.2.1.2 Vegetação aquática submersa .....	9
2.2.1.3 Recifes Tropicais .....	10
2.2.1.4 Áreas do Contorno da costa e comunidades Ribeirinhas .....	10
2.2.1.5 Ecosistemas Bênticos .....	11
2.2.1.6 Ecosistemas Terrestres .....	11
2.2.2 Plantas .....	12
2.3 BIOREMEDIAÇÃO E FITORREMEDIAÇÃO .....	18
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS GERAL</b> .....	30
3.1 Experimento em campo.....	30
3.2 Experimento em casa de vegetação.....	30
3.3 Caracterização do solo.....	33
3.4 Crescimento e teor de clorofila.....	34
3.5 Teor de macronutrientes e micronutrientes.....	34
3.6 Estudo Anatômico .....	35
3.7 Estatística.....	35
<b>4 REFERÊNCIAS</b> .....	35
<b>5 CRESCIMENTO E CONCENTRAÇÃO DE MACRONUTRIENTES DE</b> <b><i>Podocarpus lambertii</i> KLOTZ. EM SOLO CONTAMINADO COM</b> <b>PETRÓLEO</b> .....	53
5.1 INTRODUÇÃO .....	53
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS .....	55

5.3 RESULTADOS .....	57
5.4 DISCUSSÃO .....	60
5.5 REFERÊNCIAS .....	64
<b>6 CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES E CRESCIMENTO DE <i>Podocarpus Lambertii</i> KLOTZ. EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO.....</b>	<b>69</b>
6.1 INTRODUÇÃO .....	69
6.2 MATERIAIS E MÉTODOS .....	72
6.3 RESULTADOS .....	74
6.4 DISCUSSÃO .....	78
6.5 REFERÊNCIAS .....	81
<b>7 CRESCIMENTO E NUTRIÇÃO DE <i>Allophylus edulis</i> RADLK EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO.....</b>	<b>87</b>
7.1 INTRODUÇÃO .....	87
7.2 MATERIAIS E MÉTODOS .....	89
7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	91
7.4 REFERÊNCIAS .....	98
<b>8 EFEITO DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO NO CRESCIMENTO E NUTRIÇÃO <i>Mimosa scabrella</i> BENTH.....</b>	<b>103</b>
8.1 INTRODUÇÃO .....	103
8.2 MATERIAIS E MÉTODOS .....	106
8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	108
8.4 REFERÊNCIAS .....	114
<b>9 EFEITO DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO NA ESTRUTURA DO LENHO JUVENIL DE TRÊS ESPÉCIES FLORESTAIS.....</b>	<b>120</b>
9.1 INTRODUÇÃO .....	120
9.2 MATERIAIS E MÉTODOS .....	123
9.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	125
9.3.1 <i>Podocarpus lambertii</i> .....	125
9.3.2 <i>Allophylus edulis</i> e <i>Mimosa scabrella</i> .....	131
9.4 REFERÊNCIAS .....	137
10 CONCLUSÕES .....	142
ANEXO I .....	144

ANEXO II .....	150
ANEXO III .....	157
ANEXO IV .....	165
ANEXO V .....	172

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1 -	POSSÍVEIS ROTAS DE UM POLUENTE DURANTE A FITORREMEDIAÇÃO. O POLUENTE PODE SER ESTABILIZADO OU DEGRADADO NA RIZOSFERA, SEQÜESTRADO OU DEGRADADO DENTRO DA PLANTA OU VOLATILIZADO.....	20
FIGURA 2.2 -	MECANISMO DE DESINTOXICAÇÃO DE UM POLUENTE ORGÂNICO DENTRO DA CÉLULA VEGETAL.....	26
FIGURA 3.1 -	VISTA AÉREA DA ÁREA DA REPAR ONDE FORAM INSTALADOS O EXPERIMENTO DE CAMPO E ONDE FOI COLETADO O SOLO CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO PARA O EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.....	31
FIGURA 3.2 -	EXPERIMENTO EM CAMPO (A)- MUDA DE <i>Podocarpus lambertii</i> NA ÁREA C1; (B)- ÁREA C2 E (C) MUDA DE <i>Podocarpus Lambertii</i> QUE CRESCER NA ÁREA C2; (D)- MUDA DE <i>Podocarpus Lambertii</i> NA ÁREA NC. ....	32
FIGURA 3.3 -	(A)- VISTA GERAL DA CASA DE VEGETAÇÃO ONDE FORAM CONDUZIDOS OS EXPERIMENTOS. (B) <i>Mimosa scabrella</i> NO SOLO CONTAMINADO (C) <i>Allophylus edulis</i> EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (PRIMEIRO PLANO) E NÃO CONTAMINADO.....	33
FIGURA 5.1 -	CRESCIMENTO DE <i>Podocarpus lambertii</i> EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (ÁREAS C1 E C2) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). ....	57
FIGURA 5.2 -	INCREMENTO NA ALTURA DAS MUDAS DE <i>Podocarpus lambertii</i> EM SOLO CONTAMINADO (ÁREAS C1 E C2) E SOLO NAO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES, BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY A $P>0,05$ .....	58
FIGURE 5.3 -	PRODUÇÃO DE BIOMASSA NA PARTE AÉREA, RAIZ, BIOMASSA TOTAL E RAZÃO BIOMASSA DA PARTE AÉREA/RAIZ DE <i>Podocarpus lambertii</i> CRESCENDO EM SOLO CONTAMINADO (ÁREAS C1 E C2) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES, BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY A $P>0,05$ .....	58

FIGURA 5.4 -	PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS DE <i>Podocarpus lambertii</i> EM SOLO CONTAMINADO (ÁREAS C1 E C2) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). VALORES REPRESENTAM A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES. BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY A $P > 0,05$ .....	59
FIGURA 6.1 -	CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE <i>Podocarpus lambertii</i> NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).....	75
FIGURA 6.2 -	INCREMENTO EM ALTURA DAS PLANTAS DE <i>Podocarpus Lambertii</i> EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES, BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY A $P > 0,05$ .....	75
FIGURA 6.3 -	PRODUÇÃO DE BIOMASSA NAS PLANTAS DE <i>Podocarpus lambertii</i> EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES, BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. NS – NÃO SIGNIFICATIVO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY A $P > 0,05$ .....	76
FIGURA 6.4.-	CONCENTRAÇÃO DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS NAS FOLHAS DE <i>Podocarpus lambertii</i> QUE CRESCERAM NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES, BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAS A $P > 0,05$ PELO TESTE TUKEY.....	77
FIGURA 7.1 -	CRESCIMENTO DE <i>Allophylus edulis</i> NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETROLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).....	92

- FIGURA 7.2 - INCREMENTO DA ALTURA DAS MUDAS DE *Allophylus edulis* QUE CRESCERAM NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES. BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY ( $P > 0,05$ )..... 92
- FIGURA 7.3 - PRODUÇÃO DE BIOMASSA DA PARTE AÉREA, RAIZ, BIOMASSA TOTAL E RAZÃO BIOMASSA DA PARTE AÉREA/RAIZ NAS MUDAS DE *Allophyllus edulis* QUE CRESCERAM NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES. BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY A  $P > 0,05$ ..... 94
- FIGURA 8.1 - CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE *Mimosa scabrella* NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC)..... 109
- FIGURA 8.2 - INCREMENTO EM ALTURA DAS PLANTAS DE *Mimosa scabrella* EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES, BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTE PELO TESTE TUKEY A  $P > 0,05$ ..... 109
- FIGURA 8.3 - PRODUÇÃO DE BIOMASSA NAS PLANTAS DE *Mimosa scabrella* EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES, BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY A  $P > 0,05$ . ..... 111
- FIGURA 8.4 - CONCENTRAÇÃO DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) NAS FOLHAS DE *Mimosa scabrella* QUE CRESCERAM NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA



	COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES, BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY A $P > 0,05$ .....	112
FIGURA 9.1 -	SECÇÕES TRANSVERSAIS DO LENHO JOVEM DE <i>Podocarpus lambertii</i> . A E B – ÁREA C1; C E D- ÁREA C2 E E E F- ÁREA NC. T- TRAQUEÍDE; R- RAIO.....	127
FIGURA 9.2 -	SECÇÕES TANGENCIAIS (A,C,E) E TRAQUEÍDES (B,D,F) DO LENHO JOVEM DE <i>Podocarpus lambertii</i> . A E B ÁREA C1; C E D -ÁREA C2; E E F- ÁREA NC. T= TRAQUEÍDE; r =RAIO.....	128
FIGURA 9.3 -	SECÇÕES TRANSVERSAIS E TANGENCIAIS DO LENHO JUVENIL DE <i>Podocarpus lambertii</i> EM SOLO CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO COM PETRÓLEO. A- SECÇÃO TRANSVERSAL E B SECÇÃO TANGENCIAL DAS PLANTAS DA ÁREA CONTAMINADA; C- SECÇÃO TRANSVERSAL E D- SECÇÃO LONGITUDINAL DAS PLANTAS DO SOLO NÃO CONTAMINADO. ....	131
FIGURA 9.4 -	SECÇÕES TRANSVERSAIS, TANGENCIAIS E MACERADO DO LENHO JUVENIL DE <i>Allophylus edulis</i> EM SOLO CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO COM PETRÓLEO. A- SECÇÃO TRANSVERSAL E B SECÇÃO TANGENCIAL DAS PLANTAS DA ÁREA CONTAMINADA; C- SECÇÃO TRANSVERSAL E D- SECÇÃO TANGENCIAL DAS PLANTAS DO SOLO NÃO CONTAMINADO. E- ELEMENTOS DO XILEMA DAS PLANTAS DA ÁREA CONTAMINADA. F- ELEMENTOS DO XILEMA DAS PLANTAS DA ÁREA NÃO CONTAMINADA.. V= VASO; r= RAIO.....	134
FIGURA 9.5 -	SECÇÕES TRANSVERSAIS, TANGENCIAIS DO LENHO JUVENIL DE <i>Mimosa scabrella</i> . FIGURAS A E C SECÇÕES TRANSVERSAIS E FIGURA E SECÇÃO TANGENCIAL DAS PLANTAS QUE CRESCERAM NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO. FIGURAS B E D SECÇÕES TRANSVERSAIS E FIGURA F SECÇÃO TANGENCIAL DAS PLANTAS QUE CRESCERAM NO SOLO NÃO CONTAMINADO.....	135
FIGURA 9.6 -	VASO DO LENHO JUVENIL (SETA ) DE <i>Mimosa scabrella</i> QUE CRESCERAM EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (A) E SOLO NÃO CONTAMINADO (B).....	136

## LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1 -	CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DERRAMADO NA REPAR EM 16/07/2000 .....	5
TABELA 2.2 -	CONSUMO MUNDIAL DE PETRÓLEO DOS PAISES QUE DEMANDAM, PELO MENOS, 2% DA PRODUÇÃO MUNDIAL.....	6
TABELA 5.1 -	ATRIBUTOS FÍSICOS E QUÍMICOS DOS SOLOS CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C1 E C2) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).....	56
TABELA 5.2 -	CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES (g kg <sup>-1</sup> ) NAS FOLHAS DE <i>Podocarpus lambertii</i> EM SOLO CONTAMINADO (ÁREAS C1 E C2) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). VALORES SÃO MÉDIAS ± DESVIO PADRÃO PARA TRÊS AMOSTRAS MISTAS. ....	60
TABELA 6.1 -	ATRIBUTOS FÍSICO-QUÍMICOS DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).....	72
TABELA 6.2 -	CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES NAS FOLHAS DE <i>Podocarpus lambertii</i> QUE CRESCERAM NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM ADUBAÇÃO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). VALORES REPRESENTAM MÉDIA ± DESVIO PADRÃO DE TRÊS REPETIÇÕES.....	77
TABELA 7.1 -	ATRIBUTOS FÍSICO-QUÍMICO DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).....	89
TABELA 7.2 -	TEOR DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS (µg g <sup>-1</sup> ) NAS FOLHAS DE <i>Allophylus edulis</i> CRESCENDO EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO. VALORES REPRESENTAM A MÉDIA ± DESVIO PADRÃO PARA AS OITO REPETIÇÕES. ....	95
TABELA 7.3 -	CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES NO TECIDO FOLIAR DAS MUDAS DE <i>Allophylus edulis</i> CRESCENDO EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO	

	CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO. VALORES REPRESENTAM A MÉDIA $\pm$ DESVIO PADRÃO PARA AS OITO REPETIÇÕES.....	96
TABELA 8.1	ALGUNS ATRIBUTOS FÍSICO-QUÍMICOS DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).....	106
TABELA 8.2 -	CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES NAS FOLHAS DE <i>Mimosa scabrella</i> QUE CRESCERAM NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM ADUBAÇÃO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). VALORES REPRESENTAM MÉDIA $\pm$ DESVIO PADRÃO DE TRÊS REPETIÇÕES.....	113
TABELA 9.1 -	QUADRO-RESUMO DA MONTAGEM DO EXPERIMENTO EM CAMPO E EM CASA DE VEGETAÇÃO .....	124
TABELA 9.2 -	EFEITO DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C1 E C2) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC) NO DIÂMETRO DA BASE DO CAULE E NA ESTRUTURA DO XILEMA SECUNDÁRIO JOVEM DE <i>Podocarpus lambertii</i> . VALORES REPRESENTAM A MÉDIA $\pm$ DESVIO PADRÃO PARA AS 8 REPETIÇÕES.....	126
TABELA 9.3 -	EFEITO DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC) NO DIÂMETRO DA BASE DO CAULE E NA ESTRUTURA DO XILEMA SECUNDÁRIO JOVEM DE <i>Podocarpus lambertii</i> . VALORES REPRESENTAM A MÉDIA $\pm$ DESVIO PADRÃO PARA AS 8 REPETIÇÕES.....	130
TABELA 9.4 -	EFEITO DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC) NO DIÂMETRO DA BASE DO CAULE E NA ESTRUTURA DO XILEMA SECUNDÁRIO JUVENIL DE <i>Allophyllus edulis</i> E <i>Mimosa scabrella</i> . VALORES REPRESENTAM A MÉDIA $\pm$ DESVIO PADRÃO PARA AS 8 REPETIÇÕES.....	133

## RESUMO

O presente trabalho teve o objetivo de estudar o efeito do solo contaminado com petróleo no crescimento, nutrição e estrutura do lenho juvenil de mudas de três espécies florestais. O experimento foi conduzido em campo e casa de vegetação para *Podocarpus lambertii* e em casa de vegetação para *Allophylus edulis* e *Mimosa scabrella*. O experimento em campo foi realizado em duas áreas contaminadas com petróleo (C1 e C2) e uma área não contaminada. O experimento em casa de vegetação teve três tratamentos: solo contaminado com petróleo, solo contaminado com petróleo e adubado com NPK e solo não contaminado. Cada tratamento teve oito repetições. As variáveis estudadas foram: altura das plantas, diâmetro da base do caule, biomassa da raiz e parte aérea, teor de pigmentos fotossintéticos e nutrientes nas folhas. Para o estudo da estrutura do lenho juvenil foram utilizadas apenas as plantas do solo contaminado com petróleo e solo não contaminado. As plantas de *Podocarpus lambertii* da área C1 reduziram o crescimento, biomassa e teores dos pigmentos fotossintéticos. Além disso, observou-se redução no comprimento e aumento na espessura da parede celular das traqueídes. Em contraste, as plantas da área C2 apresentaram um aumento no crescimento, biomassa e não foi observada nenhuma alteração nas traqueídes. Não foi observada alteração no teor de N nas plantas da área C1 e C2, entretanto, o teor de P e Mg foram reduzidos. Para o experimento de casa de vegetação, *Podocarpus lambertii* e *Mimosa scabrella* reduziram crescimento e biomassa em solo contaminado. O teor de pigmentos fotossintéticos foram reduzidos em *Podocarpus lambertii* e aumentados em *Mimosa scabrella*. A adição de adubo parcialmente minimizou os efeitos negativos em *Podocarpus lambertii* e aumentou altura e biomassa de *Mimosa scabrella*. Sob o ponto de vista nutricional, a presença do contaminante reduziu os teores de N, P, Mg, Fe e Zn em *Podocarpus lambertii* e a adubação com NPK nos solos contaminados aumentou os teores de N, P, Fe e Zn. Além disso, não foi observada nenhuma alteração significativa no lenho juvenil de *Podocarpus lambertii*. Os teores de nutrientes nas folhas de *Mimosa scabrella* foram pouco afetados pela presença do contaminante. O lenho juvenil dessa espécie apresentou redução no comprimento, diâmetro e espessura da parede celular dos vasos. Observou-se

também redução no diâmetro da base do caule e aumento no número de vasos por  $\text{mm}^2$ . *Allophylus edulis* não apresentou alteração na estrutura do lenho juvenil, na biomassa e nos teores de pigmentos fotossintéticos entre as plantas do solo contaminado e não contaminado. A adubação com NPK no solo contaminado gerou um aumento significativo na altura e na biomassa das plantas. Em todas as plantas estudadas, houve um aumento significativo no teor de Mn nas plantas crescendo em solo contaminado com petróleo.

Palavras Chave: Solo contaminado com petróleo, crescimento, nutrição, estrutura do lenho juvenil, *Podocarpus lambertii*, *Allophylus edulis*, *Mimosa scabrella*.

## ABSTRACT

This work aimed to study the effect of crude oil contaminated soil on the growth, nutrition and juvenile wood structure of three forest species. The experiment was carried out in the field and in greenhouse for *Podocarpus lambertii*. *Allophylus edulis* and *Mimosa scabrella* were tested only in the greenhouse. The field trial was carried out in two areas contaminated by crude oil (C1 and C2) and in an uncontaminated area. The greenhouse experiment was made up by three treatments: contaminated soil by crude oil, contaminated soil by crude oil and fertilized with NPK and uncontaminated soil with eight repetitions. Plant height, diameter at the base of the stem, root and shoot biomass, photosynthetic pigments content and leaf nutrients content were analysed. For the study of juvenile wood structure only plant growth in the crude oil-contaminated soil and uncontaminated soil were used. Plants of *Podocarpus lambertii* from area C1 presented reduced growth, biomass and photosynthetic pigments content, along with reduced length and increased width of the tracheids cell walls. In contrast, plants from area C2 presented increased growth and biomass while no change on the tracheids was noticed. No change on N content was found for plants from areas C1 and C2, however, P and Mg content were reduced. For the greenhouse experiment, *Podocarpus lambertii* and *Mimosa scabrella* presented reduced growth and biomass in contaminated soil. The content of photosynthetic pigments was reduced in *Podocarpus lambertii* and increased in *Mimosa scabrella*. Fertilization partially minimized the negative effects in *Podocarpus lambertii* while it increased height and biomass in *Mimosa scabrella*. From the nutritional point of view, the presence of the contaminant reduced the N, P, Mg, Fe, and Zn content in *Podocarpus lambertii*, while fertilization with NPK in contaminated soils increased N, P, Fe, and Zn content. In addition, no significant change was observed for juvenile wood of *Podocarpus lambertii*. Leaf nutrient content were slightly affected by the presence of contaminant. The juvenile wood in this species presented reduced length, diameter and thickness of vessels cell walls. Reduction at the diameter of the base of the stem and increase in the number of vessels per mm<sup>2</sup> were also observed. *Allophylus edulis* did not present changes in the juvenile wood structure, height biomass and photosynthetic pigments when compared to plants

grown on uncontaminated soil. The fertilization resulted in significant increase in plants height and biomass production. Significant increase in Mn content was observed for all plants grown in soil contaminated by crude oil.

Key words: *crude oil contaminated soil*, growth, nutrition, juvenile wood structure, *Podocarpus lambertii*, *Allophylus edulis*, *Mimosa scabrella*.

## 1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da sociedade moderna está fundamentado no uso intensivo do petróleo e seus derivados. O aumento desta demanda implica no crescente risco de acidentes que contaminam grandes áreas do planeta (HUTCHINSON *et al.*, 2001). No dia 16 de julho de 2000 ocorreu um acidente na refinaria Presidente Getúlio Vargas (REPAR), unidade da Petróleo Brasileiro S.A. (PETROBRÁS), localizada em Araucária-PR, com o vazamento de 4 milhões de litros de petróleo que afetou a bacia hidrográfica do rio Barigüi, principal afluente do rio Iguaçu, um dos mais importantes cursos hídricos do sul do Brasil.

O efeito negativo desse acidente foi mais significativo junto ao arroio Saldanha, localizado na área que pertence à REPAR. O petróleo contaminou o solo, cursos de águas e as comunidades bióticas dependentes das encostas próximas à conexão dos dutos com o complexo da refinaria (scrape), onde ocorreu o vazamento, além dos ambientes ripários adjacentes ao arroio e da extensa várzea antes de sua afluência no rio Barigüi.

A vegetação da área do acidente, nos locais de encostas, destacam-se dois tipos principais de vegetação natural remanescente: as formações secundárias da Floresta Ombrófila Mista apresentando vários estágios sucessionais e diferentes graus de transformação de campos limpos naturais. Em adição, as planícies junto ao arroio Saldanha e ao rio Barigüi, observou-se uma vegetação adaptada às condições de saturação o qual são denominadas de Formações Pioneiras com Influência Flúvio-lacustre (IBGE, 1992) o qual pode ter fisionomia exclusivamente herbácea (campos higrófilos) ou com espécies arbóreas. Além disso pode ocorrer trechos de Floresta Ombrófila Mista Aluvial quando o substrato é melhor drenado.

A presença de hidrocarbonetos de petróleo no solo afeta negativamente o ecossistema (HUTCHINSON e FREEDMAN, 1978; HURTIG e SAN SEBASTION, 2002) havendo necessidade de técnicas para limpeza destas áreas. As técnicas que aplicam métodos biológicos são denominadas de biorremediação, que por definição é um processo que emprega microorganismos com potencial fisiológico para remoção de poluentes no solo ou outros ambientes (CUNNINGHAM *et al.*, 1996).

A descontaminação de solo contaminado com petróleo pode ser por meio de métodos físicos-químicos e/ou biológicos. A biorremediação baseia-se na presença



de microorganismos capazes de degradar o contaminante e a degradação depende da disponibilidade do contaminante ao ataque microbiano ou enzimático e, em condições ambientais adequadas, ao crescimento do biorremediador. As técnicas de biorremediação podem ser realizadas no local do acidente (*in situ*) ou fora deste (*ex situ*), envolvendo vários procedimentos como biorremediação passiva, bioventilação, “landfarming”, compostagem, bioestimulação e bioaumentação (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Muitas áreas contaminadas com petróleo são grandes e inviabilizam as técnicas tradicionais de biorremediação. A fitorremediação, ou seja, o uso de plantas e seus microorganismos associados para degradar, conter ou seqüestrar contaminantes do solo é considerada, por muitos pesquisadores, como o melhor método para descontaminar grandes áreas (CUNNINGHAM *et al.*, 1996).

As plantas aumentam a degradação dos hidrocarbonetos do solo ao fornecer compostos que aumentam o crescimento ou aceleram a degradação pelos microorganismos do solo (GERMIDA *et al.*, 2002). O uso das plantas para remediar áreas contaminadas com compostos orgânicos têm ganhado popularidade devido ao seu baixo custo e a um pequeno distúrbio na área quando comparadas às técnicas de biorremediação (BOLLAG *et al.* 1994; CUNNINGHAM *et al.* 1995; 1996). Uma barreira à ampla implementação desta tecnologia é que poucas plantas são capazes de crescer em solo contaminado com hidrocarbonetos e serem identificadas como fitorremediadoras (MERKL *et al.*, 2004). Desse modo, a primeira etapa para identificar potenciais espécies fitorremediadoras é crescerem em solo contaminado com petróleo e, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do solo contaminado com petróleo sobre o crescimento de *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl. (Pinheiro-bravo), *Allophylus edulis* (Saint Hilaire) Radlkofer (Vacum) e *Mimosa scabrella* Bentham (Bracatinga), espécies freqüentes na área do acidente e características da Floresta Ombrófila Mista

OBJETIVO GERAL: Avaliar a potencialidade de fitorremediação de três espécies arbóreas crescendo em solo contaminado com petróleo.

#### OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 1 Avaliar o efeito do solo contaminado com petróleo no crescimento e nutrição de *Podocarpus lambertii* Klotzsch em condições de campo;
- 2 Avaliar o efeito do solo contaminado com petróleo e solo contaminado com petróleo e adubado com NPK no crescimento e desenvolvimento de *Podocarpus lambertii* Klotzsch, *Allophylus edulis* Radlkofer e *Mimosa scabrella* Bentham em condições de casa de vegetação.
- 3 Avaliar o efeito do solo contaminado com petróleo na estrutura do lenho juvenil de *Podocarpus lambertii* Klotzsch, *Allophylus edulis* Radlkofer e *Mimosa scabrella* Bentham.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 PETRÓLEO

Os poluentes orgânicos que contaminam grandes áreas do planeta são geralmente produzidos pelo homem e podem ser tóxicos e carcinogênicos (PILON-SMITS, 2005). Estes compostos são liberados no ambiente por derramamentos (petróleo, combustíveis, solventes), atividades militares (explosivos, armas químicas), agricultura (fungicidas, herbicidas), indústria (substâncias químicas e petroquímicas), tratamento de madeira, etc. (CUNNINGHAM *et al.*, 1996; MACEK *et al.*, 2000; McCUTCHEON, 1998; PILON-SMITS, 2005).

O petróleo vem sendo utilizado desde 5.000 anos aC pelas antigas civilizações do Egito, Fenícia, Mesopotâmia, Pérsia, China e nas Américas pelos Incas e Astecas. (NEIVA, 1986). O petróleo (óleo de pedra) é um líquido oleoso, insolúvel e mais leve que a água. Sua coloração varia entre pardo - escuro e negro e é encontrado em jazidas no subsolo da crosta terrestre. As maiores jazidas petrolíferas conhecidas e exploradas localizam-se principalmente nos Estados Unidos, México, Venezuela, Rússia, Malásia e particularmente no Oriente Médio (Arábia Saudita, Irã, Iraque, Kuwait).

O petróleo é constituído por milhares de compostos diferentes, formando uma mistura muito complexa. Entre os principais componentes estão os hidrocarbonetos que chegam a atingir 98% da composição total (CLARK e BROWN, 1977). Os hidrocarbonetos do petróleo compreendem os n-alcanos, isoalcanos, cicloalcanos, e aromáticos. Entre esses, os predominantes são os n alcanos e os alcanos com cadeia ramificada, podendo apresentar até 78 átomos de carbono (LUDWIG, 1965). Ocorre ainda a presença de enxofre, nitrogênio e oxigênio. Há ainda pequenas quantidade de vanádio, níquel, sódio, cálcio, cobre e urânio (POSTHUMA, 1977). Um exemplo da composição física-química do petróleo é mostrada na Tabela 2.1. Além de hidrocarbonetos e substâncias inorgânicas, o óleo cru pode também conter pequenas quantidades de restos de material orgânico, como fragmentos de esqueletos silicosos, madeira, esporos, resina, carvão e vários outros remanescentes de vida pretérita (POSTHUMA, 1977).

TABELA 2.1 - CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DERRAMADO NA REPAR EM 16/07/2000\*.

Água + sedimentos (% v)	0,025 v
Densidade 20/40°C	0,9877
Enxofre total (% mm)	0,21
Ponto de fluidez	nr
Ponto de Fulgor	nr
Visc. cinemática (40°C) (mm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	2,316
HPA (mg g <sup>-1</sup> )	16
TPH (mg g <sup>-1</sup> )	1002
Alcenos (mg g <sup>-1</sup> )	109
MENR (mg g <sup>-1</sup> )	167
Chumbo (mg kg <sup>-1</sup> )	< 10
Zinco (mg kg <sup>-1</sup> )	< 2
Cobre (mg kg <sup>-1</sup> )	< 1
Níquel (mg kg <sup>-1</sup> )	3
Ferro (mg kg <sup>-1</sup> )	3
Manganês (mg kg <sup>-1</sup> )	< 2
Vanádio (mg kg <sup>-1</sup> )	< 5
Bário (mg kg <sup>-1</sup> )	< 3
Cálcio (mg kg <sup>-1</sup> )	9
Fósforo (mg kg <sup>-1</sup> )	< 15

\*FONTE: REPAR/PETROBRAS 2004.

Embora de pouca utilização em estado natural, o petróleo, quando refinado, fornece combustíveis, lubrificantes, solventes, material de pavimentação e muitos outros produtos. Os combustíveis derivados do petróleo respondem por mais da metade do suprimento de energia do mundo, tanto pela combustão direta quanto pela geração de eletricidade. Seus subprodutos são também utilizados para a fabricação de tecidos sintéticos, borracha sintética, sabões, detergentes, tinta, plásticos, medicamentos, inseticidas, fertilizantes, etc. Por exigir vultosos investimentos iniciais e contínuos reinvestimentos, apenas companhias de grande porte asseguram o desenvolvimento da indústria petrolífera (GOLDEMBERG, 2000). O consumo mundial de energia cresce cerca de 2% ao ano e deverá dobrar em 30 anos se prosseguirem as tendências atuais (Tabela 2.2). O crescimento não é uniforme e nos países industrializados é de 1% ao ano ao passo que chega a 4% ao ano nos países em desenvolvimento que estão crescendo rapidamente (GOLDEMBERG, 2000). O aumento desta demanda implica no alto risco de acidentes. Os principais acidentes com petróleo e seus derivados no Brasil são listados a seguir (SOUZA FILHO, 2006):

TABELA 2.2 - CONSUMO MUNDIAL DE PETRÓLEO DOS PAÍSES QUE DEMANDAM, PELO MENOS, 2% DA PRODUÇÃO MUNDIAL\*.

PAÍSES	1980	1990	2000	2001	2002	2003	Crescimento 1980 -2003
Estados unidos	17.062	16.988	19.701	19.649	19.761	20.071	18
Canadá	1.915	1.762	1.937	2.023	2.068	2.149	12
México	1.034	1.456	1.911	1.897	1.835	1.864	80
<b>Total A.Norte</b>	<b>20.012</b>	<b>20.206</b>	<b>23.549</b>	<b>23.569</b>	<b>23.663</b>	<b>24.083</b>	<b>20</b>
Brasil	1.155	1.274	1.855	1.896	1.853	1.817	57
<b>Total -A. Sul e Central</b>	<b>3.331</b>	<b>3.557</b>	<b>4.661</b>	<b>4.739</b>	<b>4.692</b>	<b>4.624</b>	<b>39</b>
França	2.262	1.910	2.007	2.023	1.967	1.991	-12
Alemanha	3.056	2.708	2.763	2.804	2.714	2.664	-13
Itália	1.972	1.932	1.956	1.946	1.943	1.927	-2
Rússia	n.d.	5.015	2.474	2.456	2.480	2.503	n.d.
Espanha	1.070	1.040	1.452	1.508	1.526	1.559	46
Reino Unido	1.672	1.762	1.697	1.688	1.697	1.666	0
<b>Total Europa + União Soviética</b>	<b>24.416</b>	<b>23.366</b>	<b>19.453</b>	<b>19.609</b>	<b>19.571</b>	<b>12.310</b>	<b>-19</b>
<b>Total –</b>	<b>2,044</b>	<b>3.391</b>	<b>4.317</b>	<b>4.372</b>	<b>4.446</b>	<b>4.480</b>	<b>119</b>
<b>Oriente Médio</b>							
<b>Total África</b>	<b>1.8</b>	<b>1.977</b>	<b>2.447</b>	<b>2.476</b>	<b>2.515</b>	<b>2.573</b>	<b>87</b>
China	1.766	2.253	4.985	5.030	5.379	5.982	29
Índia	643	1.211	2.254	2.284	2.374	2.426	277
Japão + Coréia do Sul	5.411	6342	7.806	7.670	7.641	7.754	10
<b>Total Ásia</b>	<b>10.568</b>	<b>13.730</b>	<b>21.056</b>	<b>21.161</b>	<b>21.743</b>	<b>22.601</b>	<b>114</b>
<b>Total Global</b>	<b>61.749</b>	<b>66.227</b>	<b>75.483</b>	<b>75.926</b>	<b>76.631</b>	<b>78.112</b>	<b>26</b>

\* FONTE: BP Statistical review of world energy. 2003. Disponível em: <[www.bp.com/worldenergy](http://www.bp.com/worldenergy)>. Acessado em 10 de ago. de 2005.

- Em agosto de 1974 o navio-tanque Takimyia Maru chocou-se com uma rocha no Canal de São Sebastião, litoral norte de São Paulo, causando o vazamento aproximado de 7.000 m<sup>3</sup>. Ainda em 1974, em 29 de agosto, o navio Esso Garden State derramou 5.882 m<sup>3</sup> de óleo cru durante operação de carregamento.

- O navio-tanque iraquiano Tarik Ibn Ziyad encalhou, no dia 26 de março de 1975, no canal central da Baía de Guanabara. Os tanques se romperam e vazaram por cerca de 15 horas. Os registros de volume de produto derramado variam de aproximadamente 7.000 m<sup>3</sup> até 18.000 m<sup>3</sup> de óleo cru. Várias praias foram atingidas nas cidades do Rio de Janeiro e de Niterói. No Rio de Janeiro o óleo atingiu praias da Ilha do Governador e da Ilha do Fundão, onde foi acidentalmente incendiado. O rio Jequiá foi severamente atingido por uma grossa camada de óleo que ao pegar fogo destruiu cerca de 20.000 m<sup>2</sup> de manguezal.
- Na manhã de 9 de janeiro de 1978, o petroleiro Brazilian Marina encalhou no Canal de São Sebastião, em São Paulo. Os tanques perfurados deixaram vazar petróleo cru e, segundo diferentes fontes, em torno de 6.000 m<sup>3</sup>, 11.700 m<sup>3</sup>, 12.000 m<sup>3</sup>, 13.852 m<sup>3</sup> ou 41.525 m<sup>3</sup>. Cerca de 2.800 m<sup>3</sup> atingiram a costa de São Paulo e sul do Rio de Janeiro, e o restante se deslocou para o mar.
- Em 27 de outubro de 1979, o petroleiro Gunvor Maersk incendiou-se e derramou 12.000 t de óleo combustível, no rio Amazonas.
- Em Bertioga, São Paulo, o rompimento de oleoduto da Petrobras que liga São Sebastião a Cubatão, por ações de terceiros, em 14 de outubro de 1983 provocou vazamento de 2.500 m<sup>3</sup> de petróleo.
- Em 17 março de 1985, ao colidir com o píer do terminal de São Sebastião, o navio Marina deixou vazar de 2.000 m<sup>3</sup> a 2.782 m<sup>3</sup> de óleo para o mar, atingindo as praias dos quatro municípios do litoral norte do Estado de São Paulo.
- Em 15 de maio de 1994, o rompimento do oleoduto que liga o Terminal de São Sebastião (TEBAR) à Refinaria Presidente Bernardes em Cubatão, decorrente de corrosão, provocou o vazamento de 2.700 m<sup>3</sup> de petróleo, afetando comunidades de costões rochosos que vinham sendo monitoradas desde 1993.
- Em 10 de março de 1997, dois rompimentos no oleoduto de transporte de produtos escuros (PE-II), que interliga as instalações do Sistema de Dutos e Terminais do Sudeste (DTSE) à Refinaria Duque de Caxias (REDUC), provocaram vazamento de óleo combustível marítimo (MF-380) no mangue situado entre a refinaria e a Baía de Guanabara. Além do mangue, onde teve impacto direto em 5.000 m<sup>2</sup>, o óleo se espalhou pelas praias de Freguesia, Barão, Pitangueiras, Bandeira e Zumbi, localizadas na Ilha do Governador. Os volumes registrados para este incidente variam de 900 m<sup>3</sup> a 3.000 m<sup>3</sup>.

- Em 18 de janeiro de 2000, cerca de 1.300 m<sup>3</sup> de óleo combustível marítimo (MF-380) vazaram de uma das linhas do sistema de oleodutos de transferência de produtos da Refinaria Duque de Caxias (REDUC) para o Terminal da Ilha D'Água (TORGUÁ), na Baía de Guanabara. O óleo derramado se espalhou por extensa área e atingiu diversos ecossistemas, como praias, costões rochosos e manguezais. A Área de Proteção Ambiental de Guapimirim, um dos mais importantes nichos ecológicos da região abrangendo um manguezal de 14 mil hectares foi severamente afetada. É considerado um dos maiores acidentes com petróleo já ocorridos na Baía de Guanabara. Este acidente foi o grande motivador para a revisão e elaboração de legislação nacional relacionada a derramamentos de óleo.
- Um dos piores incidentes de derramamento ocorreu, no dia 16 de julho de 2000, com o vazamento de 4.000 m<sup>3</sup> de petróleo devido ao rompimento de um oleoduto da Refinaria Presidente Vargas (REPAR), localizada no Paraná. O vazamento durou cerca de 2 horas, atingindo o Rio Barigui, afluente do Rio Iguaçu, situado a 620 km das Cataratas do Iguaçu. Os ecossistemas próximos ao ponto de derramamento foram severamente afetados.
- No dia 25 de junho de 2002, ocorreu o rompimento de um tanque de óleo no pátio da empresa Ingrax, em Pinhais, na região metropolitana de Curitiba (PR), deixando vazar 15 mil litros da substância. O óleo que vazou é o extrato neutro pesado, um derivado do petróleo altamente tóxico, que atingiu o Rio Atuba.
- Na manhã do dia 18 de fevereiro de 2004 foi constatado afloramento de petróleo e contaminação do rio Guaecá, na região da Praia de Guaecá, em São Sebastião, proveniente de uma fenda no oleoduto que liga o Tebar (Terminal Almirante Barroso), em São Sebastião, à refinaria Presidente Bernardes, em Cubatão. As causas do rompimento do oleoduto são desconhecidas. Ainda não se sabe a quantidade de óleo que vazou.

## 2.2 EFEITO DO PETRÓLEO

### 2.2.1 Ecossistemas

#### 2.2.1.1 Ambiente aquático

O habitat de ambiente aquático inclui áreas com água doce e marinha no qual se incluem mangues, pântanos, pântanos arborizados, vegetação flutuante e tundra. A maioria das informações disponíveis sobre o impacto de óleo nessas áreas vem de estudos na vegetação de estuários. A maioria dos estudos em pântanos foram realizados em locais dominados por *Spartina alterniflora* e, nos mangues os estudos concentram-se em *Rhizophora mangle*. Baseado nos dados disponíveis, há diferenças no grau de impacto de óleo entre as espécies. Embora todo acidente seja único, há vários fatores que podem afetar o comportamento e o impacto de óleo em ambientes aquáticos. Produtos refinados leves (óleo diesel) são altamente tóxicos mas sua persistência no ambiente é curta e baixa possibilidade de contaminação do sedimento. Para vegetação herbácea, o óleo cru “light” e produtos refinados mostram, a médio prazo, alta tendência na contaminação do sedimento de tal forma que a recuperação varia de um a cinco anos (BENDER *et al.*, 1980; ALEXANDER e WEBB, 1983; BACA *et al.*, 1983; MICHEL, 1989). Óleo cru pesado e produtos refinados podem afetar significativamente os mangues devido o óleo cobrir as raízes impedindo as trocas gasosas pelas raízes das plantas (GETTER *et al.*, 1985) como por exemplo *Avicennia schauereiana*, *Rizophora mangle* e *Laguncularia racemosa* (WASSERMAN *et al.*, 2002). Estes impactos podem durar até 20 anos (HUGUENIN *et al.*, 1996).

#### 2.2.1.2 Vegetação aquática submersa

A vegetação aquática submersa (VAS) inclui espécies de plantas vasculares que crescem principalmente sob a superfície de água doce e salgada. Apesar de serem sensíveis ao óleo, as VAS são pouco afetadas pelo contaminante devido não entrarem em contato direto com o óleo. Os efeitos do óleo no ambiente da VAS, segundo ZIEMAN *et al.* (1984) são resultados do contato direto com as folhas com o contaminante que pode resultar na sua morte o que pode vir a ser precedida de uma rebrota (6 -12 meses) entretanto, quando os sedimentos são contaminados ocorre a



morte da vegetação. Segundo os mesmos autores, o componente mais sensível do ecossistema das VAS são a comunidade epifítica e os organismos jovens que utilizam o ambiente destas plantas como berçário e mostram-se sensíveis tanto à fração solúvel quanto à insolúvel do óleo.

#### 2.2.1.3 Recifes Tropicais

Recifes tropicais são ecossistemas altamente produtivos que apresentam flutuações naturais, a longo prazo, como também uma gama de respostas para perturbações artificiais. Há poucos estudos que avaliaram o efeito do óleo sobre os recifes. LOYA e RINKEVICH (1980) e RAY (1980) compilaram os dados dos efeitos de óleo em comunidades de recife de coral em quinze acidentes. Estudos a longo prazo foram realizados por CUBIT *et al.* (1987), GUZMAN *et al.* (1991), e GUZMAN e HOLST (1993) na área do acidente da Texaco no Panamá e relataram os danos nos recifes rasos que duraram de 2,5 a 5 anos após o acidente.

#### 2.2.1.4 Áreas do Contorno da costa e comunidades Ribeirinhas.

Este agrupamento de comunidades inclui todas as comunidades biológicas associadas com contorno da costa e ambientes ribeirinhos, incluindo estuários e zonas marinhas e contornos das costas fluviais e lacustres. Estão incluídos as costas rochosas, praias, bancos de vegetação, vegetação aquática e estruturas artificiais feitas pelo homem. Estes ambientes são freqüentemente afetados pelo óleo e há numerosos estudos dos efeitos de óleo nestes ambientes (HUGUENIN *et al.*, 1996). Já foram estudados alguns eventos durante anos, como por exemplo, cita-se o acidente que aconteceu em 1967 em Torrey Canyon, nos Estados Unidos da América (HAWKINS e SOUTHWARD, 1992). GANNING *et al.* (1984) estudaram os efeitos, a recuperação e a restauração de ecossistemas do contorno da costa (marinho) e concluíram que era difícil generalizar o efeito de um acidente com óleo nestes ambientes devido a uma gama de fatores ambientais que controlam as propriedades físico-químicas do óleo e o comportamento das comunidades adjacentes.

#### 2.2.1.5 Ecossistemas Bênticos

Ecossistemas bênticos incluem ambientes subaquáticos não descritos até o

momento (p. ex. lagos e a vegetação do fundo do rio). Para a maioria destes ecossistemas, acidentes com óleo são raros, entretanto, quando ocorrem, o óleo pode ficar aderido aos sedimentos causando grandes danos no ecossistema (MICHEL e GALT, 1995, MICHEL *et al.*, 1995; BOEHM *et al.*, 1998).

O petróleo pode contaminar ambientes bênticos através da deposição do óleo nos sedimentos, principalmente areia e lama. Contaminação nos sedimentos ocorreu como resultado de acidentes na Florida e Alasca (EUA), Inglaterra, França entre outras regiões (SANDERS *et al.*, 1980; HUGUENIN *et al.*, 1996). O dano na vegetação é maior se a contaminação ocorrer em sedimentos do tipo lama quando comparados com o rochoso ou arenoso (HUGUENIN *et al.*, 1996).

#### 2.2.1.6 Ecossistemas Terrestres

Nessa categoria inclui todos os ecossistemas terrestres, com ênfase nos tipos mais sensíveis que incluem tundra seca, taiga, campos temperados e florestas tropicais. Devido a extensiva retirada de petróleo das áreas do ártico e subártico, essas áreas têm sido grandemente estudadas (McCOWN e SIMPSON, 1973). De um modo geral esses ecossistemas são sensíveis aos efeitos químicos e físicos do óleo (LINKINS *et al.*, 1984) e foi observado a presença de óleo no solo do Alasca, 15 anos após o acidente (COLLINS *et al.*, 1993). Em geral, impactos de óleo nos ecossistemas terrestres são uma função de quatro fatores (HUGUENIN *et al.*, 1996):

1- Profundidade de penetração. A penetração do óleo nos solos é função de sua permeabilidade ao contaminante e, se ocorrer uma alta penetrabilidade, reduzirá a resistência do ambiente e haverá aumento do efeito tóxico.

2- Alteração da temperatura. Óleo pode alterar a temperatura do solo especialmente nos solos das regiões do ártico e tropical. Em solos tropicais o óleo aumenta a temperatura resultando num déficit hídrico e redução no crescimento das plantas.

3- Capacidade de retenção de água - Um dos efeitos mais importantes de óleo nos solos é a redução na capacidade de retenção de água tornando o solo hidrofóbico e hidrorepelente (ROY *et al.*, 2003).

4- Condições Anaeróbias – solos com hidrocarbonetos podem ter um aumento na demanda por oxigênio o que conduz a condições de anaerobiose. A degradação microbiana é extremamente lenta em condições de anaerobiose conduzindo a persistência do óleo nos solos.

### 2.2.2 Plantas

O petróleo contém componentes que são tóxicos às plantas e aos animais (SIEMIATYCKI *et al.*, 1987). Constituem o petróleo, alcanos (p. ex. hexano), cicloalcanos (p. ex. ciclohexano) e compostos aromáticos (possuem na sua estrutura anéis de benzeno). Além desses compostos orgânicos, o petróleo pode possuir pequenas quantidades de alcenos, ácidos náfênicos, enxofre, nitrogênio, oxigênio e vanádio (BAKER, 1970). A toxicidade do petróleo pode ser devido ao contato direto das plantas com o contaminante ou, indireto, devido a presença do contaminante no solo, bem como, alterações no solo resultantes da presença do contaminante .

O efeito direto do petróleo ocorre primeiramente nas folhas das plantas e na superfície do solo. Estudos sobre a toxicidade dos hidrocarbonetos do petróleo sobre a vegetação ainda são pouco freqüentes. O petróleo ao cobrir as folhas gera um estresse de temperatura devido o bloqueio na transpiração (PEZESHKI e DeLAUNE, 1993). A fotossíntese também é reduzida devido à restrição na entrada de CO<sub>2</sub> (PEZESHKI e DeLAUNE, 1993; WEBB, 1994; PEZESHKI *et al.*, 1995).

A redução na transpiração e fotossíntese se devem ao bloqueio físico dos estômatos pelo petróleo e da raiz (PEZESHKI e DeLAUNE, 1993) o que resultar na morte da planta ou pode ser seguida de uma rebrota (PEZESHKI e DeLAUNE, 1993; WEBB, 1994; MARANHO, 2004). Além disto, o bloqueio dos estômatos reduz a difusão do oxigênio até as raízes gerando um aumento do estresse anaeróbico, o que pode limitar o crescimento de muitas espécies (MENDELSSOHN e MCKEE, 1988; PEZESHKI *et al.*, 1989). O petróleo aderido à superfície das folhas têm efeito direto na fisiologia das plantas. Em *Spartina alterniflora* observou-se redução na condutância estomática e não foi detectada atividade fotossintética sugerindo quebra do aparato fotossintético das folhas. Este efeito na estrutura da folha e/ou da clorofila pode ser produto do bloqueio dos estômatos o que reduz a transpiração e aumenta a temperatura foliar (PEZESHKI *et al.*, 1995).

O efeito do petróleo nas folhas é frequentemente drástico podendo gerar estômatos anormais e impossibilidade de regeneração das plantas (GILL *et al.*, 1982), entretanto, algumas espécies podem se recuperar a médio prazo. Por exemplo, em *Spartina alterniflora* ocorreu morte rápida de todas as folhas que entraram em contato direto com o óleo (PEZESHKI *et al.*, 1995). Duas semanas

após o acidente, folhas novas começaram a ser produzidas e apresentavam trocas gasosas semelhantes às plantas de áreas não contaminadas. Esses resultados foram semelhantes aos observados para esta mesma espécie por outros pesquisadores (DeLAUNE *et al.*, 1979; SMITH *et al.*, 1984; PEZESHKI e DeLAUNE, 1993).

O impacto do petróleo na vegetação varia de acordo com o tipo de petróleo. Por exemplo, petróleo oriundo da Arábia, Líbia e México possuem pouco efeito em *Spartina alterniflora* (PEZESHKI *et al.*, 1995). Por outro lado, o óleo do tipo leve aparentemente penetra nas plantas impedindo a regeneração das folhas e ápices (WEBB, 1994; PEZESHKI *et al.*, 1995; 1997). Estudos realizados por GILFILLAN *et al.* (1989) em plantas tolerantes ao sal mostraram que os hidrocarbonetos do petróleo podem danificar as membranas das células das raízes afetando a habilidade das plantas em tolerar a salinidade.

A toxicidade do petróleo parece ser influenciada pela textura do solo (arenoso, argiloso ou siltoso) e a quantidade de matéria orgânica (MO) disponível sendo que ambos aspectos podem estar relacionados com a extensão do dano do contaminante na vegetação bem como com a capacidade de regeneração das plantas (LIN e MENDELSSOHN, 1996; APITZ e MYETEYS-SCHULTE, 1996). A MO pode adsorver os compostos tóxicos do contaminante e, desse modo, reduzir sua biodisponibilidade. LIN e MENDELSSOHN (1996) encontraram altas concentrações do óleo associado à MO e, no mesmo trabalho, observaram que a concentração de óleo foi de 279 vezes maior no solo com 42% de matéria orgânica quando comparado com um solo com a mesma composição mineral, mas sem matéria orgânica. Além disso, alguns estudos têm indicado que o tamanho da fração mineral influencia as taxas de degradação. Em solos argilosos, a degradação é lenta provavelmente devido à adsorção de compostos do petróleo (APITZ e MYETEYS-SCHULTE, 1996).

A estação do ano influencia em como a vegetação responde à presença do petróleo (BAKER, 1971; GETTER *et al.*, 1984; WEBB, 1994). RANWELL (1968) observou que durante o período de senescência, não houve mortalidade significativa das plantas na vegetação litorânea, o que sugere que as plantas são mais sensíveis ao óleo durante seu período de crescimento. ALEXANDER e WEBB (1984) mostraram que a aplicação de petróleo no solo com *Spartina alterniflora* causou uma

grande redução da biomassa nas plantas no mês de maio (estação de crescimento), entretanto não foi observada grande redução no mês de novembro (final da estação de crescimento) e o efeito adverso do óleo nesta planta mostrou-se significativo durante a primavera (WEBB, 1994). LIN (1996) informou que *Spartina alterniflora* e *Sagittaria lancifolia* reduziram significativamente a fotossíntese, biomassa e regeneração no mês de junho, quando comparados com o final de outubro. Durante a estação de crescimento, as plantas estão ativas e, deste modo, qualquer interrupção dos processos fisiológicos básicos e/ou danos nos tecidos vegetais podem gerar uma redução no crescimento e baixa produção de biomassa (TAIZ e ZEIGER, 1998).

As plantas podem ser divididas em dois grandes grupos em relação ao comportamento diante de um contaminante: **espécies sensíveis** - com sensibilidade variada aos efeitos da poluição, podendo até morrer; e **espécies tolerantes** que se mantêm viáveis no ambiente nativo (MALALLAH *et al.* 1996). LIN e MENDELSSOHN (1996) informaram que *Cyperus odoratus* e *Ammania teres* não sobrevivem em solos contaminados com petróleo, *Eleocharis quadrangulata* apenas persiste e *Sagittaria lancifolia* mostrou ser resistente a altas doses de óleo formando comunidades mono-específicas. O efeito do óleo no ecossistema foi estudado por BURK (1977) num pântano da Califórnia o qual informou que a presença do óleo eliminou 18 espécies, reduziu a abundância de 14 e aumentou a abundância relativa de 23 espécies. As mudanças na composição de uma comunidade podem também tornar-se evidentes após um derramamento do óleo e essas alterações têm sido atribuídas às variações na sensibilidade das espécies ao contaminante e ao distúrbio físico associado aos processos de limpeza do solo (MENDELSSOHN *et al.*, 1990; LIN e MENDELSSOHN, 1996). PROFFIT (1998) resumiu os principais efeitos do solo contaminado com petróleo no pântano de diversas regiões.

Em adição às variações interespecíficas de respostas das plantas ao óleo, há também diferenças intraespecíficas. HESTER *et al.* (2000) investigaram possíveis variações em *Spartina patens* em 10 populações da costa do Golfo e observou variações na taxa fotossintética, rebrota e algumas variáveis de crescimento. Três meses após a adição do óleo, alguns ecotipos de *Spartina patens* apresentaram uma alta taxa fotossintética, ao passo que, outros tiveram redução de 30 a 60% nas taxas fotossintéticas. Estes resultados abrem uma nova linha para pesquisas

visando identificar ecotipos tolerantes ao óleo que possam ser utilizados na restauração das áreas impactadas bem como estudos morfo-fisiológicos para compreender os mecanismos envolvidos na tolerância dessas espécies ao óleo.

Produtos do refino do petróleo têm efeito diferente quando comparados com o óleo cru e, geralmente, conduzem à morte da planta (PEZESHKI *et al.*, 1995). Solos contaminados com produtos do refino do petróleo perdem sua atividade biológica e podem não se recuperar por até 10 anos (RACINE, 1993; WYSZKOWSKA *et al.*, 2001).

A presença de hidrocarbonetos do petróleo no solo constitui um fator negativo ao crescimento e desenvolvimento das plantas, resultando em menor crescimento e redução de biomassa (UDO e FAYEMI 1975; CHAÎNEAU *et al.*, 1997; LI *et al.*, 1997, SALANITRO *et al.*, 1997; SUOMINEN *et al.*, 2000; MERKL *et al.*, 2004; MERKL *et al.*, 2005a). A inibição no crescimento das plantas pode ser causada pela absorção de pequenas moléculas tóxicas do petróleo (BOSSERT e BARTHA, 1985) que alteram a integridade e a permeabilidade das membranas (BAKER, 1970; REIS, 1996;) provavelmente devido a um aumento na atividade da desidrogenase alcoólica, que atua sobre o acetaldeído, produzindo etanol (PENA-CASTRO *et al.*, 2006) o qual pode gerar a morte celular (ALKIO *et al.*, 2005) e/ou estresse hídrico (TAIZ e ZEIGER, 1998).

Alguns pesquisadores têm observado alterações na arquitetura das raízes de plantas crescendo em solo contaminado (MALALLAH *et al.*, 1996; ADAN e DUNCAN, 2003). Grande parte dos estudos do efeito do petróleo nas raízes limitam a avaliar sua biomassa (XU e JOHNSON, 1995; HOU *et al.*, 2001). MERKL *et al.* (2005b) descreveram o efeito do óleo cru no comprimento e diâmetro de raízes de algumas gramíneas. KECHAVARZI *et al.* (2006) analisaram a distribuição espacial das raízes de *Lolium perenne* nas camadas verticais de solo contaminado com óleo diesel e solo não contaminado e observaram que as raízes crescem no solo contaminado visando alcançar o solo não contaminado.

Além disto, o petróleo altera as propriedades do solo tornando-o hidrofóbico o que pode resultar na redução na disponibilidade de água e nutrientes (RANWELL, 1968; COWELL, 1969; BAKER, 1970; De JONG, 1980; BOSSERT e BARTHA, 1985; MARTINEZ e LÓPEZ, 2001). A hidrofobicidade dos solos contaminados com petróleo é amplamente aceita (MORLEY *et al.*, 2005) o qual pode gerar um estresse

hídrico (LI *et al.*, 1997) e de oxigênio (RENTZ *et al.*, 2003) nas plantas. Segundo MARANHÃO (2004), a presença de petróleo no solo alterou a forma dos elementos condutores do xilema de *Podocarpus lambertii* o que, provavelmente, se deve a um estresse hídrico. Solos com hidrocarbonetos podem desenvolver repelência a água por décadas desde que não haja intervenção do homem (ROY *et al.*, 2003), entretanto, se após o acidente ocorrer rápida intervenção (p.ex. com cultivo de plantas, fertilização) pode-se prevenir o desenvolvimento da repelência em algumas áreas (TOOGOOD, 1977). Segundo MORLEY *et al.* (2005), compostos orgânicos polares com alto peso molecular são os prováveis responsáveis pela repelência da água nos solos contaminados com hidrocarbonetos. ROY *et al.* (2003) afirmaram que a repelência dos solos contaminados com hidrocarbonetos é um fenômeno essencialmente superficial que ocorre no horizonte A, a uma profundidade de até 10 cm.

Alguns pesquisadores têm relatado que os hidrocarbonetos do petróleo podem estimular o crescimento das plantas (MERKL *et al.*, 2004). Este efeito positivo no crescimento pode ser devido à resposta da planta ao estresse do solo sintetizando substâncias reguladoras do crescimento (BAKER, 1970) com conseqüente aumento na divisão celular (BAMIDELE e AGBOGIDI, 2000). Entretanto, alguns pesquisadores têm observado efeito inverso, ou seja, inibição da divisão celular (MERKL *et al.*, 2005b; ACHUBA, 2006; BARDELI-DA-SILVA, 2006 )

A ecotoxicidade do petróleo normalmente têm sido avaliada em relação a germinação de sementes (UDO e FAYEMI, 1975; ADAM e DUNCAN, 2003) que, de um modo geral, é inibida no solo contaminado com hidrocarbonetos do petróleo (BOSSERT e BARTHA, 1985; SALANITRO *et al.* 1997; GALLEGO MARTINEZ *et al.*, 2000). A germinação das sementes pode ser inibida pelo efeito tóxico do petróleo ou por condições desfavoráveis do solo (MERKL *et al.*, 2004). Os hidrocarbonetos do petróleo podem entrar na semente e alterar as reações metabólicas e/ou matar o embrião (BAKER, 1970; CHAÎNEAU *et al.*, 1997). Uma das reações metabólicas afetadas pelo petróleo são aquelas relacionadas com a atividade de assimilação do amido realizada pelas enzimas amilase e amido fosforilase que são inibidas pelo contaminante (ACHUBA, 2006).

A redução dos teores de pigmentos fotossintéticos têm sido utilizada como um indicador da poluição ambiental (AGRAWAL, 1992). Mudanças no conteúdo de

pigmentos fotossintéticos, carotenóides e proteínas têm sido observadas em plantas em condições de estresse (AGRAWAL, 1992; SIEFERMANN-HARMS, 1987). BUJAJIDAR *et al.* (1997) relataram o efeito inibitório da clorofilina produzido pelo benzopireno. MALALLAH *et al.* (1998) estudaram o efeito do petróleo em quatro espécies e observaram que em *Senecio glaucus* e *Sonchus oleraceus* ocorreram redução no conteúdo de pigmentos fotossintéticos. Em *Picris babylonica* ocorreu aumento significativo nos teores de pigmentos ao passo que não foi observado alterações em *Launaea mucronata*. Segundo os mesmos autores, o teor de clorofila a foi o que apresentou mudanças significativas nas plantas estudadas. PEZESHKI *et al.* (2001) observaram redução na atividade fotossintética de *Spartina patens* em solo com hidrocarbonetos. A redução dos pigmentos fotossintéticos também foi observada em *Tradescantia* em solo contaminado com óleo diesel (GREEN *et al.*, 1996).



### 2.3 BIORREMEDIAÇÃO E FITORREMEDIAÇÃO

Biorremediação pode ser definido como o uso de organismos vivos para remover poluentes ambientais do solo, água e ar (PANDEY *et al.*, 2000; COLLIN, 2001). Compostos orgânicos são metabolizados em condições aeróbicas ou anaeróbicas através de processos bioquímicos dos microorganismos. A biorremediação dos contaminantes pode ser acompanhada por dois métodos, bioaugmentação e/ou bioestimulação. O processo de bioaugmentação se refere, no caso dos solos contaminados com hidrocarbonetos do petróleo, à introdução de microorganismos para degradar vários hidrocarbonetos do petróleo (ANDERSON e GUTHRIE, 1993). Os microorganismos podem ser derivados do solo contaminado ou podem ser obtidos a partir de um estoque de microorganismos previamente selecionados para a degradação. O processo de bioestimulação constitui na prática de introduzir nutrientes orgânicos e inorgânicos no solo contaminado de modo a aumentar a população de microorganismos (SARKAR *et al.*, 2005). Durante a biorremediação, os microorganismos degradam totalmente os hidrocarbonetos em CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O (SPRIGGS *et al.*, 2005).

As plantas podem contribuir para o processo de descontaminação dos solos e este processo é denominado de Fitorremediação (CUNNINGHAM *et al.*, 1996) e constitui uma tecnologia para limpeza ambiental (RASKIN, 1994; SALT *et al.*, 1995) que pode ser eficiente na descontaminação de solos contaminados com compostos orgânicos (QUI *et al.*, 1994; SCHWAB e BANKS, 1994; WATKINS *et al.*, 1994; CUNNINGHAM *et al.*, 1996). Esta tecnologia usa os processos metabólicos que naturalmente estão acontecendo dentro das plantas e nos microorganismos da rizosfera para degradar e isolar o poluente orgânico e inorgânico. Solos com plantas aumentaram a degradação de pentaclorofenol, pireno, antraceno, hidrocarbonetos aromáticos do petróleo (PAH), hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH), entre outros compostos orgânicos (APRILL e SIMS, 1990; SCHNOOR *et al.*, 1995; REILLEY *et al.*, 1996; LISTE e ALEXANDER, 2000; OLSON *et al.*, 2003; SPRIGGS *et al.*, 2005). A presença de raízes aumentou a população de microorganismos, melhorou a estrutura física do solo e aumentou a degradação dos hidrocarbonetos (TISCHER e HÜBNER, 2002). Apesar de atualmente ser amplamente utilizado, o processo de fitorremediação de contaminantes orgânicos é um fenômeno no qual o mecanismo é

pouco conhecido. Para explorar totalmente esta tecnologia é necessário o entendimento da dinâmica do complexo planta-rizosfera onde ocorre a redução de vários compostos orgânicos. A presença de vegetação em solos contaminados pode aumentar a remediação devido ao crescimento das raízes e ao aumento da atividade microbiana associada à rizosfera (CUNNINGHAM *et al.*, 1996).

Os mecanismos envolvidos na fitorremediação são (CUNNINGHAM *et al.*, 1996; PILON-SMITS, 2005) (Figura 2.1):

**Fitodegradação-** também conhecido como fitotransformação. Contaminantes são absorvidos pelas plantas que, através de seus processos metabólicos quebram as moléculas do contaminante em produtos menos tóxicos.

**Fitoextração-** também conhecido como fitoacumulação onde os contaminantes são absorvidos pelas plantas e estocados no caule e folhas.

**Fitoestabilização-** Os contaminantes são desativados e impedidos de retornarem ao solo ou serem absorvidos ou adsorvidos.

**Rizodegradação-** As raízes aumentam a atividade dos microorganismos na rizosfera e os microorganismos quebram o contaminante.

**Fitovolatilização -** Os contaminantes são liberados na atmosfera após absorção pelas raízes mas eles não sofrem nenhuma alteração química.

**Fitoestabilização-** Os contaminantes são estabilizados no solo por meio de substâncias liberadas pelas plantas de tal modo que os contaminantes perdem a capacidade de se mover no solo, sendo absorvidos ou adsorvidos.

A fitorremediação tem se tornado popular nas últimas décadas devido ao seu baixo custo. Atualmente gasta-se de 25 a 50 bilhões de dólares por ano para descontaminação ambiental em todo o mundo (GLASS, 2000; TSAO, 2003). A fitorremediação acaba sendo até 10x mais barata que os processos de remediação tradicionais (GLASS, 2000; PILON-SMITS, 2005). Além disto, a fitorremediação promove uma “limpeza verde”, ou seja, o uso de plantas para limpar áreas o que constitui uma alternativa aos processos químicos e de escavação (CUNNINGHAM *et al.*, 1996).

Apesar das muitas vantagens da fitorremediação, há algumas limitações a esse processo. As propriedades físicas e químicas do solo, o nível de toxidez e as condições climáticas devem permitir o crescimento da planta fitorremediadora (TRAPP e KARLSON, 2001). O processo de fitorremediação está limitado à

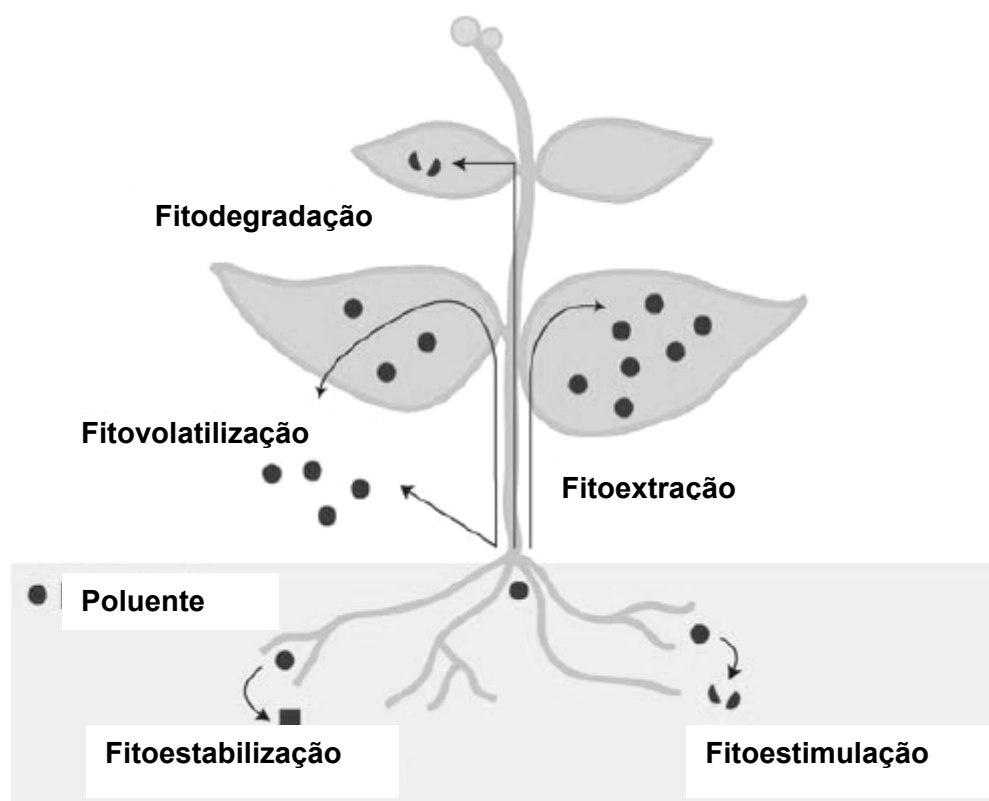


FIGURA 2.1 - POSSÍVEIS ROTAS DE UM POLUENTE DURANTE O PROCESSO DE FITORREMEDIAÇÃO. O POLUENTE PODE SER ESTABILIZADO OU DEGRADADO NA RIZOSFERA, SEQÜESTRADO OU DEGRADADO DENTRO DA PLANTA OU VOLATILIZADO (PILON-SMITS, 2005).

profundidade das raízes, uma vez que, para que haja a limpeza, há necessidade da planta “alcançar” o poluente. Para as plantas herbáceas, a profundidade da raiz é geralmente 50 cm e para as árvores é de 3 m (NEGRI *et al*, 2003). Dependendo do processo biológico envolvido, a fitorremediação pode ser mais lenta que os métodos de remediação convencionais (p. ex. escavação, incineração, ou sistemas de bombas e tratamentos) (PIVETZ, 2001). A limpeza de um solo utilizando-se a fitorremediação pode durar anos o que limita sua aplicação (NEWMAN e REYNOLDS, 2004). Segundo TRAPP e KARLSON (2001), as vantagens da fitorremediação são: (1) boa imagem e alta aceitação pública; (2) baixo custo; (3) realizada na área (*in situ*); (4) manutenção do solo e estímulo à vida dos organismos do solo; (5) pode ser combinada a outros métodos de descontaminação e (6) é um processo guiado pela luz solar. Por outro lado, as principais desvantagens da fitorremediação são: (1) pouco conhecido e, deste modo, pouca experiência prática;

(2) pouco estimulada pelos órgãos ambientais; (3) o contaminante pode ser fitotóxico e/ou ecotóxico; (4) nem todos contaminantes orgânicos podem ser fitorremediados e (5) metabólitos secundários podem, eventualmente, constituir um problema ecológico.

Outro fator que limita a fitorremediação está relacionado à biodisponibilidade dos poluentes (FLECHAS e LATADY, 2003). Segundo ALEXANDER (1995) a disponibilidade de compostos orgânicos para os microorganismos do solo diminui com o tempo; compostos orgânicos recém adicionados no solo estão disponíveis aos microorganismos; compostos orgânicos incubados em solo estéril reduziram sua disponibilidade após adição de microorganismos; compostos orgânicos “velhos” são mais resistentes à degradação microbiana tornando-se persistentes no solo e, a adsorção e desorção de compostos orgânicos frequentemente requerem um grande período para atingir o equilíbrio. Estudos conduzidos com pesticidas orgânicos demonstraram que compostos seqüestrados pela fração orgânica do solo e moléculas que difundem nos microporos do solo não estão disponíveis aos microorganismos (ATLAS e BARTHA, 1993). Deste modo, a presença de concentrações tóxicas de contaminantes orgânicos podem não estar biodisponíveis (ALEXANDER, 1995; LOEHR e WEBSTER, 1996) o que torna a biodegradação muito lenta. Entretanto a presença de uma vegetação nesses solos aumenta a degradação dos hidrocarbonetos (CUNNINGHAM *et al.*, 1996).

A biodisponibilidade é dependente das propriedades químicas do poluente, das propriedades do solo, das condições ambientais e da atividade biológica (PIVETZ, 2001; TRAPP e KARLSON, 2001). A concentração de matéria orgânica (MO) no solo está diretamente correlacionada com a capacidade de troca catiônica e com a capacidade dos poluentes orgânicos hidrofóbicos ligarem-se a MO (BURKEN, 2003). Duas propriedades químicas importantes de um poluente que afeta seu movimento no solo são a hidrofobicidade e a volatilidade (ROY *et al.*, 2003; PILON-SMITS, 2005). Moléculas extremamente hidrofóbicas como bifenil policlorado, hidrocarbonetos aromáticos de petróleo e outros hidrocarbonetos podem estar fortemente ligadas a matéria orgânica do solo tornando-os indisponíveis à fitorremediação (poluentes calcitrantes ou persistentes) (PILON-SMITS, 2005). Já a volatilidade indica que a água, ar e compostos orgânicos solúveis podem se mover

passivamente e serem rapidamente volatilizados através dos estômatos sem que haja qualquer modificação química (BROMILOW e CHAMBERLAIN, 1995).

Qualquer processo que afeta a biodisponibilidade de um contaminante pode otimizar a eficiência da fitorremediação. Por exemplo, a adição de matéria orgânica reduz a biodisponibilidade de compostos orgânicos ao passo que a adição de surfactantes pode aumentar a biodisponibilidade. No caso de compostos orgânicos protonados, a alteração do pH do solo pode afetar sua solubilidade e, conseqüentemente, sua habilidade de se mover dentro da plantas (PILON-SMITS, 2005).

As várias estratégias envolvidas na fitorremediação não são exclusivas e podem ocorrer simultaneamente (HANSEN *et al.*, 1998). Esses processos podem ocorrer naturalmente em áreas contaminadas com compostos orgânicos, denominando-se atenuação natural a habilidade das plantas limparem áreas contaminadas sem que haja a interferência do homem (PILON-SMITS, 2005). Uma extensa lista de espécies utilizadas na descontaminação de compostos orgânicos foram listados por NEWMAN e REUNOLDS (2004) e McCUTCHEON e SCHNOOR (2003), entretanto pouco se conhece sobre espécies da flora brasileira capazes de fitoremediar solos contaminados com compostos orgânicos.

Os diferentes processos envolvidos na fitorremediação envolvem as características morfo-fisiológicas das espécies e diferem de espécie para espécie. Muitas tentativas têm sido feitas em determinar alguns atributos funcionais destas plantas. De um modo geral, as leguminosas são abundantes nos solos contaminados com petróleo da Europa e isto se deve, provavelmente, a sua habilidade de fixar nitrogênio (GUDIN e SYRATT, 1975). Por outro lado, a habilidade de fungos micorrízicos colonizarem as raízes das plantas decresce significativamente num solo contaminado com petróleo (CABELLO, 1997; LEYVAL e BINET 1998; SUOMINEN *et al.* 2000). De um modo geral, as propriedades da planta que favorecem a fitorremediação são: rápido crescimento, rápida produção de biomassa; alta competitividade, tolerância à poluição, alta capacidade de absorção de nutrientes, alta taxa de translocação e grande acúmulo de substâncias de reserva (CUNNINGHAM *et al.*, 1996; PIVETZ, 2001; TRAPP e KARLSON, 2001; SINGH e JAIN, 2003). Um meio de identificar potenciais espécies fitorremediadoras é a observação das plantas que colonizam áreas contaminadas (OLSON e FLETCHER,

2000). Estudos recentes realizados nos Estados Unidos e Canadá identificaram duas espécies tolerantes aos hidrocarbonetos: *Helianthus annuus* (OLSON e FLETCHER 2000) e *Amelanchier alnifolia* (MACKEY e DePUIT, 1985). Estes trabalhos mostram que ambas as espécies são tolerantes aos hidrocarbonetos do solo e aos distúrbios associados à contaminação tais como a salinização, mistura dos horizontes, compactação e hidrofobicidade do solo (ROWELL e FLORENCE, 1993). Uma vez que uma espécie possui tolerância ao contaminante, há necessidade de testar sua habilidade em aumentar a degradação do petróleo. De um modo geral a fitodegradação é maior nas plantas que possuem: (1) um sistema de raízes denso e grande área superficial; (2) alta produção de enzimas utilizadas na degradação e (3) grande produção de exudados (BAKER, 1979; OLSON *et al.*, 2003; PILON-SMITS, 2005).

Como atualmente acredita-se que grande parte dos hidrocarbonetos são degradados na rizosfera, plantas com um sistema de raízes denso e ramificado são mais adequadas para a fitorremediação devido ao aumento da área da rizosfera com conseqüente aumento dos locais para atividade metabólica dos microorganismos (APRILL e SIMS, 1990). As gramíneas têm sido utilizadas como plantas efetivas na fitorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos (APRIL e SIMS, 1990; SCHWAB e BANKS, 1994) devido apresentarem um sistema fasciculado resultando em raízes de grande comprimento e grande área superficial (WHITE JR. *et al.*, 2006) para colonização de microorganismos (ANDERSON *et al.*, 1993) o que possibilita aumento na interação dos microorganismos da rizosfera com o contaminante (SCHWAB e BANKS, 1994). Em adição, as raízes das árvores podem não ser tão ramificadas quanto a das gramíneas, entretanto podem crescer mais profundamente no solo (KIRK *et al.*, 2002). Neste aspecto, as leguminosas podem ser particularmente interessantes devido à simbiose com *Rhizobium* spp. o qual absorve nitrogênio atmosférico e fixa em um composto orgânico que, em última análise, pode voltar ao solo na forma de exsudados (DAVIS *et al.*, 1996; CUNNINGHAM *et al.*, 1996). Esta característica das leguminosas é interessante em solos contaminados com hidrocarbonetos tornando-as independentes do nitrogênio do solo. YATEEM *et al.* (1999) observaram um grande incremento de bactérias na rizosfera de leguminosas crescendo em solo contaminado com hidrocarbonetos, entretanto,

SUOMINEN *et al.* (2000) informaram que os hidrocarbonetos do petróleo afetaram negativamente a nodulação em *Galega orientalis*.

Um outro grupo de plantas que pode aumentar o metabolismo aeróbico do petróleo envolve plantas que aumentam o conteúdo de oxigênio no solo. Oxigênio difunde das raízes para a rizosfera (TEAL e KANWISHER, 1966) e plantas com raízes bem desenvolvidas favorecem a liberação de oxigênio no solo (LUXMOORE *et al.*, 1970; SMITH, 1990).

Plantas que apresentam altas taxas de transpiração também podem oxigenar os solos, particularmente solos inundados. DACEY e HOWES (1984) mostraram uma redução na quantidade de água nos solos com *Spartina alterniflora* como resultado da absorção de água e transpiração. A redução na quantidade de água no solo é acompanhada pelo influxo de ar no solo. Altas taxas de transpiração ocorrem em *Populus* spp. que é utilizado na descontaminação de solos contaminados com compostos orgânicos e inorgânicos devido crescerem rapidamente e apresentarem raízes densas (SCHNOOR *et al.*, 1995). Plantas que apresentam altas taxas de absorção de água podem promover a biorremediação (TAYLOR e KLEPPER, 1975). Por outro lado, raízes com grande diâmetro podem contribuir com uma alta taxa diária de absorção de água, entretanto apresentam um crescimento lento (CHANG e CORAPCIOGLU, 1998). Além disto, o crescimento das raízes demanda oxigênio para respiração reduzindo a quantidade de oxigênio para o metabolismo dos microorganismos (BEDFORD *et al.*, 1991).

Poluentes orgânicos podem ser degradados na rizosfera pelas enzimas liberadas pelas raízes ou através da fitoestimulação dos microorganismos. Exemplos de compostos orgânicos degradados na rizosfera por atividade microbiana incluem os hidrocarbonetos aromáticos do petróleo, bifenil policlorado e os hidrocarbonetos totais do petróleo (HUTCHINSON *et al.*, 2003; OLSON *et al.*, 2003). As plantas participam indiretamente deste processo: (1)-fornecendo compostos orgânicos para as atividades fisiológicas dos microorganismos; (2)- libertando substâncias que induzem os genes dos microorganismos relacionados a degradação e (3)- fornecendo substâncias que facilitam a degradação (FLETCHER e HEGDE, 1995; LEIGH *et al.*, 2002; OLSON *et al.*, 2003).

A remediação que ocorre na rizosfera não envolve, provavelmente, a absorção do poluente (NEWMAN e REYNOLDS, 2004). A rizosfera se estende

aproximadamente 1 mm ao redor da raiz. As plantas liberam uma grande variedade de substâncias orgânicas na rizosfera que podem servir como fonte de carbono para fungos heterotróficos e bactérias (BOWEN, 1991). Segundo OLSON *et al.* (2003) até 20% de carbono fixado pode ser libertado das raízes, na forma de açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos, flavonóides, sideróforos e enzimas (CURL e TRUELOVE, 1986; UREN e REISENAUER, 1988, RAO, 1990; JONES e DARRAH, 1995). Este acúmulo de carbono na raiz gera um aumento significativo na população de microorganismos que pode levar a uma maior absorção de nutrientes, água, maior crescimento das raízes (ALEXANDER, 1991; TAIZ e ZEIGER, 1998). Dado a esta íntima relação planta-microorganismo é difícil distinguir até que ponto, a fitorremediação se deve à atividade fisiológica da planta ou dos microorganismos. Segundo PILON-SMITS (2005), a remediação na rizosfera pode ser um processo passivo no qual o poluente é fitoestabilizado e posteriormente é absorvido passivamente pela planta. Segundo a mesma autora, dependendo do tipo de poluente, a remediação na rizosfera pode também ser resultado de um processo ativo mediado pela planta e/ou microorganismo.

O mecanismo da fitorremediação não é totalmente conhecido. Pouco se sabe sobre as interações planta-microorganismo, os processos que ocorrem na rizosfera, absorção, translocação, agentes quelantes envolvidos no transporte e armazenamento. Outro aspecto que precisa ser mais detalhado envolve o movimento dos poluentes no sistema solo-água-planta (PILON-SMITS, 2005). A Figura 2.2 apresenta o mecanismo geral para descontaminação de um composto orgânico dentro da célula. A tolerância das espécies crescendo em solo contaminado com hidrocarbonetos também é pouco conhecida. Segundo PENA-CASTRO *et al.* (2006), raízes de *Cynodon dactylon* em solos contaminados com hidrocarbonetos apresentam um estresse anaeróbico e as células produzem enzimas que sinalizam a transcrição de glicosil transferases. Estas enzimas estão diretamente relacionadas à desintoxicação constituindo uma estratégia dessa espécie para amenizar o estresse.

O seqüestro de um composto orgânico tóxico do solo é desejável para uma menor exposição ao meio ambiente. Raízes de gramíneas acumulam 10g de compostos oriundos do óleo diesel por Kg de matéria seca ao passo que as leguminosas não acumulam quantidades significativas (PALMROTH *et al.*, 2002).



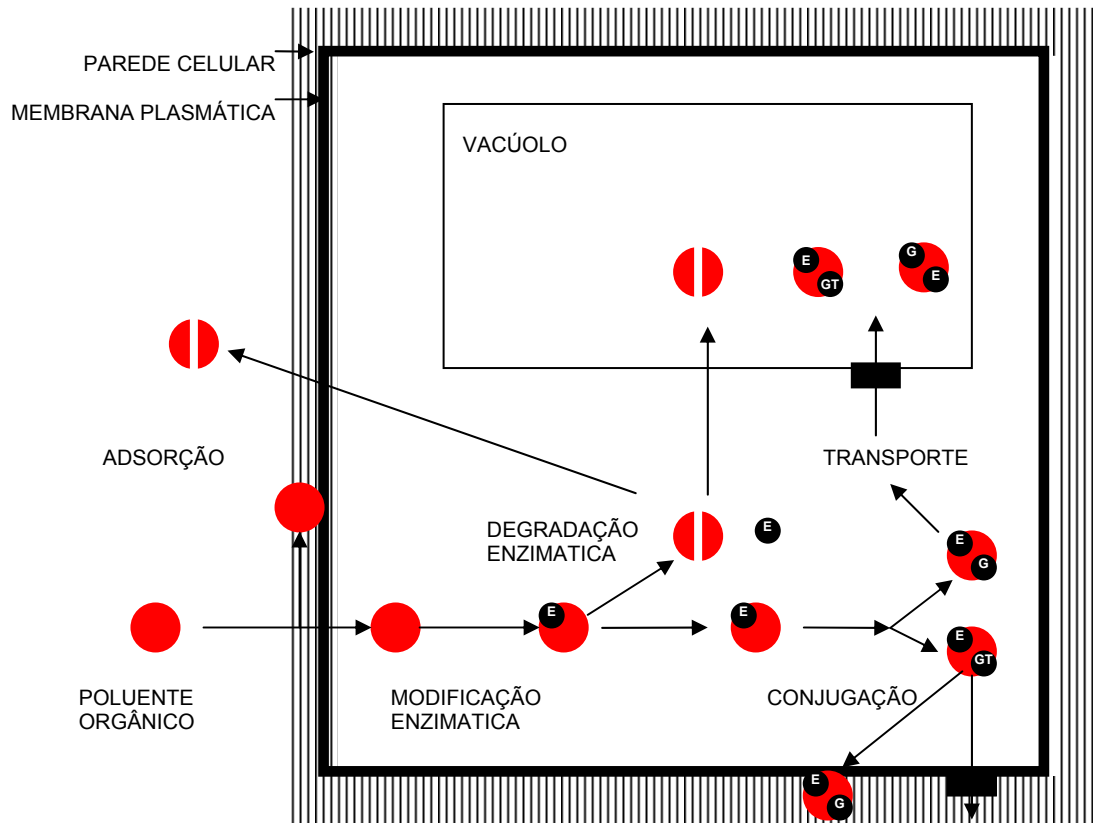


FIGURA 2.2 - MECANISMO DE DESINTOXICAÇÃO DE UM POLUENTE ORGÂNICO DENTRO DA CÉLULA VEGETAL. E= ENZIMA; G= GLICOSE; GT= GLUTATIONA. (ADAPTADO DE PILON-SMITS, 2005).

Espécies arbóreas da família Salicaceae (mais especificamente do gênero *Populus*) possuem a habilidade de remover grande quantidade de contaminantes orgânicos através da absorção pelas raízes e volatilização pelas folhas (CORSEUIL e MORENO, 2000). O movimento dos compostos orgânicos do solo até a parte aérea ocorre através de uma simples difusão (PILON-SMITS, 2005). Para que haja a translocação do poluente até a parte aérea, na raiz, o poluente atravessa passivamente a barreira das estrias de Caspary da endoderme (PILON-SMITS, 2005) e se move até as folhas onde pode ser compartimentalizado em certos tecidos. De um modo geral, os compostos orgânicos podem ser conjugados e alocados para os locais que causam menos danos (Figura 2.2) - vacúolo ou na parede celular (BURKEN, 2003) das células da epiderme ou tricomas (ALKIO *et al.*, 2005). A conjugação com glutatona no citoplasma constitui um importante mecanismo para reduzir a toxicidade de um composto orgânico (PILON-SMITS, 2005). Um conjugado da glutatona-contaminante é transportado ativamente para o vacúolo ou para o apoplasto (MARRS, *et al.*, 1996; WOLF *et al.*, 1996) podendo ser

incorporado a biopolímeros tais como a lignina (SINGH e JAIN, 2003). Outro mecanismo de conjugação está relacionado à ligação do contaminante com a glicose ou um grupo malonil seguido pelo transporte do conjugado para o vacúolo ou apoplasto (COLEMAN *et al.*, 1997). Para que haja a conjugação podem ser necessárias modificações estruturais no composto orgânico. Estas modificações envolvem muitas enzimas entre as quais pode-se mencionar: citocromo monooxigenases, nitroredutases dioxigenases, peroxidases, peroxigenases e carboxilesterases (BURKEN, 2003; SINGH e JAIN, 2003).

Os poluentes orgânicos podem ser degradados através de enzimas que catabolizam estes compostos até compostos inorgânicos (dióxido de carbono, água) ou quebram e/ou modificam o composto em intermediários estáveis que podem ser estocados na célula vegetal (corpos residuais) (McCUTCHEON e SCHNOOR, 2003). As principais enzimas envolvidas nesta alteração são as mono e dioxigenases, peroxidases, peroxigenases, carboxilesterases, lactases, nitrilases, fosfatases e nitroredutases (WOLFE e HOEHAMER, 2003) Segundo BARAC *et al.* (2004), a degradação dos poluentes orgânicos pode ser realizada por microorganismos endofíticos. O metabolismo de herbicidas e pesticidas foram muito estudados nas últimas décadas (MACEK *et al.*, 2000). Nos últimos anos, têm-se estudado o metabolismo poluentes tais como tricloroetano, trinitrotolueno, hidrocarbonetos aromáticos do petróleo, Bifenil policlorado e seus derivados (PCBs) (NICHOLS *et al.*, 1997; BRIGMON *et al.*, 1998; MACKOVÁ *et al.*, 1998; PRADHAN *et al.*, 1998; YATEEM *et al.*, 1999). Estes estudos têm mostrado que muitos compostos são metabolizados mas poucos são totalmente mineralizados. Alguns metabólitos oriundos dos poluentes orgânicos podem ser mais tóxicos que os compostos originais, o que pode tornar as plantas menos atrativas no processo de descontaminação (MACEK *et al.*, 2000)

A presença do petróleo no solo altera a fertilidade dos solos (WYSZKOWSKA *et al.*, 2001; 2002). A baixa fertilidade observada em alguns solos favorece o crescimento de plantas herbáceas (TILMAN 1987; SKOUSEN *et al.*, 1994) particularmente as gramíneas (HOOBS *et al.*, 1988). Independentemente da fertilidade, sítios onde a contaminação é alta, a vegetação é usualmente pouca ou ausente (SUOMINEM *et al.*, 2000). Deste modo, a disponibilidade de nutrientes inorgânicos freqüentemente limita a fitorremediação e a bioestimulação com

suplementação de nutrientes para degradar os hidrocarbonetos do petróleo têm sido tradicionalmente recomendada. De um modo geral, os nutrientes que mais limitam a remediação são o nitrogênio e o fósforo (SARKAR *et al.*, 2005). Embora nem todos os sistemas de remediação respondam à adição de nutrientes, a adição de nitrogênio aumenta a biorremediação em solos contaminados com óleo (GLASER, 1991; RASIAH *et al.*, 1992; CHURCHILL *et al.*, 1995; LIN e MENDELSSOHN, 1998). De um modo geral, o solo e a solução de solo são pobres em nitrogênio, constituindo a deficiência mais freqüente nos diferentes tipos de solo (MARRENCO e LOPES, 2005). Além disso, a dinâmica e o ciclo do nitrogênio pode diferir em solos contaminados com hidrocarbonetos e solos não contaminados (XU *et al.*, 1995) devido aos hidrocarbonetos alterarem algumas propriedades físicas, químicas e biológicas (XU e JOHNSON, 1997). GUDIN e SYRATT (1975) observaram um aumento na degradação de hidrocarbonetos quando adicionado N na forma de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ .

O fósforo, depois do nitrogênio, é o nutriente que mais limita o crescimento das plantas na maioria dos solos (MARRENCO e LOPES, 2005). Grande parte do fósforo está indisponível para as plantas devido a sua adsorção às partículas do solo, precipitação ou transformação em fósforo orgânico ( $\text{P}_{\text{org}}$ ) (RAGHOTOTHAMA, 1999). Na célula, o fósforo permanece como fosfato inorgânico ( $\text{P}_i$ ) ou é esterificado a compostos carbonados (açúcar fosfato) ou em outros compostos importantes no metabolismo energético das células (ATP, GTP) (LEHNINGER *et al.*, 1995). O teor de P em solos contaminados com hidrocarbonetos limita a biodegradação e o crescimento das plantas (ATLAS e BARTHA, 1973) com redução na absorção desse nutriente resultando em plantas deficientes (AMADI *et al.*, 1993)..

O potássio é um macronutriente móvel no solo e sua absorção é altamente seletiva (CHEN e GABELMAN, 2000). Este nutriente participa de processos osmóticos, síntese de proteínas, da abertura e fechamento de estômatos, da permeabilidade da membrana, do controle do pH e da ativação de cerca de 60 sistemas enzimáticos (MALAVOLTA *et al.*, 1997). Suas principais funções estão ligadas a processos vitais, tais como: fotossíntese, translocação e balanço iônico, além de estimular o crescimento das raízes (MARSCHNER, 1995). Como se admite que o solo contaminado com petróleo possa apresentar uma hidrorepelência (ROY *et al.*, 2003), o que pode levar o desenvolvimento de um estresse hídrico, a

suplementação com potássio pode diminuir os danos causados pelo estresse hídrico (DOUGLAS, 1985; EGILLA *et al.*, 2005).

Além disto, vários outros trabalhos têm mostrado que o fornecimento de outros nutrientes favorece a remediação de solos recentemente contaminados (GLASER, 1991; CHURCHILL *et al.*, 1995; RASIAH *et al.*, 1992; GRAHAM *et al.*, 1995). Entretanto, em solos cuja contaminação ocorreu há muito tempo, a remediação não está limitada à disponibilidade de nitrogênio e fósforo (HUTCHINSON *et al.*, 2001). As taxas de mineralização de carbono aumentaram em resposta a adição de nutrientes indicando a importância do suprimento adequado de nutrientes no aumento da decomposição do óleo (RASIAH *et al.*, 1992). GRAHAM *et al.* (1995) conduziu um experimento em laboratório no qual adicionou diferentes nutrientes no solo para aumentar a biodegradação de xilenos, antracenos, fenantrenos e *n*-hexadecanos. Seus resultados indicaram que a aplicação de vários nutrientes otimizou a biodegradação dos contaminantes orgânicos. Além disto, a degradação de cada tipo de hidrocarboneto foi diferente em função do nível de fertilização.

Alguns trabalhos tem observado que as plantas crescendo em solo contaminado acumulam metais pesados (EKUNDAYO *et al.*, 2001). AMADI *et al.* (1993) observaram baixo crescimento em cereais devido à toxicidade de manganês em solos com hidrocarbonetos. O plantio em solos recém contaminados com petróleo torna as raízes vulneráveis e a absorção de metais é aumentada quando comparado com o plantio em solos em estágios mais velhos de contaminação (EKUNDAYO *et al.*, 2001). OVERTON *et al.* (1994) observaram que as plantas respondem diferentemente aos efeitos da contaminação dentro de sua capacidade genética, o que modifica aspectos fisiológicos e morfológicos.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS GERAL

#### 3.1 Experimento em campo

O experimento em campo foi desenvolvido na Refinaria Getúlio Vargas no Município de Araucária, PR, na área de ocorrência do acidente de 2000. As mudas de *Podocarpus lambertii* com X meses e media de altura de Y cm foram adquiridas da Embrapa Florestas de Colombo –Pr.

No campo foram demarcadas três parcelas (Figuras 3.1 e 3.2), com aproximadamente 32 m<sup>2</sup>, sendo uma em solo não contaminado (NC) e duas parcelas em solo contaminado (C1 e C2). Cada parcela foi delimitada por estacas de madeira e cercadas utilizando fita amarela. Em cada parcela foram plantadas, 8 mudas de *Podocarpus lambertii* sendo que as mudas foram distribuídas em linhas no espaçamento de 2x2 m. Segundo CARVALHO *et al.*( 2003), o solo das áreas C1 e NC são classificados como Alissolos ao passo que o solo da área C2 é um gleissolo hidromórfico.

#### 3.2 Experimento em casa de vegetação

Para montagem do experimento em casa de vegetação (Figura 3.3), o solo foi coletado na REPAR nas áreas C2 e C3 para o solo contaminado com petróleo e na área NC1 para o solo não contaminado com petróleo (Figura 3.1). Os solos dessas áreas são do tipo gleissolo hidromórfico (CARVALHO *et al.*, 2003). Os solos foram transferidos para a casa de vegetação localizado no departamento de botânica, onde foram peneirados e homogeneizados. O experimento constou de três tratamentos: C= solo contaminado com petróleo; CF= solo contaminado com petróleo e adubado com nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) e NC= solo não contaminado. Cada tratamento teve oito repetições totalizando 24 indivíduos sendo que cada muda foi plantada em sacos plásticos de 5 Kg de solo. Para o tratamento CF, foi adicionado 200 kg ha<sup>-1</sup> de MAP e 10 kg ha<sup>-1</sup> de K, segundo recomendação da Comissão de Fertilidade do Solo para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina (1995). Em casa saco plástico adicionou-se 57,2 mg de N e 228,8 mg de P tendo sido utilizado o MAP como fonte de N e P. Para suplementação de K utilizou-se o KCl sendo adicionado 31,2 mg por unidade experimental.

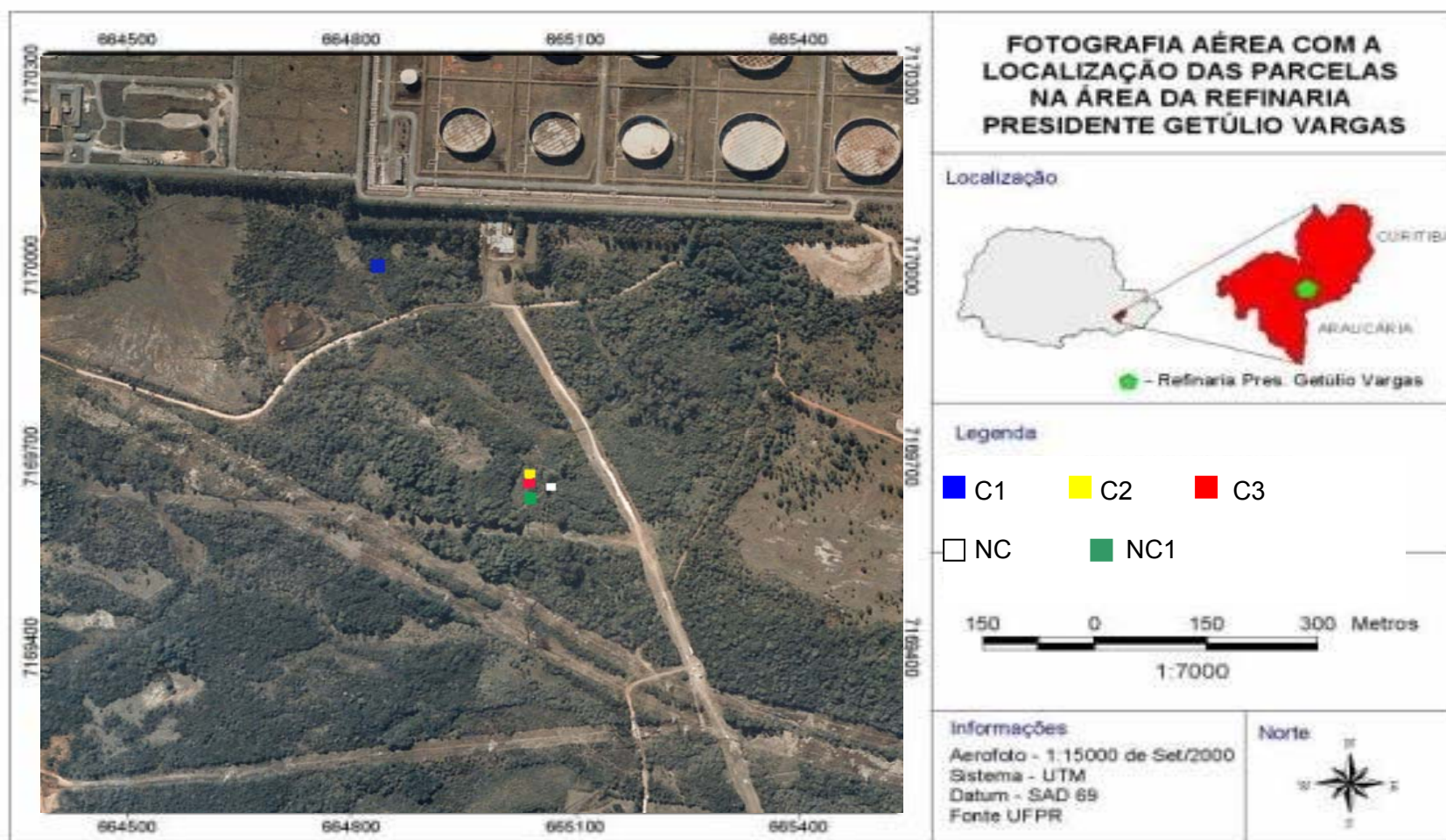


FIGURA 3.1 - VISTA AÉREA DA ÁREA DA REPAR ONDE FORAM INSTALADOS O EXPERIMENTO DE CAMPO E ONDE FOI COLETADO O SOLO CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO PARA O ESPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.



FIGURA 3.2 - EXPERIMENTO EM CAMPO (A)- ÁREA C2; MUDA DE *Podocarpus lambertii* NA ÁREA C1; (B); ÁREA C2 E (D) NA ÁREA NC.



FIGURA 3.3 - (A)- VISTA GERAL DA CASA DE VEGETAÇÃO ONDE FORAM CONDUZIDOS OS EXPERIMENTOS. (B) *Mimosa scabrella* NO SOLO CONTAMINADO (C) *Allophylus edulis* EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (PRIMEIRO PLANO) E NÃO CONTAMINADO.

### 3.3 Caracterização do solo

Para caracterização do solo das parcelas do experimento de campo e do solo dos tratamentos do experimento em casa de vegetação, procedeu-se a coleta de uma amostra do solo de cada parcela/tratamento. Cada amostra do solo é produto de 4 amostragens. As análises química e de rotina do solo foram efetuadas no



Laboratório de Química e Fertilidade do solo e Laboratório de Biogeoquímica e Nutrição de plantas do Departamento de Solos do Setor de Ciências Agrárias da UFPR.

#### 3.4 Crescimento e teor de Clorofila.

O crescimento das mudas foi avaliado através de medidas mensais da altura e diâmetro da base do caule das plantas no campo e na estufa. A medida da altura foi realizada da base do caule até a gema apical do ramo mais desenvolvido e a medida do diâmetro do caule foi realizada na base do caule. As medidas de diâmetro foram feitas com paquímetro da marca Mitutoyo, com 0,02 mm de precisão.

Para extração e quantificação dos pigmentos fotossintéticos foi coletada uma folha adulta de cada um dos oito indivíduos de cada área e experimento. Para *Podocarpus lambertii*, a folha utilizada foi uma folha totalmente expandida do eixo principal. Para *Allophylus edulis* a quantificação foi realizada no folíolo terminal e para *Mimosa scabrella*, a quantificação ocorreu nos folíolos terminais. As folhas foram maceradas em acetona 80%, centrifugadas a 1000 rpm para extração da clorofila (ARNON, 1949). A absorvância dos extrato de pigmentos foi realizada a 415 e 435nm e as equações para quantificação dos pigmentos foram obtidas seguindo o procedimento descrito por ENGEL e POGGIANI (1991).

#### 3.5 Teor de macronutrientes e micronutrientes.

Para a determinação dos teores de nutrientes escolheu-se aleatoriamente seis plantas de cada tratamento que foram agrupadas em três grupos (amostras mistas). Para cada grupo, dois gramas de material foliar de cada planta foram secos a 65° C até peso constante, em estufa com ventilação forçada. Depois esse material foi moído em moinho tipo Wiley e acondicionado em frascos herméticos. Aproximadamente dois gramas de cada amostra mista foram utilizados para determinação do N. O material da amostra foi digerido em bloco digestor com ácido sulfúrico concentrado e uma mistura de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e CuSO<sub>4</sub>, com posterior determinação do N por titulação segundo o processo Kjeldahl (BREMNER, 1996). O restante do material foliar foi incinerado, em cadinho de porcelana, em mufla a 500 °C, em 2 ciclos de 3 horas (JONES e CASE, 1990). A cinza foi solubilizada em 10 mL de HCl 3 mol L<sup>-1</sup> (PERKIN-ELMER, 1973). O extrato assim obtido foi filtrado para

balão volumétrico de 100 ml, estando pronto para leitura. O P foi determinado por colorimetria com vanadato-molibdato de amônio, reação amarela (DA SILVA, 1999); o K foi determinado por emissão; Ca e Mg foram determinados por absorção atômica (DA SILVA, 1999).

### 3.6 Estudo anatômico

Ao término do experimento, amostras do xilema secundário foram retiradas do último anel de crescimento (próximo ao câmbio) na base do caule de 8 indivíduos para cada espécie e tratamento. Cada amostra foi fixada com FAA 70 e estocadas em álcool 70% (JOHANSEN, 1940). As amostras fixadas foram utilizadas para confecção de lâminas das células dissociadas e lâminas permanentes de secções transversais e longitudinais tangenciais.

### 3.7 Estatística

O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos à análise utilizando-se do programa MSTAT-C<sup>®</sup>. A análise dos resultados foi realizada inicialmente as variâncias dos tratamentos foram avaliadas quanto a sua homogeneidade pelo teste de Bartlett. As variáveis cujas variâncias mostraram-se homogêneas tiveram as médias dos tratamentos testadas por meio do teste de F. Quando os resultados revelaram existir diferenças estatisticamente significantes entre médias de tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey no nível de 5% de probabilidade. Para confecção dos gráficos e a determinação das equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) utilizou-se o programa Excel 2003 para Windows XP (Microsoft Corporation).

## 4 REFERÊNCIAS

ACHUBA, F. The effects of sublethal concentrations of crude oil on the growth and metabolism of cowpea (*Vigna unguiculata*) seedlings. **The Environmentalist**, Ontario, v. 26, n.1, p.17-20, 2006.

ADAM, G. AND DUNCAN, H. The effect of diesel fuel on common vetch (*Vicia sativa* L.) plants. **Environ. Geochem. Health**, Dordrecht, v. 25, p.123-130, 2003.

AGRAWALL, S. B. Effect of supplemental UV-B radiation of photosynthetic pigment, protein and glutathione contents in green algae. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 32, n.2, p.137-143, 1992.

ALEXANDER, M., **Introduction to Soil Microbiology**, New York, Krieger Pub. Co., 1991, 467p.

ALEXANDER, M. How toxic are toxic-chemicals in soil? **Environ. Sci. Technol.**, Iowa City, v.29, n.11, p. 2713-2717, 1995.

ALEXANDER, S. K.; WEBB JR, J. W. Effects of Oil on Growth and Decomposition of *Spartina alterniflora*. In: INTERNATIONAL OIL SPILL CONFERENCE. AMERICAN PETROLEUM INSTITUTE. **Proceedings of the 1983**. Washington, 1983. p.529-532.

ALEXANDER, S. K.; WEBB JR., J. W. Seasonal response of *Spartina alterniflora* to oil. In: OIL SPILL CONFERENCE (PREVENTION, BEHAVIOR, CONTROL, CLEANUP. **Proceedings in American Petroleum Institute**. Los Angeles, 1984. p.355-357.

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**, Lancaster, v.56, n.421, p. 2983-2994, 2005.

AMADI, A, DICKSON, A. A.; MAATE, G. O. Remediation of soil Polluted soils: 1. Effect of organic and inorganic nutrient supplements of performance of maize (*Zea may* L.). **Water, Air and soil Pollution**, Ontario, v.66, v.1-2, p.59-76, 1993.

ANDERSON, T.A.; GUTHRIE, E.A.; WALTON, B.T. Bioremediation. **Environ. Sci. Technol.**, Iowa City, v.27, n.13, p.: 2630–2636, 1993.

APITZ, S. E.; MYETEYS-SCHULTE, K. J. Effects of substrate mineralogy on the biodegradability of fuel components. **Environ. Toxicol. Chem.**, Lawrence, v.15, v.11, p. 1883-1893, 1996.

APRILL, W.; SIMS, R. C. Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. **Chemosphere**, Châteleine, v.20, v.1-2, p. 253-265, 1990.

ARNON, D. I. Cooper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Hanover, v. 24, n.1, p.1-15,1949.

ATLAS, R.; BARTHA, R., Stimulated biodegradation of oil slicks using oleophilic fertilizers. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v.7, n.6, p. 538-541, 1973.

ATLAS, R.; BARTHA, R. **Microbial ecology**. 3.ed. New York: The Benjamin Cummings Publ. Co., 1993. p. 383–412.

BACA, B. J.; MICHEL J.; KANA; T. W.; MAYNARD, N. G. Cape Fear River Oil Spill (North Carolina): Determining Oil Quantity from Marsh Surface Area. In: INTERNATIONAL OIL SPILL CONFERENCE. **Proceedings of the 1983**. Washington, 1983. p.419- 422.

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

BAKER, J. M. Growth Stimulation Following Oil Pollution: The Ecological Effects of Oil Pollution on Littoral Communities. In: COWELL, E. B. **The Ecological Effects of Oil Pollution in Littoral Communities**. London: Institute of Petroleum, 1971. p. 44-51.

BAKER, J. M. Responses of Salt Marsh Vegetation to Oil Spills and Refinery Effluents. In: JEFFRIES, R.L.; DAVY, A.J. **Ecological Processes in Coastal Environments**. London: Blackwell Scientific Publications, 1979. p. 529-542.

BAMIDELE, J. F.; AGNODIGI, O. M. Toxic of odidi petroleum oil and its water soluble faction on three aquatic macrophytes. **Nigerian Journal of Science and Environment**, Lagos, v. 2, p. 113–121, 2000.

BARAC, T.; TAGHAVI, S.; BORREMANS, B.; PROVOOST, A.; OEYEN, L. Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble, volatile, organic pollutants. **Nat. Biotechnol.**, New York, v.22, n.5, p.583-588,2004.

BARDELI-DA-SILVA, M.Y., 2006. **Efeitos do solo contaminado com óleo diesel na germinação, crescimento e morfoanatomia de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L.B.Sm. e Downs (Euphorbiaceae)**. Curitiba, 2006. 81f. Tese (Mestrado em Botânica)- Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

BEDFORD, B.L.; BOULDIN, D.R.; BELIVEAU, B.D. Net oxygen and carbondioxide balances in solutions bathing roots of wetland plants. **Journal of Ecology** London, v.79, n.5, p.943-959, 1991.

BENDER, M. E.; SHEARLS, E. A.; MURRAY, L.; HUGGETT, R. J. Ecological Effects of Experimental Oil Spills in Eastern Coastal Plain Estuaries. **Environ. International**, Cumbria, v. 3, n.2, p: 121-133, 1980.

BOEHM, P. D.; PAGE, D. S.; GILFILLAN, E. S.; BENICE, A. E.; BURNS, W. A.; MANKIEWICZ, P. J.; Study of the fates and effects of the Exxon Valdez oil spill on benthic sediments in two bays in Prince William Sound, Alaska. 1. Study design, chemistry, and source fingerprinting. **Environ. Sci. Technol.**, Iowa City, v.32, n.5, p. 567-576, 1998.

BOLLAG, J.M.; MERTZ, T.; OTJEN, L. Role of microorganisms in soil bioremediation. In: ANDERSON, T.A.; COATS, J.R. **Bioremediation through rhizosphere technology**. Washington: ACS Symposium series, 1984. p. 2-10.

BOSSERT, J.; BARTHA, R. Plant growth in soils with a history of oily sludge disposal. **Soil Sci.**, Philadelphia, v. 140, n.1, p. 75-77, 1985.

BOWEN, G.C.; ROVIRA, A.D. The rhizosphere - the hidden half of the hidden half. In: WAISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFFKAFI, U. **Plant Roots-The Hidden Half**. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 641-669.

BREMNER, J.M. Nitrogen-Total. In- Sparks, D. L. **Methods of Soil Analysis, Chemical Methods**. Madison: SSSA Book Series. 1996. p.1085-1121.

BRIGMON, R.L.; BELL, N.C.; FREEDMAN, D.L.; BERRY, C.J. Natural attenuation of TCE in rhizosphere at the Savannah river site. **J. Soil Contam.**, Boca Raton, v.7, n.4, p.433-453, 1998.

BROMILOW, R. H.; CHAMBERLAIN, K. Principles governing uptake and transport of chemicals. In: TRAPP, S.; McFarlane, J.C. **Plant Contamination: Modeling and Simulation of organic Chemical Processes**. Boca Raton: Lewis, 1995. p. 37-68.

BUJAJIDAR, E. M.; GUADARRAMA, N.V.; BARRIGA, S.D. Inibitory effect of chlorophyllin on the frequency of sister chromatid exchanges produced by benzo[a]pyrene in vivi. **Genetic Toxicol Environ. Mut.**, Rotterdam, v. 388, v.1, p. 79-83, 1997.

BURKEN J.G. Uptake and metabolism of organic compounds: green-liver model. In: McCUTCHEON; S.C.; SCHNOOR, J.L. **Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants**. New York: Wiley, 2003. p. 59-84.

BURKEN, J.G.; SCHNOOR, J.L. Uptake and metabolism of atrazine by poplar trees. **Environ. Sci. Technol.**, Iowa City, v. 31; v.5, p.1399-1406, 1997.

BURK, C. J. A four year analysis of vegetation following an oil spill in a freshwater marsh. **J. Appl. Ecol.**, London, v. 14, n.4, p. 515-522, 1977.

CABELLO, M.N. Hydrocarbon pollution: its effect on native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). **FEMS Microbiol. Ecol.**, Rotterdam, v. 22, n.3, p. 233-236, 1997.

CARVALHO, F.J.P. DE C.; CASTRO, R.A.; ABDANUR, A.; KRENCZYSKI, M.C.; TEIXEIRA, S.C.; CONEGLIAN, D. **Relatório sobre o monitoramento e remediação do solo contaminado**. Curitiba. Relatório Técnico- Repar/SMS.2003, 140 pp.

CHAÎNEAU, C.H.; MOREL, J.L. AND OUDOT, J. Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. **J. Environ. Qual.**, Madison, v. 26, n.6, p.1478-1483, 1997.

CHANG, Y.Y.; CORAPCIOGLU, M.Y. Plant-enhanced subsurface bioremediation of nonvolatile hydrocarbons. **J. Envir. Engrg.**, Reston, v. 124, n.2, p. 162-169, 1998.

CHEN, J.; GABELMAN, W. H. Morphological and physiological characteristics of tomato roots associated with potassium-acquisition efficiency. **Sci. Hortic.**, Rotterdam, v. 83, n.3, p. 213-225, 2000.

CHURCHILL, S.A.; GRIFFIN, R.A.; JONES, L.P.; CHURCHILL, P.F. Biodegradation rate enhancement of hydrocarbons by an oleophilic fertilizer and a rhamnolipid biosurfactant. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.24, n.1, p.19-28, 1995.

CLARK JR., R.C.; BROWN, D.N. Petroleum properties and analyses in biotic and abiotic systems. In: MALIS, D.C. **Effects of petroleum on Arctic and Subarctic environments in organisms. 1 Nature and fate of petroleum.** New York: Academic Press, 1977. p.1-89.

COLEMAN, J.O.D.; BLAKE-KALFF, M.M.A.; DAVIES, T.G.E. 1997. Detoxification of xenobiotics by plants: chemical modification and vacuolar compartmentation. **Trends Plant Sci.**, London, v. 2, n.4, p.144–151, 1997.

COLLIN, P.H. **Dictionary of Ecology and the Environment** London: Peter Collin Publishing, 2001. 560p.

COLLINS, C. M.; RACINE, C. H.; WALSH M. E. Fate and Effects of Crude Oil Spilled on Subarctic Permafrost Terrain in Interior Alaska, Fifteen Years Later. In: U.S. ARMY CORPS OF ENGINEERS, COLD REGIONS RESEARCH AND ENGINEERING LABORATORY. **CRREL Report**, 1993. p.93-13.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO - RS/SC. **Recomendações de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.** 3. ed. Passo Fundo: SBCS - Núcleo Regional Sul, 1995. 224 p.

CORSEUIL, H. X., MORENO, F. N. Phytoremediation Potential of Willow Trees for Aquifers Contaminated with Ethanol-blended Gasoline. **Water Research**, Lyngby, v.35, n.12, p.3013-3017, 2001.

COWELL, E. B. The effects of oil pollution on salt-marsh communities in Pembrokeshire and Cornwall. **J. Appl. Ecol.**, London, v. 6, n.2,p.133-142, 1969.

CUBIT, J. D.; GETTER, C. D.; JACKSON, J. B. C.; GARRITY, S. D.; CAFFEY, H. M.; THOMPSON, R. C.; WEIL, E.; MARSHALL, M. J. An Oil Spill Affecting Coral Reefs and Mangroves on the Caribbean Coast of Panama. In: INTERNATIONAL OIL SPILL CONFERENCE. **Proceedings of the 1987.** Washington, 1987. p.401-406.

CUNNINGHAM, S. D.; BERTI, W.R.; HUANG, J. W. Phytoremediation of contaminated soils. **Trends Biotech.**, Oxford, v. 13, n.1, p.393-397, 1995.

CUNNINGHAM, S. D.; ANDERSON, T. A.; SCHWAB, D. E.; ANDERSON, T. A. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Adv. Agron.**, New York, v. 56, p. 55-114, 1996.

CURL, E.A.; TRUELOVE, B. **The Rhizosphere.** Berlin: Springer-Verlag, 1986. 228p.

DA SILVA, F.C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes.** Brasília: Embrapa solos, 1999. 370p.

DACEY, J.W.H.; HOWES, B.L. Water uptake by roots controls water table movement and sediment oxidation in short *Spartina* marsh. **Science**, Washington, v. 224, v.4, p. 487- 489, 1984.

DAVIS, L.C.; BANKS, M.L.; SCHWAB, A.P.; MURALIDHARAN, N.; ERICKSON, L.E.; TRACY, J.C. Plant based bioremediation. In SIKDAR, S.C.; IRVINE, R.L.. **Bioremediation**. Basel-Switzerland: Technomics, 1996. p.183-219.

De JONG, E. The effect of a crude oil spill on cereals. **Environmental Pollution**, London, v. 22, n.2, p. 187-196, 1980.

DeLAUNE, R. D.; PATRICK JR., W. H.; BURESH, R. J. Effect of crude oil on a Louisiana *Spartina alterniflora* salt marsh. **Environmental Pollution**, London, v. 20, n.1, p. 21-31, 1979.

DOUGLAS, J. S. **Advanced guide to hidroponics: Soilless cultivation**. 5.ed. London: Pelham Books, 1985. 368 p.

EGILLA, J. N.; DAVIES JR., F. T.; BOUTTON, T. W. Drought stress influences leaf water content, photosynthesis, and water-use efficiency of *Hibiscus rosa-sinensis* at three potassium concentrations. **Photosynthetica**, Praha, v. 43, n.1 p.135-140, 2005.

EKUNDAYO, E. O.; EMEDE, T. O.; OSAYANDE, D.I. Effects of crude oil spillage on growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in soils of midwestern Nigeria. **Plant Foods for Human nutrition**, Rotterdam, v. 56, n.4, p. 313-324, 2001.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Rev. Bras. Fisiol. Vegetal**, Campinas, v. 3, n.1, p. 39-45, 1991.

FLECHAS, F. W.; LATADY, M. Regulatory evaluation and acceptance issues for phytotechnology projects. **Adv. Biochem. Engin. Biotechnol.**, Hannover, v.78, n.172-185, 2003.

FLETCHER, J.S.; HEGDE, R.S. Release of phenols by perennial plant roots and their potential importance in bioremediation. **Chemosphere**, Châteleine, v. 31, n.4, p.3009–3016, 1995.

GALEGOS MARTÍNEZ, M.; GÓMEZ SANTOS, A.; GONZÁLES CRUZ, L.; MONTES DE OCA GARCÍA, M. A.; YANEZ TRUJILLO, L.; ZERMENO EGUIA LIZ, J. A.; GUTIÉRREZ-ROJAS, M. Diagnostic and resulting approaches to restore petroleum-contaminated soil in a Mexican tropical swamp. **Water Sci. Technol.**, Washington, v. 42, n.5-6, p. 377-384, 2000.

GANNING, B., REISH, D. J.; STRAUGHAN, D. Recovery and Restoration of Rocky Shores, Sandy Beaches, Tidal Flats, and Shallow Subtidal Bottoms Impacted by Oil Spills. In: CAIRNS, Jr. J.; BUIKEMA, Jr. A.L. **Restoration of Habitats Impacted by Oil Spills**. Boston: Butterworth Publishers, 1984. p. 7-36.

GERMIDA, J. J.; FRICK, C. M.; FARRELL, R. E. Phytoremediation of oil-contaminated soils. **Dev. Soil Sci.**, Amsterdam, v. 28B, p. 169-186, 2002.

GETTER, C. D.; BALLOU; T. G. Field Experiments on the Effects of Oil and Dispersant on Mangroves. INTERNATIONAL OIL SPILL CONFERENCE. **Proceedings of the 1985**. Washington, 1985. p. 577-582.

GETTER, C. D.; CINTRON, G.; DICKS, B.; LEWEL, R. R.; SENECA, E. D. The recovery and restoration of salt marshes and mangroves following an oil spill. In: CAIRNS JR., J.; BUIKEMA, J.R. **Restoration of Habitats Impacted by Oil Spills**. Stoneham: Butterworth Publishers, 1984. p. 65-114.

GILFILLAN, E.S.; PAGE, D.S.; BASS, A.E.; FOSTER, J.C.; FICKETT, P.M.; ELLIS, W.G.H.; RUSK, S.; BROWN, C. Use of Na/K ratios in leaf tissues to determine effects of petroleum on salt exclusion in marine halophytes. **Marine Pollution Bulletin**, Rotterdam, v.20, n.6, p. 272-276, 1989.

GILL, L. S.; NYAWUAME, H. G. K.; EHIKHAMETALOR, A. O. Effect of crude oil on the growth and anatomical features of *Chromolaena odorata* (L) K. e R. **Newsletter**, v. 6, n.1, p.1 - 6, 1992.

GLASER, J.A. Nutrient-enhanced bioremediation of oil-contaminated shoreline: the Valdez experience. In: HINCHEE, R.E.; OFFENBUTTEL, R.F. **On-site remediation processes for xenobiotic and hydrocarbon treatment**. Stoneham: Butterworth-Heinemann, 1991. p. 366-384.

GLASS, D.J. **U.S. and International Markets for Phytoremediation**, 1999-2000. Needham: D.Glass Assoc., 2000. 270p.

GOLDEMBERG, J. Pesquisa e desenvolvimento na área de energia. **São Paulo em Perspectiva**, São Paulo, v.14, n.3, p. 91- 97, 2000.

GRAHAM, D.W.; SMITH, V.H.; LAW. K.P. Applications of variable nutrient supplies to optimize hydrocarbon biodegradation. In: HINCHEE, R.E.; ANDERSON, D.E.; HOEPEL, R.E. **Bioremediation of recalcitrant organics**. Columbus: Battelle Press., 1995. p.331-340.

GREEN, B. T.; WIBERG, C. T.; WOODRUFF, J. L.; MILLER, E. W.; POAGE; V. L.; CHILDRESS, D. M.; FEUINER, J. A.; PROSCH, S. A.; RUNKEL, J. A. WANDERCHEID, 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**, Paris, v .36, n.3, p. 313-321, 1996.



GUDIN, C.; SYRATT, W. J. Biological aspects of land rehabilitation following hydrocarbon contamination. **Environmental Pollution**, London , v. 8, n.1,p.107-112, 1975.

GUZMAN, H. M.; JACKSON; J. B. C.; WEIL, E. Short-term Ecological Consequences of a Major Oil Spill on Panamanian Subtidal Reef Corals. **Coral Reefs**, Berlin, v. 10, n.1, p. 1-12, 1991.

GUZMAN, H. M.; HOLST, I. Effects of Chronic Oil-sediment Pollution on the Reproduction of the Caribbean Reef Coral *Siderastrea sidereal*. **Marine Pollution Bulletin**, Rotterdam, v. 26, p. 276- 282, 1993.

HANSEN, D.; DUDA, P.J.; ZAYED, A. TERRY, N. Selenium removal by constructed wetlands: role of biological votalization. **Environ. Sci. Technol.**, Iowa City, v.32, n.5, p. 591-597, 1998.

HAWKINS, S. J.; SOUTHWARD, A. J. The Torrey Canyon Oil Spill: Recovery of Rocky Shore Communities. In: THAYER, G.W. **Restoring the Nation's Marine Environment**. Maryland: University of Maryland, 1992. p. 583-631.

HESTER, M. W.; LIN, Q.; MENDELSSOHN, I. A .; DesROCHES, D. J. Potential for accelerated bioremediation and restoration of oil - impacted marshes through the selection of superior oil-tolerant vegetation. In: **OCS STUDY MMS 2000-042 U.S. Proceedings**. New Orleans, 2000. 48 p.

HOOBS, R. J.; GULMON, S. L.; HOOBS, R. J.; MOONEY, H. A. Effects of fertilizer addition and subsequent gopher disturbance on a serpentine annual grassland community. **Oecologia**, Berlin, v. 75, n.2, p. 291-295, 1988

HOU, F. S. I.; MILKE, M. W.; LEUNG, D. W. M.; MacPHERSON, D. J. Variations in phytoremediation performance with diesel-contaminated soil. **Environmental Technology**, London, v. 22, n.2, p. 215-222, 2001.

HUGUENIN, M. T.; HAURY, D. H.; WEISS, J. C.; HELTON, D.; MANEN, C.; REINHARZ, E.; MICHEL, J. **Injury assessment - guidance document for natural resource damage assessment under the oil pollution act of 1990**. Damage Assessment and Restoration Program National Oceanic and Atmospheric Administration Maryland, 1996. 222p. Disponível em: <<http://ntl.bts.gov/lib/2000/2000/2028/iad.pdf>> Acesso em ago. de 2005.

HURTIG, A.K.; SAN SEBASTION, M. Geographical differences in cancer incidence in the Amazon basin of Ecuador in relation to residence near oil fields. **Int. J. Epidemiol.**, Bristol v.31, n.5, p. 1021-1027, 2002.

HUTCHINSON, T.C.;FREEDMAN, A. Effects of Experimental crude oil spills on subartic boreal forest vegetation near Norman Wells, N.W.T., Canada. **Can. J. Bot.**, Guelph, v. 56, n.12, p. 2424-2433, 1978.

HUTCHINSON, S. L.; BANKS, M. K.; SCHWAB, A. P. Phytoremediation of aged petroleum sludge: Effects of inorganic fertilizer. **J. Environ. Qual.**, Madison, v. 30, n.2, p. 395-403, 2001.

HUTCHINSON, S.L.; SCHWAB, A.P.; BANKS, M.K. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in the rhizosphere. In: McCUTCHEON, S.C.; SCHNOOR, J. L. **Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants**. New York: Wiley, 2003. p. 355–86.

IBGE. **Manual técnico da vegetação brasileira**. n.1. Rio de Janeiro: IBGE, 1992. 91p. (Série Manuais Técnicos em Geociências).

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. 3 ed. New York: Paul B. Hoeber Inc., 1940.790p.

JONES JR., J.B.; CASE, V.W. Sampling, Handling, and Analyzing Plant Tissue Samples. In: WESTERMAN, R.L.; BAIRD, J.V.; CHRISTENSEN, N.W.; FIXEN, P.E. AND WHITNEY, D.A. **Soil testing and plant analysis**. Madison: Soil Science Society of America Inc., 1990. p. 389-427.

JONES, D.L.; DARRAH, P.R. Influx and efflux of organic acids across the soil root interface of *Zea mays* L. and its implications in rhizosphere C flow. **Plant and Soil**, Rotterdam, v. 173,n.1, p. 103-109, 1995.

KECHAVARZI, C.; PETTERSSON, K.; LEEDS-HARRISON, P.; RITCHIE, L.; LEDIN, S. Root establishment of perennial ryegrass (*L. perenne*) in diesel contaminated subsurface soil layers. **Environmental Pollution**, London, v.xx, p. 1-7, 2006 (Article in press).

KIRK, J. L.; KLIRONOMOS, J. N.; LEE, H.; TREVORS, J. T. Phytotoxicity assay to assess plant species for phytoremediation of petroleum-contaminated soil. **Bioremediation J.**, Philadelphia, v. 6, n.1, 57-63, 2002.

LEIGH, M.B.; FLETCHER, J.S.; FU, X.; SCHMITZ, F.J. Root turnover: an important source of microbial substances in rhizosphere remediation of recalcitrant contaminants. **Environ. Sci. Technol.**, Iowa City, v. 36, n.7, p.1579–83, 2002.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. Tradução de W.R. Loodi, e A.A. Simões. São Paulo: Sarvier, 1995. 839 p.

LEYVAL, C.; BINET, P. Effect of polyaromatic hydrocarbons in soil on arbuscular mycorrhizal plants. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.27, n.2, p. 402-407. 1998.

LI, X.; FENG, Y.; SAWATSKY, N. Importance of soil-water relations in assessing the endpoint of bioremediated soils. **Plant soil**, Rotterdam v.192, n.2,p. 219-226, 1997.

LIN, Q. **Factors Controlling the Impact of South Louisiana Crude Oil on Vegetation and Revegetation of Coastal Wetlands**. Baton Rouge 1996. 190f. (PhD thesis). Louisiana State University.

LIN, Q.; MENDELSSOHN, I.A. A comparative investigation of the effects of South Louisiana Crude oil on the vegetation of fresh, brackish, and salt marshes. **Marine Pollution Bulletin**, Rotterdam v.32, n.2, p. 202-209, 1996.

LIN, Q.; MENDELSSOHN, I.A. The combined effects of phytoremediation and biostimulation in enhancing habitat restoration and oil degradation of petroleum combined wetlands. **Ecol Eng.**, Columbus, v.10, n.3, p.263-274, 1998.

LINKINS, A. E.; JOHNSON L. A.; EVERETT, K. R.; ATLAS R. M. Oil Spills: P Damage and Recovery in Tundra and Taiga. In: CAIRNS, Jr., J.; BUIKEMA, Jr. A.L. **Restoration of Habitats Impacted by Oil Spills**. Boston: Butterworth Publishers, 1984. p.135-155.

LISTE, H.H.; ALEXANDER, M. Accumulation of phenanthrene and pyrene in rhizosphere soil. **Chemosphere**, Châteleine, v.40, n.1, p.11-14, 2000.

LOEHR, R.C.; WEBSTER, M.T. Behavior of fresh vs aged chemicals in soil. **J. Soil Contam.**, Boca Raton, v. 5, n.2, p.361–383, 1996.

LOYA, Y.; RINKEVICH, B. Abortion Effect in Corals Induced by Oil Pollution. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, Luhe, v. 1, n.1, p. 77-80, 1980.

LUDWIG, F.J. Analyses of microcristaline waxes by gas chromatography. **Analyt. Chem.**, Wayne, v.37, n.13 , p.1732-1738, 1965.

LUXMOORE, R.J.; STOLZY, L.H.; LETEY, J. Oxygen diffusion in the soil-plant system I. A model. **Agron. J.**, Madison, v. 62, n.3, p. 317-322, 1970.

MACEK, T.; M. MACKOVÁ, M.; KÁS, J. Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation. **Biotechnology Advances**, Ontario, v. 18, n.1,p. 23–34, 2000.

MACKEY, C.V; DePUIT, E. J. Natural revegetation of surface-deposited spent oil shale in Colorado. **Reclam. Reveg. Res.**, Amsterdam, v. 4, n.1, p. 1-16,1985.

MACKOVÁ M, MACEK T, KUEROVÁ P, BURKHARD J, T ÍSKA J, DEMNEROVÁ K. Plant tissue cultures in model studies of transformation of polychlorinated biphenyls. **Chem. Papers**, Warsaw, v.52, n.6, p.599–600, 1998.

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

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

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFÓS, 1997. 19p.

MARANHO, L.T. **Efeitos da poluição por petróleo na estrutura da folha e do lenho de *Podocarpus lambertii* KLOTZSCH EX ENDL. (PODOCARPACEAE).** Curitiba, 2004, 201 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) Setor de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Paraná.

MARRENCO, R. A.; LOPES, N.F. *Fisiologia Vegetal – Fotossíntese, Respiração, Relações Hídricas e Nutrição Mineral.* Viçosa: Editora UFV. 2005. 451p.

MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition on higher plants.** London: Academic Press.1995, 902 p.

MARTINEZ, V.E.; LÓPEZ, M.F. Efecto de hidrocarburos em lãs propiedades físicas y químicas de suelo argiloso. **Terra**, v. 19, n.1, 9-16, 2001.

MARRS, K.A. The functions and regulation of glutathione s-transferases in plants. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.**, Palo Alto, v. 47, p.127–58, 1996.

McCOWN, B. H.; SIMPSON, D. R. **The Impact of Oil Resource Development on Northern Plant Communities.** Fairbanks: Institute of Arctic Biology. 1973. 120 p.

McCUTCHEON, S.C. **Phytoremediation: Applications and limitations.** Saskatoon: PBI Bulletin, 1998, 350p.

McCUTCHEON, S. C.; SCHNOOR, J.L. **Phytoremediation: Transformation and control of contaminants.** Hoboken, New Jersey: Wiley-Interscience Inc., 2003.1024p.

MENDELSSOHN, I. A., MCKEE, K. L., *Spartina alterniflora* dieback in Louisiana: time-course investigation of soil water logging effects. **Journal of Ecology**, London. v.76, n. 3, p. 509-521, 1988.

MENDELSSOHN, I.A., HESTER, M.W., SASSER, C., FISCHER, M. The effect of Louisiana crude oil discharge from a pipeline break on the vegetation of a southeast Louisiana brackish marsh. **Oil and Chemical Pollution**, Yale, v.7, n.1, p.1-15, 1990.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Phytoremediation in the tropics- The effect of crude oil on the growth of tropical plants. **Bioremediation J**, Philadelphia, .v.8, n.1, p. 177-184, 2004.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils. **Water, Air, and soil Pollution**, Ontario, v.165, n.2, p. 195-209, 2005a.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C.; Phytoremediation in the tropics – influence of heavy crude oil on root morphological characteristics of graminoids. **Environmental Pollution**, London, v.138, n.1, p. 86-91, 2005b.

MICHEL, J. Natural Resource Damage Assessment of the Amazon Venture Oil Spill. In: INTERNATIONAL OIL SPILL CONFERENCE. **Proceedings of the 1989**. Washington, 1989. p. 303-308.

MICHEL, J.; GALT, J. A. Conditions Under Which Floating Slicks Can Sink in Marine Settings. In: INTERNATIONAL OIL SPILL CONFERENCE. **Proceedings of the 1995**. Washington, 1995. p.573-576.

MICHEL, J., SCHOLZ, D.; HENRY, C. B.; BENGGIO, B.L. Group V Fuel Oils: Source, Behavior, and Response Issues. In: INTERNATIONAL OIL SPILL CONFERENCE. **Proceedings of the 1995**. Washington, 1995. p.559-564.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora da UFLA, 2002. p. 277-283.

MORLEY, C. P.; MAINWARING, K. A.; DOERR, S. H.; DOUGLAS, P.; LLEWELLYN, C.T.; DEKKER, L.W. Organic compounds at different depths in a sand soil and their role in water repellency. **Australian Journal of Soil Research**, Vitoria, v. 43, n.3, p. 239-249, 2005.

NEGRI, M.C.; GATLIFF, E.G.; QUINN, J.J.; HINCHMAN, R.R. Root development and rooting at depths. In: McCutcheon, S.C.; Schnoor, J.L. **Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants**. New York: Wiley, 2003. p. 233–62.

NEIVA, J. **Conheça o petróleo**. Rio de Janeiro: Expressão e Cultura, 1993.187p.

NEWMAN, L.A.; REYNOLDS, C.M. Phytodegradation of organic compounds. **Curr. Opinion in Biotechnology**, Danvers, v. 15, n.3,225-230, 2004.

NICHOLS, T.D.; WOLF, D.C.; ROGERS, H.B.; BEYROUTY, C.A.; REYNOLDS, C.M. Rhizosphere microbial populations in contaminated soils. **Water Air, and Soil Pollution**, Ontario, v.95, n.2,p.165–78, 1997

OLSON, P. E.; FLETCHER, J.S. Ecological recovery of vegetation at a former industrial sludge basin and its implications for phytoremediation. **Environ. Sci. Pollut. Res. Int.**, Philadelphia, v. 7, n.1, p.195-204, 2000.

OLSON, P.E.; REARDON, K.F.; PILON-SMITS E.A.H. Ecology of rhizosphere bioremediation. In: McCUTCHEON, S.C.; SCHNOOR, J.L. **Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants**. New York: Wiley, 2003, p. 317- 54.

OVERTON, E. B.; SHARPS, W. D.; ROBERTS, P. Toxicity of petroleum. In COCKERHAM, L. G.; SHANE, B.S. **Basic environmental Toxicology**. Boca Raton: CRC press.1994. p.133-156.

PALMROTH, M.R.T.; PICHTEL, J.; PUHAKKA, J.A. Phytoremediation of subarctic soil contaminated with diesel fuel. **Bioresource Technology**, v.84, n.3, p.221–228, 2002.

PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; MITCHELL, D. New development in solid state fermentation: I - bioprocesses and products. **Process Biochemistry**, Vandoeuvreles-Nancy, v.35, n.10, p. 1153-1169, 2000.

PENA-CASTRO, J. M.; BARRERA-FIGUEROA, E. B.; FERNÁNDEZ-LINARES, L.; RUIZ-MEDRANO, R. Isolation and identification of up-regulated genes in bermudagrass roots (*Cynodon dactylon* L.) grown under petroleum hydrocarbon stress. **Plant Science**, v.170, n. 4, p. 724-731, 2006.

PERKIN-ELMER, N. **Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry agriculture**. Connecticut: Perkin Elmer Norwalck. 1973.

PEZESHKI, S. R.; DeLAUNE, R. D. Effect of crude oil on gas exchange functions of *Juncus roemerianus* and *Spartina alterniflora*. **Water, Air, and Soil Pollution**, Ontario, v.68, n. 3-4, p. 461-468, 1993.

PEZESHKI, S. R.; DeLAUNE, R.D.; JUGSUJINDA, A. The effects of crude oil and the effectiveness of cleaner application following oiling on US Gulf of Mexico coastal marsh plants. **Environmental Pollution**, London, v.112, n.3, p. 483-489, 2001.

PEZESHKI, S. R.; DeLAUNE, R. D.; JUGSUJINDA, A.; CANEVARI, G. P.; LESSARD, R. R.; Major field test evaluates a shoreline cleaner to save oiled marsh grass (Publication No. 465). **International Oil Spill Conference**. Washington.1997. p.397-402.

PEZESHKI, S. R.; DeLAUNE, R. D.; NYMAN, J. A.; LESSARD, R. R.; CANEVARI, G. P. Removing oil and saving oiled marsh grass using a shoreline cleaner **International Oil Spill Conference**. Washington. 1995. p.203-209.

PEZESHKI, S. R.; DeLAUNE, R. D.; PATRICK, J. R. Effect of fluctuating rhizosphere redox potential on carbon assimilation of *Spartina alterniflora*. **Oecologia**, Berlin, v.80, n.1, p. 132-135, 1989.

PILON-SMITS, E. Phytoremediation. **Annu. Rev. Plant. Biol.**, Palo Alto, v.56, p.15-39, 2005.

PIVETZ, B. E. **Phytoremediation of contaminated soil and ground water at hazardous waste sites**. EPA. Ground water issue (EPA/540/S-01/500). 2001. 36p.

POSTHUMA, J. The composition of petroleum. **Rapp. P. V. Reun. Cons. Perm. Int. Explor. Mer.**, v.171, n.1, p.7-16, 1977.

PRADHAN, S.P.; CONRAD, J.R.; PATEREK, J.R.; SRIVASTAVA, V.J. Potential of phytoremediation for treatment of PAHs in soil at MGP Sites. **J. Soil Contam.**, Amherst, v.7, n.4, p.467-80, 1998.

PROFFITT, C. E. Effects and management of oil spills in marsh ecosystems: a review produced from a workshop convened July 1996 at McNeese State University. **OCS Study MMS 98-0018**. New Orleans. 1998. 46 p.

QUI, X.; SHAH, S.I.; KENDALL, E.W.; SORENSON, D.L.; SIMS, R.C.; ENGELKE, M.C. Grass-enhanced bioremediation for clay soils contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons. In: ANDERSON, T.A.; COATS, J.R. **Bioremediation through rhizosphere technology**. Washington: Am. Chem. Soc. 1994. p. 142-157.

RACINE, C. H. Long-term recovery of vegetation on two experimental crude oil spills in interior Alasca black spruce taiga. **Can. J. Bot.**, Guelph, v. 72, n.8, p. 1172-1177, 1993.

RAGHOTHAMA, K.G. Phosphate acquisition. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v50, p.665-693, 1999.

RANWELL, D. S. Extent of damage to coastal habitats due to the Torrey Canyon incident. In: The Biological Effects of Oil Pollution in Littoral Communities. **Field Studies Council**. London, 39, 47 p. 1968.

RAO, A.S. Root flavonoids. **Botan. Rev.**, New York, v.56, n.1, p.1-84, 1990.

RASIAH, V.; VORONEY, R. P.; KACHANOSKI, R. G. Biodegradation of na oily wste as influenced by nitrogen forms and sources. **Water, air and soil pollut.** Ontario v.65, n.1, p. 143-151, 1992.

RASKIN, I.; KUMAR, P.B.A.N.; DUSHENKOV, S.; SALT, D,E. Bioconcentration of heavy metals by plants. **Curr. Opinion in Biotechnology**. Danvers,, v.5, n.3, p.285–290, 1994.

RAY, J.P. **The Effects of Petroleum Hydrocarbons on Corals**: Petroleum and the Marine Environment. London: Graham e Trotman Ltd., 1980. s.p.

REILLEY, K.A.; BANKS, M.K.; SCHWAB, A.P. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.25, n.2, p.212-219, 1996.

REIS, J.C. **Environmental control in petroleum Engineering**. Houston: Gulg Prof. Publ., 1996. 400p.

RENTZ, J.A.; CHAPMAN, B. ALVAREZ, P.J.J; SCHNOOR, J.L. Stimulation of hubrid poplar growth in petroleum-contaminated soils through oxygen addition and soil nutrient amendments. **Int. J. Phytorem.**, Amherst v.5, n.1, p. 57-62, 2003.

ROWELL, M.J.; FLORENCE, L.Z. Characteristics associated with differences between undisturbed and industrially disturbed soils. **Soil Biol. Biochem.**, v.25, n.11, p.1499-1511, 1993.

ROY, J. L.; MCGILL, W. B.; LOWEN, H. A.; JOHNSON, R. L. Relationship between water repellency and native and petroleum-derived organic carbon in soils. **J. Environ. Qual.**, Madison, v. 32, n.2, p.583-590, 2003.

SALANITRO, J.; DORN, P.; HUESEMAN, M.; MOORE, K.; RHODES, I.; RICE, L.; JACKSON, T.; VIPONND, M.; WESTERN, M.; WISNIEWSKY, H. Crude oil hydrocarbon bioremediation and soil ecotoxicity assessment. **Environ. Sci. Technol.**, Iowa City, v.31, n.6, p. 1769-1776, 1997.

SALT, D.E.; BLAYLOCK, M.; KUMAR, N.P.B.A.; DUSHENKOV, V.; ENSLEY, B.D. 1995. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. **Biotechnology**, New York, v.13, n.5, p.468–474, 1995.

SANDERS, H. L.; GRASSLE, J. F.; HANSSON, G. R.; MORES, L. S.; PRICE-GARTNER, S.; JONES, C. C. Anatomy of Any Oil Spill: Long-term Effects from the Grounding of the Barge *Florida* Off West Falmouth, Mass. **J. Marine Research**, New Haven, v.38, n.1, p. 265-380, 1980.

SARKAR D, FERGUSON M, DALLA R, BIRNBAUM S. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. **Environmental Pollution**, London, v.136, n.1, p. 187-195, 2005.

SCHNOOR, J.L.; LICHT, L.A.; MCCUTCHEON, S.C.; WOLFE, N.L.; CARREIRA, L.H., Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. **Environ. Sci. Technol.**, Iowa City,, v. 29, n.2, p. 318-323, 1995.

SCHWAB, A. P.; BANKS, M. K. Biologically mediated dissipation of polyaromatic hydrocarbons in the root zone. In: ANDERSON, T.A.; COATS, J.R. **Bioremediation through rhizosphere technology**. Washington: American Chemical Society, 1994. 216p.

SIEMIATYCKI, J.; DEWAR,R.; NADON, L.; GERIN, M.; RICHARDSON, L.; WACHOLDER, S. Associations between several sites of cancer and twelve petroleum-derived liquids. Results from a case referent study in Montreal. **Scandinavian Journal of Work, Environment and Health**, Helsinki, v.13, n.6, p.493-504, 1987.

SIEFERMANN-HARMS, D. The light varvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. **Physiol. Plant.**, Lund, v.69, n.3, 561-568, 1987.

SINGH, O. V.; JAIN, R. K. Phytoremediation of toxic aromatic pollutants from soil. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, Berlin, v.63, n.2, p.128-135, 2003.

SKOUSEN, J.G.; JOHNSON, C.D.; GARBUTT, K. Natural revegetation of 15 abandoned mine land sites in West Virginia. **J. Environ. Qual.** Madison, v.23, n. 6, p. 1224-1230. 1994.

SMITH, C. J.; DeLAUNE, R. D.; PATRICK, J. R.; FLEEGER, J. W. Impact of dispersed and undispersed oil entering a Gulf Coast salt marsh. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Houston, v.3, n.5, p. 609-616, 1984.



SMITH, W.H., The atmosphere and the rhizosphere: linkages with potential significance for forest tree health. In: LUCIER, A.A.; HAINES, S.H. **Mechanisms of Forest Response to Acidic Deposition**. New York: Springer-Verlag, 1990. p.188-241.

SOUZA FILHO, A. M. **Planos Nacionais de Contingência para Atendimento a Derramamento de Óleo: Análise de Países Representativos das Américas para Implantação no Caso do Brasil**. Rio de Janeiro 2006. 217f. Tese (Dissertação de mestrado em Engenharia). Universidade Federal do Rio de Janeiro – COPPE.

SPRIGGS, T.; BANKS, M.K.; SCHWAB, P. Phytoremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Manufactured Gas Plant-Impacted Soil. **J Environ Qual.**, Madison, v.34, n.5, p.1755-1762, 2005.

SUOMINEN, L.; JUSSILA, M. M.; MAKELAINEN, K.; ROMANTSCHUK, M.; LINDSTROM, K. Evaluation of the Galega – *Rhizobium galegae* system for the bioremediation of oil-contaminated soil. **Environmental Pollution**, London, v.107, n.2, p. 239-244, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology** 2 ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc Publishers. 1998. 792p.

TAYLOR, H.M.; KLEPPER, B. Water uptake by cotton root systems: An examination of assumptions in the single root model, **Soil Sci.**, Philadelphia, v.120, n.1, p.57-67, 1975.

TEAL, J.M.; KANWISHER, J.W., Gas transport in the marsh grass *Spartina alterniflora* **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.17, n.2, p. 355-361, 1966.

TILMAN, D. 1987. Secondary succession and the pattern of plant dominance along experimental nitrogen gradients. **Ecological Monographs**, New York, v.57, n.3, p.189-214, 1987.

TISCHER, R.; HÜBNER, T. Model trials for phytoremediation of hydrocarbon-contaminated sites by the use of different plant species. **Int. J. Phytorem.**, Amherst, v.4, n.3, p. 197-203, 2002.

TRAPP, S.; KARLSON, U. Aspects of Phytoremediation of Organic Pollutants. **J. Soils and sediments**, Landsberg, v.1, n.1, p. 1-7, 2001.

TSAO, D. T. Overview of phytotechnologies. **Adv. Biochem. Engin. Biotechnol.**, Hannover, v.78, n.1, p.1-50, 2003.

TOOGOOD, J. A. **The reclamation of agricultural soils after oil spills**. Edmonton: AIP Publ., 1977. 33p.

UDO, E. J.; FAYEMI, A. A. A. The effect of oil pollution of soil on germination, growth and nutrient uptake of corn. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.4, n.2, p. 537-540, 1975.

UREN, N.C.; REISENAUER, H.M. The role of root exudates in nutrient acquisition. **Adv. Plant Nutr.**, v.3, n.1, p.79-114, 1988.

WASSERMAN, J. C.; CRAPEZ, M. A.; FILGUEIRAS, C. M.; BISPO, M. G. S. **Efeitos da poluição por óleo em sedimentos da Área de Proteção Ambiental de Guapimirim**, Rio de Janeiro: IBAMA. 2002. 35p.

WATKINS, J.W.; SORENSON, D.L.; SIMS, R.C. Volatilization and mineralization of naphthalene in soil-grass microcosms. In: ANDERSON, T.A.; COATS, J.R. **Bioremediation through rhizosphere technology**. Washington: Am. Chem. Soc., 1994. p. 123-131.

WEBB, J. W. Effects of Oil on Saltmarshes. In: ASSESSING. EFFECTS, NATURAL RECOVERY, AND PROGRESS IN REMEDIATION RESEARCH. **Symp. Proc. Gulf of Mexico and Caribbean Oil Spill in Coastal Ecosystems**. New Orleans, 1994. p. 55-61.

WHITE JR., P. M.; WOLF, D. C.; THOMA, G.J.; REYNOLDS, C.M. Phytoremediation of alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons in a crude oil contaminated soil. **Water, Air and soil pollution**, Ontario, v.169, n.1-4, p. 207-220, 2006.

WOLF, A.E.; DIETZ, K.J.; SCHRODER, P. Degradation of glutathione s-conjugates by a carboxypeptidase in the plant vacuole. **FEBS Lett.**, Heidelberg, v.384, n.1, p.31-34, 1996.

WOLFE, N.L.; HOEHAMER, C.F. Enzymes used by plants and microorganisms to detoxify organic compounds. In: McCUTCHEON, S.C.; SCHNOOR, J.L. **Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants**. New York: Wiley. 2003. p. 159-187.

WYSZKOWSKA, J.; KUCHARSKI, J.; JASTRZĘBSKA, E.; HLASKO, A. The biological properties of the soil as influenced by chromium contamination. **Polish J. Environ. Stud.**, Oddział Olsztyn, v.10, n.1, p. 37-42, 2001.

WYSZKOWSKA, J.; KUCHARSKI, J. WALDOWSKA, E. The influence of diesel oil contamination on soil microorganisms and oat growth. **Rostlinná Výroba**, Olsztyn , v.48, n.1, p. 51-57, 2002.

YATEEM, A.; BALBA, M.T.; EL-NAWAWY, A.S.; AL-AWADHI, N. Biodegradation on petroleum hydrocarbon in soil as affected by heating and forced aeration. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.26, n.4, p.1511-1516, 1999.

XU, J. G.; JOHNSON, R. L. Root growth, microbial activity and phosphatase activity in oil-contaminated, remediated and uncontaminated soils planted to barley and field pea. **Plant and Soil**, Rotterdam, v.173, n.1, p. 3-10, 1995.

XU J.C.; JOHNSON, R.L. Nitrogen dynamics in soil with different hydrocarbons contents planted to barley and field pea. **Can. J. of soil Sci.**, Lethbridge, v.77, n.3, p. 453-458, 1997.

ZIEMAN, J.C.; ORTH, R.; PHILLIPS, R.C.; THAYER, G.; THORHAUG, A. The Effects of Oil on Seagrass Ecosystems. In: BUIKEMA Jr., A.L.; J. CAIRNS Jr., A.L. **Restoration of Habitats Impacted by Oil Spills**. Boston: Butterworth Publishers. 1984. p. 115-133.

## 5 CRESCIMENTO E CONCENTRAÇÃO DE MACRONUTRIENTES DE *Podocarpus lambertii* Klotz. EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO.

### RESUMO

O efeito fitotóxico do petróleo no crescimento e concentração de macronutrientes nas folhas de *Podocarpus lambertii* foi investigado. O experimento foi conduzido em condições de campo com o plantio de oito mudas por área. As plantas foram monitoradas durante 66 semanas em dois solos contaminados, sendo que o teor de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) da área C1 foi de 30.029 mg kg<sup>-1</sup> solo ao passo que a área C2 foi de 11.901 mg kg<sup>-1</sup> solo, e um solo não contaminado. O alto nível de TPH da área C1 foi fitotóxico com redução no crescimento, biomassa e teores dos pigmentos fotossintéticos. Em contraste, a fitotoxicidade não foi observada na área C2 e as plantas apresentaram um incremento no crescimento e biomassa. A concentração de N em *Podocarpus lambertii* não foi afetada pelo nível de TPH do solo, entretanto, a concentração de P e Mg foram reduzidas nas plantas do solo contaminado. A concentração de K aumentou nas plantas do solo contaminado e não foi observado aumento significativo na concentração de Ca nas plantas que cresceram na área C1.

Palavras-chave: *Podocarpus*, solo contaminado, petróleo, crescimento, macronutrientes.

### 5.1 INTRODUÇÃO

O petróleo constitui a fonte primária de energia no mundo e é utilizado como substrato pela indústria petroquímica (BENKA-COKER e EKUNAYO, 1995). A extração, transporte e processamento do petróleo e seus subprodutos têm resultado na contaminação de grandes áreas no planeta (TISCHER e HUBNER, 2002).

O efeito do petróleo e seus derivados sobre a vegetação não é totalmente conhecido. Já foi observada inibição da atividade mitótica do meristema da raiz (ACHUBA, 2006), quebra da estrutura da clorofila com conseqüente redução na fotossíntese (MALALLAH, *et al.*, 1998; ACHUBA, 2006), alterações nos níveis de proteínas, aminoácidos, fenóis e açúcares (MALALLAH *et al.*, 1997; 1998), redução na absorção de nutrientes (UDO e FAYEMI, 1975; XU *et al.*, 1995), mudanças nos conteúdos de antocianinas, ácido ascórbico e riboflavina (CHUPAKHINA e

MASLENNICOV, 2004), anteras estéreis (MALALLAH, *et al.*, 1997), redução na germinação (UDO e FAYEMI, 1975; ADAM e DUNCAN, 2003; MERKL *et al.*, 2004), redução no crescimento, biomassa e comprimento da raiz (XU *et al.*, 1995; GREEN, *et al.*, 1996; LI *et al.*, 1997; VASUDEJAN e RAJARAM, 2001; MERKL *et al.*, 2004) e redução dos fungos micorrízicos (CABELLO, 1997; SUOMINEM *et al.*, 2000).

Algumas plantas podem tolerar o contaminante reduzindo os danos ambientais causados pelo petróleo (CUNNINGHAM *et al.*, 1996) desde que as condições não sejam fitotóxicas. Algumas plantas, além de tolerar podem promover a descontaminação dos solos. Este mecanismo é denominado de Fitorremediação e é dependente do tipo de contaminante e sua biodisponibilidade e das propriedades físicas e químicas do solo (CUNNINGHAM e Ow, 1996). Durante o processo de fitorremediação, os hidrocarbonetos do petróleo são metabolizados pela planta e/ou através da atividade dos microorganismos da rizosfera (JORDAHL *et al.*, 1997).

Solos contaminados com hidrocarbonetos apresentam alteração na relação carbono/nitrogênio que podem levar a uma imobilização do nitrogênio (NEWMAN e REYNOLDS, 2004). A dinâmica e o ciclo do nitrogênio em solos contaminados com hidrocarbonetos podem diferir dos solos não contaminados (XU *et al.*, 1995; WHITE *et al.*, 2006) devido os hidrocarbonetos alterarem algumas propriedades físicas, químicas e biológicas dos solos (XU e JOHNSON, 1997). Além disto, a presença de hidrocarbonetos influencia na absorção de água e nutrientes pelas raízes das plantas (BAKER, 1970).

Em ambientes tropicais, o processo de remediação é favorecido devido às condições climáticas que favorecerem o crescimento e a atividade dos microorganismos (INFANTE *et al.*, 1999). Entretanto pouco se conhece sobre quais espécies tropicais podem fitorremediar solos contaminados com hidrocarbonetos (GALLEGOS MARTINEZ *et al.*, 2000; MERKL *et al.*, 2004).

A partir dos anos 80, a contaminação dos solos com hidrocarbonetos tornou-se crítica no mundo, tendo efeitos negativos no ambiente (XU e JOHNSON, 1997). No Brasil, em julho de 2000 ocorreu um vazamento de 4 milhões de litros de petróleo na unidade da Petrobrás, no município de Araucária- Paraná- Brasil, contaminando o solo da área e matando a vegetação. Pouco mais de 2 milhões de litros de petróleo continuavam na área quando este experimento foi instalado. Dentre as muitas espécies que ocorrem na área do acidente, *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl

se destaca por ser uma árvore de porte médio e indicada para reflorestamento e paisagismo (LORENZI, 1992). Além disto, se desenvolve tanto em solos férteis quanto em solos pobres (REITZ *et al.*, 1983). O presente trabalho teve o objetivo de analisar o efeito do solo contaminado com petróleo sobre o crescimento e concentração de macronutrientes em *Podocarpus lambertii*.

## 5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no período de dezembro de 2001 a março de 2003 na Refinaria Presidente Getúlio Vargas (REPAR) situada no município de Araucária-Pr-Brasil no local do acidente ocorrido em julho de 2000 (Figura 3.1). Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e oito repetições. Os tratamentos representam parcelas com níveis de contaminação diferentes. Foram demarcadas três parcelas com aproximadamente 32 m<sup>2</sup> cada, sendo duas em áreas com solo contaminado com petróleo (C1 e C2), localizadas a S25°34'41,6" WO S49°21'31,5" e S25°34'52,7" WO49°21'24,2" respectivamente, e uma área em solo não contaminado (contrôle), localizado a S25°34'54,1" WO49°21'24,4". A área C1 estava em biorremediação com adição de calcário calcítico e inóculo proveniente de áreas de biorremediação internas à refinaria ao passo que, a área C2 não se encontrava sob remediação. Os atributos físico-químicos dos solos das áreas encontram-se na Tabela 5.1. Em cada parcela foram plantadas oito mudas de *Podocarpus lamberti* com 20 meses de idade e média de 45,8 cm de altura. As mudas foram distribuídas em linhas no espaçamento de 2x2m.

O crescimento e desenvolvimento das plantas foi monitorado durante 66 semanas através de medidas mensais da altura da base do caule até a gema apical do ramo principal. Ao término do experimento, uma folha adulta do eixo principal de cada um dos oito indivíduos de cada parcela foi coletada e utilizada para quantificação dos pigmentos fotossintéticos. A extração dos pigmentos foi realizada com acetona 80% (ARNON, 1949) e a quantificação foi determinada em espectrofotômetro UV/VIS marca Hitachi U-2001 (ENGEL e POGGIANI, 1991).

A determinação da biomassa das plantas foi realizada ao término do experimento. Parte aérea, incluindo folhas e caules foram secos a 65°C durante 24 horas. As raízes foram lavadas para retirada do solo e depois secas e pesadas para

TABELA 5.1 - ATRIBUTOS FÍSICOS E QUÍMICOS DOS SOLOS CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C1 E C2) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).

	C1	C2	NC
Areia (%)	28	32	38
Argila (%)	34	36	28
Silte (%)	38	28	34
pH CaCl <sub>2</sub>	6,5	4,1	4,2
Al <sup>+3</sup> (cmol dm <sup>-3</sup> )	0,0	3,6	3,5
H+Al <sup>+3</sup> (cmol dm <sup>-3</sup> )	3,2	15,2	16,3
Ca <sup>+2</sup> +Mg <sup>+2</sup> (cmol dm <sup>-3</sup> )	17,0	11,7	11,5
T	20,37	27,14	28,1
V (%)	84,29	43,99	41,99
pH SMTP	6,6	4,5	4,4
C ( g dm <sup>-3</sup> )	25,2	30,5	31,1
N (g kg <sup>-1</sup> )	1,2	1,5	2,6
C/N	19,3	20,3	11,7
P (mg/dm <sup>-3</sup> )	2,8	2,3	3,7
K (cmol dm <sup>-3</sup> )	0,17	0,24	0,3
Ca (cmol dm <sup>-3</sup> )	12,5	7,2	6,4
TPH (mg kg <sup>-1</sup> )	30029*	11901*	-

\* CARVALHO *et al.* 2003.

determinação da biomassa das raízes.

Para a determinação dos teores de nutrientes escolheu-se aleatoriamente seis plantas de cada tratamento cujas folhas foram agrupadas em três grupos com duas plantas cada (amostras mistas). A determinação do N. foi realizada por titulação segundo o processo Kjeldahl (BREMNER, 1996). O P foi determinado por colorimetria com vanadato-molibdato de amônio (DA SILVA, 1999); o K foi determinado por emissão; Ca e Mg foram determinados por absorção atômica (DA SILVA, 1999).

Os resultados foram submetidos a análise de variância utilizando o software MSTAT<sup>®</sup>. Inicialmente as variâncias dos tratamentos foram analisadas quanto a sua homogeneidade pelo teste de Bartlett. Posteriormente as variáveis foram testadas por meio do teste F. Quando a análise dos resultados indicou existir diferenças estatisticamente significantes entre médias dos tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste Tukey no nível 5% de probabilidade. Para a confecção dos gráficos e ajuste das equações de regressão e cálculo dos coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) foi utilizado o software Excel 2003 para Windows XP<sup>®</sup>.

### 5.3 RESULTADOS

Na Tabela A1.4 (Anexo 1) são apresentados os resultados da análise de variância para as variáveis de crescimento analisadas, bem como os valores de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) referentes ao teste de Bartlett. Observa-se que as variáveis analisadas apresentam variâncias homogêneas para os tratamentos.

A contaminação do solo teve efeito diferencial no crescimento de *Podocarpus lambertii* (Figuras 5.1, 5.2) sendo que o menor incremento em altura foi observado nas plantas da área C1 enquanto que as plantas das áreas C2 e NC apresentaram um crescimento estatisticamente igual ( $p > 0,05$ ) (Figura 5.2 e Figura A1.1 do Anexo I). As plantas da área C1 apresentaram uma redução de 67% na biomassa total quando comparadas com o controle (Figura 5.3). A parte aérea apresentou uma redução significativa na biomassa de 77% ao passo que a biomassa das raízes reduziram em 26%. As plantas da área C2 apresentaram um aumento significativo de 33% ( $p < 0,05$ ) na biomassa total em relação as plantas da área C1 sendo 80% o acréscimo de biomassa nas raízes e 21% o aumento de biomassa da parte aérea (Figura 5.3).

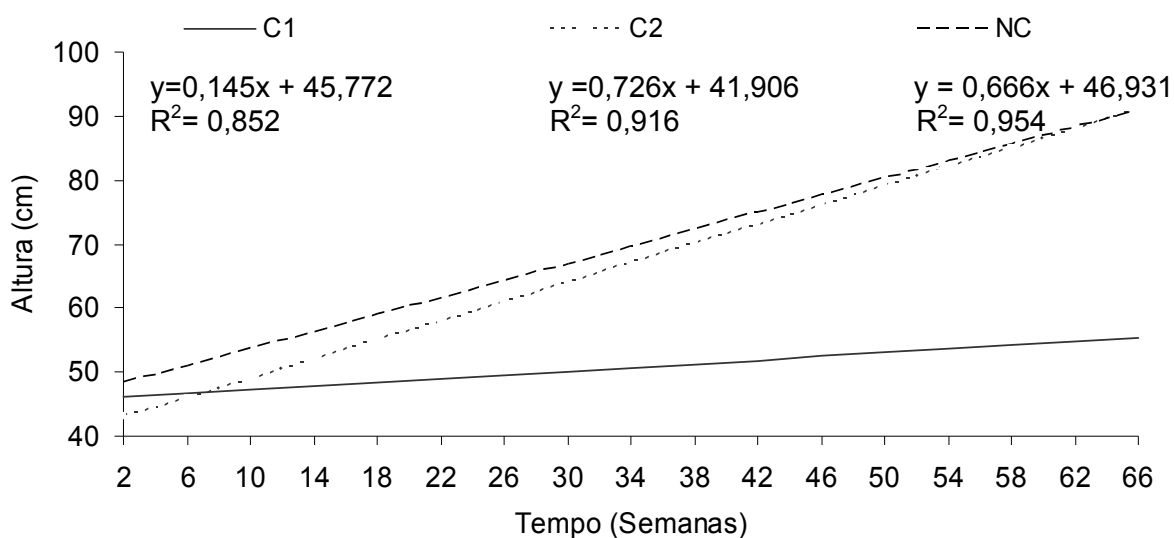


FIGURA 5.1.- CRESCIMENTO DE *Podocarpus lambertii* EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (ÁREAS C1 E C2) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).



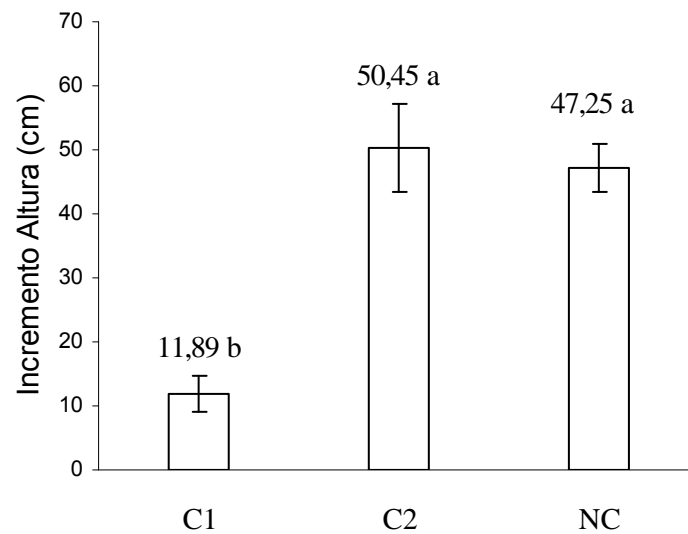


FIGURA 5.2 – INCREMENTO NA ALTURA DAS MUDAS DE *Podocarpus lambertii* EM SOLO CONTAMINADO (ÁREAS C1 E C2) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES, BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY A  $P > 0,05$ .

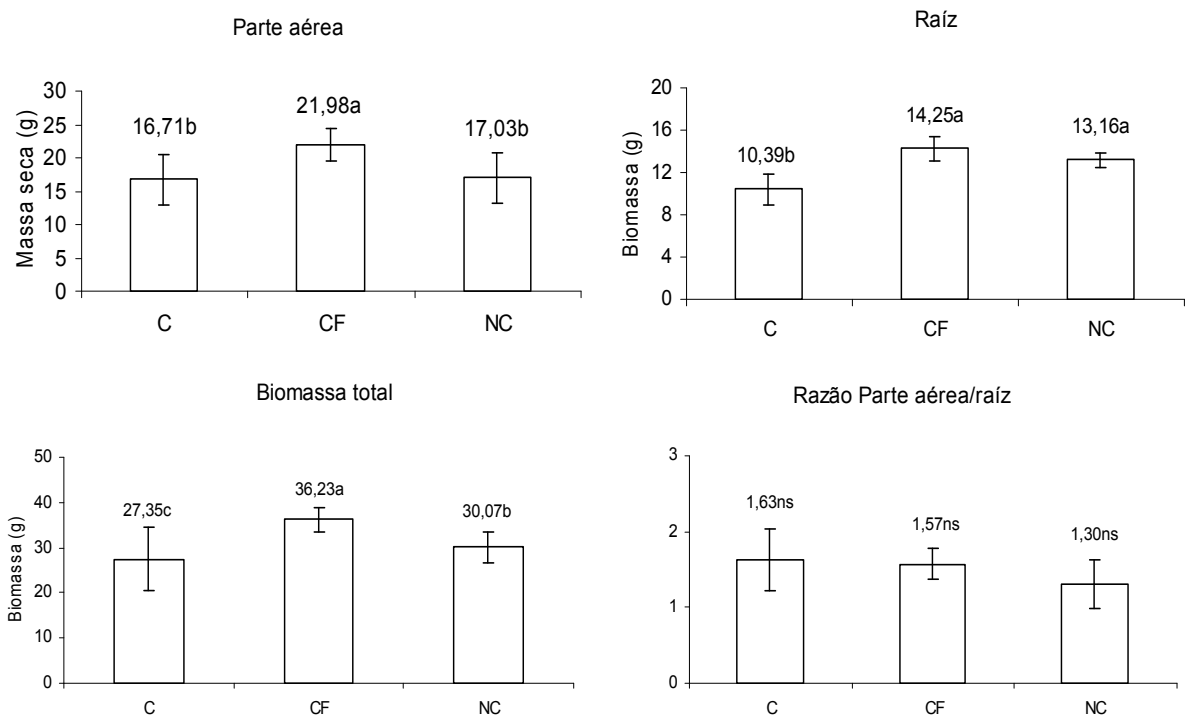


FIGURA 5.3 - PRODUÇÃO DE BIOMASSA NA PARTE AÉREA, RAIZ, BIOMASSA TOTAL E RAZÃO BIOMASSA DA PARTE AÉREA/RAIZ DE *Podocarpus lambertii* CRESCENDO EM SOLO CONTAMINADO (ÁREAS C1 E C2) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES, BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY A  $P > 0,05$ .

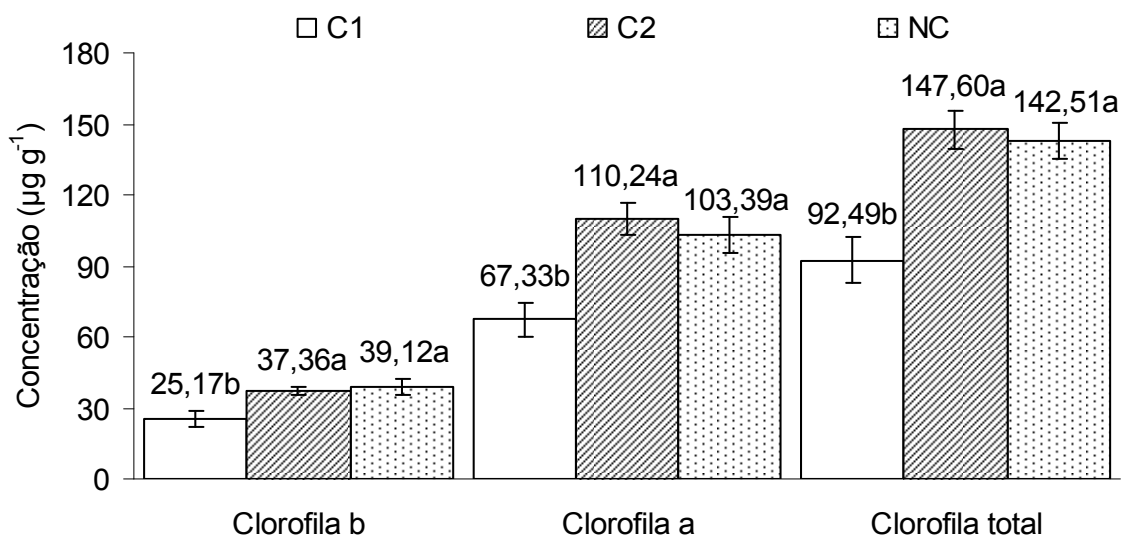


FIGURA 5.4 - PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS DE *Podocarpus lambertii* EM SOLO CONTAMINADO (ÁREAS C1 E C2) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). VALORES REPRESENTAM A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES. BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY A  $P > 0,05$ .

A razão biomassa da parte aérea/raiz de *Podocarpus lambertii* foi significativamente reduzida ( $p < 0,05$ ) pela presença dos hidrocarbonetos de petróleo (Figure 5.3 ). As plantas da área C1 tiveram uma redução significativa de 69% na razão ( $p < 0,05$ ) ao passo que, as plantas da área C2 apresentaram uma redução de 32% na razão em relação as plantas do solo não contaminado.

Os pigmentos fotossintéticos foram afetados pela contaminação do solo com hidrocarbonetos de petróleo (Figura 5.4). As plantas que cresceram na área C1 tiveram uma redução média de 35% nos teores de clorofila a, b e total quando comparadas com as plantas do controle. Por outro lado, não houve diferença estatística no teor dos pigmentos fotossintéticos entre as plantas da área C2 e as plantas do controle.

Os teores de macronutrientes analisados (Tabela 5.2) foram diferentes nas plantas das áreas contaminadas. A análise de variância para os teores de macronutrientes (bem como os valores qui-quadrado  $\chi^2$  referentes ao teste de Bartlett) são mostrados na Tabela A1.6 do Anexo 1. O teste de Bartlett revelou que as variâncias dos tratamentos são homogêneas. Não foi observada diferença estatística na concentração de nitrogênio nos tratamentos estudados apesar das

TABELA 5. 2 - CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES ( $\text{g kg}^{-1}$ ) NAS FOLHAS DE *Podocarpus lambertii* EM SOLO CONTAMINADO (ÁREAS C1 E C2) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). VALORES SÃO MÉDIAS  $\pm$  DESVIO PADRÃO PARA TRÊS AMOSTRAS MISTAS.

	N	P	K	Ca	Mg
C1	9,87 $\pm$ 1,25 a	2,03 $\pm$ 0,18 a	5,95 $\pm$ 0,52 a	21,99 $\pm$ 1,20 a	1,41 $\pm$ 0,38 b
C2	11,9 $\pm$ 2,92 a	0,71 $\pm$ 0,12 c	7,03 $\pm$ 1,21 a	15,14 $\pm$ 2,69 b	1,71 $\pm$ 0,37 b
NC	13,23 $\pm$ 2,77a	1,17 $\pm$ 0,16 b	3,69 $\pm$ 0,28 b	15,16 $\pm$ 2,93 b	2,78 $\pm$ 0,32 a

Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey a  $p > 0,05$ .

áreas contaminadas terem menores quantidades de N disponível no solo (Tabela 5.1). O teor de P nas plantas da área C1 foi aumentada em 73% e reduzido em 40% nas plantas da área C2 em relação as plantas da área não contaminada. A presença dos hidrocarbonetos no solo resultou num aumento significativo ( $p < 0,05$ ) na concentração de K nos tecidos foliares de *Podocarpus lambertii* e, por outro lado, uma redução no teor de Mg. A concentração de cálcio nas plantas da área C1 foi estatisticamente maior ( $p < 0,05$ ) em relação aos teores observados nas plantas da área NC que, por sua vez foi estatisticamente igual ( $p > 0,05$ ) a concentração de Ca observada nas plantas da área C2.

#### 5.4 DISCUSSÃO

A presença de plantas arbóreas em solos contaminados com hidrocarbonetos é rara (HOOPS *et al.*, 1988; ROBSON *et al.*, 2004), entretanto alguns estudos têm relatado que algumas espécies podem ser freqüentes nestes solos (MACKEY e DePUIT, 1985; OLSON e FLETCHER, 2000). A redução no crescimento e produção de biomassa de plantas em solo contaminado com petróleo, e seus derivados, têm sido relatada por alguns pesquisadores (CHAÎNEAU *et al.*, 1997; GALLEGOS MARTINEZ *et al.*, 2000; SOUZA, 1999; ROBSON *et al.*, 2004; MERKL *et al.*, 2004; WHITE *et al.*, 2006) sendo também confirmada para *Podocarpus lambertii* que cresceu na área C1 onde a concentração de hidrocarbonetos totais de petróleo é alta (Figuras 5.1 e 5.2). Além disso, o pH próximo da neutralidade dessa área pode também ter contribuído para o baixo crescimento dessa espécie. A redução no crescimento e biomassa das plantas em solo contaminado com hidrocarbonetos pode ser devido ao efeito tóxico das moléculas do petróleo que podem alterar a integridade da membrana plasmática das células (BAKER, 1970; REIS, 1996), à

hidrofobicidade dos solos, causando redução na absorção de água e nutrientes pelas raízes (UDO e FAYEMI, 1975), ou ainda ao estresse causado pela redução do oxigênio nestes solos (RENTZ *et al.*, 2003). A redução na biomassa das raízes das plantas que cresceram na área C1 e a baixa razão biomassa da parte aérea/ raiz sugere que as plantas se encontravam sob estresse com aumento na alocação de carbono para as raízes (Figura 5.3) e, conseqüentemente redução significativa da biomassa da parte aérea, o que já foi observado por outros pesquisadores (LI *et al.*, 1994; LI *et al.*, 1997). Quando se deseja avaliar se uma espécie têm potencial para fitorremediação, a redução da biomassa do sistema radicular deve ser a menor possível, entretanto a redução de 26% observada para as raízes de *Podocarpus lambertii* na área C1 (Figura 5.3) compromete o uso desta espécie como fitorremediadora para áreas com algo nível de contaminação. A redução das raízes afeta diretamente a extensão espacial da rizosfera o que pode comprometer a biodegradação dos hidrocarbonetos do solo pelos microorganismos (MERKL *et al.*, 2005). Outro distúrbio associado à contaminação do solo com hidrocarbonetos é a redução na infectividade das micorrizas (MILLER, 1978; JASPER *et al.*, 1989; CABELLO, 1997; LEYVAL e BINET, 1998) o que pode afetar o crescimento das plantas e este aspecto pode ter contribuído para o baixo crescimento de *Podocarpus lambertii* na área C1 (Figuras 5.1 e 5.2).

A presença de uma baixa contaminação com hidrocarbonetos pode estimular o crescimento de algumas espécies (BAMIDELE e AGBOGIDI, 2000) e isto foi observado nas plantas que cresceram na área C2 (Figuras 5.1, 5.2 e 5.3). O aumento no crescimento, biomassa e na razão biomassa da parte aérea/raiz das plantas da área C2 se deve, possivelmente, a uma resposta da planta as condições de estresse (BAKER,1970); uma estratégia visando uma maior absorção de nutrientes em solos pobres (MARSCHNER, 1995) e/ou quando as condições de contaminação do solo não são letais.

A degradação dos pigmentos fotossintéticos têm sido usada como um indicador da contaminação causado por poluentes (AGRAWALL, 1992; MALALLAH *et al.*, 1996) sendo o teor de clorofila a o que exhibe maiores alterações nas plantas crescendo em solo com hidrocarbonetos (MALALLAH *et al.*, 1998). A alta concentração de hidrocarbonetos de petróleo da área C1 gerou uma significativa redução nos teores dos pigmentos fotossintéticos de *Podocarpus lambertii* (Figura

5.4) com conseqüente menor crescimento (Figuras 5.1 e 5.2) e menor produção de biomassa (Figura 5.3). Este efeito dos hidrocarbonetos no solo sobre os pigmentos fotossintéticos já foi observado para algumas plantas herbáceas (GREEN *et al.*, 1996; ACHUBA, 2006).

Nem todas as espécies reduzem o teor de clorofila em solos contaminados com hidrocarbonetos. MALALLAH *et al.* (1998) observaram que, das quatro espécies estudadas, duas reduziram o teor de clorofila, uma espécie não exibiu nenhuma alteração e uma outra espécie apresentou um aumento significativo nos teores de clorofila a, b e total em solo contaminado com petróleo. O teor dos pigmentos fotossintéticos das plantas que cresceram na área C2 foram, estatisticamente, iguais aos das plantas que cresceram no solo não contaminado (Figura 5.4) indicando que as condições do solo não são fitotóxicas. Estes resultados indicam que deve haver algum mecanismo fisiológico que previne o efeito dos hidrocarbonetos sobre os pigmentos fotossintéticos. As plantas da área C2 apresentaram um aumento na biomassa (Figura 5.3) com maior ramificação das plantas, mas não houve alteração do incremento na altura (Figura 5.2).

O conteúdo de macronutrientes nas plantas é função de vários fatores sendo que, os mais importantes são a espécie, condições climáticas e solo. Qualquer alteração nestes fatores pode modificar o conteúdo de nutrientes (WYSZKOWSKI e WYSZKOWSKA, 2005). A presença de hidrocarbonetos no solo conduz a uma redução na absorção de nutrientes (UDO e FAYEMI, 1975; AMADI *et al.*, 1993; XU e JOHNSON, 1997) seja devido às mudanças físico-químicas do solo causadas pelo poluente (LI *et al.*, 1997; MARTINEZ e LÓPEZ, 2001) e/ou aumento na atividade de microorganismos do solo, gerando uma competição entre os microorganismos e as plantas pelos nutrientes disponíveis (GARDNER *et al.*, 1984). XU e JOHNSON (1997) observaram que absorção de N em solo contaminado com hidrocarbonetos varia com a espécie sendo significativamente reduzida em *Pisum arvense* e não tendo efeito algum em *Hordeum vulgare*. O teor de N pelas mudas de *Podocarpus lambertii* não apresentou alteração entre as plantas que cresceram nas áreas contaminadas e na área não contaminada (Tabela 5.2). Estes resultados indicam que a absorção de N não foi sensível ao conteúdo de hidrocarbonetos no solo.

O efeito dos hidrocarbonetos sobre a absorção do fósforo é contraditório. Alguns autores têm relatado que a presença de hidrocarbonetos de petróleo no solo

reduz a absorção de P (AMADI *et al.*, 1993). Por outro lado, a absorção de P pode ser estimulada pelos hidrocarbonetos do petróleo (WYSZKOWSKI *et al.*, 2004). As plantas de *Podocarpus lambertii* apresentaram um aumento significativo na concentração de P nos tecidos foliares, provavelmente devido ao pH mais próximo da neutralidade da área C1 o qual favoreceu a disponibilidade desse nutriente (MARTINI e MUTTERS, 1989). Nas condições de pH mais baixos (áreas C2 e NC) a presença dos hidrocarbonetos no solo resultou em menor concentração de P nas folhas da espécie estudada (Tabela 5.2).

A absorção de Ca foi estatisticamente igual entre as plantas das áreas C2 e NC e resultados semelhantes já foram relatados por DIMITROV e MITOVA (1998) em solo contaminado com óleo diesel. Quando o solo apresentou uma maior disponibilidade de Ca (área C1) ocorreu um aumento significativo no teor desse nutriente nas folhas de *Podocarpus lambertii* (Tabela 5.2).

O grau de contaminação com hidrocarbonetos das áreas C1 e C2 não afetaram os teores de K e Mg nas folhas de *Podocarpus lambertii* (Tabela 5.2) sendo que as plantas das áreas contaminadas apresentaram um aumento significativo na concentração de K e redução na concentração de Mg em relação às plantas do solo não contaminado. A absorção de potássio é reduzida em solo contaminado com petróleo (AMADI *et al.*, 1993) e aumentada em solo contaminado com óleo diesel (WYSZKOWSKI *et al.*, 2004). Estes mesmos autores observaram que à medida que ocorria um aumento na concentração de óleo diesel no solo, ocorria simultaneamente um incremento na absorção de Mg, principalmente associado à baixa disponibilidade de N no solo.

As pesquisas sobre o efeito de hidrocarbonetos na vegetação bem como a remediação dos solos teve grande interesse a partir de 1989 com o acidente do Exxon Valdez (MARGESIN e SCHINNER, 1997), entretanto há poucos trabalhos relacionando o efeito dos hidrocarbonetos no solo sobre o crescimento e a absorção de nutrientes pelas plantas, particularmente plantas arbóreas. *Podocarpus lambertii* exibe grande potencial para revegetar áreas contaminadas com baixos níveis de hidrocarbonetos. Entretanto há necessidade de outros trabalhos visando compreender se o crescimento de *Podocarpus lambertii* contribui com a descontaminação dos solos. Além disto, há necessidade de outros trabalhos

avaliando o crescimento de outras espécies arbóreas em solos contaminados com hidrocarbonetos.

## 5.5 REFERÊNCIAS

ACHUBA, F. The effects of sublethal concentrations of crude oil on the growth and metabolism of cowpea (*Vigna unguiculata*) seedlings. **The Environmentalist**, Ontario, v. 26, n.1, p.17-20, 2006.

ADAM, G. AND DUNCAN, H. The effect of diesel fuel on common vetch (*Vicia sativa* L.) plants. **Environ. Geochem. Health**, Dordrecht, v. 25, n.1, p.123-130, 2003.

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

AMADI A, DICKSON, A. A.; MAATE, G. O. Remédiation of soil Polluted soils: 1. Effect of organic and inorganic nutrient supplements of performance of maize (*Zea may* L.). **Water, Air and soil Pollution**, Ontario, v.66, v.1-2, p.59-76, 1993.

ARNON, D. I. Cooper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Hanover, v. 24, n.1, p.1-15,1949.

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

BAMIDELE, J.F.; AGBODIGI, O.M. (2000) Toxic of odidi petroleum oil and its water soluble faction on three aquatic macrophytes, **Nigerian Journal of Science and Environment**, Zaria, v.2, n.1, p.113–121.

BENKA-COKER, M. O.; EKUNAYO, J.A. 1995. Effects of an oil spill on soil physico-chemical properties of a spil site in the Niger delta area of Nigeria. **Environ. Monit. Asses.**, Cambridge, 36, n.1,93-104.

BREMNER, J.M. Nitrogen-Total. *In-* Sparks, D. L. **Methods of Soil Analysis, Chemical Methods**. Madison: SSSA Book Series. 1996. p.1085-1121.

CABELLO, M.N. Hydrocarbon pollution: its effect on native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). **FEMS Microbiol. Ecol.**, Rotterdam, v. 22, n.3, p. 233-236, 1997.

CARVALHO, F.J.P. DE C.; CASTRO, R.A.; ABDANUR, A.; KRENCZYSKI, M.C.; TEIXEIRA, S.C.; CONEGLIAN, D. **Relatório sobre o monitoramento e remediação do solo contaminado**. Curitiba. Relatório Técnico- Repar/SMS.2003, 140 pp.

CHAÎNEAU, C.H.; MOREL, J.L. AND OUDOT, J. Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. **J. Environ. Qual.**, Madison, v. 26, n.6, p.1478-1483, 1997.

CHUPAKHINA, G.N.; MASLENNIKOV, P.V. Plant adaptation to oil stress. **Russian J. of Ecology**, Yekaterinburg, v.35, n.6, p.290-295, 2004.

CUNNINGHAM, S. D.; ANDERSON, T. A.; SCHWAB, D. E.; ANDERSON, T. A. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Adv. Agron.**, New York, v. 56, p. 55-114, 1996.

CUNNINGHAM, S.D.; OW, D. W. Promises and Prospects of Phytoremediation. **Plant Physiology**, Bethesda, v.110, n.3, p.715-719, 1996.

DA SILVA, F.C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa solos, 1999. 370p.

DIMITROV, D.N.; MITOVA, I.G. Behaviour of chemical elements in plant species growing in Alluvial-Meadow soil (fluvisol) contaminated by oil products. **Bulgarian J. of Agric. Sci.**, Sofia, v.4, n.5, p. 591-598, 1998.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Rev. Bras. Fisiol. Vegetal**, Campinas, v. 3, n.1, p. 39-45, 1991.

GALEGOS MARTÍNEZ, M.; GÓMEZ SANTOS, A.; GONZÁLES CRUZ, L.; MONTES DE OCA GARCÍA, M. A.; YANEZ TRUJILLO, L.; ZERMENO EGUIA LIZ, J. A.; GUTIÉRREZ-ROJAS, M. Diagnostic and resulting approaches to restore petroleum-contaminated soil in a Mexican tropical swamp. **Water Sci. Technol.**, v. 42, n.5-6, p. 377-384, 2000.

GARDNER, F. O.; PEARCE, R. B.; MITCHELL, R. L. **Physiology of crop plants**. Ames: Iowa Univ. Press, 1984. 98-131 p.

GREEN, B. T.; WIBERG, C. T.; WOODRUFF, J. L.; MILLER, E. W.; POAGE, V. L.; CHILDRESS, D. M.; FEUINER, J. A.; PROSCH, S. A.; RUNKEL, J. A. WANDERCHEID, 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**, Paris, v .36, n.3, p. 313-321, 1996.

HOOBS, R. J.; GULMON, S. L.; HOOBS, R. J.; MOONEY, H. A. Effects of fertilizer addition and subsequent gopher disturbance on a serpentine annual grassland community. **Oecologia**, Berlin, v. 75, n.2, p. 291-295, 1988.

INFANTE, C.P.; VÁSQUES, P.; LIPPKE, M. Petróleo y ambiente. **Visión Tecnológica**, Edición Especial, p.99-104, 1999.

JASPER, D.A.; ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. Soil disturbance reduces the infectivity of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytol.**, Sheffield, v.112, n.1, p.93-99, 1989.



JORDAHL, J.L.; FOSTER, L.; SCHNOOR, J.L.; ALVAREZ, P.J.J. Effect of hybrid poplar trees on microbial populations important to hazardous waste bioremediation. **Env. Toxic. Chemistry**, Lawrence, v.16, n.6, p. 1318-1321, 1997.

LEYVAL, C.; BINET, P. Effect of polyaromatic hydrocarbons in soil on arbuscular mycorrhizal plants. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.27, n.2, p. 402-407. 1998.

LI, X.; FENG, Y.; BOERSMA, L. Partition of photosynthates between shoot and root in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) as a function on soil water potential and root temperature. **Plant Soil**, Rotterdam, v.164, n.1, p.43-50, 1994.

LI, X.; FENG, Y.; SAWATSKY, N. Importance of soil-water relations in assessing the endpoint of bioremediated soils. **Plant soil**, Rotterdam, v.192, n.2, p. 219-226, 1997.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas de Brasil**. Nova Odessa: Plantarum. 1992. 352 p.

MACKEY, C.V; DePUIT, E. J. Natural revegetation of surface-deposited spent oil shale in Colorado. **Reclam. Reveg. Res.**, Amsterdam, v. 4, n.1, p. 1-16,1985.

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

MALALLAH, G.; AFZAL, M.; MURIN, G.; MURIN, A.; ABRAHAM, D. Genotoxicity of oil pollution of some species of Kuwaiti flora. **Biologia**, Bratislava, v.52, n.1, p. 61-70, 1997.

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

MARGESIN, R AND SCHINNER, F. Laboratory bioremediation experiments with soil from a diesel-oil contaminated site – significant role of cold-adapted microorganisms and fertilizers. **J. of Chem. and Biotecnol.**, Hoboken, v.70, n.1, p. 92-98, 1997.

MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition on higher plants**. London: Academic Press.1995, 902 p.

MARTINEZ, V.E.; LÓPEZ, M.F. Efecto de hidrocarburos em lãs propiedades físicas y químicas de suelo argiloso. **Terra**, v. 19, n.1, 9-16, 2001.

MARTINI, J.A.; MUTTERS, R.G. Soybean root growth and nutrient uptake as affected by lime rates and plant age: I. Al, Mn, P and S. **Turrialba**, v.39, n.1, p.18-24, 1989.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Phytoremediation in the tropics-The effect of crude oil on the growth of tropical plants. **Bioremediation J**, Philadelphia, .v.8, n.1, p. 177-184, 2004.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils. **Water, Air, and soil Pollution**, Ontario, v.165, n.2, p. 195-209, 2005.

MILLER, R.M. Some occurrences of vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural and disturbed ecosystems of the Red Desert. **Can. J. Bot.**, Guelph, v.57, n.5, p. 619-623, 1978.

NEWMAN, L.A.; REYNOLDS, C.M. Phytodegradation of organic compounds. **Curr. Opinion in Biotechnology**, Danvers, v. 15, n.3,225-230, 2004.

OLSON, P. E.; FLETCHER, J.S. Ecological recovery of vegetation at a former industrial sludge basin and its implications for phytoremediation. **Environ. Sci. Pollut. Res. Int.**, Philadelphia, v. 7, n.1, p.195-204, 2000.

REIS, J.C. **Environmental control in petroleum Engineering**. Houston: Gulg Prof. Publ. 1996. 400p.

REITZ, R., KLEIN, R. M., REIS, A. Projeto madeira do Rio Grande do Sul. **Sellowia**, Itajaí, v. 34/35, p.106-108, 1983.

RENTZ, J.A.; CHAPMAN, B. ALVAREZ, P.J.J; SCHNOOR, J.L. Stimulation of hybrid poplar growth in petroleum-contaminated soils through oxygen addition and soil nutrient amendments. **Int. J. Phytorem.**, Amherst, v.5, n.1, p. 57-62, 2003.

ROBSON, D.B.; KNIGHT, J.D.; FARRELL, R.E. AND GERMIDA, J.J. Natural revegetation of hydrocarbon-contaminated soil in semi-arid grasslands. **Can. J. Bot.**, Ottawa, v.82, n.1,22-30, 2004.

SOUZA, S. L. **Revegetação de área de biorremediação contaminada por resíduos oleosos de petróleo**. Curitiba, 1998, 101 f. Tese (Mestrado em Ciências Florestais). Universidade Federal do Paraná, Brasil.

SUOMINEN, L.; JUSSILA, M. M.; MAKELAINEN, K.; ROMANTSCHUK, M.; LINDSTROM, K. Evaluation of the Galega – *Rhizobium galegae* system for the bioremediation of oil-contaminated soil. **Environmental Pollution**, London, v.107, n.2, p. 239-244, 2000.

TISCHER, R.; HUBNER, T. Model trials for phytoremediation of hydrocarbon-contaminated sites by the use of different plant species. **Int. J. of Phytorem.**, Amherst, v.4, n.3, p.197-203, 2002.

UDO, E. J.; FAYEMI, A. A. A. The effect of oil pollution of soil on germination, growth and nutrient uptake of corn. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.4, n.2, p. 537-540, 1975.

WHITE JR., P. M.; WOLF, D. C.; THOMA, G.J.; REYNOLDS, C.M. Phytoremediation of alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons in a crude oil contaminated soil. **Water, Air and soil pollution**, Ontario, v.169, n.1-4, p. 207-220, 2006.

WYSZKOWSKI, M.; WYSZKOWSKA, J.; ZIÓLKOWSKA, A. Effect of soil contamination with diesel oil on yellow lupine yield and macroelements content. **Plant Soil Environ.**, Olsztyn, v.50, n.2, p. 218-226, 2004.

WYSZKOWSKI, M.; WYSZKOWSKA, J. Effect of enzymatic activity of diesel oil contaminated soil on the chemical composition of oat (*Avena sativa* L.) and maize (*Zea mays* L.). **Plant Soil Environ.**, Olsztyn, v.51, n.2, p.360-367, 2005.

VASUDEVAN, N.; RAJARAM, P. Bioremediation of oil sludge-contaminated soil. **Environmental International**, Cumbria, v.26, n.5-6, p.409-411, 2001.

XU J.C.; JOHNSON, R.L.; YEUNG, P.Y.; WANG, Y. Nitrogen transformation in oil-contaminated, Bioremediated, solvent-extracted and uncontaminated soils. **Toxicol. Environ. Chem.**, Ottawa, v.47, n.1, p. 109-118, 1995.

XU J.C.; JOHNSON, R.L. Nitrogen dynamics in soil with different hydrocarbons contents planted to barley and field pea. **Can. J. of soil Sci.**, Lethbridge, v.77, n.3, p. 453-458, 1997.

## 6 CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES E CRESCIMENTO DE *Podocarpus lambertii* KLOTZ. EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO.

### RESUMO

É pouco conhecido o efeito do solo contaminado com hidrocarbonetos sobre o crescimento de espécies florestais. O presente estudo teve o objetivo de estudar qual o efeito do solo contaminado com petróleo e solo contaminado com petróleo e adubado com NPK no crescimento e desenvolvimento de mudas de *Podocarpus lambertii*. O experimento foi montado e conduzido em casa de vegetação. O experimento teve três tratamentos: solo contaminado com hidrocarbonetos; solo contaminado com hidrocarbonetos e adubado com NPK e solo não contaminado. O solo contaminado com hidrocarbonetos apresenta um teor de TPH de 12559 mg kg<sup>-1</sup>. Cada tratamento teve oito repetições que foram monitoradas durante 58 semanas com medições mensais da altura das plantas. No final do experimento determinou-se a biomassa da parte aérea e da raiz, teor de pigmentos fotossintéticos e teor de macro e micronutrientes. *Podocarpus lambertii* mostrou ser sensível ao contaminante no solo com redução no crescimento, biomassa, pigmentos fotossintéticos sendo estes efeitos parcialmente minimizados pela adubação com P e K no solo contaminado. Sob o ponto de vista nutricional, a presença do contaminante reduziu os teores de N, P, Mg, Fe e Zn e por outro lado, a adubação com NPK no solo contaminado aumentou os teores de N, P, Fe e Zn. A presença do contaminante não afetou os teores de Cu e aumentou os teores de Mn.

Palavras-chave: *Podocarpus lambertii*; crescimento; fitotoxicidade, petróleo, nutrição.

### 6.1 INTRODUÇÃO

O petróleo é constituído de uma mistura de hidrocarbonetos e alguns metais pesados (OVERTON *et al.*, 1994). Muitos dos componentes do petróleo são fitotóxicos (SPARROW e SPARROW, 1988; AMADI *et al.*; 1996; KUCHARSKI e WYSZKOWSKA 2001; ALKIO *et al.*, 2005) sendo os mecanismos de toxidez não totalmente conhecidos. O estresse causado pelos hidrocarbonetos do petróleo nas plantas induz a uma resposta complexa e multifatorial onde o estresse hídrico, anaeróbico, químico e físico podem estar ocorrendo (BAKER, 1970; ROY *et al.*,

2003; ALKIO *et al.*, 2005; PENA-CASTRO *et al.*, 2006). A severidade do dano depende da sensibilidade das espécies, do tipo de petróleo, tipo de hidrocarbonetos, da quantidade de óleo no solo, tipo de ecossistema, índice pluviométrico, temperatura, e topografia (CUNNINGHAM *et al.*, 1996).

O efeito da contaminação com petróleo sobre as plantas inclui redução no crescimento e biomassa (BAKER, 1970; EKUNDAYO *et al.*, 2001; MERKL *et al.*, 2005), acúmulo de metais pesados (AMADI *et al.*, 1993; EKUNDAYO *et al.*, 2001; WYSZKOWSKI e WYSZKOWSKA, 2005), redução nos pigmentos fotossintéticos e fotossíntese (MALALLAH *et al.*, 1996; PEZESHKI *et al.*, 2001), redução na disponibilidade e absorção de nutrientes (OKOLO *et al.*, 2005).

Recentemente, o estudo dos efeitos do petróleo sobre a vegetação tem recebido grande atenção devido ao uso das plantas e dos microorganismos associados na degradação dos hidrocarbonetos dos solos contaminados (SARKAR *et al.*, 2005; PILON-SMITS, 2005). Esta tecnologia é denominada Fitorremediação (CUNNINGHAM *et al.*, 1996; BANKS *et al.*, 2000) e utiliza diferentes mecanismos para remediar os contaminantes incluindo fitovolatilização, fitoestabilização, fitodegradação, fitoacumulação e degradação na rizosfera (PILON-SMITS, 2005). Uma barreira à ampla utilização da fitorremediação é que poucas plantas são capazes de crescer e promover a redução da contaminação (ROBSON *et al.*, 2004). Em áreas onde a contaminação com hidrocarbonetos de petróleo é alta, a vegetação é usualmente pouca ou ausente (SUOMINEN *et al.*, 2000), entretanto algumas plantas anuais podem sobreviver e crescer em solos contaminados (ROBSON *et al.*, 2004).

A disponibilidade dos nutrientes nos solos contaminados pode afetar a remediação (LIN e MENDELSSOHN, 1998). A presença de hidrocarbonetos de petróleo no solo afeta os componentes bióticos e abióticos do ecossistema (MALASCHOWKA-JUTSZ *et al.*, 1997) e disponibiliza grande quantidade de compostos orgânicos que poderão ser oxidados pelos microorganismos (ALEXANDER, 1995; TATE, 1997; HUTCHINSON *et al.*, 2001). A maior disponibilidade de fonte de energia nos solos contaminados resulta num aumento da população de microorganismos com aumento no consumo de nutrientes para o crescimento celular (TATE, 1997). Deste modo, nos solos contaminados com hidrocarbonetos, as plantas e os microorganismos competem pelos nutrientes

disponíveis (GARDNER *et al.*, 1984). Um meio de minimizar esta competição é o fornecimento de nutrientes para que os microorganismos quebrem as moléculas orgânicas (ODOKAMA e DICKSON, 2003). De um modo geral, a biorremediação de solos contaminados é aumentada com adição de nutrientes inorgânicos (WARWORTH *et al.*, 1997). Geralmente nitrogênio é o nutriente limitante ao crescimento e, deste modo, necessário em altas concentrações (ALEXANDER, 1995) o que gera um aumento da biomassa das plantas e microorganismos (XU e JOHNSON, 1997; WHITE JR. *et al.*, 2006). Além do nitrogênio, a adição de fósforo e potássio são importantes para o crescimento das plantas cultivadas em solos contaminados com compostos orgânicos (BOYLE e SHANN, 1988) devido, de um modo geral, ao fósforo encontrar-se em baixa concentração no solo (CORRÊA e HAAG, 1993) e o potássio ser importante nos processos relacionados à fotossíntese, aumento na translocação (MARSCHNER, 1995), além de minimizar o estresse hídrico (DOUGLAS, 1985; EGILLA *et al.*, 2005), o que pode ocorrer nos solos contaminados com petróleo (ROY *et al.*, 2003). O fornecimento de nutrientes aumenta a degradação dos hidrocarbonetos (LIN e MENDELSSOHN, 1998; HUTCHINSON *et al.*, 2001) resultando no aumento da mineralização de carbono (RASIAH *et al.*, 1992).

Apesar de haver alguns trabalhos relacionando fertilização e solos contaminados com petróleo para algumas espécies herbáceas, pouco se conhece sobre os efeitos do solo contaminado sobre as espécies tropicais arbóreas, bem como se há espécies que possam ser utilizadas na limpeza das áreas contaminadas (GALEGOS MARTÍNEZ *et al.*, 2000; MERKL *et al.*, 2004). Além disto, há poucos trabalhos relacionando o efeito da fertilização em relação ao aumento da fertilidade dos solos visando sustentar o desenvolvimento de espécies vegetais arbóreas em solo contaminado com hidrocarbonetos. Deste modo, esse estudo fornece informações sobre o efeito do solo contaminado com petróleo e da suplementação com nitrogênio, fósforo e potássio no crescimento e teor de nutrientes de *Podocarpus lambertii* Klotz., espécie pertencente à família Podocarpaceae e frequentemente usada na recomposição de áreas degradadas (LORENZI, 1992).

## 6.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os solos contaminado (latitude S25°34'41,6'', longitude WO S49°21'31,5'') e não contaminado (latitude S25°34'52,7'', longitude WO 49°21'24,2'') foram coletados de 0 a 20cm de profundidade na Refinaria Presidente Getúlio Vargas, situada no município de Araucária – PR - Brasil. O solo contaminado foi obtido das áreas atingidas pelo vazamento ocorrido em julho de 2000. Os solos contaminado e não contaminado são classificados, de acordo com a textura, em muito argiloso (solo contaminado com petróleo) e argiloso (solo não contaminado) (LEPSCH, 1991). Alguns atributos físicos e químicos dos solos utilizados encontram-se na Tabela 6.1. A concentração de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) dos solos contaminados é de 12559 mg kg<sup>-1</sup>, segundo CARVALHO *et al.* (2003).

Após coleta, os solos foram transferidos para casa de vegetação com nebulização automática. O experimento foi conduzido no período de dezembro de 2001 a março de 2003. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado de três tratamentos e oito repetições totalizando 24 unidades experimentais. Os tratamentos foram: solo contaminado com hidrocarbonetos (C), solo contaminado hidrocarbonetos e adubado com nitrogênio, fósforo e potássio (CF) e solo não contaminado (NC). Cada repetição foi conduzida em sacos plásticos com 5 kg de

TABELA 6.1 - ATRIBUTOS FÍSICOS QUÍMICOS DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).

	C	CF	NC
Areia (%)	6	6	23
Argila (%)	75	75	57
Silte (%)	19	19	20
pH	4,5	4,6	5,0
Al <sup>+3</sup> (cmolc dm <sup>-3</sup> )	1,2	2,9	0
H+Al <sup>+3</sup> (cmol dm <sup>-3</sup> )	10,5	13,1	5,8
Ca <sup>+2</sup> + Mg <sup>+2</sup> (cmolc dm <sup>-3</sup> )	12,4	12	13,9
V (%)	54,7	48,5	70,9
C (g dm <sup>-3</sup> )	38,3	34,1	27,5
N (g kg <sup>-1</sup> )	3,2	2,9	1,1
C/N	12	11,8	25
P (mg dm <sup>-3</sup> )	6,5	7	4,6
K (cmolc dm <sup>-3</sup> )	0,28	0,32	0,21
Ca (cmolc dm <sup>-3</sup> )	6,8	7,2	7,7
Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	184	197	115
Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	214	142,7	122,7

solo. Para o tratamento CF, adicionou-se 57,2 mg de N e 228,8 mg de P por saco plástico sendo que, utilizou-se o mono amônio fosfato (MAP) como fonte de N e P. Para suplementação de potássio utilizou-se o KCl sendo adicionado 31,2 mg de K por unidade experimental. Mudanças de *Podocarpus lambertii* com seis meses e altura média de 12 cm foram utilizadas neste experimento, sendo plantadas uma muda em cada recipiente

O crescimento e desenvolvimento das plantas foi avaliado através de medições da altura, produção de biomassa e teor de pigmentos fotossintéticos. Para avaliação da altura das mudas, essas foram monitoradas durante 58 semanas através de medições mensais da altura da base do caule até a gema apical do eixo principal.

Ao término do experimento, uma folha verde e adulta do eixo principal de cada um dos oito indivíduos de cada tratamento foi coletada e utilizada para quantificação dos pigmentos fotossintéticos. A extração dos pigmentos foi realizada com acetona 80% (ARNON, 1949) e a quantificação foi determinada em espectrofotômetro UV/VIS (ENGEL e POGGIANI, 1991).

A determinação da biomassa das plantas foi realizada ao término do experimento. Parte aérea, incluindo folhas e caules foram secos a 65°C durante 24 horas para a determinação da biomassa da parte aérea. Raízes foram lavadas para retirada do solo e depois secas e pesadas para determinação da biomassa.

Para a determinação dos teores de nutrientes escolheram-se aleatoriamente seis plantas de cada tratamento que foram agrupadas em três grupos. Cada grupo teve igual quantidade de folhas secas a 65°C até peso constante (DA SILVA, 1999). A determinação de nitrogênio (N) foi realizada por titulação segundo o processo Kjeldahl (BREMNER, 1996). A quantificação de fósforo (P) foi determinada por colorimetria com vanadato-molibdato de amônio (DA SILVA, 1999) e o K foi determinado por emissão. Os demais nutrientes, ou seja, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu e Zn foram determinados por absorção atômica (DA SILVA, 1999)

Os resultados obtidos para as variáveis do crescimento e teores de nutrientes foram submetidos à análise de variância utilizando o software MSTAT<sup>®</sup>. Inicialmente as variâncias dos tratamentos foram analisadas quanto a sua homogeneidade pelo teste de Bartlett. Posteriormente as variáveis foram testadas por meio do teste F. Quando a análise dos resultados indicou existirem diferenças estatisticamente



significantes entre médias dos tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste Tukey no nível 5% de probabilidade. Para a confecção dos gráficos, ajuste das equações de regressão e cálculo dos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) foi utilizado o software Excel 2003 para Windows XP®.

### 6.3 RESULTADOS

Na Tabela AII.3 (Anexo 2) são apresentados os resultados da análise de variância para as variáveis de crescimento analisadas, bem como os valores de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) referentes ao teste de Bartlett. Observa-se que as variáveis analisadas apresentam variâncias homogêneas para os tratamentos.

O crescimento das mudas de *Podocarpus lambertii* em solo contaminado com petróleo (Figura AII.1 do Anexo II) apresentou redução significativa ( $p < 0,05$ ) de 11% em relação às plantas do solo não contaminado (Figuras 6.1 e 6.2). A adubação com NPK no solo contaminado aumentou a altura das plantas ( $p < 0,05$ ) em 17% quando comparada com as plantas do solo contaminado, entretanto, não foi observada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre a altura destas plantas e as plantas que cresceram no solo não contaminado (Figuras 6.1 e 6.2).

A presença dos hidrocarbonetos no solo não afetou a biomassa da parte aérea das mudas de *Podocarpus lambertii* (Figura 6.3), mas reduziu em 21% e 9% a biomassa das raízes e biomassa total das plantas, respectivamente. Por outro lado, a adição de nutrientes no solo contaminado resultou num aumento significativo ( $p < 0,05$ ) de 24% na biomassa da parte aérea, 8% da raiz e 20% na biomassa total (Figura 6.3) quando comparados com as plantas do solo não contaminado.

Os teores dos pigmentos fotossintéticos das folhas de *Podocarpus lambertii* foram significativamente afetados ( $p < 0,05$ ) pelo petróleo no solo. Os teores de clorofila a, b e total nas folhas das plantas do solo contaminado reduziram em 34%, 29% e 32% respectivamente (Figura 6.4) quando comparados com as plantas do solo não contaminado. A adubação com NPK no solo contaminado com petróleo aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) os teores dos pigmentos fotossintéticos das plantas. Entretanto, os valores observados para os pigmentos foram estatisticamente menores ( $p < 0,05$ ) que os observados nas plantas que cresceram no solo não contaminado. O pigmento fotossintético mais afetado pela bioestimulação com NPK no solo contaminado foi a clorofila a onde observou-se um

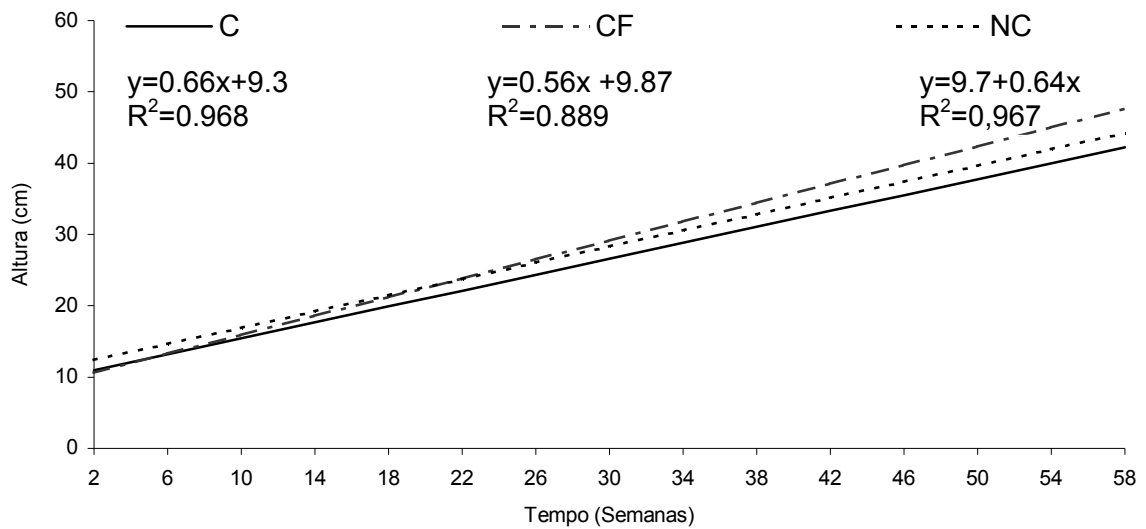


FIGURA 6.1 - CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE *Podocarpus lambertii* NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).

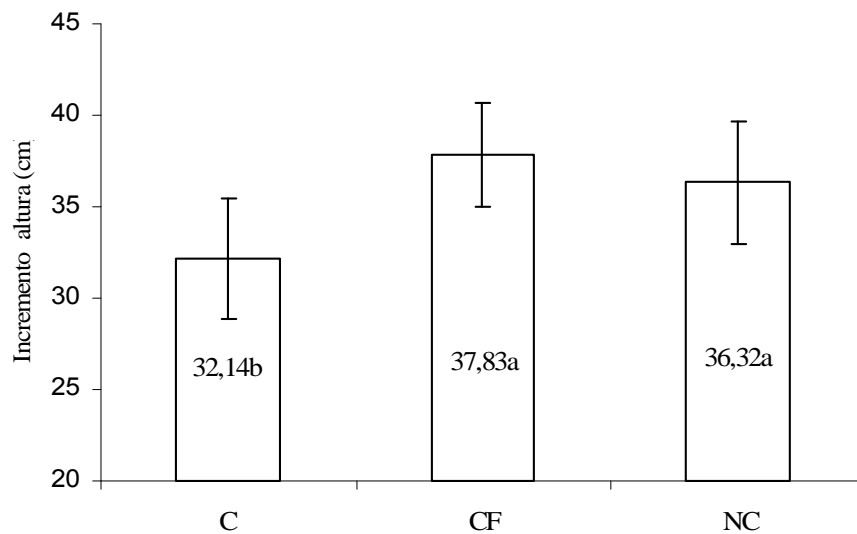


FIGURA 6.2 - INCREMENTO EM ALTURA DAS PLANTAS DE *Podocarpus lambertii* EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES, BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY A  $P > 0,05$ .

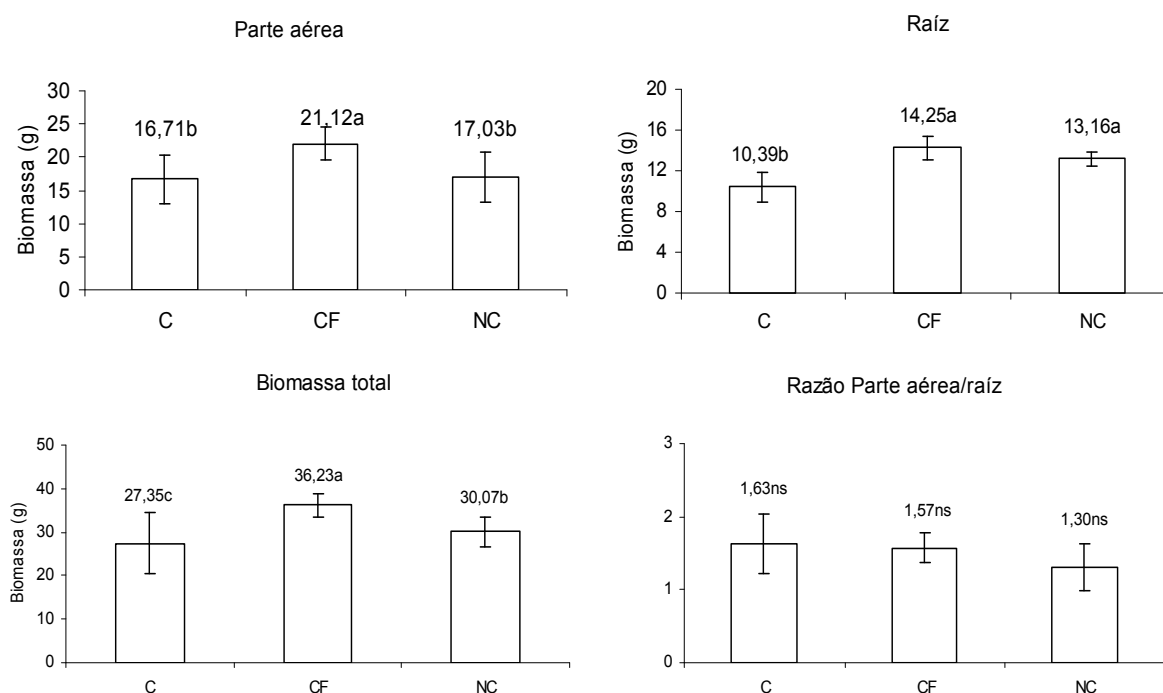


FIGURA 6.3 - PRODUÇÃO DE BIOMASSA NAS PLANTAS DE *Podocarpus lambertii* EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES, BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. NS – NÃO SIGNIFICATIVO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY A  $P > 0,05$ .

aumento de 19% no teor desse pigmento quando comparado com as plantas do solo contaminado (Figura 6.4).

A análise de variância para os teores de nutrientes, bem como os valores qui-quadrado referentes ao teste de Bartlett, são mostrados na Tabela AII.5 do Anexo II. A presença dos hidrocarbonetos no solo reduziu ( $p < 0,05$ ) a concentração de N (33%), P (35%), Fe (49%) e Zn (25%) (Tabela 6.2). Por outro lado, os teores de K e Ca não foram afetados pelo contaminante ( $p > 0,05$ ). A adubação com NPK no solo contaminado com petróleo resultou, de um modo geral, num aumento nas concentrações de nutrientes nas folhas de *Podocarpus lambertii*. Os teores de N, P, K e Zn foram significativamente aumentados ( $p < 0,05$ ) e foram estatisticamente iguais ( $p > 0,05$ ) aos observados nas plantas do solo não contaminado (Tabela 6.2).

As plantas do solo contaminado com hidrocarbonetos apresentaram uma redução de 49% no teor de Fe e, a adição de NPK no solo contaminado aumentou em 102% a concentração deste nutriente em relação às plantas do solo

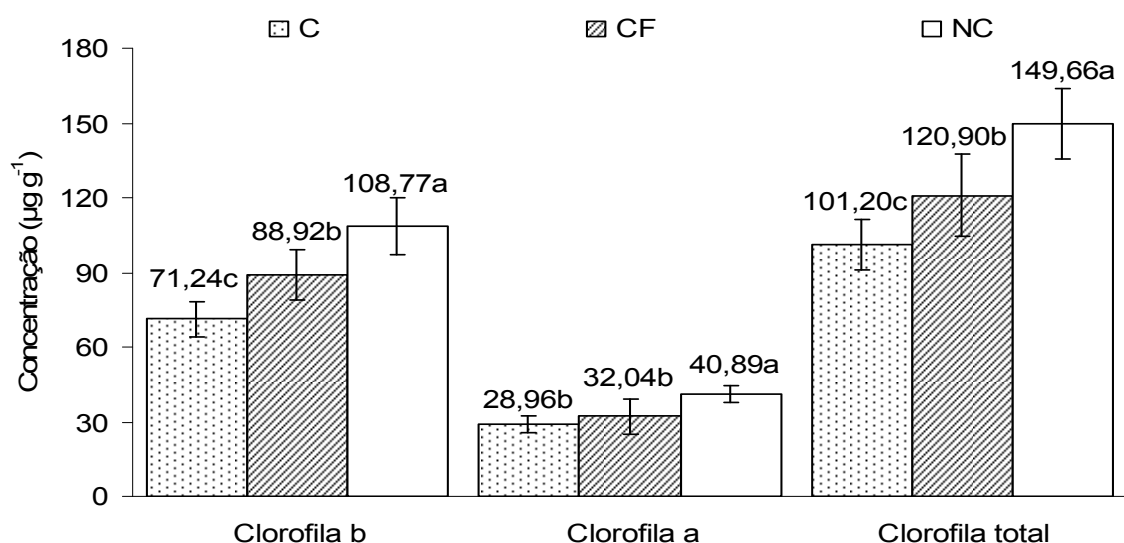


FIGURA 6.4 - CONCENTRAÇÃO DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS NAS FOLHAS DE *Podocarpus lambertii* QUE CRESCERAM NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES; BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAS A  $P > 0,05$  PELO TESTE TUKEY.

TABELA 6.2 - CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES NAS FOLHAS DE *Podocarpus lambertii* QUE CRESCERAM NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM ADUBAÇÃO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). VALORES REPRESENTAM MÉDIA  $\pm$  DESVIO PADRÃO DE TRÊS REPETIÇÕES.

	C	CF	NC
N <sup>1</sup>	7,133 $\pm$ 0,74b	10,033 $\pm$ 0,90a	10,733 $\pm$ 0,59a
P <sup>1</sup>	1,050 $\pm$ 0,12b	1,487 $\pm$ 0,05a	1,620 $\pm$ 0,04a
K <sup>1</sup>	8,057 $\pm$ 0,71a	9,177 $\pm$ 0,25a	8,463 $\pm$ 0,29a
Ca <sup>1</sup>	13,350 $\pm$ 0,18a	12,163 $\pm$ 0,13b	12,930 $\pm$ 0,53ab
Mg <sup>1</sup>	2,437 $\pm$ 0,06b	2,120 $\pm$ 0,05c	2,650 $\pm$ 0,01a
Fe <sup>2</sup>	111,667 $\pm$ 4,93b	226,667 $\pm$ 4,93a	221,000 $\pm$ 2,65a
Mn <sup>2</sup>	405,333 $\pm$ 3,79a	397,667 $\pm$ 10,26a	197,667 $\pm$ 6,03b
Cu <sup>2</sup>	9,677 $\pm$ 0,58a	9,333 $\pm$ 0,58a	9,000 $\pm$ 0,50a
Zn <sup>2</sup>	119,661 $\pm$ 2,52b	160,677 $\pm$ 6,03a	160,000 $\pm$ 6,08a

<sup>1</sup> g kg<sup>-1</sup>    <sup>2</sup> mg kg<sup>-1</sup>

Médias com a mesma letra não são significativas a  $p > 0,05$ , pelo teste Tukey.

contaminado de tal modo que não foi observada diferença significativa entre as plantas do solo não contaminado e plantas do solo contaminado com petróleo e

adubado com NPK (Tabela 6.2). Já a concentração do Mg nas folhas de *Podocarpus lambertii* foi diferente nos solos contaminados e não contaminados. A presença dos hidrocarbonetos reduziu a absorção de Mg em 8 % e a suplementação com NPK diminuiu em 20% o teor deste nutriente (Tabela 6.2). A concentração de Mn nas folhas das plantas do solo contaminado com petróleo com ou sem fornecimento de nutrientes aumentou ( $p < 0,05$ ) em 200%. O Cu foi o único nutriente analisado cujos teores não foram sensíveis ao contaminante independentemente da suplementação com NPK.

#### 6.4 DISCUSSÃO

A fitorremediação é uma tecnologia atrativa, ambientalmente amigável e uma alternativa às técnicas físico-químicas convencionais para descontaminação de áreas contaminadas com compostos orgânicos (PLAZA *et al.*, 2005). As plantas podem contribuir com a descontaminação dos solos contaminados com hidrocarbonetos e, segundo vários pesquisadores, grande parte da descontaminação é realizada pelos microorganismos associados à rizosfera (CUNNINGHAM *et al.*, 1996; JONER e LEYNAL, 2003; NEWMAN e REYNOLDS, 2004) onde a planta fornece substâncias que aceleram a degradação dos hidrocarbonetos e/ou promovem o crescimento dos microorganismos (GERMIDA *et al.*, 2002).

As plantas que desenvolvem um sistema radicular extensivo e profundo podem contribuir significativamente com a redução da contaminação dos solos (APRILL e SIMS, 1990). As árvores podem ser pouco freqüentes em áreas contaminadas com hidrocarbonetos (JOHNSON, 198; HOOPS *et al.*, 1988;) e *Podocarpus lambertii* foi sensível à contaminação com hidrocarbonetos no solo devido à redução no crescimento (Figuras 6.1 e 6.2). Este menor crescimento se deve essencialmente à redução na biomassa das raízes (Figura 6.3) indicando que este órgão encontra-se sob estresse. O efeito inibitório dos hidrocarbonetos no crescimento das raízes de *Podocarpus lambertii* tem sido reportado em outras espécies (BAEK *et al.*, 2004; MERKL *et al.*, 2005). A redução da biomassa das raízes de *Podocarpus lambertii* reduz a rizosfera e, conseqüentemente a degradação dos hidrocarbonetos pelos microorganismos o que pode comprometer o uso desta espécie como fitorremediadora. O estresse causado pelo poluente sobre as raízes pode estar

relacionado à redução na integridade da membrana e da parede celular das células da raiz podendo ocasionar a morte celular (BAKER, 1970; MERKL *et al.*, 2004). Além disto, segundo CABELLO *et al.* (1997), a presença de hidrocarbonetos reduz a infectividade das micorrizas o que pode ter contribuído para o baixo crescimento e produção de biomassa de *Podocarpus lambertii* no solo contaminado (Figuras 6.1, 6.2 e 6.3).

A presença de hidrocarbonetos de petróleo pode reduzir a disponibilidade de nutrientes e o crescimento das plantas (BAKER, 1970; UDO e FAYEMI, 1975; AMADI, *et al.*, 1993; XU e JONHNSON, 1995; GALLEGOS MARTÍNEZ *et al.*, 2000), havendo necessidade do fornecimento de fertilizantes inorgânicos para estimular o crescimento das plantas e dos microorganismos do solo (ODOKAMA e DICKSON, 2003). A suplementação com NPK aumentou o crescimento e biomassa de *Podocarpus lambertii* em solo contaminado com petróleo (Figura 6.3). Alguns pesquisadores têm examinado o efeito da suplementação com fertilizantes inorgânicos em solo contaminado com hidrocarbonetos (AMADI *et al.*, 1993; HUTCHINSON *et al.*, 2001) e tem sido observado um aumento no crescimento e produção de biomassa das plantas (MERKL *et al.*, 2004). A primeira etapa na seleção de espécies para fitorremediação é crescerem e desenvolverem em solo contaminado com hidrocarbonetos (MERKL *et al.*, 2004) e, nesse aspecto, *Podocarpus lambertii* exibe um uso potencial na remediação das áreas contaminadas desde que haja suplementação nutricional.

A redução no conteúdo dos pigmentos fotossintéticos tem sido um indicador da contaminação ambiental (AGRAWAL, 1992; MALLALAH *et al.*, 1996) o que pode explicar os baixos níveis de clorofila observados em *Podocarpus lambertii* em solo contaminado com petróleo (Figura 6.4). Redução dos pigmentos tem sido relatada por vários pesquisadores em espécies crescendo em solo contaminado com hidrocarbonetos (GREEN *et al.*, 1996; MALLALAH *et al.*, 1998; ACHUBA, 2006) e parece estar relacionada à fitotoxicidade dos hidrocarbonetos (GREEN *et al.*, 1996). A clorofila a é o pigmento mais sensível a contaminação (MALLALAH *et al.*, 1996) e os teores observados para este pigmento nas folhas de *Podocarpus lambertii* foram estatisticamente inferiores aos observados nas plantas do solo não contaminado. O efeito negativo do poluente foi parcialmente minimizado com a suplementação com

NPK no solo contaminado com petróleo o que possibilitou um aumento significativo na biomassa das plantas (Figura 6.3).

O teor de nutrientes nas plantas é determinado por vários fatores dos quais destacam-se o clima, as condições do solo e a espécie estudada. Qualquer alteração nestes fatores pode modificar o conteúdo de nutrientes nas plantas (WYSZKOWSKI e WYSZKOWSKA, 2005). O petróleo e seus derivados modificam as propriedades físicas e químicas do solo com conseqüente alteração na fertilidade (WYSZKOWSKI *et al.*, 2004). O efeito do solo contaminado com petróleo na absorção de nutrientes tem sido pouco explorado na literatura. O dano causado pelos hidrocarbonetos na absorção de nutrientes e no crescimento das plantas varia com a espécie envolvida e, neste experimento observou-se que *Podocarpus lambertii* apresentou uma redução no crescimento (Figuras 6.1 e 6.2) e nos teores de N, P, Fe e Zn nos solos contaminados com hidrocarbonetos quando comparados com as plantas do solo não contaminado (Tabela 6.2). Resultados semelhantes já foram relatados para espécies herbáceas (AMADI *et al.*, 1993; XU e JOHNSON, 1997). A suplementação com NPK, no solo contaminado com petróleo, aumentou os teores de N e P o que possibilitou maior crescimento das plantas no solo contaminado (Figuras 6.1 e 6.2). A adição de nutrientes em solos contaminados com hidrocarbonetos minimiza a competição entre as plantas e os microorganismos pelos nutrientes (GARDNER *et al.*, 1984) e favorece a remediação do solo. Além disto, o fornecimento de nutrientes melhora as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo contaminado com hidrocarbonetos (WHITE JR. *et al.*, 2006) o que constitui um fator adicional ao crescimento das plantas.

A contaminação com hidrocarbonetos de petróleo e seus derivados reduz a absorção de K e Ca e aumenta a absorção de Mg (AMADI *et al.*, 1993; WYSZKOWSKI *et al.*, 2004), entretanto, para *Podocarpus lambertii*, o teor de K e Ca não foram alterados pelo contaminante e a absorção de Mg foi reduzida (Tabela 6.2). A adubação com NPK no solo contaminado reduziu a concentração de Ca e Mg nas folhas, entretanto, essa redução não deve ter limitado o crescimento uma vez que, as plantas do solo contaminado com petróleo e adubado com NPK apresentaram um aumento significativo na altura e biomassa quando comparados com as plantas do solo contaminado.

O aumento do carbono oriundo do petróleo aumenta a concentração de metais pesados (EKUNDAYO *et. al.*, 2001). Segundo o mesmo autor, a presença de alta concentração de metais nos solos contaminados com hidrocarbonetos pode ser devido à presença destes íons no solo acrescidos dos metais oriundos do petróleo. Alguns pesquisadores observaram um baixo crescimento de plantas em solo contaminado com petróleo devido à toxidez de Mn (MORRIS, 1948; AMADI *et al.*, 1993; 1996) e *Podocarpus lambertii* também apresentou um significativo aumento na concentração de Mn no solo contaminado com hidrocarbonetos, com ou sem fornecimento de NPK (Tabela 6.2). Solos contaminados com hidrocarbonetos induzem a um aumento significativo na concentração de Fe nos tecidos foliares (AMADI *et al.*, 1993), entretanto a concentração desse nutriente reduziu nas plantas do solo contaminado ao passo que, não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) no teor de Fe entre as plantas que cresceram no solo contaminado com petróleo e adubado com NPK e solo não contaminado. Há poucas informações na literatura sobre os efeitos do petróleo no solo na absorção de Cu e, segundo SOUZA (1999), a presença de borras do petróleo no solo reduziu o teor de Cu em várias mudas de plantas arbóreas, entretanto, para *Podocarpus lambertii*, a presença do contaminante no solo não afetou o teor de Cu nos tecidos foliares.

*Podocarpus lambertii* exibe um grande potencial para revegetar áreas contaminadas com hidrocarbonetos, entretanto, o uso desta espécie está condicionado ao fornecimento de nutrientes, particularmente NPK. O estresse causado pelo solo com média contaminação de hidrocarbonetos de petróleo reduziu o crescimento, biomassa e pigmentos fotossintéticos sendo estes efeitos parcialmente minimizados pelo fornecimento de nutrientes. Sob o ponto de vista nutricional salienta-se o acúmulo de Mn nas plantas dos solos contaminados, o que já foi observado em outras espécies. A determinação deste nutriente pode ser um bom indicador para avaliar o grau de contaminação dos solos com hidrocarbonetos de petróleo.

## 6.5 REFERÊNCIAS

ACHUBA, F. The effects of sublethal concentrations of crude oil on the growth and metabolism of cowpea (*Vigna unguiculata*) seedlings. **The Environmentalist**, Ontario, v. 26, n.1, p.17-20, 2006.



AGRAWALL, S. B. Effect of supplemental UV-B radiation of photosynthetic pigment, protein and glutathione contents in green algae. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 32, n.2, p.137-143, 1992.

ALEXANDER, M. How toxic are toxic-chemicals in soil? **Environ. Sci. Technol.**, Iowa City, v.29, n.11, p. 2713-2717, 1995.

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**, Lancaster, v.56, n.421, p. 2983-2994, 2005.

AMADI, A.; DICKSON, A. A.; MAATE, G. O. Remediation of soil Polluted soils:1. Effect of organic and inorganic nutrient supplements of performance of maize (*Zea may* L.). **Water, Air and soil Pollution**, Ontario, v. 66, p. n.1, 59-76, 1993.

AMADI, A.; ABBEY, S. D.; NMA, A. Chronic effects of oil spill on soil properties and microflora of rainforest ecosystem in Nigeria. **Water air and soil pollution**, Ontario, v. 86, p. n.1, 1-11. 1996.

APRILL, W.; SIMS, R. C. Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. **Chemosphere**, Châteleine, v.20, v.1-2, p. 253-265, 1990.

ARNON, D. I. Cooper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Hanover, v. 24, n.1, p.1-15,1949.

BAEK K.; KIM H.; OH H.; YOOM B.; KIM J.; LEE I. Effects of crude oil, oil components and bioremediation on plant growth. **J. of Environmental Science and health**, Philadelphia v.39, n.9, p. 2465-2472, 2004.

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

BANKS, M. K.; GOVINDARAJU, R. S.; SCHWAB, A. P.; KULAKOW, P.; FINN, J. **Phytoremediation of hydrocarbon contaminated soil**. Boca Raton: Lewis Publishers, 2000. 164p.

BOYLE, J. J e SHANN, J. R. The influence of planting and soil characteristics on mineralization of 2,4,5 T. in rhizosphere soil. **J. Environ. Qual.**, Madison,v.27, n.3, p.704-709,1988.

BREMNER, J. M. Nitrogen-Total. In: SPARTS, D. L. **Methods of Gril Analysis. Part 3- Chemical Methods**. 1996. p. 1085-1121.

CABELLO, M.N. Hydrocarbon pollution: its effect on native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). **FEMS Microbiol. Ecol.**, Rotterdam, v. 22, n.3, p. 233-236, 1997.

CARVALHO, F.J.P.C., CASTRO RAC, ABDANUR A, KRENCZYNKI MC, TEIXEIRA SC, CONEGLIAN, D. **Relatório sobre o monitoramento do solo contaminado**. Repar / SMS. 2003. 149p.

CORRÊA, L. de A.; HAAG, H. P. Níveis críticos de fósforo para o estabelecimento de gramíneas forrageiras em latossolo vermelho amarelo, álico: ii. Experimento de campo. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v.50. v. 1, p. 109-116, 1993.

CUNNINGHAM, S. D.; ANDERSON, T. A.; SCHWAB, D. E.; ANDERSON, T. A. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Adv. Agron.**, New York, v. 56, n.1, p. 55-114, 1996.

DA SILVA, F.C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa solos, 1999. 370p.

DOUGLAS, J.S. **Advanced guide to hidroponics: Soilless cultivation**. 5.ed. London: Pelham Books, 1985. 368 p.

EGILLA, J. N.; DAVIES JR., F. T.; BOUTTON, T. W. Drought stress influences leaf water content, photosynthesis, and water-use efficiency of *Hibiscus rosa-sinensis* at three potassium concentrations. **Photosynthetica**, Praha, v. 43, n.1 p.135-140, 2005.

EKUNDAYO, E. O.; EMEDE, T. O.; OSAYANDE, D.I. Effects of crude oil spillage on growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in soils of midwestern Nigeria. **Plant Foods for Human nutrition**, Rotterdam, v. 56, n.4, p. 313-324, 2001.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Rev. Bras. Fisiol. Vegetal**, Campinas, v. 3, n.1, p. 39-45, 1991.

GALEGOS MARTÍNEZ, M.; GÓMEZ SANTOS, A.; GONZÁLES CRUZ, L.; MONTES DE OCA GARCÍA, M. A.; YANEZ TRUJILLO, L.; ZERMENO EGUIA LIZ, J. A.; GUTIÉRREZ-ROJAS, M. Diagnostic and resulting approaches to restore petroleum-contaminated soil in a Mexican tropical swamp. **Water Sci. Technol.**, v. 42, n.5-6, p. 377-384, 2000.

GARDNER, F. O.; PEARCE, R. B.; MITCHELL, R. L. **Physiology of crop plants**. Iowa: Univ. Press., Ames. 1984. 327p.

GERMIDA, J. J.; FRICK, C. M.; FARRELL, R. E. Phytoremediation of oil-contaminated soils. **Dev. Soil Sci.**, Amsterdam, v.28B, p. 169-186, 2002.

GREEN, B. T.; WIBERG, C. T.; WOODRUFF, J. L.; MILLER, E. W.; POAGE; V. L.; CHILDRESS, D. M.; FEUINER, J. A.; PROSCH, S. A.; RUNKEL, J. A. WANDERCHEID, 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**, Paris, v .36, n.3, p. 313-321, 1996.

HUTCHINSON, S. L.; BANKS, M. K.; SCHWAB, A. P. Phytoremediation of aged petroleum sludge: Effects of inorganic fertilizer. **J. Environ. Qual.**, Madison, v. 30, n.2, p. 395-403, 2001.

HOOBS, R. J.; GULMON, S. L.; HOOBS, R. J.; MOONEY, H. A. Effects of fertilizer addition and subsequent gopher disturbance on a serpentine annual grassland community. **Oecologia**, Berlin, v. 75, n.2, p. 291-295, 1988

JOHNSON, R. A. Application of the guild concept to environmental impact analysis of terrestrial vegetation. **J. Environ. Manage.**, Berkeley, v. 13, n.3, p. 205-222, 1981.

JONER, E. J.; LEYVAL, C. Phytoremediation of organic pollutants using mycorrhizal plants: a new aspect of rhizosphere interactions. **Agronomie**, Dijon, v. 23, n.5-6, p. 495-502, 2003.

KUCHARSKI, J.; WYSZKOWSKA, J. Microbiological properties of soil contaminated with diesel oil. **Acta Agrophis**, Olsztyn, v. 51, n.1, p. 113-120, 2001.

LEPSCH, I. F. **Manual para levantamento utilitário do meio físico e classificação de terras no sistema de capacidade de uso. 4º aproximação.** Campinas: SBSC. 1991. 175p.

LIN, Q.; MENDELSSOHN, I.A. The combined effects of phytoremediation and biostimulation in enhancing habitat restoration and oil degradation of petroleum combined wetlands. **Ecol Eng.**, Columbus, v.10, n.3, p.263-274, 1998.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas de Brasil.** Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352p.

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

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

MALASCHOVKA-JUST, A.; MROZOWSKA, J.; KOZIELSKA, M.; MIKSCH K. Aktywność enzymatyczna w glebie skażonej związkami ropopochodnymi w procesie jej detoksycji. **Biotechnologia**, v. 36, n.1, p.79-91, 1997.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Phytoremediation in the tropics- The effect of crude oil on the growth of tropical plants. **Bioremediation J**, Philadelphia, v.8, n.1, p. 177-184, 2004.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils. **Water, Air, and soil Pollution**, Ontario, v.165, n.2, p. 195-209, 2005.

MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition on higher plants**. Academic Press: London. 1995. 902 p.

MORRIS, H. D. The soluble manganese content of acid soils and its relation to the growth and manganese content of sweet clover and bespedeza. **Soil Science Soc. Amer. J.**, Urbana, v. 13, n.5, p. 1362, 1948.

NEWMAN, L.A.; REYNOLDS, C.M. Phytodegradation of organic compounds. **Curr. Opinion in Biotechnology**, Danvers, v. 15, n.3,225-230, 2004.

ODOKAMA, L. O.; DICKSON, A. A. Bioremediation of a crude oil polluted tropical mangrove environment. **J. Appl. Sci. Environ. Manag.**, Grahamstown, v. 7, n.1, p. 23-29, 2003.

OKOLO, J. C.; AMADI, E. N.; ODU, C. T. I. Effects of soil treatments containing poultry manure on crude oil degradation in a sandy loam soil. **Applied Ecology and environmental research**, Budapest, v.2, n.1,p. 47-53, 2005.

OVERTON, E. B.; SHARPS, W. D.; ROBERTS, P. Toxicity of petroleum. In: COCKERHAM, L. G.; SHANE, B.S. **Basic environmental Toxicology**. Boca Raton: CRC press.1994. p.133-156.

PENA-CASTRO, J. M.; BARRERA-FIGUEROA, E. B.; FERNÁNDEZ-LINARES, L.; RUIZ-MEDRANO, R. Isolation and identification of up-regulated genes in bermudagrass roots (*Cynodon dactylon* L.) grown under petroleum hydrocarbon stress. **Plant Science**, Perpignan Cedex, v. 170, p. 724-731, 2006.

PEZESHKI, S.R.; DELAUNE, R.D.; JUGSUJINDA, A. The effects of crude oil and the effectiveness of cleaner application following oiling on USGulf of Mexico coastal marsh plants. **Environmental Pollution**, London, v.112, n.3, p. 483-489, 2001.

PILON-SMITS, E. Phytoremediation. **Annu. Rev. Plant. Biol.**, Palo Alto, v.56, p.15-39, 2005.

PLAZA, G.; NALECZ-JAWECKI, G.; ULFIG, K.; BRIGMON, R. L. The application of bioassays as indicators or petroleum –contaminated soil remediation. **Chemosphere**, Châteleine, v. 59, v.2, p. 289-296, 2005.

RASIAH, V.; VORONEY, R. P.; KACHANOSKI, R. G. Biodegradation of an oil waste as influenced by nitrogen forms and sources. **Water, Air and soil Pollution**, Ontario. v. 65, n.1, p. 143-151, 1992.

ROBSON, D.B.; KNIGHT, J.D.; FARRELL, R.E. AND GERMIDA, J.J. Natural revegetaion of hydrocarbon-contaminated soil in semi-arid grasslands. **Can. J. Bot.**, Ottawa, v.82, n.1,22-30, 2004.

ROY, J. L.; MCGILL, W. B.; LOWEN, H. A.; JOHNSON, R. L. Relationship between water repellency and native and petroleum-derived organic carbon in soils. **J. Environ. Qual.**, Madison, v. 32, n.2, p.583-590, 2003.

SARKAR D, FERGUSON M, DALLA R, BIRNBAUM S. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. **Environmental Pollution**, London, v.136, n.1, p. 187-195, 2005.

SOUZA, L. S. 1999. Revegetação de área de biorremediação contaminada por resíduos oleosos de petróleo. Curitiba, 1999. 101 f. Tese (Mestrado em Engenharia Florestal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

SPARROW S. D., SPARROW, E. B. Microbiol biomass and activity in a subarctic soil ten years after oil spills. **J. Environ. Qual.** Madison,., v. 17, n.2, p. 304-309, 1988.

SUOMINEN, L.; JUSSILA, M. M.; MAKELAINEN, K.; ROMANTSCHUK, M.; LINDSTROM, K. Evaluation of the Galega – *Rhizobium galegae* system for the bioremediation of oil-contaminated soil. **Environmental Pollution**, London, v.107, n.2, p. 239-244, 2000.

TATE, R L. **Soil Microbiology**. New York: John Wiley e Sons., 1997. p.93-121.

UDO, E. J.; FAYEMI, A. A. A. The effect of oil pollution of soil on germination, growth and nutrient uptake of corn. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.4, n.2, p. 537-540, 1975.

WARWORTH, J.L.; WOOLAND, C.R.; BRADDOCK, J.F.; REYNOLDS, C.M. Enhancement and inhibition of soil petroleum biodegradation through the use of fertilizer nitrogen: An approach to determining optimum levels. **J. Soil Cont.**, Boca Raton, v.6, n.4, p. 465-480, 1997.

WHITE JR., P. M.; WOLF, D. C.; THOMA, G.J.; REYNOLDS, C.M. Phytoremediation of alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons in a crude oil contaminated soil. **Water, Air and soil pollution**, Ontario, v.169, n.1-4, p. 207-220, 2006.

WYSZKOWSKI, M.; WYSZKOWSKA, J.; ZIÓLKOWSKA, A. Effect of soil contamination with diesel oil on yellow lupine yield and macroelements content. **Plant Soil Environ.**, Olsztyn, v.50, n.2, p. 218-226, 2004.

WYSZKOWSKI, M.; WYSZKOWSKA, J. Effect of enzymatic activity of diesel oil contaminated soil on the chemical composition of oat (*Avena sativa* L.) and maize (*Zea mays* L.). **Plant Soil Environ.**, Olsztyn, v.51, n.2, p.360-367, 2005.

XU J.C.; JOHNSON, R.L.; YEUNG , P.Y.; WANG, Y. Nitrogen transformation in oil-contaminated, Bioremediated, solvent-extracted and uncontaminated soils. **Toxicol. Environ. Chen.**, Ottawa, v.47, n.1, p. 109-118, 1995.

XU J.C.; JOHNSON, R.L. Nitrogen dynamics in soil with different hydrocarbons contents planted to barley and field pea. **Can. J. of soil Sci.**, Lethbridge, v.77, n.3, p. 453-458, 1997.

## 7 CRESCIMENTO E NUTRIÇÃO DE *Allophylus edulis* RADLK. EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO

### RESUMO

A primeira etapa para identificar espécies com potencial para fitorremediação é crescerem em solo contaminado e não apresentarem redução na biomassa, principalmente das raízes. O presente estudo teve o objetivo de analisar se solo contaminado com petróleo afeta o crescimento e a nutrição de *Allophylus edulis* e avaliar o efeito adicional do fornecimento de NPK no solo contaminado. O experimento foi conduzido em casa de vegetação durante 58 semanas com medições mensais da altura das plantas e, ao final do experimento determinou-se a biomassa da parte aérea, raiz, teor de pigmentos fotossintéticos e teor de macro e micronutrientes. *Allophylus edulis* mostrou ser tolerante ao contaminante não apresentando alteração de biomassa e dos teores de pigmentos fotossintéticos entre as plantas do solo contaminado e não contaminado. A adubação com NPK no solo contaminado gerou um aumento significativo na altura e biomassa das plantas. A absorção dos nutrientes foi pouco afetada pelo contaminante. Houve redução na absorção de fósforo e aumento na absorção de Mn e Zinco.

Palavras-chave: *Allophylus edulis*, solo contaminado, petróleo, nutrição, crescimento.

### 7.1 INTRODUÇÃO

A contaminação do solo com petróleo e seus derivados tornou-se crítica no mundo a partir de meados dos anos 80 (XU e JOHNSON, 1997). O petróleo é constituído por diversas substâncias químicas danosas (benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno, naftaleno entre outras) que podem ser tóxicas às plantas e animais (VASUDEVAN e RAJARAN, 2001; SARKAR *et al.*, 2005).

Os efeitos do petróleo nas plantas têm sido estudados e incluem acumulação de metais pesados (UDO e FAYEMI, 1975; AMADI *et al.*, 1993; EKUNDAYO *et al.*, 2001), alteração nos teores de clorofila, proteínas e carotenóides (BAKER, 1970; MALALLAH *et al.*, 1996; 1998; ODJEGBA e SADIQ, 2002; ACHUBA, 2006), alteração no crescimento e atividade fotossintética (SUOMINEM *et al.*, 2000; MERKL *et al.*, 2004), incremento no teor de aminoácidos totais (ROWLAND *et al.*, 1988;

SCHMEINK e WILD, 1990), alteração no conteúdo de açúcares, antocianinas e fenóis (MALLALAH *et al.*, 1996; CHUPAKHINA e MASLENNIKOV, 2004).

A biorremediação pode ser definida como o uso de organismos vivos para remover poluentes ambientais do solo, água e gases (CUNNINGHAM *et al.*, 1996; SARKAR *et al.*, 2005). Trabalhos com a biorremediação dos solos contaminados com petróleo tiveram um grande impulso a partir do acidente com o navio Exxon Valdes em 1989 (MARGESIN e SCHINNER, 1997). Muitos estudos têm confirmado que a biorremediação constitui uma prática efetiva na descontaminação de áreas contaminadas com hidrocarbonetos (HUESEMANN e MOORE, 1993). As plantas podem contribuir na degradação de compostos orgânicos por meio dos microorganismos associados à rizosfera (CUNNINGHAM *et al.*, 1996; JONER e LEYNAL, 2003). A fitorremediação é uma técnica que utiliza as plantas para limpeza do solo contaminado (CUNNINGHAM e OW, 1996) o que pode resultar na melhoria das propriedades físicas, químicas e biológicas dos solos (WHITE, JR. *et al.*, 2006) e redução da contaminação (APRILL e SIMS, 1990).

Para que a fitorremediação ocorra, há necessidade que as plantas e os microorganismos sobrevivam ao solo contaminado. Nos trópicos, as condições climáticas favorecem o crescimento e a atividade dos microorganismos (INFANTE *et al.*, 1999). Entretanto, há poucos trabalhos que indicam espécies que sobrevivem em solos contaminados e que podem fitorremediar (GALLEGOS MARTINEZ *et al.*, 2000).

A atividade dos microorganismos é guiada pela oxidação de carbono orgânico e requer diversos nutrientes (TATE, 1997). Alguns trabalhos têm mostrado que o fornecimento de nutrientes aumenta a biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo em diversos ambientes (AMADI *et al.*, 1993; HUTCHINSON *et al.*, 2001; XU e OBBARD, 2003; WHITE, JR. *et al.*, 2006). Entretanto há poucos trabalhos relacionando o fornecimento de nutrientes em relação ao crescimento e o estado nutricional das plantas. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do solo contaminado com hidrocarbonetos e solo contaminado com petróleo e adubado com nitrogênio, fósforo e potássio no crescimento e teor de nutrientes de *Allophylus edulis*, uma espécie frequentemente utilizada na recomposição de áreas degradadas (LORENZI, 1992).

## 7.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os solos contaminado (latitude S25°34'41,6", longitude WO S49°21'31,5") e não contaminado (latitude S25°34'52,7", longitude WO 49°21'24,2") foram coletados de 0 a 20 cm de profundidade na Refinaria Presidente Getúlio Vargas, situada no município de Araucária – Pr - Brasil. O solo contaminado foi obtido das áreas atingidas pelo vazamento ocorrido em julho de 2000. Segundo LEPSCH (1991), a classificação textural do solo contaminado com petróleo é muito argiloso e o solo não contaminado é argiloso. Alguns atributos físico-químicos dos solos utilizados encontram-se na Tabela 7.1. A concentração de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) dos solos contaminados é de 12559 mg kg<sup>-1</sup>, conforme CARVALHO *et al.*, (2003).

Após a coleta, os solos foram transferidos para a casa de vegetação no Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná onde o experimento foi conduzido no período de dezembro de 2001 à março de 2003. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado de três tratamentos: solo contaminado (C), solo contaminado com nitrogênio, fósforo e potássio (CF) e solo não contaminado (NC) e oito repetições totalizando 24 unidades experimentais. Cada repetição foi conduzida em sacos plásticos com 5 kg de solo. Para o tratamento com suplementação com nutrientes (CF) adicionou-se 57,2 mg de N e 228,8 mg de P e

TABELA 7.1 - ATRIBUTOS FÍSICO-QUÍMICO DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).

	C	CF	NC
Areia (%)	6	6	23
Argila (%)	75	75	57
Silte (%)	19	19	20
pH	4,5	4,6	5,0
Al <sup>+3</sup> (cmolc dm <sup>-3</sup> )	1,2	2,9	0
H+Al <sup>+3</sup> (cmol dm <sup>-3</sup> )	10,5	13,1	5,8
Ca <sup>+2</sup> + Mg <sup>+2</sup> (cmolc dm <sup>-3</sup> )	12,4	12	13,9
V (%)	54,7	48,5	70,9
C (g dm <sup>-3</sup> )	38,3	34,1	27,5
N (g kg <sup>-1</sup> )	3,2	2,9	1,1
C/N	12	11,8	25
P (mg dm <sup>-3</sup> )	6,5	7	4,6
K (cmolc dm <sup>-3</sup> )	0,28	0,32	0,21
Ca (cmolc dm <sup>-3</sup> )	6,8	7,2	7,7
Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	184	197	115
Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	214	142,7	122,7



31,2 mg de K por unidade experimental. Mudanças de *Allophylus edulis* com 4 a 6 meses idade e altura média de 8 cm foram utilizados neste experimento sendo plantadas uma muda em cada saco plástico.

A análise do crescimento e desenvolvimento das mudas de *Allophylus edulis* foi realizada com medições na altura das plantas, produção de biomassa e teor de pigmentos fotossintéticos. O crescimento e desenvolvimento das plantas foi monitorado durante 58 semanas através de medidas mensais da altura da base do caule até a gema apical do ramo principal. Ao término do experimento procedeu-se a determinação da biomassa seca das plantas. A parte aérea, incluindo folhas e caules foram secos a 65°C durante 24 horas para a determinação da biomassa da parte aérea. Raízes foram lavadas para retirada do solo e depois secas e pesadas para determinação da biomassa.

Para determinação dos pigmentos vegetais, ao término do experimento, o folíolo terminal de uma folha totalmente expandida e do eixo principal de cada um dos oito indivíduos foi coletada. A extração dos pigmentos foi realizada com acetona 80% (ARNON, 1949) e a quantificação foi determinada em espectrofotômetro UV/VIS (ENGEL e POGGIANI, 1991).

Para a determinação dos teores de nutrientes escolheu-se aleatoriamente seis plantas de cada tratamento que foram agrupadas em três grupos com duas plantas cada grupo (amostras mistas). Para cada grupo, coletou-se dois gramas de material foliar de cada planta que foi seco a 65° C. A determinação de nitrogênio (N) foi realizada por titulação segundo o processo Kjeldahl (BREMNER, 1996). O fósforo (P) foi determinado por colorimetria com vanadato-molibdato de amônio, reação amarela (DA SILVA, 1999); o potássio (K) foi determinado por emissão; Cálcio (Ca), magnésio (Mg), ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu) e manganês (Mn) foram determinados por absorção atômica (DA SILVA, 1999)

Os resultados foram submetidos a análise de variância utilizando o software MSTAT®. Inicialmente as variâncias dos tratamentos foram analisadas quanto a sua homogeneidade pelo teste de Bartlett. Posteriormente as variáveis foram testadas por meio do teste F. Quando a análise dos resultados indicou existir diferenças estatisticamente significantes entre médias dos tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste Tukey no nível 5% de probabilidade. Para a confecção dos

gráficos e ajuste das equações de regressão e cálculo dos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) foi utilizado o software Excel 2003 para Windows XP®.

### 7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância para as variáveis de crescimento analisadas, bem como os valores de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) referentes ao teste de Bartlett encontram-se na Tabela AIII.3 do Anexo 3). Observa-se que as variáveis analisadas apresentam variâncias homogêneas para os tratamentos.

O efeito do solo contaminado com petróleo no crescimento de *Allophylus edulis* é mostrado nas Figuras 7.1 e 7.2. O incremento na altura das plantas no solo contaminado foi de 34,3 cm ao passo que o as plantas do solo não contaminado tiveram um incremento de 44,8 cm logo, as plantas do solo contaminado apresentaram uma redução significativa de 20% na altura das plantas (Fig. 7.2). Alguns estudos têm observado um efeito negativo dos hidrocarbonetos do petróleo no solo sobre o crescimento das plantas (GALLEGOS MARTINEZ *et al.*, 2000; BAEK *et al.*, 2004; RIVERA-CRUZ e TRUJILLO-NARCÍA, 2004; MERKL *et al.*, 2005a). Esta redução no crescimento das plantas pode ser devido à baixa retenção de água no solo com hidrocarbonetos como consequência de sua hidrorrepelência (LI *et al.*, 1997; ROY *et al.*, 2003; MORLEY *et al.*, 2005). As plantas do solo contaminado com adubação com NPK apresentaram um incremento significativo de 22,1 cm, o que equivale a um aumento de 50% em relação as plantas do solo não contaminado e 87% em relação as plantas do solo contaminado.

Alguns trabalhos têm sugerido que, sob baixas concentrações de petróleo, algumas frações dos hidrocarbonetos podem estimular o crescimento das plantas (BAMIDELE e AGNOGIDI, 2000) tendo efeito similar as auxinas (BOSSERT e BARTHA, 1985; SALANITRO *et al.*, 1997). Entretanto, dado ao significativo aumento das plantas que cresceram no solo contaminado com petróleo e adubado com NPK é pouco provável que o petróleo possa agir com uma substância de crescimento em *Allophylus edulis*. A bioestimulação, ou seja, o fornecimento de nutrientes nos solos contaminados com hidrocarbonetos tem como objetivo minimizar a competição entre as plantas e os microorganismos pelos nutrientes disponíveis, favorecer a biorremediação, bem como melhorar as propriedades físicas, químicas e

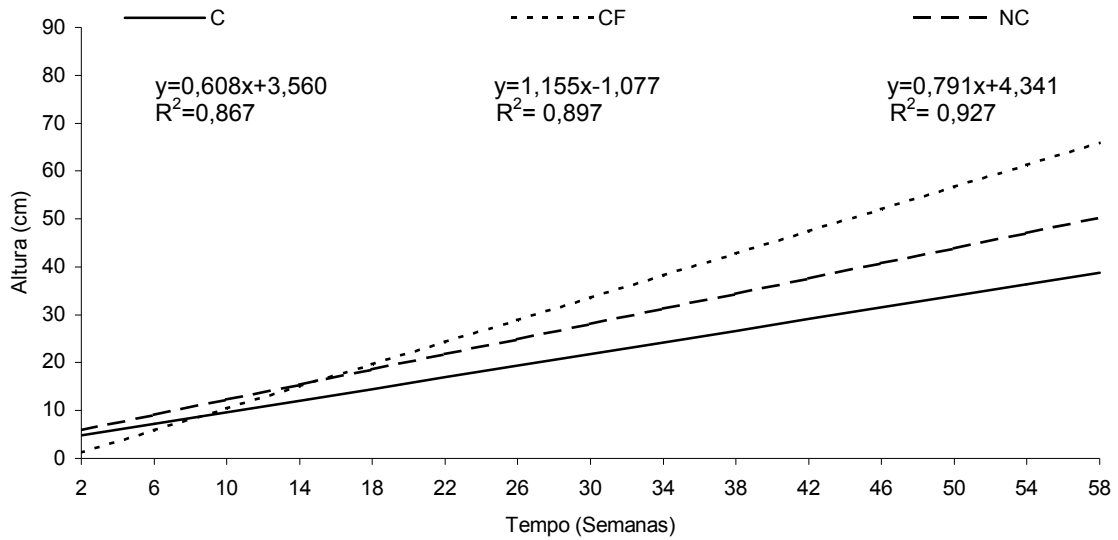


FIGURA 7.1.- CRESCIMENTO DE *Allophylus edulis* NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).

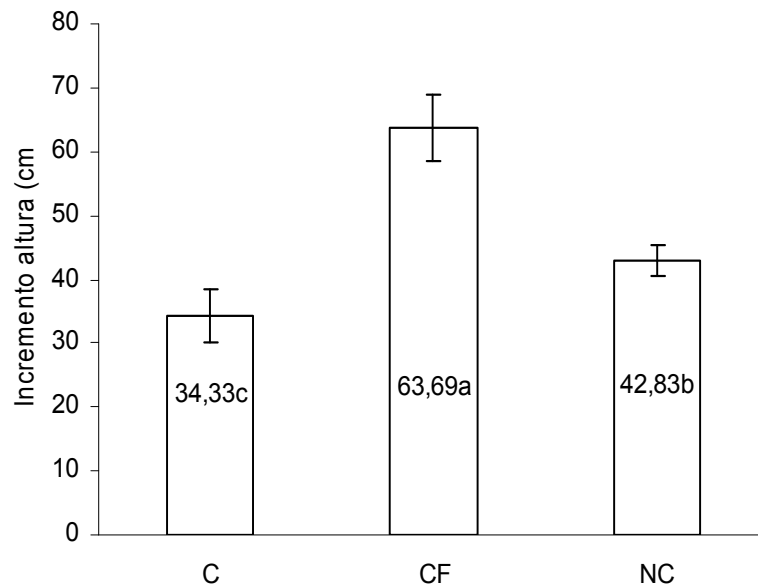


FIGURA 7.2.- INCREMENTO DA ALTURA DAS MUDAS DE *Allophylus edulis* QUE CRESCERAM NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES. BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY ( $P > 0,05$ ).

biológicas do solo contaminado com hidrocarbonetos (WHITE JR. *et al*, 2006).

A biomassa total das plantas do solo contaminado foi estatisticamente igual à do solo não contaminado (Figura 7.3). Por outro lado, as plantas do solo contaminado com adubação com NPK aumentaram a biomassa total em 48% quando comparados com as plantas do solo não contaminado (Figura 7.3). A fertilização aumentou em 59% a biomassa da parte aérea, entretanto, não houve diferença significativa entre a biomassa da raiz e na razão biomassa da parte aérea/raiz entre as plantas do solo contaminado com petróleo e adubadas com NPK e as plantas do solo não contaminado. Uma espécie apresenta potencial para a fitorremediação desde que a biomassa da raiz seja pouco afetada pelo contaminante (MERKL *et al.*, 2005a) e deste modo *Allophylus edulis* se adequa a revegetar áreas contaminadas com hidrocarbonetos devido à ausência de diferença significativa na biomassa das raízes entre as plantas do solo contaminado e não contaminado.

As plantas do solo contaminado apresentam uma redução na altura (Figuras. 7.1 e 7.2) e é provável que uma parte do carbono que poderia ser utilizado para o desenvolvimento da parte aérea tenha sido alocado para o crescimento das raízes, de tal modo que não foi observado diferença estatística entre a biomassa das raízes das plantas do solo contaminado e do solo não contaminado. Entretanto esta maior alocação de carbono para as raízes resultou numa redução significativa ( $p < 0,05$ ) da razão biomassa da parte aérea/raiz das plantas do solo contaminado. A capacidade de uma espécie alocar fotossintetatos em resposta a condições ambientais de estresse é uma característica importante no processo de fitorremediação (MERKL *et al.*, 2004). Com o maior desenvolvimento das raízes há a formação de macroporos no solo o que facilita o transporte de gases e líquidos na coluna do solo (HUTCHINSON *et al.*, 2001) e favorece a atividade dos microorganismos aeróbicos (CABELO, *et al.*, 1997).

A degradação da clorofila constitui um sintoma relacionado à poluição ambiental (AGRAWAL, 1992; MALALLAH *et al.*, 1996). Alguns trabalhos têm relatado que as plantas que estão crescendo em solo contaminado reduzem a concentração de clorofila (GREEN *et al.*, 1996; MALALLAH *et al.*, 1998; ACHUBA, 2006). Quando se pensa na fitorremediação, o aparato para produção de biomassa (fotossíntese) não deve ser afetado e os teores de clorofila em *Allophylus edulis* não foram afetados pela presença do contaminante no solo independentemente do

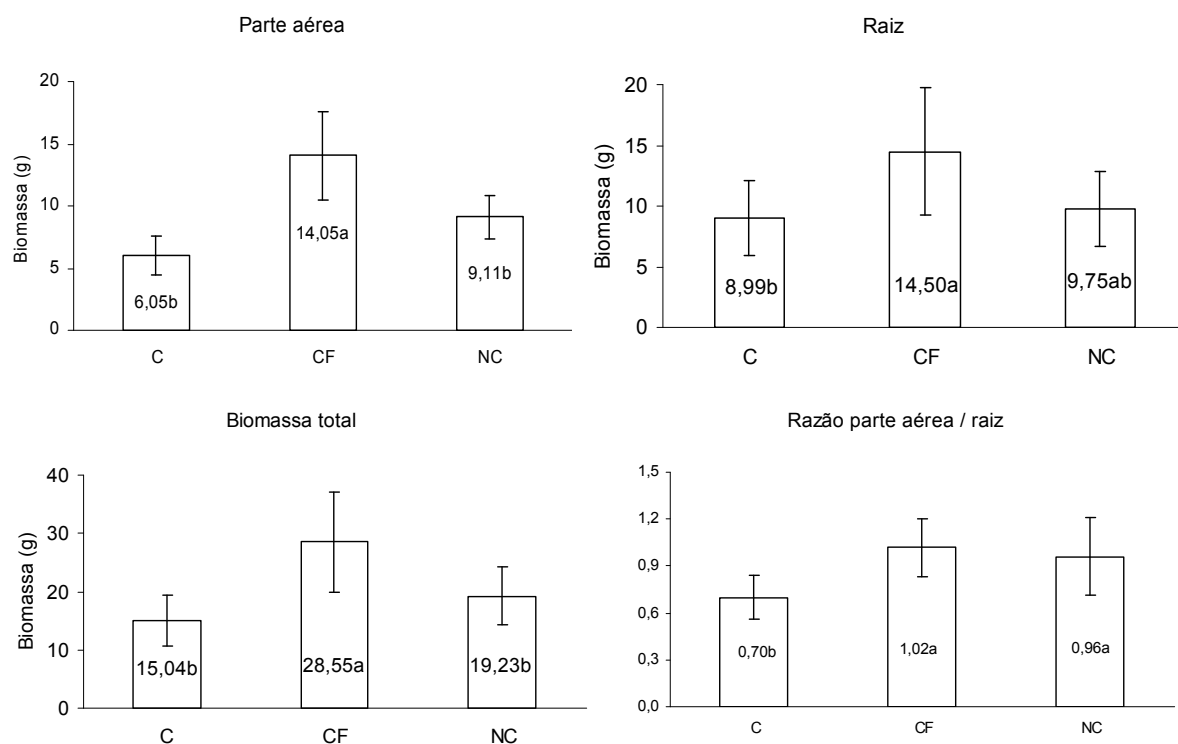


FIGURA 7.3 - PRODUÇÃO DE BIOMASSA DA PARTE AÉREA, RAIZ, BIOMASSA TOTAL E RAZÃO BIOMASSA DA PARTE AÉREA/RAIZ NAS MUDAS DE *Allophylus edulis* QUE CRESCERAM NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES. BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY A  $P > 0,05$ .

fornecimento ou não de nutrientes (Tabela 7.2).

Em solos vegetados, as plantas e os microorganismos competem por nutrientes disponíveis dos quais cita-se o potássio, cálcio, magnésio, nitrogênio, fósforo, enxofre, ferro, zinco, cobre, manganês, boro, molibdênio (GARDNER *et al.*, 1984). Grande parte da literatura disponível relaciona o fornecimento de nutrientes em relação à degradação de hidrocarbonetos e, alguns pesquisadores têm relatado que a adição de N aumentou a biorremediação de solos e ambientes aquáticos (LIN e MENDELSSOHN, 1998; HUTCHINSON *et al.*, 2001). Como a degradação do petróleo é significativamente aumentada na rizosfera e desse modo, plantas saudáveis e com um sistema de raízes grande e profundo podem ser benéficas à biorremediação (HUTCHINSON *et al.*, 2001). Pouco se conhece sobre o efeito do fornecimento de nutrientes sobre o crescimento e estado nutricional das plantas

TABELA 7. 2 - TEOR DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) NAS FOLHAS DE *Allophylus edulis* CRESCENDO EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO. VALORES REPRESENTAM A MÉDIA  $\pm$  DESVIO PADRÃO PARA AS OITO REPETIÇÕES.

	Clorofila b	Clorofila a	Clorofila total	Razão a/b
C	37,16 $\pm$ 10,6 <sup>ns</sup>	105,08 $\pm$ 29,9 <sup>ns</sup>	142,61 $\pm$ 40,3 <sup>ns</sup>	2,84 $\pm$ 0,20 <sup>ns</sup>
CF	25,53 $\pm$ 14,9 <sup>ns</sup>	70,54 $\pm$ 33,5 <sup>ns</sup>	96,06 $\pm$ 48,3 <sup>ns</sup>	2,91 $\pm$ 0,32 <sup>ns</sup>
NC	27,14 $\pm$ 10,5 <sup>ns</sup>	82,51 $\pm$ 31,3 <sup>ns</sup>	109,65 $\pm$ 41,7 <sup>ns</sup>	3,03 $\pm$ 0,18 <sup>ns</sup>

<sup>ns</sup>- não significativo a  $p > 0,05$  pelo teste F.

crescendo em solos contaminados com hidrocarbonetos. MERKL *et al.* (2005b) observaram que a fertilização com NPK aumentou o crescimento de *Brachiaria brizantha* e a dissipação do óleo, entretanto não se conhece o efeito da fertilização do solo para o crescimento de plantas arbóreas visando revegetar solos contaminados com petróleo.

A análise de variância para os teores de nutrientes (bem como os valores  $\chi^2$  referentes ao teste de Bartlett) são mostrados na Tabela AIII.5 do Anexo III. A presença dos hidrocarbonetos de petróleo no solo aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) o teor de N nas folhas de *Allophylus edulis* (Tabela 7.3). A literatura frequentemente menciona que plantas herbáceas reduzem a absorção de N em solos contaminados (AMADI *et al.*, 1993; XU e JOHNSON, 1997) devido os hidrocarbonetos aumentarem a disponibilidade de N para ser imobilizado pelos microorganismos do solo reduzindo a disponibilidade de desse nutriente para as plantas. Entretanto, os solos contaminado com petróleo e contaminado com petróleo e adubado com NPK apresentam de duas a três vezes mais N que o solo não contaminado (Tabela 7.1) indicando que este nutriente não deve ter sido limitante.

O P é um elemento essencial ao crescimento das plantas e, segundo STEFAN *et al.* (1997) valores abaixo de 1,0 e 1,5  $\text{g kg}^{-1}$  limitam o crescimento das plantas. Por outro lado, DRESCHSEL e ZECH (1991) indicam teores intermediários de P acima de 1  $\text{g kg}^{-1}$ . Os valores observados (Tabela 7.3) não devem ter limitado o crescimento de *Allophylus edulis*. Entretanto, a presença dos hidrocarbonetos no solo reduziu significativamente ( $p < 0,05$ ) o teor deste nutriente nas folhas das plantas do solo contaminado com ou sem suplementação de NPK, o que já foi observado por AMADI *et al.* (1993) para as folhas de *Zea mays*. É provável que o menor teor de

TABELA 7.3 CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES NO TECIDO FOLIAR DAS MUDAS DE *Allophylus edulis* CRESCENDO EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO. VALORES REPRESENTAM A MÉDIA  $\pm$  DESVIO PADRÃO PARA AS OITO REPETIÇÕES.

	N <sup>1</sup>	P <sup>1</sup>	K <sup>1</sup>	Ca <sup>1</sup>	Mg <sup>1</sup>	Fe <sup>2</sup>	Mn <sup>2</sup>	Cu <sup>2</sup>	Zn <sup>2</sup>
C	15,97 $\pm$ 0,61a	1,38 $\pm$ 0,13b	18,41 $\pm$ 0,59a	14,76 $\pm$ 0,67ab	3,28 $\pm$ 0,1b	401 $\pm$ 5b	214 $\pm$ 6,2a	12 $\pm$ 2,6a	255 $\pm$ 36a
CF	14,8 $\pm$ 0,35ab	1,26 $\pm$ 0,06b	10,05 $\pm$ 0,21b	14,07 $\pm$ 0,68b	2,74 $\pm$ 0,06c	421 $\pm$ 40b	142,7 $\pm$ 3,2b	11 $\pm$ 1a	285 $\pm$ 39a
NC	13,63 $\pm$ 0,65b	3,36 $\pm$ 0,28a	11,6 $\pm$ 1,19b	15,77 $\pm$ 0,64a	3,49 $\pm$ 0,01a	513,3 $\pm$ 22a	70 $\pm$ 12,5c	11,7 $\pm$ 2,9a	98 $\pm$ 7b

<sup>1</sup> g kg<sup>-1</sup>    <sup>2</sup> mg kg<sup>-1</sup>

Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey a  $p > 0,05$ .

P observados nas plantas que cresceram no solo contaminado, com ou sem adubação, se deve a menor disponibilidade deste nutriente em função da grande quantidade de argila desses solos. Entretanto, como as plantas do solo contaminado com petróleo e adubado com NPK apresentaram um aumento significativo no crescimento e biomassa (Figuras 7.1, 7.2 e 7.3) é provável que o P não seja limitante.

A presença de hidrocarbonetos no solo incrementou em 58% ( $p < 0,05$ ) o teor de K nas folhas de *Allophylus edulis* (Tabela 7.3), quando comparado com as plantas do controle. O fornecimento de NPK no solo contaminado com petróleo reduziu o teor desse nutriente nas plantas e não foi observado diferença significativa ( $p > 0,05$ ) com o teor das plantas do solo não contaminado. Os teores observados nas plantas encontram-se no nível intermediário (STEFAN *et al.*, 1997; DRESCHSEL e ZECH, 1991) e não devem ter constituído um limitante ao crescimento dessa espécie.

A concentração de Ca e Mg nos solos dos tratamentos apresentam teores semelhantes (Tabela 7.1). A presença do petróleo no solo não afetou o teor de Ca e reduziu ( $p < 0,05$ ) em 6% o teor de Mg nas folhas de *Allophylus edulis*. A adubação com NPK no solo contaminado não alterou o teor de Ca, quando comparado com as plantas do solo contaminado e, por outro lado, reduziu em 21% o teor de Mg. Segundo DRECHSEL e ZECH (1991) os teores intermediários de Ca, para muitas espécies, encontram-se entre 2,0-20 g kg<sup>-1</sup>, e para Mg, entre 1,0-3,0 g kg<sup>-1</sup> e os

teores observados em *Allophylus edulis* (Tabela 7.3) sugerem que estes nutrientes não devem estar limitando o crescimento dessa espécie.

O manganês e o ferro são elementos essenciais e tornam-se tóxicos em altas concentrações. A grande disponibilidade de Mn nos solos contaminados (Tabela 7.1) gerou um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) no teor deste nutriente (Tabela 6.3). O fornecimento de NPK no solo contaminado reduziu o teor de Mn nas folhas de *Allophylus edulis*. Contrariamente ao observado para o Mn, o teor de Fe foi reduzido em 18 e 22% ( $p < 0,05$ ) nas plantas que cresceram no solo contaminado com petróleo e solo contaminado com petróleo e adubado com NPK, respectivamente (Tabela 7.3). A presença de altos teores de Fe e Mn nas plantas que cresceram em solos contaminados com hidrocarbonetos já foram observados em plantas herbáceas e AMADI *et al.*, (1993) observaram um aumento de 160 e 3000% na concentração de Fe e Mn respectivamente. *Allophylus edulis* exibiu um antagonismo entre estes dois nutrientes provavelmente devido a maior disponibilidade de Mn nos solos contaminados, entretanto os teores observados não foram fitotóxicos.

Cobre é um micronutriente e os valores aceitáveis para cobre nas folhas de espécies florestais está entre 2 e 3 mg kg<sup>-1</sup> (MAŇKOVSKÁ *et al.*, 1996) ou entre 4-20 mg kg<sup>-1</sup> (DRESCHSEL e ZECH, 1991). A presença do contaminante no solo não afetou os teores de Cu nas folhas de *Allophylus edulis* (Tabela 7.3).

O último nutriente avaliado foi o zinco que é constituinte de enzimas e proteínas (TAIZ e ZEIGER, 1988). Os teores de Zn dos solos contaminados foram maiores que os teores do solo não contaminado e provavelmente explicam os altos valores encontrados nas plantas do solo contaminado. De um modo geral, deficiência de Zn ocorre quando a concentração nas folhas é menor que 10-20 mg kg<sup>-1</sup>, níveis normais encontram-se entre 25-150 mg kg<sup>-1</sup> e níveis tóxicos acima de 400 mg kg<sup>-1</sup> (DRESCHSEL e ZECH, 1991; MATTIAZZO-PREZOTTO, 1994) e os teores encontrados para as plantas de *Allophylus edulis* nos solos contaminados com petróleo (C e CF) encontram-se um pouco acima do normal, mas abaixo dos níveis fitotóxicos.

*Allophylus edulis* é uma espécie viável para revegetar áreas contaminadas com hidrocarbonetos. Os teores de nutrientes disponíveis nos solos não pareceram limitar o crescimento das plantas no solo contaminado. O contaminante não afetou o aparato fotossintético e a redução no crescimento das plantas no solo contaminado



provavelmente deve-se a uma maior alocação de carbono para as raízes. O fornecimento de NPK possibilitou um incremento na altura e biomassa das plantas. Há poucos trabalhos na literatura sobre o efeito do petróleo sobre plantas arbóreas que podem ser usadas para revegetar áreas contaminadas e, além disto, há necessidade de novos trabalhos visando compreender se o crescimento de *Allophylus edulis* em solos contaminados com hidrocarbonetos contribui para a redução da contaminação.

#### 7.4 REFERÊNCIAS

ACHUBA, F. The effects of sublethal concentrations of crude oil on the growth and metabolism of cowpea (*Vigna unguiculata*) seedlings. **The Environmentalist**, Ontario, v. 26, n.1, p.17-20, 2006.

AGRAWALL, S. B. Effect of supplemental UV-B radiation of photosynthetic pigment, protein and glutathione contents in green algae. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 32, n.2, p.137-143, 1992.

AMADI A, DICKSON, A. A.; MAATE, G. O. Remediation of soil Polluted soils: 1. Effect of organic and inorganic nutrient supplements of performance of maize (*Zea may L.*). **Water, Air and soil Pollution**, Ontario, v.66, v.1-2, p.59-76, 1993.

APRILL, W.; SIMS, R. C. Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. **Chemosphere**, Châteleine, v.20, v.1-2, p. 253-265, 1990.

ARNON, D. I. Cooper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Hanover, v. 24, n.1, p.1-15,1949.

BAEK K.; KIM H.; OH H.; YOON B.; KIM J.; LEE I. Effects of crude oil, oil components and bioremediation on plant growth. **J of Environmental Science and health, Philadelphia** v.39, n.9, p. 2465-2472, 2004.

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

BAMIDELE, J.F.; AGBODIGI, O.M. (2000) Toxic of odidi petroleum oil and its water soluble faction on three aquatic macrophytes, **Nigerian Journal of Science and Environment**, Zaria, v.2, n.1, p.113–121. 2000.

BOSSERT, J.; BARTHA, R. Plant growth in soils with a history of oily sludge disposal. **Soil Sci.**, Philadelphia, v. 140, n.1, p. 75-77, 1985.

BREMNER, J.M. Nitrogen-Total. In: SPARKS, D. L. **Methods of Soil Analysis, Chemical Methods**. Madison: SSSA Book Series. 1996. p.1085-1121.

CABELLO, M.N. Hydrocarbon pollution: its effect on native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). **FEMS Microbiol. Ecol.**, Rotterdam, v. 22, n.3, p. 233-236, 1997.

CARVALHO, F.J.P. DE C.; CASTRO, R.A.; ABDANUR, A.; KRENCZYSKI, M.C.; TEIXEIRA, S.C.; CONEGLIAN, D. **Relatório sobre o monitoramento e remediação do solo contaminado**. Curitiba. Relatório Técnico- Repar/SMS.2003, 140 p.

CHUPAKHINA, G.N.; MASLENNIKOV, P.V. Plant adaptation to oil stress. **Russian J. of Ecology**, Yekaterinburg, v.35, n.6, p.290-295, 2004.

CUNNINGHAM, S. D.; ANDERSON, T. A.; SCHWAB, D. E.; ANDERSON, T. A. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Adv. Agron.**, New York, v. 56, p. 55-114, 1996.

CUNNINGHAM, S.D.; OW, D. W. Promises and Prospects of Phytoremediation. **Plant Physiology**, Bethesda, v.110, n.3, p.715-719, 1996.

DRECHSEL, P.; ZECH, W. 1. Foliar nutrient levels of broad-leaved tropical trees: a tabular review. **Plant and Soil**, Rotterdam v.131, n.1, p. 29-46, 1991.

DA SILVA, F.C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa solos, 1999. 370p.

EKUNDAYO, E. O.; EMEDE, T. O.; OSAYANDE, D.I. Effects of crude oil spillage on growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in soils of midwestern Nigeria. **Plant Foods for Human nutrition**, Rotterdam, v. 56, n.4, p. 313-324, 2001.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Rev. Bras. Fisiol. Vegetal**, Campinas, v. 3, n.1, p. 39-45, 1991.

GALEGOS MARTÍNEZ, M.; GÓMEZ SANTOS, A.; GONZÁLES CRUZ, L.; MONTES DE OCA GARCÍA, M. A.; YANEZ TRUJILLO, L.; ZERMENO EGUÍA LIZ, J. A.; GUTIÉRREZ-ROJAS, M. Diagnostic and resulting approaches to restore petroleum-contaminated soil in a Mexican tropical swamp. **Water Sci. Technol.**, v. 42, n.5-6, p. 377-384, 2000.

GARDNER, F. O.; PEARCE, R. B.; MITCHELL, R. L. **Physiology of crop plants**. Iowa: Univ. Press. Ames. 1984. 327p.

GREEN, B. T.; WIBERG, C. T.; WOODRUFF, J. L.; MILLER, E. W.; POAGE, V. L.; CHILDRESS, D. M.; FEUINER, J. A.; PROSCH, S. A.; RUNKEL, J. A. WANDERCHEID, 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**, Paris, v.36, n.3, p. 313-321, 1996.

HUESEMANN, M.H.; MOORE, K.O. Compositional changes during landfarming of weathered Michigan crude oil contaminated soils. **J. soil Contam.**, Boca Raton v.2, n.2, p.245-262, 1992.

HUTCHINSON, S. L.; BANKS, M. K.; SCHWAB, A. P. Phytoremediation of aged petroleum sludge: Effects of inorganic fertilizer. **J. Environ. Qual.**, Madison, v. 30, n.2, p. 395-403, 2001.

INFANTE C.; VÁSQUES, P.; LIPPKE, M. Petróleo y Ambiente. **Vision Tecnológica**. Edición especial, p. 99-104, 1999.

JONER, E. J.; LEYVAL, C. Phytoremediation of organic pollutants using mycorrhizal plants: a new aspect of rhizosphere interactions. **Agronomie**, Dijon, v. 23, n.5-6, p. 495-502, 2003

LEPSCH, I. F. **Manual para levantamento utilitário do meio físico e classificação de terras no sistema de capacidade de uso. 4º aproximação**. Campinas: SBCS, 1991. 175p.

LI, X.; FENG, Y.; SAWATSKY, N. Importance of soil-water relations in assessing the endpoint of bioremediated soils. **Plant soil**, Rotterdam, v.192, n. 2, p. 219-226, 1997.

LIN, Q.; MENDELSSOHN, I.A. The combined effects of phytoremediation and biostimulation in enhancing habitat restoration and oil degradation of petroleum combined wetlands. **Ecol Eng.**, Columbus, v.10, n.3, p.263-274, 1998.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas de Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352p.

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

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

MAŇKOVSKÁ B, GODZIK B, BADEA O, SHYPARYK Y, MORAVCIK P. Chemical and morphological characteristics of key tree species of the Carpathian Mountains. **Environmental Pollution**, London, v.130, n.1, p. 41-54, 1996.

MARGESIN, R AND SCHINNER, F. Laboratory bioremediation experiments with soil from a diesel-oil contaminated site – significant role of cold-adapted microorganisms and fertilizers. **J. of Chem. and Biotechnol.**, Hoboken, v.70, n.1, p. 92-98, 1997.

MATTIAZZO-PREZZOTO, M. E. **Comportamento de cobre, cádmio, cromo, níquel e zinco adicionados à solos de clima tropical e diferentes valores de pH**.

Piracicaba, 1994. 197f. Tese (livre docência) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Phytoremediation in the tropics- The effect of crude oil on the growth of tropical plants. **Bioremediation J**, Philadelphia, .v.8, n.1, p. 177-184, 2004.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils. **Water, Air, and soil Pollution**, Ontario, v.165, n.2, p. 195-209, 2005a.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; Arias, M.; Influence of fertilizer levels on phytoremediation of crude oil-contaminated soils with the tropical pasture grass *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf. **International Journal of Phytoremediation**, Philadelphia, v. 7, n.3, p. 217- 230, 2005b.

MORLEY, C. P.; MAINWARING, K. A.; DOERR, S. H.; DOUGLAS, P.; LLEWELLYN, C.T.; DEKKER, L.W. Organic compounds at different depths in a sand soil and their role in water repellency. **Australian Journal of Soil Research**, Vitoria, v. 43, n.3, p. 239-249, 2005.

ODJEGBA, V.J.; SADIQ, A. O. Effects of spent engine oil on the growth parameters, chlorophyll and protein levels of *Amaranthus hybridus*. **The environmentalist**, Ontrario, v.22, n.1, p.23-28, 2002.

ROWLAND, A.J.; BERLAND, A. M.; LEA, P. J. Changes in amino acids, amines and proteins in response to air pollutants. In: SCHULTE-HOSTED, S.; DARRALL, N. M.; BLANK, L. W.; WELLBURN, A. R. **Air pollutants and plant metabolism**. London: Elsevier, 1988. p. 189-211.

RIVERA-CRUZ, M C.; TRUJILLO-NARCIA, A. Estudio de toxicidad vegetal em suelos com petróleos Nuevo e intemperizado. **INCI**, Caracas, v.29, n.7, p.369-376, 2004.

ROY, J. L.; MCGILL, W. B.; LOWEN, H. A.; JOHNSON, R. L. Relationship between water repellency and native and petroleum-derived organic carbon in soils. **J. Environ. Qual.**, Madison, v. 32, n.2, p.583-590, 2003.

SARKAR D, FERGUSON M, DALLA R, BIRNBAUM S. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. **Environmental Pollution**, London, v.136, n.1, p. 187-195, 2005.

SALANITRO J, DORN, P.: HUESEMAN, M.: MOORE, K.: RHODES, I.: RICE, L.; JACKSON, T.; VIPONND, M.; WESTERN, M.; WISNIEWSKY, H. Crude oil hydrocarbon bioremediation and soil ecotoxicity assessment. **Environ. Sci. Technol.**, Iowa City, v. 31, n.6, p.1769-1776, 1997.

SCHMEINK, B.; WILD, A. Studies on content of free amino acids in needles of undamaged and damaged spruce trees at a natural habitat. **Journal of Plant Physiology**, Campinas, v.136, n.1, p.66-71, 1990.

STEFAN, K.; FÜRST, A.; HACKER, R.; BARTELS, U. **Forest foliar condition in Europe. Results of large-scale foliar chemistry surveys**. Belgium: European Commission, Brussels, 1997. 218p. Disponível em: <<http://bfw.ac.at/rz/bfwcms.web?dok=2841>> Acesso em 07 mai. 2006.

SUOMINEN, L.; JUSSILA, M. M.; MAKELAINEN, K.; ROMANTSCHUK, M.; LINDSTROM, K. Evaluation of the Galega – *Rhizobium galegae* system for the bioremediation of oil-contaminated soil. **Environmental Pollution**, London, v.107, n.2, p. 239-244, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER E. **Plant Physiology** 2 ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc Publishers, 1998. 792p.

TATE, R L. **Soil Microbiology**. New York: John Wiley e Sons, 1997. p.93-121.

UDO, E. J.; FAYEMI, A. A. A. The effect of oil pollution of soil on germination, growth and nutrient uptake of corn. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.4, n.2, p. 537-540, 1975.

WHITE JR., P. M.; WOLF, D. C.; THOMA, G.J.; REYNOLDS, C.M. Phytoremediation of alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons in a crude oil contaminated soil. **Water, Air and soil pollution**, Ontario, v.169, n.1-4, p. 207-220, 2006.

VASUDEVAN, N.; RAJARAM, P. Bioremediation of oil sludge-contaminated soil. **Environmental International**, Cumbria, v.26, n.5-6, p.409-411, 2001.

XU J.C.; JOHNSON, R.L. Nitrogen dynamics in soil with different hydrocarbons contents planted to barley and field pea. **Can. J. of soil Sci.**, Lethbridge, v.77, n.3, p. 453-458, 1997.

XU, R.; OBBARD, J.P. Effect of nutrient amendments on indigenous hydrocarbon biodegradation in oil-contaminated beach sediments. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.32, n.4, p.1234-1243, 2003.

## 8 EFEITO DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO NO CRESCIMENTO E NUTRIÇÃO DE *Mimosa scabrella* BENTHAM.

### RESUMO

A fitorremediação é uma tecnologia para limpeza de solos contaminados com petróleo. Dentre as espécies com uso potencial para a fitorremediação destacam-se as leguminosas devido sua fixação simbiótica de nitrogênio. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do solo contaminado com petróleo e solo contaminado com petróleo e adubado com NPK no crescimento e desenvolvimento de *Mimosa scabrella*. O experimento foi conduzido durante seis meses em casa de vegetação e cada tratamento teve 8 repetições. O teor de TPH dos solos contaminados foi de 12559 mg k<sup>-1</sup> de solo. As variáveis utilizadas para analisar o crescimento foram crescimento em altura, produção de biomassa, teor de pigmentos fotossintéticos e teor de nutrientes. A presença do contaminante no solo reduziu em 80% o crescimento e 88% a produção de biomassa nas plantas e aumentou os teores de clorofila a e total. Por outro lado, as plantas do solo contaminado com petróleo e adubadas com NPK apresentaram um aumento no crescimento, biomassa e teor de pigmentos fotossintéticos. Os teores de nutrientes foram pouco afetados pela presença do contaminante entretanto as plantas do solo contaminado, com ou sem adubação, apresentaram altos teores de Mn.

Palavras-chave: leguminosa, *Mimosa scabrella*, solo contaminado com petróleo, crescimento, biomassa, nutrição.

### 8.1 INTRODUÇÃO

O petróleo constitui a fonte de energia básica que sustenta as atividades industrial e econômica de muitos países. A crescente demanda pelo petróleo e seus derivados tem gerando acidentes com conseqüências danosas ao ambiente (SARKAR *et al.*, 2005). Em julho de 2000 ocorreu o maior vazamento de petróleo no Brasil com a ruptura de um canal que bombeava o óleo cru ate a refinaria Presidente Getúlio Vargas, situada no município de Araucaria- Pr e pertencente a Petrobras. Ao todo, ocorreu o vazamento de quatro milhões de litros que atingiram uma extensa área.

O petróleo e seus derivados são tóxicos às plantas e animais (JESSUP e LEIGHTON, 1996; SVERDRUP *et al.*, 2003) alterando as propriedades físicas e

químicas do solo, sua fertilidade e a textura (XU e JOHNSON, 1997; WYSZKOWSKI *et al.*, 2004) e aumentando a hidropênia do solo contaminado (ROY *et al.*, 2001). A presença de petróleo no solo, de modo geral, reduz o crescimento e desenvolvimento das plantas (EKUNDAYO *et al.*, 2001; MERKL *et al.*, 2004) reduzindo a recuperação da vegetação em até dez anos (SPARROW e SPARROW, 1988; RACINE, 1993). Entretanto, há espécies que podem tolerar e crescer em solos contaminados com hidrocarbonetos. Algumas espécies além de crescer podem contribuir significativamente com a redução da contaminação e este processo é denominado fitorremediação (CUNNINGHAM *et al.*, 1996; HUTCHINSON *et al.*, 2001). As plantas reduzem os contaminantes do solo através de três mecanismos: (1) - absorção do contaminante e posterior acumulação em metabólitos não fitotóxicos nos tecidos; (2)- liberação de substâncias que estimulam a atividade dos microorganismos; e (3)- aumento da mineralização na rizosfera (SCHNOOR *et al.*, 1995).

Alguns trabalhos têm relatado um aumento dos microorganismos e da degradação dos contaminantes em solos com plantas quando comparados com solos sem vegetação (LIN e MENDELSON, 1998; HUTCHINSON *et al.*, 2001). As raízes fornecem uma área superficial para colonização dos microorganismos (FOTH, 1990). A maior parte da degradação dos hidrocarbonetos em solos com vegetação ocorre pelos microorganismos associados à rizosfera (JONER e LEYVAL, 2003) e as plantas suportam o crescimento e a atividade metabólica dos microorganismos fornecendo fotossintetatos na rizosfera (SALT *et al.*, 1998) na forma de açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos, flavonóides, sideróforos e enzimas (ALEXANDER, 1977; CURL e TRUELOVE, 1986; UREN e REISENAUER, 1988, RAO, 1990; JONES e DARRAH, 1995).

Como a maior parte da degradação do contaminante orgânico ocorre na rizosfera, o tamanho e a forma das raízes podem ser particularmente importantes na biorremediação, uma vez que as raízes influenciam, no máximo, 20mm do solo circundante (PAUL e CLARK, 1989). Assim, um sistema radicular grande e profundo pode ser particularmente importante na descontaminação de solos com hidrocarbonetos (MERKL *et al.*, 2005). De um modo geral, um grande volume de rizosfera pode ocorrer em plantas que possuem raízes densas e profundas (CUNNINGHAM e BERTI, 1993), alta razão raiz/parte aérea (BEDFORD *et al.*,

1991), raízes fibrosas (APRILL e SIMS, 1990; ATLAS e BARTHA, 1997) e abundantes pelos radiculares (LEE e BANKS, 1993).

As condições climáticas tropicais estimulam o crescimento das plantas e a atividade dos microorganismos (MERKL *et al.*, 2005). Dentre as espécies com potencial uso na fitorremediação, as leguminosas são consideradas promissoras devido sua independência de nitrogênio do solo (MERKL *et al.*, 2004), fornecimento de nitrogênio aos microorganismos do solo (SIMS, 1990) e possuírem raízes que podem crescer profundamente no solo (KIRK *et al.*, 2002). A fixação simbiótica de nitrogênio presente nestas plantas torna-as mais competitivas em solos pobres em nutrientes (DAVIS *et al.*, 1993) e reduz a competição entre as plantas e os microorganismos pelo nitrogênio disponível no solo (GUDIN e SYRATT, 1975; CUNNINGHAM *et al.*, 1996). Entretanto, alguns trabalhos têm mostrado que as leguminosas podem ser sensíveis à contaminação com hidrocarbonetos (MERKL *et al.*, 2004) e, MALALLAH *et al.* (1996) indicaram *Vicia faba* é um bioindicador para solos contaminados com petróleo.

A formação dos nódulos pode ser influenciada pela disponibilidade de nutrientes, pH do solo, temperatura e estado hídrico da planta. (MARENCO e LOPEZ, 2005). O estresse hídrico afeta negativamente a nodulação. A falta de água no solo pode reduzir a permeabilidade do nódulo ao oxigênio ou o transporte dos produtos da fixação para a parte aérea cujo acúmulo, no nódulo, inibiria a atividade da nitrogenase (SERRAJ *et al.*, 1999). Além disto, a formação do nódulo requer potássio e fósforo. Segundo WERNER (1984), solos pobres em potássio reduzem o crescimento das plantas e diminui a nodulação (número e tamanho dos nódulos), afetando a fixação de nitrogênio. KROLOW *et al.* (2004) atestaram o efeito positivo do fornecimento de potássio e fósforo na formação de nódulos. Por outro lado, JONES *et al.* (1977) observaram que a adubação fosfatada influenciou a nodulação de soja (*Glycine max*) aumentando o número e tamanho de nódulos.

Entre as espécies de leguminosas frequentemente usadas para a revegetação, destaca-se a *Mimosa scabrella* que é uma árvore de porte médio e é amplamente utilizada na recuperação de áreas perturbadas (CARVALHO, 1994) e solos pobres e ácidos (CARPANEZZI e CARPANEZZI 1992). Além disto, está espécie ocorre como exótica em vários países da América do Sul, Central, África e em países como o México e Espanha (CARVALHO, 2003). Devido esta ampla distribuição, o presente



estudo tem como objetivo avaliar o efeito do solo contaminado com petróleo e da suplementação com fósforo e potássio no crescimento e desenvolvimento de *Mimosa scabrella* Benth.

## 8.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os solos contaminado (latitude S25°34'41,6", longitude WO S49°21'31,5") e não contaminado (latitude S25°34'52,7", longitude WO 49°21'24,2") foram coletados de 0 a 20 cm de profundidade na Refinaria Presidente Getúlio Vargas, situada no município de Araucária - Pr - Brasil. O solo contaminado foi obtido das áreas atingidas pelo vazamento de petróleo ocorrido em julho de 2000. O solo contaminado é muito argiloso ao passo que o solo não contaminado é argiloso (LEPSCH, 1991). Alguns atributos físicos e químicos dos solos utilizados encontram-se na Tabela 8.1. A concentração de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) dos solos contaminados é de 12559 mg Kg<sup>-1</sup>, conforme CARVALHO *et al.* (2003).

Após coleta, os solos foram transferidos para a casa de vegetação onde o experimento foi conduzido no período de dezembro de 2001 à abril de 2003. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos: solo contaminado com hidrocarbonetos (C), solo contaminado com hidrocarbonteos e adubado com nitrogênio, fósforo e potássio (CF) e solo não contaminado (NC) e

TABELA 8.1 - ATRIBUTOS FÍSICO-QUÍMICOS DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO(C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).

	C	CF	NC
Areia (%)	6	6	23
Argila (%)	75	75	57
Silte (%)	19	19	20
pH	4,5	4,6	5,0
Al <sup>+3</sup> (cmolc dm <sup>-3</sup> )	1,2	2,9	0
H+Al <sup>+3</sup> (cmol dm <sup>-3</sup> )	10,5	13,1	5,8
Ca <sup>+2</sup> + Mg <sup>+2</sup> (cmolc dm <sup>-3</sup> )	12,4	12	13,9
V (%)	54,7	48,5	70,9
C (g dm <sup>-3</sup> )	38,3	34,1	27,5
N (g Kg <sup>-1</sup> )	3,2	2,9	1,1
C/N	12	11,8	25
P (mg dm <sup>-3</sup> )	6,5	7	4,6
K (cmolc dm <sup>-3</sup> )	0,28	0,32	0,21
Ca (cmolc dm <sup>-3</sup> )	6,8	7,2	7,7
Fe (mg Kg <sup>-1</sup> )	184	197	115
Mn (mg Kg <sup>-1</sup> )	214	142,7	122,7

oito repetições totalizando 24 unidades experimentais. Para o tratamento CF, adicionou-se 57,2 mg de N e 228,8 mg de P por saco plástico sendo que, utilizado o mono amônio fosfato (MAP) como fonte de N e P. Para suplementação de potássio utilizou-se o KCl sendo adicionado 31,2 mg de K por unidade experimental.

Sementes de *Mimosa scabrella* foram germinadas em vermiculita e quando atingiram 2 cm de altura foram transferidas para os sacos com solo tendo-se o cuidado de adicionar apenas duas plântulas por unidade experimental e, três semanas após o plantio, uma das plantas foi retirada deixando apenas uma planta por unidade experimental. O crescimento e desenvolvimento das plantas foi monitorado durante 6 meses (26 semanas) através de medidas mensais da altura da base do caule até a gema apical do ramo principal.

Ao término do experimento procedeu-se a determinação da biomassa seca das plantas. A parte aérea, incluindo folhas e caules foram secos a 65°C durante 24 horas para a determinação da biomassa da parte aérea. Raízes foram lavadas para retirada do solo e depois secas e pesadas para determinação da biomassa.

Para determinação dos pigmentos vegetais, ao término do experimento, o folíolo terminal de uma folha madura e de cada um dos oito indivíduos foi coletado. A extração dos pigmentos foi realizada com acetona 80% (ARNON, 1949) e a quantificação foi determinada em espectrofotômetro UV/VIS (ENGEL e POGGIANI, 1991).

Para a determinação dos teores de nutrientes escolheu-se aleatoriamente 6 plantas de cada tratamento que foram agrupadas em 3 grupos com duas plantas. Cada planta teve dois gramas de folhas secas a 65° C até peso constante, em estufa com ventilação forçada, moído em moinho tipo Wiley. Para determinação do nitrogênio (N) utilizou-se o processo Kjeldahl (BREMNER, 1996). O fósforo (P) foi determinado por colorimetria com vanadato-molibdato de amônio, reação amarela (DA SILVA, 1999); o potássio (K) foi determinado por emissão; Cálcio (Ca), magnésio (Mg), ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu) e manganês (Mn) foram determinados por absorção atômica (DA SILVA, 1999).

Os resultados obtidos para as variáveis do crescimento e teores de nutrientes foram submetidos a análise de variância utilizando o software MSTAT®. Inicialmente as variâncias dos tratamentos foram analisadas quanto a sua homogeneidade pelo teste de Bartlett. Posteriormente as variáveis foram testadas por meio do teste F.

Quando a análise dos resultados indicou existir diferenças estatisticamente significantes entre médias dos tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste Tukey no nível 5% de probabilidade. Para a confecção dos gráficos, ajuste das equações de regressão e cálculo dos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) foi utilizado o software Excel 2003 para Windows XP®.

### 8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela AIV.3 do Anexo 4 são apresentados os resultados da análise de variância para as variáveis de crescimento analisadas, bem como os valores de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) referentes ao teste de Bartlett. Observa-se que as variáveis analisadas apresentam variâncias homogêneas para os tratamentos.

O solo contaminado com petróleo reduziu ( $p < 0,05$ ) em 80% o crescimento de *Mimosa scabrella* (Figuras 8.1 e 8.2 e Figura AIV.1 do Anexo IV). O efeito negativo dos hidrocarbonetos no crescimento de *Mimosa scabrella* já foi observado para outras leguminosas (MERKL *et al.*, 2005; ROBSON *et al.*, 2004) e diverge do trabalho de GUDIN e SYRATT (1975) o qual afirmaram que as leguminosas são freqüentes em solos contaminados com hidrocarbonetos. O fornecimento de fósforo e potássio nos solos contaminados com hidrocarbonetos gerou um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) no crescimento de *Mimosa scabrella* (Figuras 8.1 e 8.2) e grande nodulação evidenciando que as bactérias fixadoras de nitrogênio encontravam-se no solo contaminado. A baixa nodulação observada nas plantas do solo contaminado com hidrocarbonetos (dados não mostrados) já foi observada por outros autores (MERKL *et al.*, 2005) e pode ser devido ao efeito tóxico do poluente (SUOMINEM *et al.*, 2000) ou a pequena disponibilidade de nitrogênio no solo no qual, segundo FERNNER e LEE (1989), é requerido em grande quantidade para formação do nódulo. Entretanto o significativo incremento na altura de *Mimosa scabrella* no solo contaminado com petróleo e adubado com NPK indica que as condições não são fitotóxicas e a adubação pode ter favorecido a nodulação com conseqüente aumento no crescimento das plantas (Figuras 8.1 e 8.2).

No início do experimento, as plantas do tratamento CF apresentaram um crescimento reduzido em relação às plantas do solo não contaminado (Figura 8.1). Ao longo do experimento observou-se um incremento na altura das plantas do tratamento CF até que, ao final do experimento, o incremento final em altura das

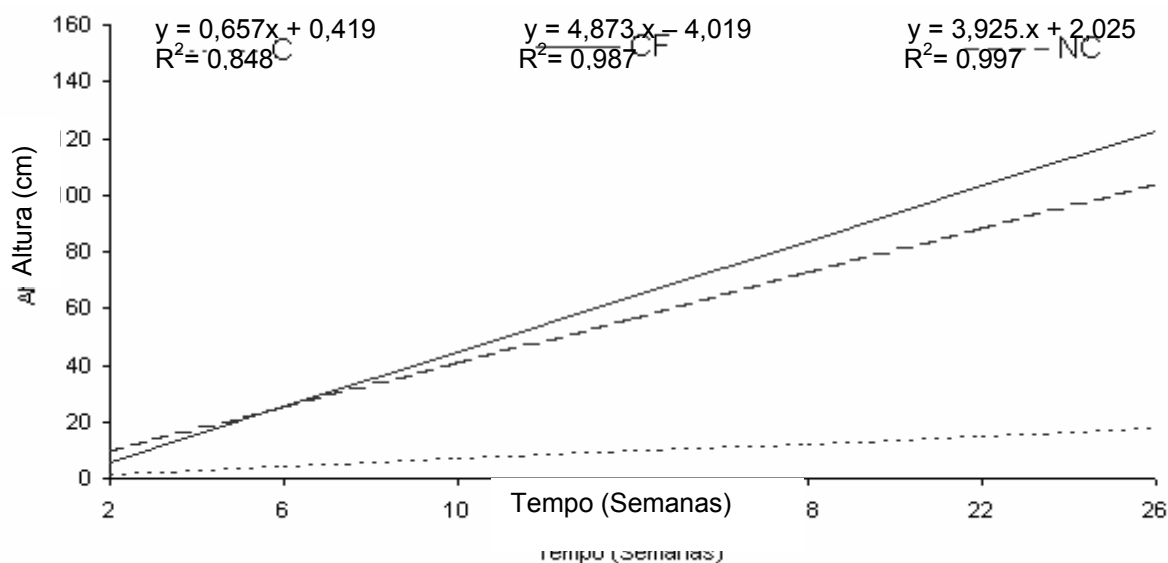


FIGURA 8.1 - CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE *Mimosa scabrella* NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).

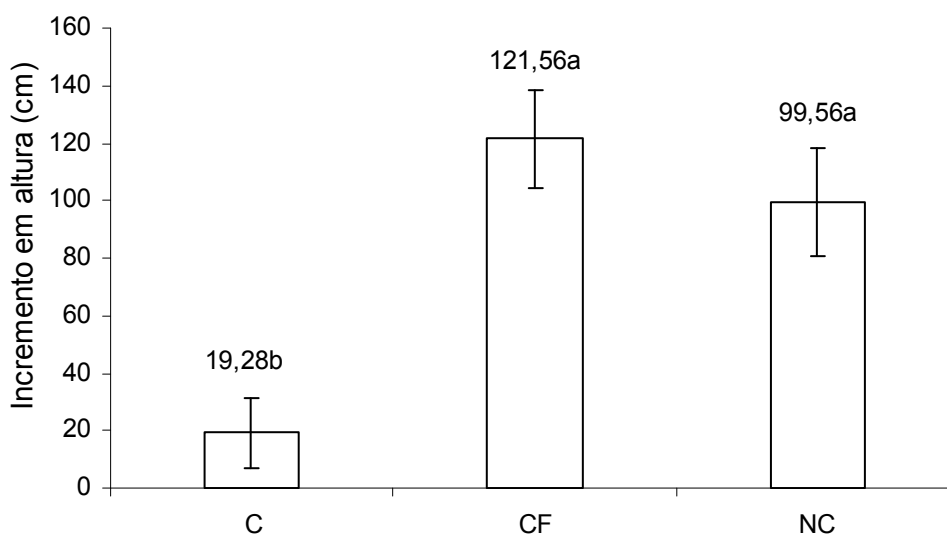


FIGURA 8.2 - INCREMENTO EM ALTURA DAS PLANTAS DE *Mimosa scabrella* EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES, BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTE PELO TESTE TUKEY A  $P > 0,05$ .

plantas do solo contaminado com petróleo e adubado com NPK foi estatisticamente igual ( $p > 0,05$ ) ao observado nas plantas do solo não contaminado (Figura 8.2).

O efeito dos hidrocarbonetos no solo sobre a biomassa de *Mimosa scabrella* é mostrado na Figura 8.3. A presença do contaminante reduziu em 88% a biomassa da raiz e parte aérea nas plantas em solo contaminado. A redução na biomassa da planta em solo contaminado com hidrocarbonetos tem sido relatada por vários pesquisadores (MALALLAH *et al.*, 1996; CHAÎNEAU *et al.*, 1997; GALLEGOS MARTINEZ *et al.*, 2000; MERKL *et al.*, 2004). A redução no crescimento e produção de biomassa pode ser devido à toxidez dos hidrocarbonetos do petróleo (REIS, 1996) e/ou alteração nas propriedades do solo tornando-os hidrofóbicos com conseqüente redução na disponibilidade de água e nutrientes (BAKER, 1970; HUTCHINSON *et al.*, 2001).

O fornecimento de nutrientes em solos contaminados com hidrocarbonetos aumenta a biorremediação (ATLAS, 1981; LEATHY e COLWELI, 1990; WRIGHT *et al.*, 1997) gerando uma menor competição entre as plantas e os microorganismos pelos nutrientes disponíveis e uma melhoria nas propriedades físicas, químicas e biológicas dos solos contaminados (WHITE JR. *et al.*, 2006). A suplementação com NPK no solo contaminado com petróleo não afetou a biomassa das raízes de *Mimosa scabrella* (Figura 8.3), entretanto aumentou significativamente a biomassa da parte aérea ( $p < 0,05$ ).

A razão da biomassa da parte aérea/raiz foi estatisticamente igual nas plantas crescendo em solo contaminado e não contaminado e aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) nas plantas crescendo em solo contaminado com petróleo e adubado com NPK (Figura 8.3). Para uma espécie possuir potencial para a fitorremediação, as raízes devem reduzir o mínimo possível sua biomassa (MERKL *et al.*, 2004). A redução na biomassa das raízes de *Mimosa scabrella* que cresceram no solo contaminado indica que as plantas encontram-se sob estresse. O fornecimento de NPK aumentou a biomassa das raízes e a razão biomassa da parte aérea/raiz (Figura 8.3) e isto se deve, provavelmente, a um aumento no fluxo de carbono da parte aérea para as raízes no início do experimento (Figura 8.1). Esta alocação de carbono aumentou a biomassa das raízes das plantas do solo contaminado com

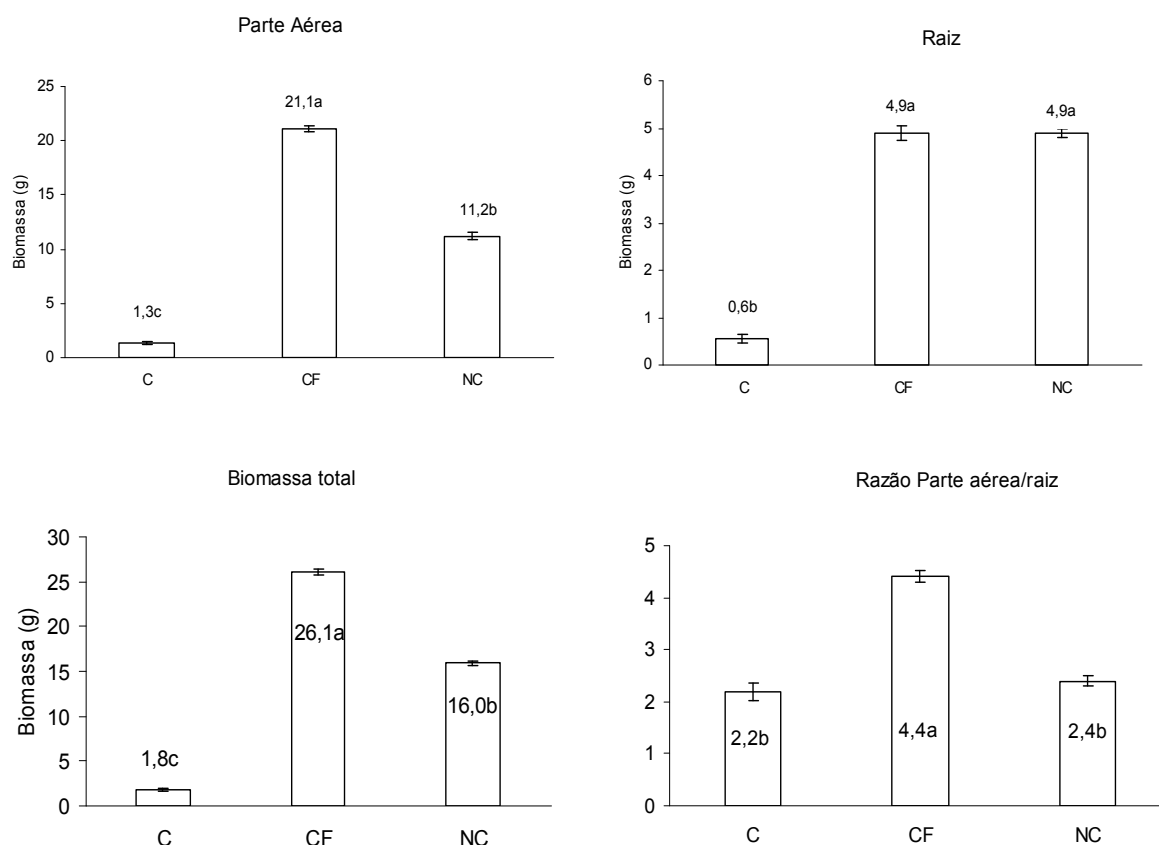


FIGURA 8.3.- PRODUÇÃO DE BIOMASSA NAS PLANTAS DE *Mimosa scabrella* EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES, BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY A  $P > 0,05$ .

petróleo e adubado com NPK de tal modo que, ao final do experimento a biomassa das raízes foi estatisticamente igual ( $p > 0,05$ ) às plantas que cresceram no solo não contaminado e o excedente de carbono foi utilizado para aumento da biomassa da parte aérea (Figura 8.3). Este comportamento fisiológico é importante na fitorremediação e explica por que esta espécie é amplamente utilizada na revegetação de solos impactados (CARVALHO, 1994).

Alterações nos pigmentos fotossintéticos estão diretamente relacionados à poluição (AGRAWAL, 1992) e tem sido relacionado como um indicador da contaminação ambiental (MALALLAH *et al.*, 1996). A presença do contaminante no solo não afetou a concentração de clorofila b mas aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) o teor de clorofila a e total (Figura 8.4). Por outro lado, a adubação com

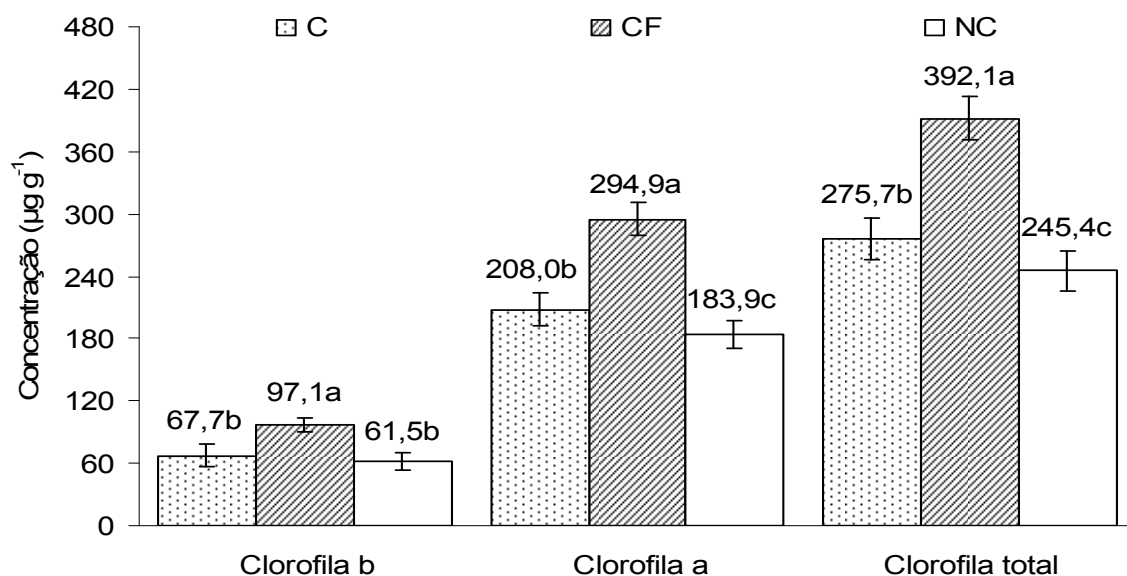


FIGURA 8.4 - CONCENTRAÇÃO DE PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS NAS FOLHAS DE *Mimosa scabrella* QUE CRESCERAM NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE OITO REPETIÇÕES, BARRAS INDICAM O DESVIO PADRÃO. COLUNAS COM A MESMA LETRA NÃO SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES PELO TESTE TUKEY A  $P > 0,05$ .

NPK no solo contaminado aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) os teores dos pigmentos fotossintéticos (Figura 8.4) o que sugere que o menor crescimento das plantas de *Mimosa scabrella* no solo contaminado não se deve a uma redução ou dano nos pigmentos fotossintéticos. O efeito do solo contaminado com hidrocarbonetos sobre os pigmentos fotossintéticos tem sido estudado e, de um modo geral, a presença do contaminante reduz os teores dos pigmentos fotossintéticos (BAKER, 1970; GREEN et al., 1996; MALALLAH et al., 1996; ACHUBA, 2006), entretanto já foram observadas espécies cujos teores não foram alterados ou aumentaram na presença do petróleo no solo (MALALLAH et al., 1998). Até o momento não se sabe como o solo contaminado com petróleo afeta os teores de pigmentos vegetais.

Os teores de macronutrientes analisados encontram-se na Tabela 8.2. A análise de variância para os nutrientes analisados bem como os valores qui-quadrado referentes ao teste de Bartlett são mostrados na Tabela AIV.5 do Anexo IV. Devido ao reduzido crescimento das plantas do solo contaminado com petróleo,

TABELA 8.2.- CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES NAS FOLHAS DE *Mimosa scabrella* QUE CRESCERAM NO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), SOLO CONTAMINADO COM ADUBAÇÃO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC). VALORES REPRESENTAM MÉDIA  $\pm$  DESVIO PADRÃO DE TRÊS REPETIÇÕES.

	C	CF	NC
N <sup>1</sup>		25,4 $\pm$ 0,7a	24,0 $\pm$ 0,9
P <sup>1</sup>	1,24 $\pm$ 0,12a	1,55 $\pm$ 0,24a	1,48 $\pm$ 0,07a
K <sup>1</sup>	7,54 $\pm$ 0,73a	8,03 $\pm$ ,039a	7,8 $\pm$ 0,39a
Ca <sup>1</sup>	15,2 $\pm$ 1,14a	10,9 $\pm$ 0,81b	11,7 $\pm$ 2,19ab
Mg <sup>1</sup>	2,16 $\pm$ 0,27a	1,57 $\pm$ 0,07a	2,03 $\pm$ 0,29a
Fe <sup>2</sup>	230,7 $\pm$ 23,18a	172 $\pm$ 20a	168,3 $\pm$ 39,8a
Mn <sup>2</sup>	527,7 $\pm$ 34,85a	540,3 $\pm$ 51,7a	56 $\pm$ 4,58b
Cu <sup>2</sup>	18 $\pm$ 2,65a	16,3 $\pm$ 3,21a	16,7 $\pm$ 2,1a
Zn <sup>2</sup>	286,3 $\pm$ 26,6a	216 $\pm$ 14,1b	194,3 $\pm$ 36,5b

<sup>1</sup> g kg<sup>-1</sup>    <sup>2</sup> mg kg<sup>-1</sup>

Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes a  $p > 0,05$  pelo teste Tukey.

não foi possível quantificar o teor de N nas suas folhas. O teor de N entre as plantas do solo contaminado com petróleo e adubado com NPK e as plantas do solo não contaminado não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ). As plantas de ambos os tratamentos apresentavam uma grande quantidade de nódulos nas raízes com grande incremento em altura (Figuras 8.1 e 8.2) e produção de biomassa (Figura 8.3).

A presença dos hidrocarbonetos no solo com ou sem adubação com NPK não afetou os teores de P, K, Ca, Mg, Fe e Cu (Tabela 8.2). As plantas do solo contaminado apresentaram um aumento de 47% na concentração de Zn e, as plantas do solo contaminado com petróleo e adubadas com NPK reduziram significativamente ( $p < 0,05$ ) o teor desse micronutriente. Solos contaminados com hidrocarbonetos parecem induzir a um aumento na concentração de Mn em algumas espécies (EKUNDAYO *et al.*, 2001; AMADI *et al.*, 1993) e, os teores de Mn encontrados nas folhas de *Mimosa scabrella* que cresceram no solo contaminado com hidrocarbonetos com ou sem adubação com NPK foram quase 10x maiores que os teores observados nas plantas do solo não contaminado (Tabela 8.2). Esses altos teores encontrados nas plantas do solo contaminado podem estar relacionado à



maior disponibilidade do nutriente no solo (Tabela 8.1) e/ou ao potencial genético da espécie (MENGEL e KIRBY, 1987). Os teores de Mn encontrados nas folhas das plantas que cresceram no solo contaminado com petróleo e solo contaminado com petróleo e adubado com NPK são estatisticamente iguais ( $p > 0,05$ ) apesar das plantas do solo contaminado com suplementação nutricional terem apresentado um aumento de 93% de biomassa total quando comparadas com as plantas do solo contaminado. Deste modo, é provável que os teores de Mn encontrados nas folhas de *Mimosa scabrella* não sejam fitotóxicos.

O crescimento de *Mimosa scabrella* foi significativamente reduzido pelos hidrocarbonetos no solo. O efeito do solo contaminado pode ser atribuído ao estresse hídrico causado pela redução na capacidade de reter água. Não foram observadas alterações significativas nos teores de pigmentos fotossintéticos bem como de nutrientes entre as plantas dos tratamentos. A suplementação com NPK no solo contaminado provavelmente melhorou as propriedades físicas, químicas e biológicas, o que não são detectadas numa simples análise de rotina, reduzindo a hidrofobicidade causada pelos hidrocarbonetos nestes solos o que possibilitou um incremento significativo no crescimento e produção de biomassa pelas plantas no solo contaminado com petróleo.

#### 8.4 REFERÊNCIAS

ACHUBA, F. The effects of sublethal concentrations of crude oil on the growth and metabolism of cowpea (*Vigna unguiculata*) seedlings. **The Environmentalist**, Ontario, v. 26, n.1, p.17-20, 2006.

AGRAWALL, S. B. Effect of supplemental UV-B radiation of photosynthetic pigment, protein and glutathione contents in green algae. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 32, n.2, p.137-143, 1992.

ALEXANDER, M. **Introduction to Soil Microbiology**. New York: John Wiley and Sons., 1977, 480p.

AMADI A, DICKSON, A. A.; MAATE, G. O. Remediation of soil Polluted soils: 1. Effect of organic and inorganic nutrient supplements of performance of maize (*Zea may L.*). **Water, Air and soil Pollution**, Ontario, v.66, v.1-2, p.59-76, 1993.

APRILL, W.; SIMS, R. C. Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. **Chemosphere**, Châteleine, v.20, v.1-2, p. 253-265, 1990.

ARNON, D. I. Cooper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Hanover, v. 24, n.1, p.1-15, 1949.

ATLAS, R.M. 1981. Biodegradation of petroleum hydrocarbon and environmental perspective. **Microbiological Review**, Washington, v. 45, n.1, p.180-209, 1981

ATLAS, R.; BARTHA, R. **Microbial ecology**. 3.ed. New York: The Benjamin Cummings Publ. Co., 1993. 306 p.

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

BEDFORD, B.L.; BOULDIN, D.R.; BELIVEAU, B.D. Net oxygen and carbondioxide balances in solutions bathing roots of wetland plants. **Journal of Ecology** London, v.79, n.5, p.943-959, 1991.

BREMNER, J.M. Nitrogen-Total. *In-* Sparks, D. L. **Methods of Soil Analysis, Chemical Methods**. Madison: SSSA Book Series, 1996. p.1085-1121.

CARPANEZZI, A.A.; CARPANEZZI, O.T.B. Cultivo da bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) no Brasil e prioridades para o seu aperfeiçoamento. In: **CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL**, 7., 1992, Nova Prata. Anais. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1992. v.2, p.640-655.

CARVALHO, F.J.P.C., CASTRO RAC, ABDANUR A, KRENCZYNKI MC, TEIXEIRA SC, CONEGLIAN, D. **Relatório sobre o monitoramento do solo contaminado**. Repar / SMS. 2003. 149p.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ; Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 640p.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas Brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 1038p.

CHAÎNEAU, C.H.; MOREL, J.L. AND OUDOT, J. Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. **J. Environ. Qual.**, Madison, v. 26, n.6, p.1478-1483, 1997.

CUNNINGHAM, S.D.; BERTI, W.R. The remediation of contaminated soils with green plants: An overview. **J. Tissue Cult. Assoc.**, Dhaka, v. 29: n.2, p. 207-212, 1993.

CUNNINGHAM, S.D.; OW, D. W. Promises and Prospects of Phytoremediation. **Plant Physiology**, Bethesda, v.110, n.3, p.715-719, 1996.

CURL, E.A.; TRUELOVE, B. *The Rhizosphere*. Berlin: Springer-Verlag, 1986.228p

DA SILVA, F.C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa solos, 1999. 370p.

DAVIS, L.C.; ERICKSON, L.E.; LEE, E.; SHIMP, J.F.; TRACY, J.C. Modeling the effects of plants on the bioremediation of contaminated soil and ground water. **Env. Prog.**, Hoboken, v.12, n.1, p. 67-75, 1993.

EKUNDAYO, E. O.; EMEDE, T. O.; OSAYANDE, D.I. Effects of crude oil spillage on growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in soils of midwestern Nigeria. **Plant Foods for Human nutrition**, Rotterdam, v. 56, n.4, p. 313-324, 2001.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Rev. Bras. Fisiol. Vegetal**, Campinas, v. 3, n.1, p. 39-45, 1991.

FERNNER, M.; LEE, W. G. Growth of seedlings of pasture grasses and legumes deprived of single mineral nutrients. **J. Appl. Ecol.**, London, n.26, n.2, p.223-232, 1989.

FOTH, H. D. Fundamentals of soil science, 8<sup>th</sup> ed. New York: Wiley Publ., 1990. 384p.

GALEGOS MARTÍNEZ, M.; GÓMEZ SANTOS, A.; GONZÁLES CRUZ, L.; MONTES DE OCA GARCÍA, M. A.; YANEZ TRUJILLO, L.; ZERMENO EGUIA LIZ, J. A.; GUTIÉRREZ-ROJAS, M. Diagnostic and resulting approaches to restore petroleum-contaminated soil in a Mexican tropical swamp. **Water Sci. Technol.**, v. 42, n.5-6, p. 377-384, 2000.

GREEN, B. T.; WIBERG, C. T.; WOODRUFF, J. L.; MILLER, E. W.; POAGE, V. L.; CHILDRESS, D. M.; FEUINER, J. A.; PROSCH, S. A.; RUNKEL, J. A. WANDERCHEID, 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**, Paris, v.36, n.3, p. 313-321, 1996.

GUDIN, C.; SYRATT, W. J. Biological aspects of land rehabilitation following hydrocarbon contamination. **Environmental Pollution**, London, v. 8, n.1, p.107-112, 1975.

HUTCHINSON, S. L.; BANKS, M. K.; SCHWAB, A. P. Phytoremediation of aged petroleum sludge: Effects of inorganic fertilizer. **J. Environ. Qual.**, Madison, v. 30, n.2, p. 395-403, 2001.

JESSUP, D. A.; LEIGHTON, F. A. Oil pollution and petroleum toxicity to wildlife. In: FAIRBROTHER, A.; LOCKE, L.N.; PRESS, G. L. **Noninfectious Diseases of Wildlife**. The Hague: Monitoring of Air pollutants by plants publishers, 1996. p. 59-72.

JONER, E. J.; LEYVAL, C. Phytoremediation of organic pollutants using mycorrhizal plants: a new aspect of rhizosphere interactions. **Agronomie**, Dijon, v. 23, n.5-6, p. 495-502, 2003

JONES, G.D.; LUTZ Jr, J.A.; SMITH, T.J. Effects of phosphorus and potassium on soybean nodules and seed yield. **Agronomy Journal**, Madison, v.69, n.6, p.1003-1006, 1977.

JONES, D.L.; DARRAH, P.R. Influx and efflux of organic acids across the soilroot interface of *Zea mays* L. and its implications in rhizosphere C flow. **Plant and Soil**, Rotterdam, v. 173,n.1, p. 103-109, 1995.

KIRK, J. L.; KLIRONOMOS, J. N.; LEE, H.; TREVORS, J. T. Phytotoxicity assay to assess plant species for phytoremediation of petroleum-contaminated soil. **Bioremediation J.**, Philadelphia, v. 6, n.1, 57-63, 2002.

KROLOW, R. H.; MISTURA,C.; COELHO, R. W.; LOTAR SIEWERDT, L.; ZONTA, É. P. Efeito do Fósforo e do Potássio sobre o Desenvolvimento e a Nodulação de Três Leguminosas Anuais de Estação Fria. **R. Bras. Zootec.** Viçosa, v.33, n.6, p.2224-2230, 2004.

LEATHY, J. G.; COLWELI, R. R. Microbial degradation of hydrocarbon in the environment. **Microbiol. Rev.**, Madison, v.54, n.3, p.305-315, 1990.

LEE, E.; BANKS, M.K., Bioremediation of petroleum contaminated soil using vegetation: A microbial study. **J. Environ. Sci. Health**, Philadelphia v. A28, n.10, p.2187-2198, 1993.

LEPSCH, I. F. **Manual para levantamento utilitário do meio físico e classificação de terras no sistema de capacidade de uso. 4º aproximação.** Campinas: SBCS, 1991. 175p.

LIN, Q.; MENDELSSOHN, I.A. The combined effects of phytoremediation and biostimulation in enhancing habitat restoration and oil degradation of petroleum combined wetlands. **Ecol Eng.**, Columbus, v.10, n.3, p. 263-274, 1998

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

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

MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. Fisiologia Vegetal- Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral. Viçosa: Editora UFV, 2005. 451p.

MENGEL, K.; KIRBY, E. A. Principles of Plant Nutrition. 4. ed. Bern: International Potash Institute, 687p. 1987.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Phytoremediation in the tropics-The effect of crude oil on the growth of tropical plants. **Bioremediation J**, Philadelphia, v.8, n.1, p. 177-184, 2004.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils. **Water, Air, and soil Pollution**, Ontario, v.165, n.2, p. 195-209, 2005.

PAUL, E.A.; CLARK, F.E. **Soil Microbiology and Biochemistry**. New York: Academic Press, 1989, 273p.

RACINE, C. H. Long-term recovery of vegetation on two experimental crude oil spills in interior Alaska black spruce taiga. **Can. J. Bot.**, Guelph, v. 72, n.8, p. 1172-1177, 1993.

RAO, A.S. Root flavonoids. **Botan. Rev.**, New York, v.56, n.1, p.1-84, 1990.

REIS, J.C. **Environmental control in petroleum Engineering**. Houston: Gulg Prof. Publ.1996. 400p.

ROBSON, D.B.; KNIGHT, J.D.; FARRELL, R.E. AND GERMIDA, J.J. Natural revegetation of hydrocarbon-contaminated soil in semi-arid grasslands. **Can. J. Bot.**, Ottawa, v.82, n.1, p.22-30, 2004.

ROY, J. L.; MCGILL, W. B.; LOWEN, H. A.; JOHNSON, R. L. Relationship between water repellency and native and petroleum-derived organic carbon in soils. **J. Environ. Qual.**, Madison, v. 32, n.2, p.583-590, 2003.

SALT, D.E.; SMITH, R.D.; RASKIN, I., Phytoremediation. **Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Bio.**, Palo Alto, v.49, p. 643-668,1998.

SARKAR D, FERGUSON M, DALLA R, BIRNBAUM S. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. **Environmental Pollution**, London, v.136, n.1, p. 187-195, 2005.

SERRAJ, R.; VALDEZ, V.; DENISON, R.F.; SINCLAIR, T.R. involvement of ureides in nitrogen fixation inhibition in soybean. **Plant Physiology**, v.119, n.1, Rockville, p.289-296, 1999.

SCHNOOR, J.L.; LICHT, L.A.; MCCUTCHEON, S.C.; WOLFE, N.L.; CARREIRA, L.H., Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. **Environ. Sci. Technol.**, Iowa City,, v. 29, n.2, p. 318-323, 1995.

SIMS, R. C. Soil remediation techniques at uncontrolled hazardous waste sites: a critical review. **J. Air Waste Manag. Assoc.**, Pittsburgh, v. 40, n.5, p.704-732, 1990.

SPARROW S. D., SPARROW, E. B. Microbiol biomass and activity in a subarctic soil ten years after oil spills. **J. Environ. Qual.** Madison,, v. 17, n.2, p. 304-309, 1988.

SUOMINEN, L.; JUSSILA, M. M.; MAKELAINEN, K.; ROMANTSCHUK, M.; LINDSTROM, K. Evaluation of the Galega – *Rhizobium galegae* system for the bioremediation of oil-contaminated soil. **Environmental Pollution**, London, v.107, n.2, p. 239-244, 2000.

SVERDRUP, L. E.; KROGH, P. H.; NIELSEN, T.; KJAER, C.; STENERSEN, J. Toxicity of eight polycyclic aromatic compounds to red clover (*Trifolium pratense*), ryegrass (*Lolium perenne*), and mustard (*Sinapsis alba*). **Chemosphere**, Châteleine, v. 53, n.8, p.993-1003,2003.

UREN, N.C.; REISENAUER, H.M. The role of root exudates in nutrient acquisition. **Adv. Plant Nutr.**, v. 3, n.1, p.79-114, 1988.

WRIGHT, A. L.; WEAVER, R. W.; WEBB, J. W. Oil bioremediation in salt marsh mesocosms as influenced by N and P fertilization, flooding, and season. **Water, Air and soil pollution**, Ontario, v.95, n.2, p.179-191, 1997.

WHITE JR., P. M.; WOLF, D. C.; THOMA, G.J.; REYNOLDS, C.M. Phytoremediation of alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons in a crude oil contaminated soil. **Water, Air and soil pollution**, Ontario, v.169, n.1-4, p. 207-220, 2006.

WERNER, J.C. **Adubação de pastagens**. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 1984. 49p. (Boletim Técnico, 18).

WYSZKOWSKI, M.; WYSZKOWSKA, J.; ZIÓLKOWSKA, A. Effect of soil contamination with diesel oil on yellow lupine yield and macroelements content. **Plant Soil Environ.**, Olsztyn, v.50, n.2, p. 218-226, 2004.

XU J.C.; JOHNSON, R.L. Nitrogen dynamics in soil with different hydrocarbons contents planted to barley and field pea. **Can. J. of soil Sci.**, Lethbridge, v.77, n.3, p. 453-458, 1997.

## 9 EFEITO DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO NA ESTRUTURA DO LENHO JUVENIL DE TRÊS ESPÉCIES FLORESTAIS.

### RESUMO

A presença de hidrocarbonetos de petróleo no solo pode causar hidrofobicidade o que pode levar a um estresse hídrico nas plantas. O presente trabalho teve o objetivo de analisar o efeito do solo contaminado com petróleo na estrutura do lenho juvenil de três espécies florestais. O experimento de campo foi conduzido com mudas de *Podocarpus lambertii* que cresceram em duas áreas contaminadas (C1 e C2) e uma área não contaminada (NC). O experimento de casa de vegetação foi conduzido com mudas de *Podocarpus lambertii*, *Allophylus edulis* e *Mimosa scabrella* que cresceram em solo contaminado com petróleo (C) e solo não contaminado (NC). As variáveis analisadas foram: diâmetro da base do caule, comprimento, diâmetro e espessura da parede do elemento condutor e altura e largura dos raios. As plantas de *Podocarpus lambertii* da área C1 apresentaram redução no comprimento das traqueídes e aumento na espessura da parede dessas células, indicando encontrarem-se sob estresse hídrico. As plantas da área C2 não apresentaram nenhuma alteração nas traqueídes. No experimento de casa de vegetação não foi observado alterações significativas nas traqueídes de *Podocarpus lambertii* e vasos de *Allophylus edulis*. As plantas de *Mimosa scabrella* em solo contaminado com petróleo reduziram em 15% o comprimento, 52% o diâmetro e 16% a espessura da parede celular dos vasos. Observou-se também redução de 43% no diâmetro da base do caule e aumento de 63% no número de vasos por mm<sup>2</sup> do lenho. Esses resultados indicam que essas plantas se encontram sob estresse hídrico.

Palavras chave: *Podocarpus lambertii*, *Mimosa scabrella*, *Allophylus edulis*, estrutura lenho jovem, solo contaminado com petróleo.

### 9.1 INTRODUÇÃO

O petróleo é uma mistura complexa de centenas de hidrocarbonetos e alguns metais (BAEK *et al.*, 2004) e constitui fonte primária de energia no mundo. O uso crescente de petróleo tem gerado freqüentes acidentes (WHITE JR., *et al.*, 2006) o

que tem resultado na contaminação de grandes áreas do planeta e afetando negativamente os ecossistemas (SARKAR *et al.*, 2005). O estudo dos efeitos do petróleo, e seus derivados, no crescimento e desenvolvimento de espécies vegetais teve grande impulso a partir dos anos 90 devido a constatação de que as plantas, e os microorganismos associados contribuem, significativamente, com a descontaminação de solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo (CUNNINGHAM *et al.*, 1996). Este processo é chamado de fitorremediação e constitui uma alternativa viável para a descontaminação de solos com hidrocarbonetos em substituição aos processos físicos e químicos usualmente utilizados (CUNNINGHAM *et al.*, 1996; ROBSON, *et al.*, 2004; NEWMAN e REYNOLDS, 2004).

A presença dos hidrocarbonetos de petróleo altera vários atributos físicos e químicos do solo (MARTINEZ e LÓPEZ, 2001). Dado a natureza hidrofóbica do petróleo, solos contaminados tendem a apresentar hidrorrepelência (ROY *et al.*, 2003) resultando em condições desfavoráveis as atividades dos microorganismos (HUTCHINSON *et al.*, 2001) e limitando a absorção de água e nutrientes pelas plantas (JOYNER e LEYVAL, 2001). Segundo ROY *et al.* (2003), estudos sobre hidrorrepelência nos solos com hidrocarbonetos são raros, apesar de centenas de trabalhos relatarem este fenômeno em solos com hidrocarbonetos. Segundo os mesmos autores, a hidrorrepelência é freqüente no horizonte A ou, de 0 a 10cm, indicando que este fenômeno é predominantemente superficial. Segundo MORLEY *et al.* (2005), compostos orgânicos polares com alto peso molecular são os prováveis responsáveis pela repelência da água nos solos contaminados com hidrocarbonetos. Estes estudos indicaram que a água pode ser um fator limitante ao crescimento das plantas e HUTCHINSON *et al.* (2001) observaram que a irrigação aumentou a biomassa das plantas e a descontaminação em solos com altos níveis de contaminação por hidrocarbonetos ( $>35 \text{ g kg}^{-1}$  de solo).

A hidrofobicidade dos solos causada pela presença de contaminantes orgânicos pode resultar num estresse hídrico em muitas espécies vegetais. A extensão do estresse hídrico é variável de acordo com a espécie, idade da planta, estado nutricional e fase do desenvolvimento (TAIZ e ZEIGER, 1998). Sob condições de estresse, a planta aumenta a tensão no xilema visando manter a continuidade de água no sistema solo-planta-atmosfera (TAIZ e ZEIGER, 1998).



Este aumento na tensão pode resultar na cavitação dos elementos condutores do xilema com redução ou interrupção no transporte de água (HACKE e SPERRY, 2001). Cavitação é um processo no qual uma fase de vapor e ar é introduzida, a partir das células adjacentes, no interior do elemento condutor na forma de pequenas bolhas que podem se unir causando a embolia (CHOAT *et al.*, 2003). Esse é reconhecido como o efeito mais significativo e danoso nas plantas sob estresse hídrico (TYREE e SPERRY, 1989; ATKINSON e TAYLOR, 1996). O mecanismo de formação da embolia não é totalmente compreendido sob o ponto de vista fisiológico, entretanto já foram reconhecidas plantas com estratégias fisiológicas e estruturais para reduzir a formação da cavitação e restabelecer o fluxo da seiva xilemática (TAIZ e ZEIGER, 1998; HOLBROOK e ZWIENIECKI, 1999; PITTERMANN e SPERY, 2003).

Alguns trabalhos recentes têm avaliado o papel da estrutura dimensional dos elementos condutores na formação das bolhas de ar. Madeira com poros em anéis ou difusos sofrem grande perda no transporte de água, provavelmente devido a seus grandes vasos (EWERS, 1985; SPERRY E SULLIVAN, 1992; FEILD e BRODRIBB, 2001). Pequenas bolhas de ar podem ser dissolvidas mais facilmente na seiva xilemática de elementos condutores menores (YANG e TYREE, 1992). Portanto, elementos condutores com grande diâmetro são mais vulneráveis ao estresse hídrico devido a grande possibilidade de formação da cavitação e/ou embolia (CHOAT *et al.*, 2003).

Outro estresse associado aos solos contaminados com petróleo é o estresse anaeróbico (RENTZ *et al.*, 2003). A hipoxia dos solos contaminados com compostos orgânicos reduz a absorção de água resultando num estresse hídrico (TAIZ e ZEIGER, 1998; BANGA *et al.*, 1995). Muitas das respostas das plantas à hipoxia são mediadas pela produção de etileno (DREW, 1997). Deste modo, a sobrevivência das plantas sob condições de anaerobiose se deve a habilidade de transportar oxigênio da parte aérea até as raízes para manutenção da respiração aeróbica, absorção de nutrientes (BARUSCH e MÉRIDA, 1995; JACKSON e ARMSTRONG, 1999) e a atividade da rizosfera (STOECKER *et al.*, 1995).

O crescente uso das plantas para aumentar a degradação dos compostos orgânicos do petróleo (CUNNINGHAM *et al.*, 1996) tem resultado em alguns trabalhos avaliando os efeitos dos hidrocarbonetos do petróleo sobre o crescimento

das plantas (EKUNDAYO *et al.*, 2001; MERKL *et al.*, 2004). Entretanto pouco se conhece sobre os efeitos do solo contaminado com hidrocarbonetos sobre os aspectos estruturais das plantas. ALKIO *et al.* (2005) relataram a absorção de fenantreno (um composto presente no petróleo) por *Arabidopsis* o qual gerou a morte de células do mesofilo, entretanto esses autores não avaliaram o efeito deste composto nos elementos condutores do xilema. Segundo MERKL *et al.* (2004), a presença de hidrocarbonetos no solo reduz as divisões celulares da raiz de algumas gramíneas. Redução no meristema apical da raiz também já foi observada em plântulas de *Sebastiania commersoniana* crescendo em solo com óleo diesel (BARDELI-DA-SILVA, 2006). MARANHO (2004) relatou alterações estruturais nas traqueídes de árvores de *Podocarpus lambertii* como resultado da exposição direta ao petróleo e correlacionou estas alterações ao estresse hídrico causado pelo poluente. O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito do solo contaminado com petróleo em alguns aspectos da estrutura do lenho (xilema secundário) jovem de *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl., *Allophylus edulis* (Saint Hilaire) Radlkofer e *Mimosa scabrella* Benth.

## 9.2 MATERIAIS E MÉTODOS

As plantas utilizadas neste experimento foram aquelas cujo crescimento e desenvolvimento foram descritos nos capítulos anteriores. Para o experimento em campo, delimitou-se 3 parcelas na área do acidente ocorrido em junho de 2000 na REPAR/PETROBRAS, no município de Araucária-PR, sendo 2 em áreas contaminadas (C1 e C2) e uma em área não contaminada (NC). O teor de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) do solo contaminado das áreas C1 e C2 foram 30029 e 11901 mg kg<sup>-1</sup> (CARVALHO *et al.*, 2003).

Para o experimento em casa de vegetação, solo contaminado com petróleo (C) e solo não contaminado (NC) foram retirados na área do acidente e trazidos para a casa de vegetação no Departamento de Botânica da UFPR. O teor de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) do solo contaminado foi de 12559 mg kg<sup>-1</sup> (CARVALHO *et al.*, 2003). A tabela 9.1 apresenta um resumo do ambiente no qual as plantas foram cultivadas, a idade das mudas que foram plantadas nos tratamentos e o tempo de exposição das mudas ao solo contaminado.

TABELA 9.1 - QUADRO-RESUMO DA MONTAGEM DO EXPERIMENTO EM CAMPO E CASA DE VEGETAÇÃO.

Espécie	Ambiente	Tratamentos	Idade (meses)	Tempo de exposição (meses)
<i>Podocarpus lambertii</i>	Campo	C1, C2 e NC	20	15
	Casa de vegetação	C e NC	6	13
<i>Allophylus edulis</i>	Casa de vegetação	C e NC	4-6	13
<i>Mimosa scabrella</i>	Casa de vegetação	C e NC	0,5	6

No início e final do experimento de campo e de casa de vegetação mediu-se o diâmetro na base do caule para as mudas de *Podocarpus lambertii* e *Allophylus edulis* ao passo que para as mudas de *Mimosa scabrella* apenas mediu-se o diâmetro do caule ao final do experimento. Ao término do experimento, amostras do xilema secundário foram retiradas do último anel de crescimento (próximo ao câmbio) na base do caule de 8 indivíduos para cada espécie e tratamento. Cada amostra foi fixada com FAA 70 e estocadas em álcool 70% (JOHANSEN, 1940). As amostras fixadas foram utilizadas para confecção de lâminas das células dissociadas e lâminas permanentes de secções transversais e longitudinais tangenciais.

A obtenção do macerado do lenho foi através do método de FRANKLIN (1945) modificado por KRAUS e ARDUIN (1997), que consiste na dissociação do caule utilizando uma mistura de ácido acético glacial e peróxido de hidrogênio 30% na proporção 1:1 em estufa a 60°C até dissociação do tecido, em frasco fechado. Posteriormente, o material dissociado foi lavado exaustivamente em água destilada. O dissociado foi corado com safranina 1% em solução aquosa e as lâminas foram montadas em gelatina e glicerina (BERLYN e MIKSHE, 1976). Para preparação das lâminas permanentes, as amostras foram desidratadas em série etílica e incluídas em metacrilatoglicol (historesina JB4 da Polyscience), conforme as especificações do fabricante e a técnica de FEDER e O'BRIEN (1968). O material incluído foi seccionado em micrótomo rotativo, com 5 µm de espessura. As secções foram distendidas nas lâminas, secas e coradas com azul de toluidina (SAKAI, 1973) e montadas em resina sintética.

Para *Podocarpus lambertii* foram determinados, no macerado e nas lâminas permanentes, o comprimento, diâmetro e espessura da parede celular das traqueídes, comprimento e altura do raio. Nas demais espécies, foram determinados o comprimento, diâmetro e espessura da parede celular dos elementos de vaso e das fibras, comprimento e altura dos raios e número de poros (vasos) por mm<sup>2</sup>. Cada variável foi medida 50 vezes em cada uma das 8 repetições por tratamento e por espécie. As mensurações foram realizadas em microscópio fotônico (OLYMPUS – CX40) com camera digital Olympus. Os softwares utilizados foram o Microsuite TM Basic para capturar as imagens e o Olympus Plan para efetuar as medições.

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância utilizando o software MSTAT<sup>®</sup>. Inicialmente as variâncias dos tratamentos foram analisadas quanto a sua homogeneidade pelo teste de Bartlett. Posteriormente as variáveis foram testadas por meio do teste F. Para o experimento em casa em campo, quando a análise dos resultados indicou existir diferenças estatisticamente significantes entre médias dos tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste Tukey no nível 5% de probabilidade.

### 9.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Tabelas do Anexo V são apresentados os resultados da análise de variância para as variáveis analisadas no lenho juvenil das espécies estudadas bem bem como os valores de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) referentes ao teste de Bartlett. Observou-se que as variáveis analisadas apresentavam variâncias homogêneas para os tratamentos do experimento de campo e de casa de vegetação..

#### 9.3.1 *Podocarpus lambertii*

A estrutura das traqueídes do lenho jovem de *Podocarpus lambertii* foi afetada pela presença de hidrocarbonetos de petróleo (Tabela 9.2 e Figuras 9.1, 9.2). As traqueídes das plantas da área C1 apresentaram uma redução significativa de 30% no comprimento e um aumento de 12% na espessura da parede celular quando comparado com as traqueídes das plantas da área NC. O aumento na espessura da parede celular das traqueídes da área C1 pode estar relacionado à deficiência de água nos solos, uma vez que, o aumento na tensão necessita de um reforço de lignina na parede celular para prevenir a implosão do elemento condutor (HACKE *et*

TABELA 9.2 - EFEITO DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C1 E C2) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC) NO DIÂMETRO DA BASE DO CAULE E NA ESTRUTURA DO LENHO JUVENIL DE *Podocarpus lambertii*. VALORES REPRESENTAM A MÉDIA  $\pm$  DESVIO PADRÃO PARA AS 8 REPETIÇÕES.

	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	NC
Incremento no Diâmetro na base do caule (cm)	0,161 $\pm$ 0,031b	0,63 $\pm$ 0,072a	0,57 $\pm$ 0,107a
Comprimento Traqueídes ( $\mu$ m)	1029,22 $\pm$ 115,62c	1168,99 $\pm$ 79,40b	1436,33 $\pm$ 47,15a
Diâmetro Traqueíde ( $\mu$ m)	21,98 $\pm$ 1,76b	25,36 $\pm$ 1,66a	23,65 $\pm$ 1,74ab
Espessura Parede Celular Traqueíde ( $\mu$ m)	2,40 $\pm$ 0,20a	2,53 $\pm$ 0,18a	2,14 $\pm$ 0,16b
Altura Raio ( $\mu$ m)	68,23 $\pm$ 2,21c	89,62 $\pm$ 10,45a	75,37 $\pm$ 3,11b
Largura Raio ( $\mu$ m)	10,89 $\pm$ 0,58b	13,65 $\pm$ 1,26a	11,68 $\pm$ 1,02b

Médias com a mesma letra não são significativas a  $p > 0,05$  pelo teste Tukey.

*al.*, 2001). Além disto, segundo SINGH e JAIN (2003), alguns compostos do petróleo podem ser absorvidos pelas plantas e serem adsorvidos na lignina como um processo fisiológico de desintoxicação das células. PITTERMANN e SPERRY (2003) sugeriram que a condutividade hidráulica do lenho das coníferas é maximizada pelo aumento no diâmetro dos traqueídes. Por outro lado, os integrantes da família Podocarpaceae são caracterizados por apresentarem traqueídes com reforço na parede celular .sob moderada tensão e, deste modo, constituem elementos com baixa eficiência hidráulica (PITTERMANN *et al.*, 2006).

Não foi observada diferença significativa no diâmetro das traqueídes das plantas da área C1 e NC (Tabela 9.2), entretanto, a maior espessura da parede celular das traqueídes das plantas da área C1 indicam uma uma redução no lumen dos elementos condutores, o que deve ter contribuído para um aumento na ineficiência hidráulica destas plantas. A redução do crescimento do xilema

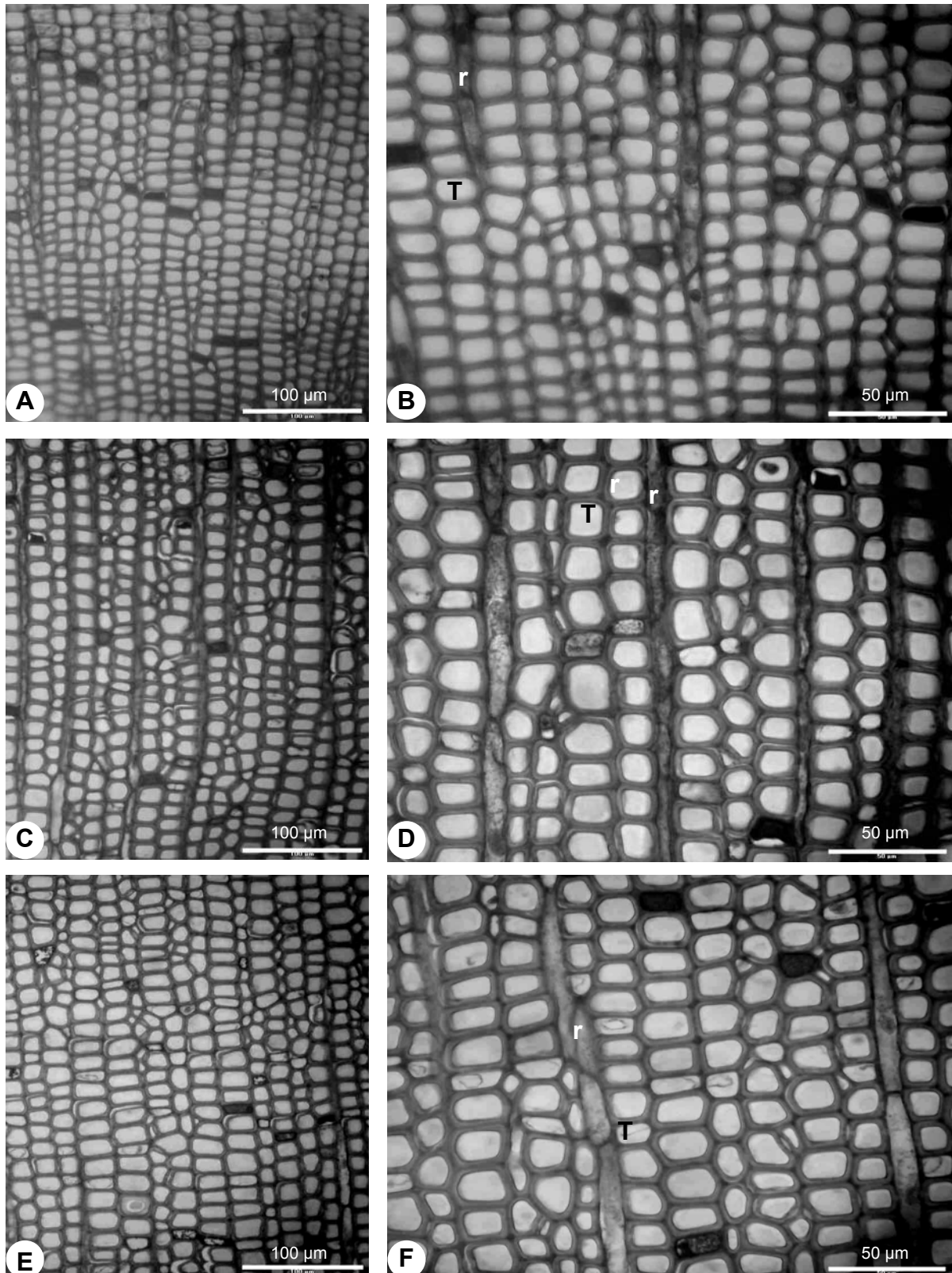


FIGURA 9.1 - SECÇÕES TRANSVERSAIS DO LENHO JUVENIL DE *Podocarpus lambertii*. A E B – ÁREA C1; C E D- ÁREA C2 E E E F- ÁREA NC. T- TRAQUEÍDE; R- RAIOS.

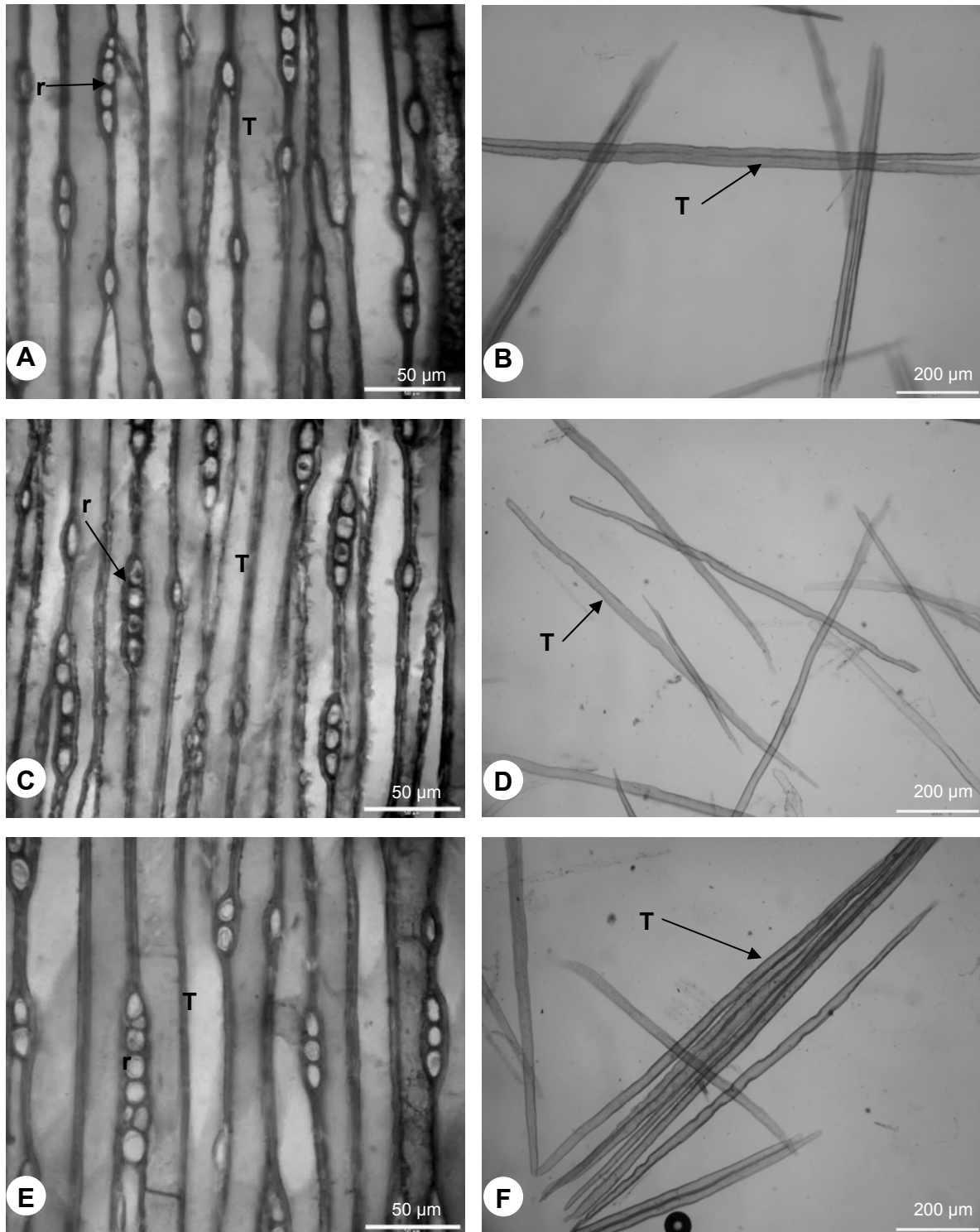


FIGURA 9.2 - SECÇÕES TANGENCIAIS (A,C,E) E TRAQUEÍDES (B,D,F) DO LENHO JUVENIL DE *Podocarpus lambertii*. A E B ÁREA C1; C E D -ÁREA C2; E E F-ÁREA NC. T= TRAQUEÍDE; r=RAIO.

secundário está diretamente relacionado a um aumento na resistência hidráulica e correlacionada com uma baixa capacidade fotossintética (BRODRIBB e FEILD, 2000), baixo crescimento (Capítulo 5) e redução significativa no comprimento e largura das células parenquimáticas dos raios.

Traqueídes com maior diâmetro estão mais sujeitos a embolia do que elementos menores (ZIMMERMANN, 1983; CARLQUIST, 1988). Neste aspecto, é pouco provável que as plantas de *Podocarpus lambertii* possam desenvolver cavitação nas traqueídes, o que sugere que o aumento na espessura da parede celular das traqueídes das plantas da área C1 (Tabela 9.1) possa ser uma estratégia visando a resistir a um aumento na tensão do xilema.

As plantas da área C2 apresentaram uma redução significativa de 18% no comprimento das traqueídes e um aumento de 18% na espessura da parede celular, semelhante ao observado nas traqueídes das plantas da área C1. Entretanto, as traqueídes das plantas da área C2 não apresentaram alteração significativa no diâmetro do elemento condutor em relação às plantas do solo não contaminado mas apresentaram um aumento de 15% em relação às plantas da área C1. Este aumento do diâmetro das traqueídes indica que estas plantas não encontravam-se sob estresse hídrico devido à ausência de diferença significativa na espessura da parede celular das células condutoras das plantas da área C1 e C2. É provável que o incremento do diâmetro e espessura da parede celular das traqueídes das plantas da área C2 esteja relacionado a dupla função estrutural deste elemento condutor ou seja, a função de transporte e suporte. Neste caso, o aumento significativo do crescimento das plantas da área C2 (Capítulo 5) necessitou de um aumento no tecido de suporte desempenhado pelas traqueídes não resultando em nenhuma melhoria na eficiência hidráulica e aumento na altura e largura dos raios do xilema. O aspecto estrutural das traqueídes de *Podocarpus lambertii* pode ser uma estratégia visando um crescimento pequeno, mas contínuo e longo em condições de déficit hídrico (PITTERMANN *et al.*, 2006) o que, frequentemente está associado com deficiência nutricional e de luz (BRODRIBB e HILL, 2004).

Se a presença de hidrocarbonetos no solo poderia estar causando um estresse hídrico devido a natureza hidrofóbica do contaminante (MORLEY *et al.*, 2005), em condições de casa de vegetação, sob nebuliz ação automática, visando manter o solo próximo de sua capacidade de retenção máxima este efeito negativo tenderia a



ser reduzido. As mudas de *Podocarpus lambertii* crescendo nestas condições não apresentaram alterações significativas no comprimento, diâmetro e espessura da parede celular das traqueídes (Tabela 9.3 e Figura 9.3 ). Esses resultados indicam que as traqueídes apresentam uma eficiência hidráulica similar entre as plantas do solo contaminado e não contaminado (PITTERMANN *et al.*, 2006). Entretanto, houve uma significativa redução ( $p < 0,05$ ) na altura e largura dos raios das plantas do solo contaminado (Tabela 9.3 e Figura 9.3). Alguns trabalhos têm mostrado que solos contaminados com hidrocarbonetos reduzem os teores de pigmentos fotossintéticos e a atividade fotossintética das plantas (MALALLAH *et al.*, 1996; PEZESHKI *et al.*, 2001). É provável que grande parte da produção de fotossintetatos pelas mudas de *Podocarpus lambertii*, crescendo em solo contaminado com hidrocarbonetos tenha

TABELA 9.3 - EFEITO DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC) NO DIÂMETRO DA BASE DO CAULE E NA ESTRUTURA DO LENHO JUVENIL DE *Podocarpus lambertii*. VALORES REPRESENTAM A MÉDIA  $\pm$  DESVIO PADRÃO PARA AS 8 REPETIÇÕES.

	C	NC
Incremento no Diâmetro na base do caule (cm)	0,45 $\pm$ 0,05 <sup>ns</sup>	0,54 $\pm$ 0,03 <sup>ns</sup>
Comprimento Traqueíde ( $\mu$ m)	1035,53 $\pm$ 57,53 <sup>ns</sup>	1022,21 $\pm$ 28,52 <sup>ns</sup>
Diâmetro Traqueíde ( $\mu$ m)	21,97 $\pm$ 1,10 <sup>ns</sup>	22,31 $\pm$ 0,99 <sup>ns</sup>
Espessura Parede Celular Traqueíde ( $\mu$ m)	1,80 $\pm$ 0,17 <sup>ns</sup>	1,68 $\pm$ 0,15 <sup>ns</sup>
Comprimento Raio ( $\mu$ m)	64,57 $\pm$ 3,53 <sup>**</sup>	146,28 $\pm$ 38,56 <sup>**</sup>
Largura Raio ( $\mu$ m)	10,97 $\pm$ 0,17 <sup>**</sup>	13,12 $\pm$ 0,88 <sup>**</sup>

<sup>ns</sup> não significativo pelo teste de F

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de F

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste de F

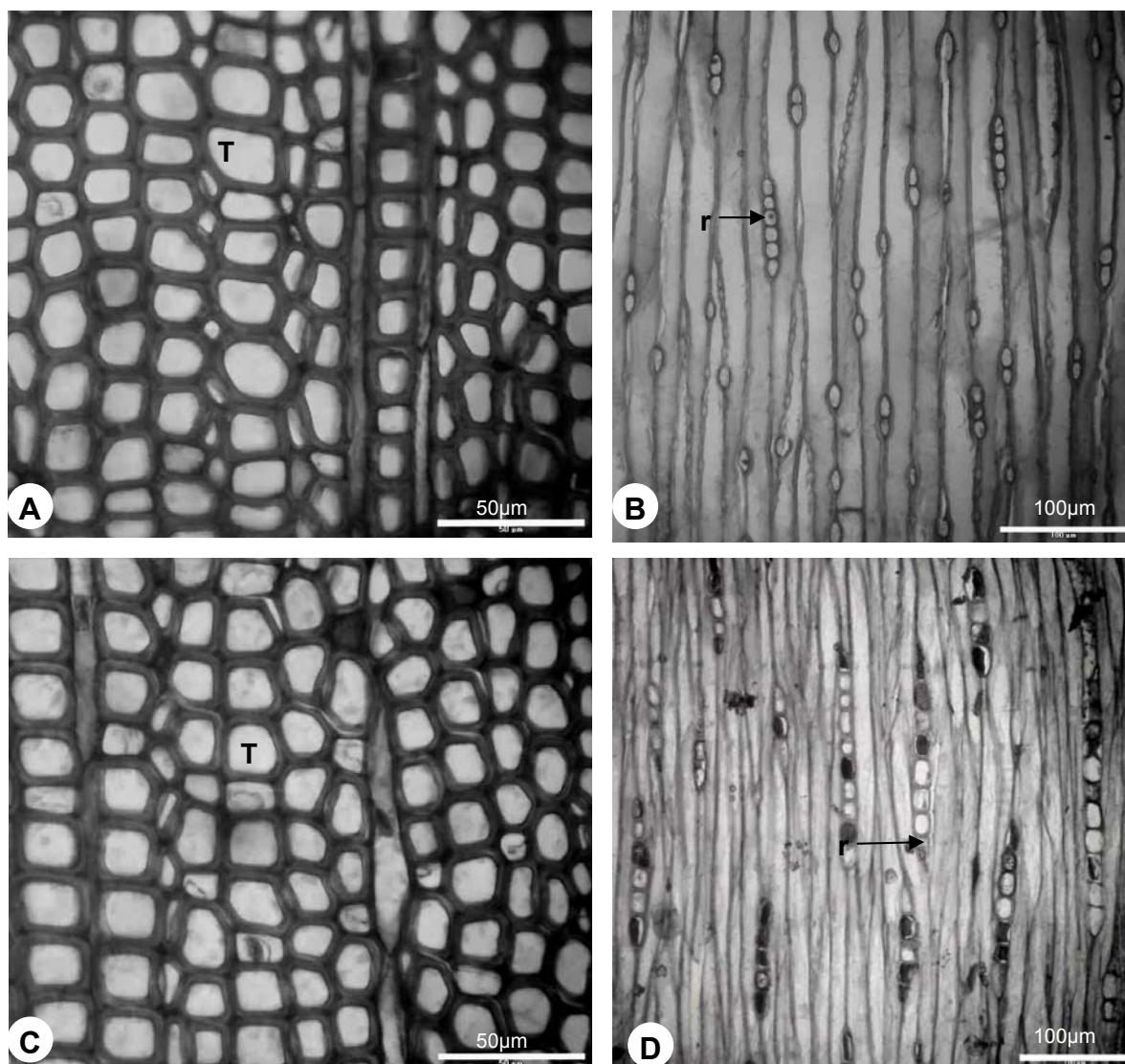


FIGURA 9.3.- SECÇÕES TRANSVERSAIS E TANGENCIAIS DO LENHO JUVENIL DE *Podocarpus lambertii* EM SOLO CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO COM PETRÓLEO. A- SECÇÃO TRANSVERSAL E B SECÇÃO TANGENCIAL DAS PLANTAS DO SOLO CONTAMINADO; C- SECÇÃO TRANSVERSAL E D- SECÇÃO LONGITUDINAL DAS PLANTAS DO SOLO NÃO CONTAMINADO.

sido alocado para produção de biomassa de raiz e pouco esteja disponível para atividade do câmbio e, principalmente estocagem de amido.

### 9.3.2 - *Allophylus edulis* e *Mimosa scabrella*

O efeito do solo contaminado com petróleo na estrutura dos elementos do lenho juvenil e *Allophylus edulis* e *Mimosa scabrella* encontram-se nas Tabela 9.4. O crescimento de *Allophylus edulis* foi significativamente afetado pelo solo

contaminado (Capítulo 7), entretanto, não foi observada nenhuma alteração significativa ( $p > 0,05$ ) no diâmetro do caule, comprimento e diâmetro dos vasos e espessura da parede dos vasos (Tabela 9.4 e Figura 9.4) indicando que as mudas não se encontravam sob estresse hídrico. Por outro lado, o comprimento e o diâmetro das fibras foram significativamente aumentados nas plantas do solo contaminado o que pode ser uma estratégia visando reduzir algum dano dos elementos de vaso frente a um aumento na tensão (HACKE e SPERRY, 2001) ou um mecanismo associado à desintoxicação de pequenas moléculas orgânicas oriundas do petróleo (SINGH JAIN, 2003, PILON-SMITS, 2005).

O crescimento de *Mimosa scabrella* foi significativamente reduzido pela presença do contaminante no solo (Capítulo 8) e seus elementos condutores foram significativamente afetados ( $p < 0,05$ ) pelo contaminante (Tabela 9.4 e Figuras 9.5 e 9.6). Os vasos das plantas que cresceram no solo contaminado reduziram em 15% o seu comprimento, 52% o diâmetro e 16% (Figura 9.6) a espessura da parede celular quando comparados com as plantas do solo não contaminado. Estes resultados sugerem que *Mimosa scabrella* encontrava-se sob severo estresse hídrico com redução no comprimento e diâmetro do vaso (HACKE e SPERRY, 2001). Segundo BAAS *et al.* (1983), vasos de maior diâmetro são mais eficientes no transporte de água, porém menos seguros devido ao maior risco à cavitação. Ainda, segundo os mesmos autores, espécies em ambientes xéricos tendem a reunir os fatores para aumentar a segurança estrutural dos vasos e possibilitar uma eficiência no transporte da seiva xilemática aumentando a frequência de vasos de menor diâmetro. *Mimosa scabrella* apresentou estas adaptações (Tabela 9.4 e Figuras 9.5 e 9.6) visando a minimizar a cavitação do elemento condutor frente a uma forte tensão a qual estes elementos estão provavelmente sujeitos. Segundo ROY *et al.* (2003), a hidrorrepelência do solo com hidrocarbonetos é maior nas camadas superficiais da superfície do solo e, como as plantas de *Mimosa scabrella* foram plantadas com 2cm, é provável que estas plantas estejam fortemente afetadas pela hidrofobicidade causada pelo petróleo no solo.

Outro aspecto que pode ter contribuído com a variação do xilema secundário observado em *Mimosa scabrella* são as substâncias reguladoras de crescimento. Mesmo não tendo sido analisado neste trabalho, sabe-se que a auxina exerce

TABELA 9.4 - EFEITO DO SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC) NO DIÂMETRO DA BASE DO CAULE E NA ESTRUTURA DO XILEMA SECUNDÁRIO JUVENIL DE *Allophylus edulis* E *Mimosa scabrella*. VALORES REPRESENTAM A MÉDIA  $\pm$  DESVIO PADRÃO PARA AS 8 REPETIÇÕES.

		<i>Allophylus edulis</i>	<i>Mimosa scabrella</i>
Diâmetro na base do caule (cm)	C	0,039 $\pm$ 0,04 <sup>ns</sup>	0,27 $\pm$ 0,04**
	NC	0,039 $\pm$ 0,04 <sup>ns</sup>	0,62 $\pm$ 0,08**
Poros mm <sup>-2</sup>	C	220 $\pm$ 8 <sup>ns</sup>	342,25 $\pm$ 30,64**
	NC	215 $\pm$ 10 <sup>ns</sup>	209,88 $\pm$ 12,86**
Comprimento Vaso ( $\mu$ m)	C	342,14 $\pm$ 36,88 <sup>ns</sup>	195,94 $\pm$ 6,08**
	NC	313,69 $\pm$ 13,55 <sup>ns</sup>	229,38 $\pm$ 18,57**
Diâmetro Vaso ( $\mu$ m)	C	37,72 $\pm$ 3,73 <sup>ns</sup>	37,96 $\pm$ 2,03**
	NC	35,03 $\pm$ 4,90 <sup>ns</sup>	79,16 $\pm$ 6,21**
Espessura Parede Celular Vaso ( $\mu$ m)	C	1,93 $\pm$ 0,128 <sup>ns</sup>	3,43 $\pm$ 0,22**
	NC	2,11 $\pm$ 0,39 <sup>ns</sup>	4,05 $\pm$ 0,27**
Comprimento Fibra ( $\mu$ m)	C	452,95 $\pm$ 47,95*	450,51 $\pm$ 46,32*
	NC	403,00 $\pm$ 33,23*	506,52 $\pm$ 50,03*
Diâmetro Fibra ( $\mu$ m)	C	17,03 $\pm$ 1,03**	14,55 $\pm$ 0,19 <sup>ns</sup>
	NC	35,03 $\pm$ 4,9**	14,77 $\pm$ 0,34 <sup>ns</sup>
Espessura Parede Celular Fibra ( $\mu$ m)	C	1,71 $\pm$ 0,06 <sup>ns</sup>	3,30 $\pm$ 0,19 <sup>ns</sup>
	NC	1,76 $\pm$ 0,31 <sup>ns</sup>	3,40 $\pm$ 0,34 <sup>ns</sup>
Altura Raio ( $\mu$ m)	C	164,15 $\pm$ 24,21 <sup>ns</sup>	259,88 $\pm$ 30,06**
	NC	176,22 $\pm$ 9,85 <sup>ns</sup>	309,13 $\pm$ 13,66**
Largura Raio ( $\mu$ m)	C	11,38 $\pm$ 0,98**	20,59 $\pm$ 1,98**
	NC	12,97 $\pm$ 0,58**	24,13 $\pm$ 2,47**

<sup>ns</sup> - não significativo pelo teste F.

\*\* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

\* significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

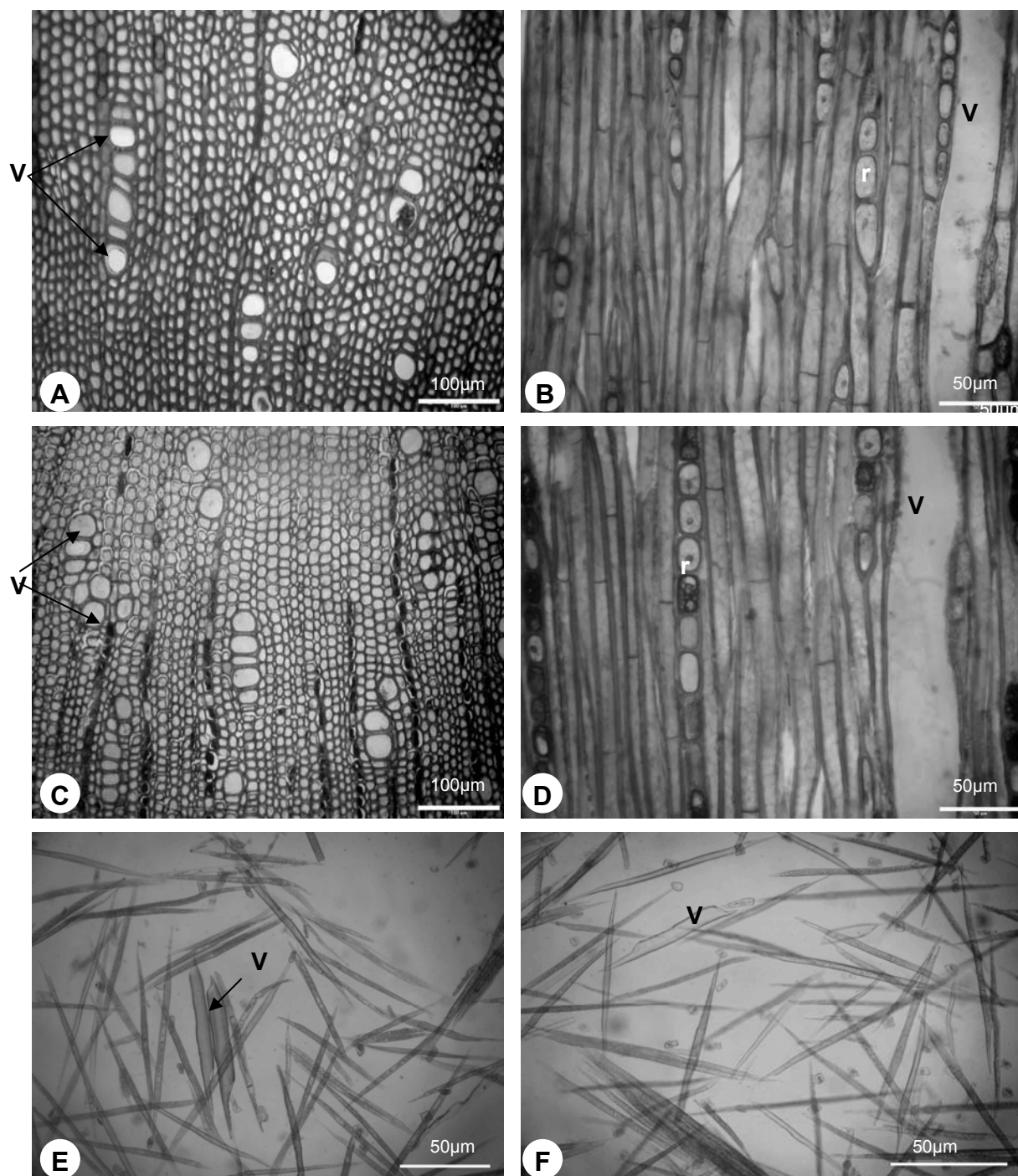


FIGURA 9.4 - SECÇÕES TRANSVERSAIS, TANGENCIAIS E MACERADO DO LENHO JUVENIL DE *Allophylus edulis* EM SOLO CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO COM PETRÓLEO. A- SECÇÃO TRANSVERSAL E B SECÇÃO TANGENCIAL DAS PLANTAS DA ÁREA CONTAMINADA; C- SECÇÃO TRANSVERSAL E D- SECÇÃO TANGENCIAL DAS PLANTAS DO SOLO NÃO CONTAMINADO. E- ELEMENTOS DO XILEMA DAS PLANTAS DA ÁREA CONTAMINADA. F- ELEMENTOS DO XILEMA DAS PLANTAS DA ÁREA NÃO CONTAMINADA.. V= VASO; r= RAIO.

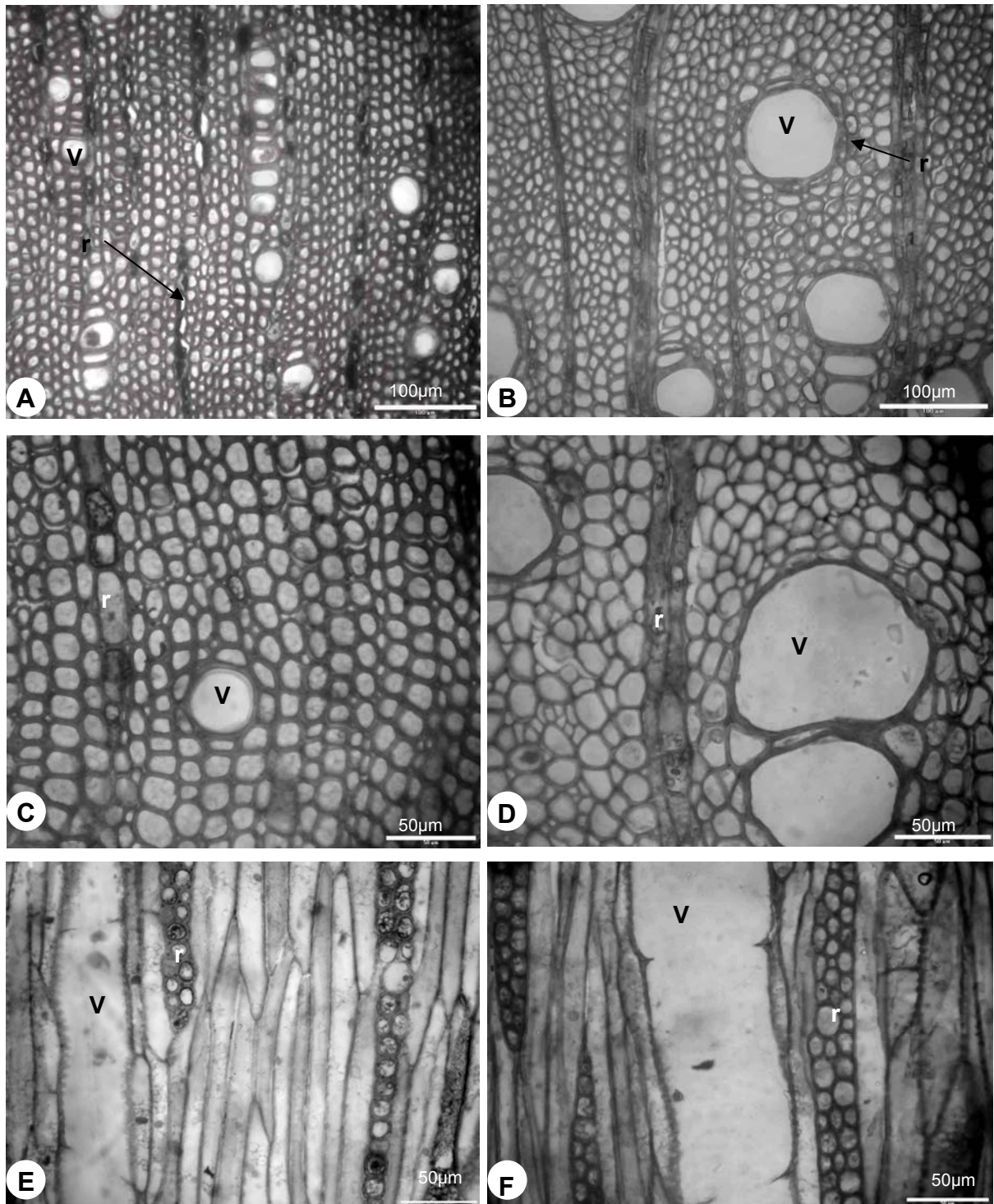


FIGURA 9.5 - SECÇÕES TRANSVERSAIS, TANGENCIAIS DO LENHO JUVENIL DE *Mimosa scabrella*. FIGURAS A E C SECÇÕES TRANSVERSAIS E FIGURA E SECÇÃO TANGENCIAL DAS PLANTAS QUE CRESCERAM NO SOLO CONTAMINADO COM PETR LEO. FIGURAS B E D SECÇÕES TRANSVERSAIS E FIGURA F SECÇÃO TANGENCIAL DAS PLANTAS QUE CRESCERAM NO SOLO NÃO CONTAMINADO.

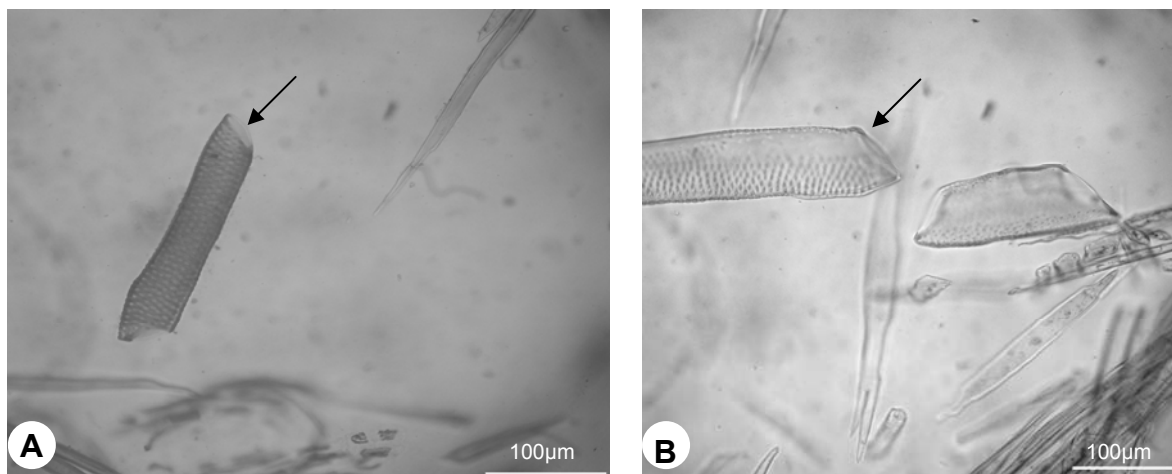


FIGURA 9.6 - VASO DO LENHO JUVENIL (SETA ) DE *Mimosa scabrella* QUE CRESCERAM EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (A) E SOLO NÃO CONTAMINADO (B).

possui papel importante na regulação da atividade cambial, incluindo mitoses nas niciais fusiformes e diferenciação das células derivadas. Com o baixo crescimento da parte aérea observado nas plantas de *Mimosa scabrella* em solo contaminado, a síntese de auxina deve ter sido reduzida refletindo na redução da atividade do cambio (KOZLOWSKI e PALLARDY, 1997) com redução significativa ( $p < 0,05$ ) no diâmetro do caule (Tabela 9.4) e altura e largura do raio.

### Conclusões

Em condições de campo sob alta contaminação (área C1) *Podocarpus lambertii* exibiu sinais de estresse hídrico com aumento na espessura da parede celular e comprimento das traqueídes. Sob moderada contaminação (área C2), estes efeitos foram significativamente reduzidos. Por outro lado, em condições de casa de vegetação e sob moderada contaminação, não foi observado nenhuma alteração significativa nas traqueídes.

*Allophylus edulis* não exibiu alterações significativas nos elementos de vaso sendo que as alterações observadas nas fibras podem estar relacionadas a um aumento na tensão dos elementos de vaso das plantas do solo contaminado.

*Mimosa scabrella* apresentou sinais de estresse hídrico com redução significativa do crescimento e biomassa nas plantas do solo contaminado. Dado o fato dessa espécie ter sido plantada na fase de plântula, a hidrofobicidade do solo contaminado pode ter sido o aspecto que tenha influenciado estes resultados.

Há poucas informações sobre o efeito do solo contaminado em vários aspectos fisiológicos e estruturais das plantas. Os resultados aqui apresentados abrem uma nova área para pesquisas visando entender e extensão do estresse hídrico a qual as plantas podem estar submetidas em solos contaminados com hidrocarbonetos. Além disto, tentar correlacionar o grau de contaminação no solo com a tensão no xilema para espécies arbóreas.

#### 9.4- REFERÊNCIAS

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**, Lancaster, v.56, n.421, p. 2983-2994, 2005.

ATKINSON, C. J.; TAYLOR, J.M. . Effects of elevated CO<sub>2</sub> on stem growth, vessel area and hydraulic conductivity of oak and cherry seedlings. **New Phytologist**, Sheffield, v.133, n.4, 617–626, 1996.

BAAS, P., WHEELER, E. e FAHN, A. Some ecological trends in vessel characters. **IAWA Bulletin**, Leiden, v.4, n.1, p.141-159, 1983.

BAEK K.; KIM H.; OH H.; YOON B.; KIM J.; LEE I. Effects of crude oil, oil components and bioremediation on plant growth. **J. of Environmental Science and health**, Philadelphia v.39, n.9, p. 2465-2472, 2004.

BANGA, M.; BLOM, C.W.P.M.; VOESENEK, L.A.C.J. Flood-induced leaf elongation in *Rumex* species: effects of water depth and water movements. **New Phytologist**, Sheffield, v. 131, n.2, p. 191-198, 1995.

BARDELI-DA-SILVA, M.Y., **Efeitos do solo contaminado com óleo diesel na germinação, crescimento e morfoanatomia de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L.B.Sm. e Downs (Euphorbiaceae)**. Curitiba, 2006. 81f. Tese (Mestrado em Botânica)- Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

BARUSCH, Z.; MÉRIDA, T. Effects of drought and flooding on root anatomy in four tropical forage grasses. **International J. of Plant Sci.**, Chicago, v. 156, n.3, p. 514-521, 1995.

BERLYN, G. P.; MIKSHE, J. P. **Botanical Microtechnique and Cytochemistry**. Ames: The Iowa State University Press, 1976. 325 p.

BRODRIBB, T.; FEILD, T.S. Steam hydraulic supply is linked to leaf photosynthetic capacity: evidence from New Caledonian and Tasmanian rainforests. **Plant, Cell and Environment**, Logan, v.23, n.12, p.1381-1288, 2000.



BRODRIBB, T.; HILL, R.S. Light response characteristics of morphologically diverse group of southern hemisphere conifers as measured by chlorophyll fluorescence. **Oecologia**, Berlin, v.110, n.1, p.10-17, 2004.

CARLQUIST, S. **Comparative wood anatomy - systematic ecological and evolutionary aspects of dicotyledonean wood**. Berlin: Springer Verlag, 1988. 448p.

CARVALHO, F.J.P.C., CASTRO RAC, ABDANUR A, KRENCZYNKI MC, TEIXEIRA SC, CONEGLIAN, D. **Relatório sobre o monitoramento do solo contaminado**. Repar / SMS. 2003. 149p.

CHOAT, B.; BALL, M.; LULY, J.; HOLTUM, J. Pit membrane porosity and water stress-induced cavitation in four co-existing dry rainforest tree species. **Plant Physiology**, Rockville, v.131, n.1, p. 41-48, 2003.

CUNNINGHAM, S. D.; ANDERSON, T. A.; SCHWAB, D. E.; ANDERSON, T. A. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Adv. Agron.**, New York, v. 56, p. 55-114, 1996.

DREW, M. Oxygen deficiency and root metabolism: Injury and acclimation under hypoxia and anoxia. **Annual Review. Of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 48, p. 223-250, 1997.

EKUNDAYO, E. O.; EMEDE, T. O.; OSAYANDE, D.I. Effects of crude oil spillage on growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in soils of midwestern Nigeria. **Plant Foods for Human nutrition**, Rotterdam, v. 56, n.4, p. 313-324, 2001.

EWERS, F.W. Xylem structure and water conduction in conifer trees, dicot trees and lianas. **IAWA Bulletin**, Leiden, v.6, n.2, p.309-317, 1985.

FEDER, N., O'BRIEN, T.P.. Plant microtechnique: some principles and new methods. **Am. J. Bot.**, St. Louis, v.55, n.1, p.123-124, 1968.

FIELD, T. S.; BRODRIBB, T. Steam water transport and freeze-thaw xylem embolism in conifers and angiosperms in a Tasmanian treeline heath. **Oecologia**, Berlin, v. 127, n.3, p. 314-320, 2001.

FRANKLIN, G.L. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. **Nature**, New York, v.155, p.51, 1945.

HACKE, U. G.; SPERRY, J. S. Functional and ecological xylem anatomy. **Perspect Plant Ecol. Evol. Syst.**, Zürich, v. 4, n. 1, p. 97-115, 2001.

HACKE, U. G.; STILLER, V.; PITTERMANN, J.; McCULLOH, K. A. Cavitation fatigue: embolism and refilling cycles can weaken the cavitation resistance of xylem. **Plant Physiology**, v.125, n.2, p.779-786, 2001.

HOLBROOK, N. M.; ZWIENIECKI, M. A. Embolism repair and xylem tension: do we need a miracle? **Plant Physiology**, Rockville, v.120, n.1, p.7-10, 1999.

HUTCHINSON, S. L.; BANKS, M. K.; SCHWAB, A. P. Phytoremediation of aged petroleum sludge: Effects of inorganic fertilizer. **J. Environ. Qual.**, Madison, v. 30, n.2, p. 395-403, 2001.

JACKSON, M. B.; ARMSTRONG, W. Formation of aerenchyma and the processes of plant ventilation in relation to soil flooding and submergence. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 1, n. 3, p. 274-287, 1999.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. 3 ed. New York: Paul B. Hoeber Inc., 1940.790p.

JONER, E. J.; LEYVAL, C. Phytoremediation of organic pollutants using mycorrhizal plants: a new aspect of rhizosphere interactions. **Agronomie**, Dijon, v. 23, n.5-6, p. 495-502, 2003.

KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, 1997. 198 p.

KOZLOWSKI, T. T.; PALLARDY, S. G. **Growth control in woody plants**. 3. ed. New York: Academic Press, 1997. 641p.

MALALLAH, G.; AFZAL, M.; GULSHAN, S.; ABRAHAM, D; KURIAN, M. AND DHAMI, M.S.I. *Vicia faba* as a bioindicator of oil pollution. **Environmental Pollution**, London, v.92, n.2, p.213-217, 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, 201 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal)- Setor de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Paraná. 2004.

MARTINEZ, V.E.; LÓPEZ, M.F. Efecto de hidrocarburos em lãs propiedades físicas y químicas de suelo argiloso. **Terra**, Caracas, v. 19, v.1, n.1, p.9-16, 2001.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Phytoremediation in the tropics- The effect of crude oil on the growth of tropical plants. **Bioremediation J**, Philadelphia, v.8, n.1, p. 177-184, 2004.

MORLEY, C. P.; MAINWARING, K. A.; DOERR, S. H.; DOUGLAS, P.; LLEWELLYN, C.T.; DEKKER, L.W. Organic compounds at different depths in a sand soil and their role in water repellency. **Australian Journal of Soil Research**, Vitoria, v. 43, n.3, p. 239-249, 2005.

NEWMAN, L.A.; REYNOLDS, C.M. Phytodegradation of organic compounds. **Curr. Opinion in Biotechnology**, Danvers, v. 15, n.3,225-230, 2004.

PEZESHKI, S.R.; DELAUNE, R.D.; JUGSUJINDA, A. The effects of crude oil and the effectiveness of cleaner application following oiling on US Gulf of Mexico coastal marsh plants. **Environmental Pollution**, London, v.112, n.3, p. 483-489, 2001.

PILON-SMITS, E. Phytoremediation. **Annu. Rev. Plant. Biol.**, Palo Alto, v.56, p.15-39, 2005.

PITTERMANN, J.; SPERY, J. Tracheid diameter is a key trait determining the extent of freezing-induced embolism in conifers. **Tree Physiology**, Victoria, v. 23, n.7, p. 907-914, 2003.

PITTERMANN, J.; SPERY, J.; HACKE, U. G.; WHEELER, J. K.; SIKKEMA, E. H. Inter-tracheid pitting and the hydraulic efficiency of conifer wood: the role of tracheid allometry and cavitation protection. **Am. J. Bot.**, St. Louis, v. 93, n.8, p. 1105-1113, 2006.

RENTZ, J.A.; CHAPMAN, B. ALVAREZ, P.J.J; SCHNOOR, J.L. Stimulation of hybrid poplar growth in petroleum-contaminated soils through oxygen addition and soil nutrient amendments. **Int. J. Phytochem.**, Amherst v.5, n.1, p. 57-62, 2003.

ROBSON, D.B.; KNIGHT, J.D.; FARRELL, R.E. AND GERMIDA, J.J. Natural revegetation of hydrocarbon-contaminated soil in semi-arid grasslands. **Can. J. Bot.**, Ottawa, v.82, n.1,22-30, 2004.

ROY, J. L.; MCGILL, W. B.; LOWEN, H. A.; JOHNSON, R. L. Relationship between water repellency and native and petroleum-derived organic carbon in soils. **J. Environ. Qual.**, Madison, v. 32, n.2, p.583-590, 2003.

SAKAI, W. S. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue O. **Stain Technology**, Baltimore, v. 48, n. 5, p.: 247-249. 1973.

SARKAR D, FERGUSON M, DALLA R, BIRNBAUM S. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. **Environmental Pollution**, London, v.136, n.1, p. 187-195, 2005.

SINGH, O. V.; JAIN, R. K. Phytoremediation of toxic aromatic pollutants from soil. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, Berlin, v.63, n.2, p.128-135, 2003.

SPERRY, J. S.; SULLIVAN, J. E. Xylem embolism in response to freeze-thaw cycles and water stress in ring porous, diffuse porous and conifer species. **Plant Physiology**, Rockville, v. 100, n.2, p. 605-613, 1992.

STOECKER, M. A.; SMITH, M.; MELTON, E.D. Survival and Aerenchyma Development Under Flooded Conditions of *Boltonia decurrens*, a Threatened Floodplain Species and *Conyza canadensis*, a Widely Distributed Competitor. **American Midland Naturalist**, Indiana, v. 134, n. 1, p. 117-126, 1005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology** 2 ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc Publishers, 1998. 792p.

TYREE, M. T.; SPERRY, J. S. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. **Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.**, Palo Alto, v. 40, 19-38, 1989.

WHITE JR., P. M.; WOLF, D. C.; THOMA, G.J.; REYNOLDS, C.M. Phytoremediation of alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons in a crude oil contaminated soil. **Water, Air and soil pollution**, Ontario, v.169, n.1-4, p. 207-220, 2006.

YANG, S.; TYREE, M.T. A theoretical model of hydraulic conductivity recovery from embolism with comparison to experimental data on *Acer saccharum*. **Plant Cell Environ.**, Logan, v. 15, n.6, p. 633-643, 1992.

ZIMMERMANN, M. H. **Xylem structure and the ascent of sap**. Berlin: Springer-Verlag, 1983, 153p.

## 9 CONCLUSÕES

Altos teores de TPH inibiram o crescimento e desenvolvimento de *Podocarpus lambertii* no experimento em campo. Em contraste, a fitotoxicidade não foi observada em solos com contaminação média o qual resultou num incremento no crescimento e biomassa. A presença do contaminante no solo não afetou os teores de N e reduziu os teores P e Mg .

O experimento em casa de vegetação demonstrou que *Podocarpus lambertii* foi sensível ao contaminante no solo com redução no crescimento, biomassa, pigmentos fotossintéticos. O fornecimento de NPK amenizou os efeitos negativos do contaminante. Sob o ponto de vista nutricional, a presença de petróleo no solo resultou em menores teores de N, P, Mg, Fe e Zn nas folhas de *Podocarpus lambertii*. A adubação com NPK aumentou os teores de alguns nutrientes.

*Allophylus edulis* mostrou ser tolerante ao contaminante não apresentando alteração nas variáveis de crescimento analisadas. O fornecimento de nutrientes possibilitou aumento significativo na altura e biomassa das plantas. A absorção dos nutrientes foi pouco afetada pelo contaminante.

*Mimosa scabrella* foi à espécie mais afetada pelo contaminante com redução no crescimento e produção de biomassa . Por outro lado, as plantas do solo contaminado com petróleo e adubadas com NPK apresentaram um aumento no crescimento, biomassa e teor de pigmentos fotossintéticos. De um modo geral a presença do contaminante não afetou a concentração dos nutrientes.

A presença de altas concentrações de petróleo no experimento de campo resultou na redução no comprimento e aumento na espessura da parede celular das traqueídes indicando que as plantas de *Podocarpus lambertii* encontraram-se sob estresse hídrico. Essa espécie, em condições de casa de vegetação, não apresentou estas alterações no lenho juvenil, provavelmente, devido ao fornecimento automático de água pela nebulização. *Allophylus edulis* não apresentou nenhuma alteração significativa nos elementos do lenho juvenil entretanto, as plantas de *Mimosa scabrella* em solo contaminado com petróleo reduziram o comprimento, diâmetro e espessura da parede celular dos vasos o que sugere que estas plantas encontravam-se sob estresse hídrico.

Para todas as espécies crescendo em solo contaminado com petróleo, com ou sem fornecimento de nutrientes, observou-se altos teores de Mn o que pode indicar que a determinação do teor deste nutriente pode ser um bom indicador para avaliar o grau de contaminação dos solos com hidrocarbonetos de petróleo.

Sob o ponto de vista dessas espécies apresentarem potencialidade na fitorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo, *Podocarpus lambertii* e *Mimosa scabrella* foram sensíveis ao contaminante ao passo que *Allophylus edulis* foi tolerante. A suplementação nutricional resultou num melhor crescimento de todas as espécies indicando que o fornecimento de nutrientes pode minimizar o estresse causado pelo contaminante no solo.

**ANEXO I**

---



FIGURA AI.1 - MUDAS DE *Podocarpus lambertii* QUE CRESCERAM EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C1 E C2) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).



TABELA AI.1 - MEDIÇÕES DAS ALTURAS DAS PLANTAS DE *Podocarpus lambertii* DURANTE O EXPERIMENTO NOS TRATAMENTOS.

	2001		2002		2003										
C1	29/11	9/1	7/2	7/3	4/4	30/4	4/6	2/7	10/9	19/11	16/12	7/1	4/2	11/3	
1	40,30	43,30	46,00	46,00	46,00	46,80	47,00	47,40	47,6	50	52,7	53,6	55	56,6	
2	57,30	62,70	65,50	65,00	65,00	65,60	66,00	66,50	67,7	68	68	69	69,4	71	
3	34,60	39,60	32,60	41,00	33,00	45,90	41,50	32,60	42,0	46,5	45,8	46,5	33	46	
4	42,00	43,00	44,20	45,00	48,00	45,90	45,50	45,70	45,4	48,5	49	49,6	49	50	
5	53,10	55,00	54,50	54,60	55,00	54,20	54,50	54,40	54,2	58	60,5	59,5	58,5	65	
6	45,90	48,00	48,00	48,50	49,00	49,00	49,00	49,50	49,5	51,5	53	55,2	52,5	57,42	
7	40,40	40,60	42,30	24,20	42,00	43,00	45,00	44,50	43,9	50,5	24,5	51	49,5	54	
8	49,00	49,10	50,60	50,00	50,00	50,00	51,00	52,00	51,6	53	54	56,5	56,5	57,7	
<b>m</b>	<b>45,33</b>	<b>47,66</b>	<b>47,96</b>	<b>46,79</b>	<b>48,50</b>	<b>50,05</b>		<b>49,08</b>	<b>50,24</b>	<b>53,25</b>	<b>50,94</b>	<b>55,11</b>	<b>52,93</b>	<b>57,22</b>	
C2	29/11	9/1	7/2	7/3	4/4	30/4	4/6	2/7	5/8/2002	Altura	Altura	Altura	Altura	Altura	Altura
1	45,2	45,3	49	49,5	49,5	55	55	55,2	56,4	56,0	74,5	78,0	88,0	89	97,9
2	44,5	45,3	48,5	47,5	51	51,4	51	58,3	56,5	58,2	72,5	82,0	87,2	90	96,2
3	45,5	42,3	41	47	50	51	52	51	51,5	51,5	66,5	71,0	77,2	72,5	92,1
4	46,5	64,4	68,2	70,5	73	74	81	80,5	81,0	81,0	84,0	86,0	90,4	91,5	97,1
5	46,8	49,4	54,5	55	56	56,2	60	61,9	61,7	61,4	74,5	79,0	88,2	91,5	100,2
6	46,7	48,6	52,2	53,5	57	56,6	61	57,5	61,3	63,0	90,0	85,5	87,2	95	100,8
7	46,5	49,5	50,9	54	54	56,1	55,5	56,6	56,3	56,4	61,0	69,0	75,3	80	82,2
8	36,3	56,1	57,3	59	61	60,5	60	59,5	60,6	61,0	71,0	73,0	83,4	92	95,1
<b>m</b>	<b>44,75</b>	<b>50,11</b>	<b>52,70</b>	<b>54,50</b>	<b>56,44</b>	<b>57,60</b>	<b>59,44</b>	<b>60,06</b>	<b>60,66</b>	<b>61,06</b>	<b>74,25</b>	<b>77,94</b>	<b>84,61</b>	<b>87,69</b>	<b>95,20</b>
NC	29/11	9/1	7/2	7/3	4/4	30/4	4/6	2/7	5/8/2002	Altura	Altura	Altura	Altura	Altura	Altura
1	46	49	49	49,7	49	49,3	49,5	55,5	50,1	49,8	66,0	71,0	74,0	78	90,5
2	54	59,4	61,5	62,5	82,5	68,1	68	68	67,7	78,5	86,5	87,5	90,1	91	94
3	49	60,5	63,3	63,5	71	71,1	73	78,8	80,3	79,4	82,0	85,0	90,2	94	100,5
4	49	56,2	56,5	59	61	61,2	69	69,2	70,6	70,1	85,0	90,5	88,0	92	100,5
5	43	48	47,3	47	46	49,2	50	51,2	50,8	50,6	68,5	72,0	79	77	91,0
6	40	55,9	59	58,5	60	62,2	61,5	63,6	62,3	63,8	78,0	84,0	86,4	87	89
7	47	48,2	51,5	52,3	60	61,3	64	66,3	67,2	67,7	82,0	89,5	92,2	93	94,5
8	50	57	58,5	61,5	62	65,7	66	75,4	67,3	66,6	73,0	76,0	80,1	84	96
<b>m</b>	<b>47,25</b>	<b>54,28</b>	<b>55,83</b>	<b>56,75</b>	<b>61,44</b>	<b>61,01</b>	<b>62,63</b>	<b>66,00</b>	<b>64,54</b>	<b>65,81</b>	<b>77,63</b>	<b>81,94</b>	<b>85,00</b>	<b>87,00</b>	<b>94,50</b>

TABELA AI.3 - RELAÇÃO DOS DADOS OBTIDOS PARA ANÁLISE DO CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE *Podocarpus lambertii* NOS 3 TRATAMENTOS ESTUDADOS NO EXPERIMENTO EM CAMPO.

Tratamento C1			Teor de clorofila ( $\mu\text{g g}^{-1}$ folha)				massa seca (g)			Aérea
	$\Delta h^*$	$\Delta d^{**}$	b	a	t	a/b	aérea	raiz	total	/raiz
1	13,7	0,134	21,9636	61,11	83,0734	2,7823	22,28	20,13	42,41	1,107
2	8	0,106	27,3502	74,859	102,21	2,7371	18,14	12,24	30,38	1,482
3	8,7	0,148	29,2979	78,211	107,509	2,6695	20,7	13,54	34,24	1,529
4	11,9	0,102	23,7605	63,134	86,8942	2,6571	11,74	9,35	21,09	1,256
5	13,6	0,092	25,4546	70,86	96,3143	2,7838	12,39	8,85	21,24	1,4
6	11,4	0,512	20,1821	58,162	78,3441	2,8819	12,78	10,53	23,31	1,214
7	16,3	0,12	28,7205	63,858	92,5782	2,2234	19,89	19,85	39,74	1,002
8	11,52	0,034	24,6116	68,413	93,0245	2,7797	14,75	12,69	27,44	1,162
<b>M</b>	<b>11,89</b>	<b>0,156</b>	<b>25,1676</b>	<b>67,326</b>	<b>92,4934</b>	<b>2,6893</b>	<b>16,5838</b>	<b>13,398</b>	<b>29,98125</b>	<b>1,269</b>
Tratamento C2			Teor de clorofila ( $\mu\text{g g}^{-1}$ folha)				massa seca (g)			aérea/
	$\Delta h$	$\Delta d$	b	a	total	a/b	aérea	raiz	total	raiz
1	52,7	0,45	39,384	109,27	148,65	2,949	90,42	27,73	118,15	3,261
2	58,8	0,36	38,619	113,89	152,51	2,841	93,19	32	125,19	2,912
3	35,7	0,4	38,043	110,78	148,82	2,9631	91,65	31,79	123,44	2,883
4	54,1	0,73	38,705	124,17	162,87	2,8793	94,95	35,89	130,84	2,646
5	51,7	0,73	38,011	106,13	144,14	3,0274	89,8	31,94	121,74	2,812
6	46,6	0,79	35,957	106,55	142,5	3,1292	90,89	34,72	125,61	2,618
7	50,6	0,7	34,665	109,81	144,48	2,7945	87,81	37,83	125,64	2,322
8	53,4	0,7	35,483	101,37	136,85	2,8793	85,68	30,65	116,33	2,795
<b>M</b>	<b>50,45</b>	<b>0,59</b>	<b>37,358</b>	<b>110,24</b>	<b>147,6</b>	<b>2,9329</b>	<b>90,549</b>	<b>32,819</b>	<b>123,368</b>	<b>2,781</b>
Tratamento NC			Teor de clorofila ( $\mu\text{g g}^{-1}$ folha)				massa seca (g)			aérea/
	$\Delta h$	$\Delta d$	b	a	total	a/b	aérea	raiz	total	raiz
1	40	0,362	36,3095	104,939	141,248	2,890	80,18	19,84	100,02	4,041
2	44,5	0,38	39,7706	102,690	142,460	2,582	74,26	19,62	93,88	3,785
3	51,5	0,948	40,2777	103,158	143,436	2,561	75,46	18	93,46	4,192
4	51,5	0,674	31,6164	107,939	139,555	3,414	68,66	14,65	83,31	4,687
5	48	0,426	41,1644	107,848	149,013	2,620	75,39	18,68	94,07	4,036
6	49	0,684	41,2560	112,686	153,942	2,731	78,2	17,94	96,14	4,359
7	47,5	0,606	40,5392	86,955	127,495	2,145	73,4	19	92,4	3,863
8	46	0,372	42,0059	100,905	142,911	2,402	70,65	17,94	88,59	3,938
<b>M</b>	<b>47,25</b>	<b>0,5565</b>	<b>39,1175</b>	<b>103,390</b>	<b>142,508</b>	<b>2,668</b>	<b>74,525</b>	<b>18,2088</b>	<b>92,7338</b>	<b>4,113</b>

\*- $\Delta h$ - incremento na altura das mudas;

\*\*- $\Delta d$ - incremento no diâmetro da base do caule.

M= média

TABELA AI.4 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTES AS VARIÁVEIS DE CRESCIMENTO DE *Podocarpus lambertii* PARA O EXPERIMENTO EM CAMPO.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio							
		$\Delta h$	$\Delta d$	Clorofila b	Clorofila a	Clorofila Total	Massa Seca Aérea	Massa Seca Raiz	Massa Seca Total
Tratamento	2	3663,258**	0,503**	461,744**	4252,967**	7419,028**	12113,027**	820,807**	18129,801*
Erro	21	23,029	0,033	8,483	50,734	70,856	13,283	10,653	37,98
Total	23	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	Coeficiente de variação (%)	13,14	40,81	8,6	7,61	6,6	6,02	15,21	7,51
	Qui-quadrado ( $\chi^2$ )	5,846	0,774	3,17	0,106	0,472	0,839	5,664	2,785

\*\* - significativo ao nível de 1% de probabilidade.

\* - significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> - não significativo

TABELA AI.5 - CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES (mg kg<sup>-1</sup>) NAS FOLHAS DE *Podocarpus lambertii* NOS TRATAMENTOS ESTUDADOS NO EXPERIMENTO EM CAMPO.

	C1	C2	NC
N	9,7	12,3	16,2
	11,2	8,8	12,8
	8,7	14,8	10,7
P	1,97	0,8	1,25
	2,23	0,58	1,28
	1,89	0,76	0,98
K	5,69	5,69	3,81
	5,62	8,06	3,37
	6,55	7,34	3,88
Ca	21,17	13,26	18,51
	23,54	13,93	13,90
	21,27	18,22	13,60
Mg	1,00	1,64	3,11
	1,74	1,37	2,48
	1,49	2,10	2,74

TABELA AI.6 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTES AS VARIÁVEIS DE NUTRIÇÃO DE *Podocarpus lambertii* PARA O EXPERIMENTO EM CAMPO.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio				
		Nitrogênio	Fósforo	Potássio	Cálcio	Magnésio
Tratamento	2	8,623 <sup>ns</sup>	1,341 <sup>**</sup>	8,737 <sup>**</sup>	46,877 <sup>*</sup>	1,550 <sup>**</sup>
Erro	6	5,939	0,024	0,607	5,883	0,127
Total	8	-----	-----	-----	-----	-----
	Coeficiente de variação (%)	20,89	11,93	14,02	13,92	18,17
	Qui-quadrado ( $\chi^2$ )	1,145	0,295	3,273	0,978	0,61

\*\* - significativo ao nível de 1% de probabilidade.

\* - significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> - não significativo

**ANEXO II**

---



FIGURA AII.1 - MUDAS E RAIZES DE *Podocarpus lambertii* QUE CRESCERAM EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).

TABELA AII.1 - MEDIÇÕES DAS ALTURAS DAS MUDAS DE *Podocarpus lambertii* PARA OS TRATAMENTOS REALIZADOS EM CASA DE VEGETAÇÃO.

Solo contaminado com petróleo 2002						2003	
19/3	26/4	24/6	7/8	23/9	29/10	9/1	12/2
15,30	16,2	19,3	19,6	19,6	25,0	37,0	38,50
15,50	15,6	15,9	15,9	15,9	20,5	29,0	32,00
11,40	14,2	14,8	15,0	16,3	22,0	32,0	39,50
13,60	14,8	19,0	19,2	25,3	29,0	36,5	39,00
10,80	15,2	19,6	20,8	23,8	29,5	37,0	47,50
15,80	16,8	18,6	19,2	20,4	23,5	34,5	44,00
17,00	17,3	21,0	21,5	21,9	28,0	38,5	47,50
14,00	15,4	18,5	19,0	23,4	32,0	40,0	42,00
<b>14,18</b>	<b>15,69</b>	<b>18,34</b>	<b>18,78</b>	<b>20,83</b>	<b>26,19</b>	<b>35,56</b>	<b>41,25</b>
Solo contaminado com petróleo e adubado com P e K							
19/3	26/4	24/6	7/8	23/9	29/10	9/1	12/02
8,40	15,0	18,5	20,4	24,0	24,5	9,0	33,0
15,80	17,5	17,1	17,1	20,8	34,5	41,0	43,0
10,00	14,1	16,8	18,2	26,0	36,0	46,0	46,5
10,60	15,1	22,4	23,6	26,0	30,5	48,0	49,5
16,20	16,5	16,2	17,5	28,3	39,0	49,0	50,0
12,50	14,7	6,4	22,4	26,0	31,1	33,0	35,0
12,50	14,3	16,6	22,3	25,2	30,5	39,0	49,0
10,40	16,0	5,0	27,2	30,0	35,0	40,0	42,5
<b>12,05</b>	<b>15,40</b>	<b>18,63</b>	<b>21,09</b>	<b>25,79</b>	<b>32,64</b>	<b>40,63</b>	<b>43,56</b>
Solo não contaminado							
19/3	26/4	24/6	7/8	23/9	29/10	9/1	12/2
12,00	13,9	18,8	19,7	30,0	33,5	34,0	36,0
12,50	14,4	18,8	20,5	25,8	28,0	39,5	40,0
17,50	18,8	18,9	19,1	25,9	28,5	38,5	40,0
10,00	16,8	23,2	25,7	27,2	29,0	33,5	34,0
12,00	13,5	22,4	22,8	23,5	30,8	40,5	43,0
15,70	16,6	23,0	24,1	27,0	28,5	31,5	32,5
13,80	17,5	25,0	30,0	35,8	29,0	40,0	43,5
11,50	14,2	15,3	17,3	22,5	29,0	30,0	37,0
<b>13,13</b>	<b>15,71</b>	<b>20,68</b>	<b>22,40</b>	<b>27,21</b>	<b>29,54</b>	<b>35,94</b>	<b>38,25</b>

TABELA AII.2 - VARIÁVEIS MENSURADAS PARA ANÁLISE DO CRESCIMENTO DE *Podocarpus lambertii* NO EXPERIMENTO DE CASA DE VEGETAÇÃO.

Solo contaminado com petróleo			Teor de Clorofila ( $\mu\text{g g}^{-1}$ folha)			Massa seca (g)			
	$\Delta h^*$	$\Delta d^{**}$	b	a	t	Aérea	Raiz	Total	Aérea/raiz
1	33,70	0,46	80,61	30,98	111,59	16,00	9,28	25,28	1,72
2	29,00	0,35	78,90	30,78	109,69	14,25	13,12	27,37	1,09
3	31,10	0,38	69,72	26,34	96,06	9,93	9,36	19,29	1,06
4	29,40	0,49	60,90	23,90	84,80	16,73	9,04	25,77	1,85
5	37,70	0,45	79,65	34,90	114,55	21,82	10,43	32,25	2,09
6	33,70	0,47	69,79	29,90	99,69	17,97	10,35	28,32	1,74
7	28,00	0,51	68,57	26,98	95,55	20,41	9,75	9,75	2,09
8	34,50	0,45	69,79	27,91	97,69	16,60	11,79	28,39	1,41
<b>M</b>	<b>32,14</b>	<b>0,45</b>	<b>72,24</b>	<b>28,96</b>	<b>101,20</b>	<b>16,71</b>	<b>10,39</b>	<b>27,35</b>	<b>1,63</b>
Solo contaminado com petróleo e adubado com NPK			Teor de Clorofila ( $\mu\text{g g}^{-1}$ folha)			Massa seca (g)			
	$\Delta h$	$\Delta d$	b	a	t	Aérea	Raiz	Total	Aérea/raiz
1	41,10	0,58	84,00	30,94	114,94	23,04	15,61	38,65	1,48
2	33,20	0,57	80,35	26,27	106,62	21,32	15,94	37,26	1,34
3	40,00	0,49	81,56	29,84	111,41	19,96	12,40	32,36	1,61
4	38,90	0,57	86,54	30,77	117,31	21,24	14,48	35,72	1,47
5	34,30	0,55	93,26	33,55	126,81	25,18	13,73	38,91	1,83
6	37,00	0,61	80,79	27,04	107,83	18,01	14,25	32,26	1,26
7	37,00	0,55	96,01	29,38	125,38	21,74	13,80	35,54	1,58
8	40,10	0,57	108,89	48,50	157,39	25,31	13,81	39,12	1,83
<b>M</b>	<b>37,70</b>	<b>0,56</b>	<b>88,92</b>	<b>32,04</b>	<b>120,96</b>	<b>21,98</b>	<b>14,25</b>	<b>36,23</b>	<b>1,57</b>
Solo não contaminado			Teor de Clorofila ( $\mu\text{g g}^{-1}$ folha)			Massa seca (g)			
	$\Delta h$	$\Delta d$	b	a	total	aérea	raiz	total	Aérea/raiz
1	37,50	0,53	124,42	44,86	169,28	16,48	13,55	30,03	1,22
2	40,50	0,53	112,47	44,55	157,02	16,25	13,76	30,01	1,18
3	38,50	0,52	99,62	37,34	136,96	20,29	13,37	33,66	1,52
4	39,05	0,51	88,93	37,09	126,02	18,45	12,85	31,30	1,44
5	34,50	0,54	109,59	41,04	150,64	8,55	13,37	21,92	0,64
6	31,30	0,51	107,66	37,46	145,11	19,15	12,53	31,68	1,53
7	37,20	0,60	105,84	40,23	146,07	17,09	13,85	30,94	1,23
8	32,00	0,55	121,61	44,57	166,19	19,98	12,01	31,99	1,66
<b>M</b>	<b>36,32</b>	<b>0,54</b>	<b>108,77</b>	<b>40,89</b>	<b>149,66</b>	<b>17,03</b>	<b>13,16</b>	<b>30,07</b>	<b>1,30</b>

\*-  $\Delta h$ - Diferença entre altura final e inicial das mudas;

\*\* -  $\Delta d$ - Diferença entre diâmetro final e inicial das mudas.



TABELA AII.3 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTES AS VARIÁVEIS DO CRESCIMENTO DE *Podocarpus lambertii* PARA O EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio									
		$\Delta h$	$\Delta d$	Clorofila b	Clorofila a	Clorofila Total	Clorofila a/b	Massa Seca Aérea	Massa Seca Raiz	Massa Seca Total	Massa Seca a/r
<b>Tratamento</b>	2	67,109**	0,015*	308,241**	2655,967**	4734,262**	0,127**	46,591 <sup>ns</sup>	35,408**	146,839**	0,310 <sup>ns</sup>
<b>Erro</b>	21	10,133	0,003	24,136	93,872	195,22	0,02	13,43	0,872	3,031	0,107
<b>Total</b>	23	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	Coeficiente de variação (%)	9	10,14	14,46	10,77	11,27	5,3	19,73	7,41	5,58	21,76
	Qui-quadrado ( $\chi^2$ )	0,212	5,536	3,881	1,513	1,224	0,049	0,068	2,003	4,287	0,326

\*\* - significativo ao nível de 1% de probabilidade.

\* - significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> - não significativo

TABELA AII.4 - VARIÁVEIS MENSURADAS PARA ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES NAS FOLHAS DE *Podocarpus lambertii* NO EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.

Nutriente	Rep.	Solo contaminado	Solo contaminado + NPK	Solo não contaminado
N*	1	6,3	10,6	10,5
	2	7,7	9,0	10,3
	3	7,4	10,5	11,4
P*	1	1,08	1,49	1,60
	2	1,15	1,44	1,67
	3	0,92	1,53	1,59
K*	1	8,8	9,05	8,21
	2	7,99	9,46	8,4
	3	7,38	9,02	8,78
Ca*	1	13,14	12,01	13,07
	2	13,47	12,22	12,34
	3	13,44	12,26	13,38
Mg*	1	2,4	2,17	2,66
	2	2,5	2,07	2,64
	3	2,41	2,12	2,65
Fe**	1	114,0	230,0	218,0
	2	115,0	221,0	223,0
	3	106,0	229,0	222,0
Mn**	1	401,0	389,0	201,0
	2	408,0	409,0	192,0
	3	407,0	395,0	200,0
Cu**	1	10,0	10,0	8,5
	2	10,0	9,0	9,5
	3	9,0	9,0	9,0
Zn**	1	122,0	160,0	164,0
	2	120,0	155,0	163,0
	3	117,0	167,0	153,0

\* - g Kg<sup>-1</sup> \*\* - mg kg<sup>-1</sup>

TABELA A.II.5 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTES AS VARIÁVEIS DE NUTRIÇÃO DE *Podocarpus lambertii* PARA O EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio								
		Nitrogênio	Fósforo	Potássio	Cálcio	Magnésio	Ferro	Manganês	Cobre	Zinco
<b>Tratamento</b>	2	10,93**	0,267**	0,964 <sup>ns</sup>	1,086*	0,213**	12605,444**	41592,111**	0,333 <sup>ns</sup>	1654,111**
<b>Erro</b>	6	0,563	0,006	0,217	0,112	0,002	18,556	48	0,306	26,556
<b>Total</b>	8	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	Coeficiente de variação (%)	8,07	5,56	5,44	2,61	1,8	2,31	2,08	5,92	3,51
	Qui-quadrado ( $\chi^2$ )	0,289	2,232	2,259	3,451	3,546	0,708	1,803	0,044	1,29

\*\* - significativo ao nível de 1% de probabilidade.

\* - significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> - não significativo

**ANEXO III**

---



FIGURA AIII.1 - MUDAS E RAÍZES DE *Allophylus edulis* QUE CRESCERAM EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).

TABELA AIII.1 - MEDIÇÕES DAS ALTURAS DAS MUDAS DE *Allophylus edulis* AO LONGO DO EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.

**Solo Contaminado com petróleo**

	2002						2003		
	19/3	26/4	24/6	7/8	23/9	29/10	9/1	12/2	1/43
1	10,5	10,6	10,9	11,6	15,1	18,0	35,5	38,0	39,5
2	10,2	10,2	10,3	12,0	17,3	20,0	34,0	36,0	43,0
3	8,5	8,4	8,3	9,8	17,8	27,0	38,5	38,0	48,0
4	8,8	8,9	9,4	9,6	13,5	18,0	30,0	35,0	41,0
5	10,8	11,5	11,2	12,0	15,4	19,5	29,0	36,0	48,0
6	11,4	12,2	12,1	12,7	12,9	21,5	23,5	32,0	45,5
7	7,0	8,0	9,2	9,8	12,8	17,0	29,0	43,0	47,0
8	11,2	12,8	18,3	18,4	22,5	28,0	35,0	41,5	41,0
<b>Média</b>	<b>9,80</b>	<b>10,33</b>	<b>11,21</b>	<b>11,99</b>	<b>15,91</b>	<b>21,13</b>	<b>31,81</b>	<b>37,44</b>	<b>44,13</b>

**Solo contaminado com petróleo e adubado com NPK**

	19/3	26/4	24/6	7/8	23/9	29/10	9/1	12/2	1/4
1	11,5	12,2	13,5	20,6	28,9	40,0	65,5	72,0	72,5
2	7,8	8,0	8,1	9,5	13,6	23,5	46,0	59,5	77,0
3	12,0	14,0	14,9	21,0	21,9	39,0	60,0	62,0	70,5
4	7,8	10,0	10,5	17,5	17,9	20,0	33,0	54,0	66,5
5	6,5	10,6	11,6	16,5	17,5	30,0	44,5	66,5	66,5
6	10,0	17,0	19,6	22,0	35,5	54,5	60,5	71,5	74,0
7	9,4	10,7	13,0	20,8	28,6	36,0	58,5	72,0	81,5
8	7,5	8,5	9,5	12,5	22,0	28,0	49,0	62,0	73,5
<b>Média</b>	<b>9,06</b>	<b>11,38</b>	<b>12,59</b>	<b>17,55</b>	<b>23,24</b>	<b>33,88</b>	<b>52,13</b>	<b>64,94</b>	<b>72,75</b>

**Solo não contaminado**

	19/3	26/4	24/6	7/8	23/9	29/10	9/1	12/2	1/4
1	7,7	10,0	11,7	25,0	30,5	32,5	42,0	50,0	54,0
3	7,0	7,0	7,5	8,4	12,8	18,5	46,5	50,5	53,0
4	9,6	12,2	16,2	26,4	30,7	35,0	45,5	50,5	54,0
5	11,4	11,9	12,0	24,7	28,5	31,0	41,5	51,5	52,0
6	9,9	13,5	14,5	15,0	18,7	20,5	30,0	48,0	51,0
7	12,3	16,5	17,3	23,0	26,5	33,8	47,5	52,5	53,5
9	9,5	11,5	12,5	12,8	18,4	21,0	31,5	44,0	50,0
10	10,0	14,6	17,5	18,8	19,9	27,0	47,5	53,5	52,5
<b>Média</b>	<b>9,68</b>	<b>12,15</b>	<b>13,65</b>	<b>19,26</b>	<b>23,25</b>	<b>27,41</b>	<b>41,50</b>	<b>50,06</b>	<b>52,50</b>

TABELA AIII.2 -RELAÇÃO DOS DADOS PARA AS VARIÁVEIS DE CRESCIMENTO DE *Allophylus edulis* NO EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.

C			Teor de Clorofila ( $\mu\text{g g}^{-1}$ de folha)				massa seca (g)			
	$\Delta h^*$	$\Delta d^{**}$	b	a	total	a/b	aérea	raiz	total	aer/raiz
1	29,00	0,40	27,35	81,03	108,38	2,96	4,46	8,80	13,26	0,51
2	32,80	0,38	34,44	100,14	134,58	2,91	4,26	5,21	9,47	0,82
3	39,50	0,43	49,01	138,91	187,92	2,83	5,43	6,09	11,52	0,89
4	32,20	0,39	55,54	161,84	217,38	2,91	4,94	8,70	13,64	0,57
5	37,20	0,32	40,92	96,69	140,61	2,36	7,11	8,40	15,51	0,85
6	34,10	0,36	32,63	98,15	130,77	3,01	8,94	15,48	24,42	0,58
7	40,00	0,40	32,17	90,08	122,25	2,80	6,69	10,02	16,71	0,67
8	29,80	0,47	25,21	73,79	99,00	2,93	6,58	9,18	15,76	0,72
<b>média</b>	<b>34,33</b>	<b>0,39</b>	<b>37,16</b>	<b>105,08</b>	<b>142,61</b>	<b>2,84</b>	<b>6,05</b>	<b>8,99</b>	<b>15,04</b>	<b>0,70</b>
CF			Teor de Clorofila ( $\mu\text{g g}^{-1}$ de folha)				massa seca (g)			
	$\Delta h$	$\Delta d$	b	a	total	a/b	aérea	raiz	total	aer/raiz
1	61,00	0,61	11,66	39,39	51,058	3,38	12,09	13,25	25,34	0,91
2	69,20	0,26	19,58	54,23	73,813	2,77	7,77	6,19	13,96	1,26
3	58,50	0,45	52,61	134,88	187,493	2,56	12,02	12,92	24,94	0,93
4	58,70	0,28	27,04	77,55	104,599	2,87	16,40	17,01	33,41	0,96
5	60,00	0,59	15,40	48,98	64,378	3,18	16,99	18,84	35,83	0,90
6	64,00	0,64	43,77	105,65	149,425	2,41	17,15	15,13	32,28	1,13
7	72,10	0,64	15,76	48,21	63,964	3,06	17,60	23,05	40,65	0,76
8	66,00	0,32	18,40	55,38	73,781	3,01	12,39	9,61	22,00	1,29
<b>m</b>	<b>63,69</b>	<b>0,47</b>	<b>25,53</b>	<b>70,54</b>	<b>96,064</b>	<b>2,91</b>	<b>14,05</b>	<b>14,50</b>	<b>28,55</b>	<b>1,02</b>
NC			Teor de Clorofila ( $\mu\text{g g}^{-1}$ de folha)				massa seca (g)			
	$\Delta h$	$\Delta d$	b	a	total	a/b	aérea	raiz	total	aer/raiz
1	46,30	0,37	21,57	64,21	85,772	2,98	9,78	5,61	15,39	1,74
2	46,00	0,40	40,78	122,69	163,467	3,01	10,10	12,68	22,78	0,80
3	44,40	0,34	23,74	70,49	94,228	2,97	10,04	15,41	25,45	0,65
4	40,60	0,40	25,42	86,93	112,343	3,42	9,02	6,51	15,53	1,39
5	41,10	0,39	24,32	75,21	99,527	3,09	10,79	12,15	22,94	0,89
6	41,20	0,41	9,94	27,82	37,756	2,80	6,38	7,00	13,38	0,91
7	40,50	0,39	42,38	123,25	165,637	2,91	6,29	8,20	14,49	0,77
8	42,50	0,30	28,96	89,49	118,456	3,09	10,46	13,45	23,91	0,78
<b>média</b>	<b>42,83</b>	<b>0,38</b>	<b>27,14</b>	<b>82,51</b>	<b>109,648</b>	<b>3,03</b>	<b>9,11</b>	<b>10,13</b>	<b>19,23</b>	<b>0,99</b>

\*-  $\Delta h$ - Diferença entre altura final e inicial das mudas;

\*\*-  $\Delta d$ - Diferença entre diâmetro final e inicial das mudas.

TABELA III.3 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTES AS VARIÁVEIS DO CRESCIMENTO DE *Allophylus edulis* PARA O EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio									
		$\Delta h$	$\Delta d$	Clorofila b	Clorofila a	Clorofila Total	Clorofila a/b	Massa Seca Aérea	Massa Seca Raiz	Massa Seca Total	Massa Seca a/r
<b>Tratamento</b>	2	1826,2**	0,022**	317,514 <sup>ns</sup>	2461,316 <sup>ns</sup>	4583,345 <sup>ns</sup>	0,09 <sup>ns</sup>	130,375**	71,404*	382,787**	0,228*
<b>Erro</b>	21	16,329	0,002	147,647	1000,488	1898,433	0,054	6,019	16,501	39,437	0,04
<b>Total</b>	23	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	Coefficiente de variação (%)	8,61	11,37	40,58	36,76	37,53	7,99	25,2	36,67	29,99	22,44
	Qui-quadrado ( $\chi^2$ )	3,353	1,189	1,096	0,082	0,252	3,427	5,213	2,236	3,46	2,187

\*\* - significativo ao nível de 1% de probabilidade.

\* - significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> - não significativo



TABELA AIII.4 – CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES NAS FOLHAS DE *Allophylus edulis* PARA O EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn
	g kg <sup>-1</sup>					mg kg <sup>-1</sup>			
C	15,30	1,28	19,04	15,26	3,23	401	216	10	259
	16,50	1,33	18,30	14,00	3,21	406	219	11	217
	16,10	1,53	17,88	15,02	3,39	396	207	15	289
CF	15,00	1,22	10,06	14,61	2,80	448	144	11	243
	15,00	1,33	9,84	14,30	2,74	440	145	10	319
	14,40	1,23	10,25	13,30	2,68	375	139	12	293
NC	13,60	3,65	11,25	15,03	3,48	496	60	10	91
	13,00	3,34	10,62	16,17	3,48	505	66	15	97
	14,30	3,10	12,92	16,10	3,50	539	84	10	105

TABELA AIII.5 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTES AS VARIÁVEIS DE NUTRIÇÃO DE *Allophylus edulis* PARA O EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.

Fonte de	GL	Quadrado Médio								
variação		Nitrogênio	Fósforo	Potássio	Cálcio	Magnésio	Ferro	Manganês	Cobre	Zinco
Tratamento	2	4,083**	4,186**	59,301*	2,184 <sup>ns</sup>	0,445**	10772,11 <sup>ns</sup>	15552,444**	0,778 <sup>ns</sup>	30373,778**
Erro	6	0,306	0,13	7,242	2,344	0,004	2604,111	621,778	5,444	1609,778
Total	8	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	Coeficiente de variação (%)	3,73	18,05	20,16	10,3	1,99	11,46	17,53	20,19	18,88
	Qui-quadrado ( $\chi^2$ )	0,668	2,183	1,919	3,055	0,683	3,716	1,685	1,665	2,237

\*\* - significativo ao nível de 1% de probabilidade.

\* - significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> - não significativo

**ANEXO IV**

---



FIGURA AIV.1 - MUDAS DE *Mimosa scabrella* QUE CRESCERAM EM SOLO CONTAMINADO COM PETRÓLEO (C), CONTAMINADO COM PETRÓLEO E ADUBADO COM NPK (CF) E SOLO NÃO CONTAMINADO (NC).

TABELA AIV.1 - ALTURAS DAS MUDAS DE *Mimosa scabrella* AO LONGO DO EXPERIMENTO PARA OS TRATAMENTOS REALIZADOS EM CASA DE VEGETAÇÃO.

Solo contaminado com petróleo

	29/9/2002	29/10/2002	9/1/2003	12/2/2003	1/4/2003
1	2,00	3,50	9,90	14,10	29,00
2	2,00	4,00	6,00	7,00	8,25
3	2,00	2,50	3,40	5,00	16,50
4	2,00	3,80	4,20	6,80	11,50
5	2,00	3,30	4,00	7,80	17,25
6	2,00	4,30	9,60	23,00	35,50
7	2,00	5,00	10,30	21,00	40,25
	2,00	3,00	4,10	6,50	12,00

**Média**            **2,00**                            **3,68**                            **6,44**                            **11,40**                            **21,28**

Solo contaminado com petróleo e adubado com P e K

	29/9/2002	29/10/2002	9/1/2003	12/2/2003	1/4/2003
1	2,0	9,4	77,5	120,5	164,0
2	2,0	8,2	48,5	91,0	121,0
3	2,0	14,3	58,9	83,8	111,0
4	2,0	6,8	60,3	99,3	117,0
5	2,0	10,3	60,5	83,5	112,0
6	2,0	13,4	52,5	105,0	123,0
7	2,0	9,0	65,5	115,0	121,5
8	2,0	13,6	68,5	93,3	119,0

**Média**            **2,00**                            **10,63**                            **61,53**                            **98,93**                            **123,56**

Não contaminado

	29/9/2002	29/10/2002	9/1/2003	12/2/2003	1/4/2003
1	2,0	16,8	60,0	73,0	91,0
2	2,0	15,5	62,5	86,0	110,0
3	2,0	13,3	70,0	85,7	96,5
4	2,0	26,0	72,0	101,4	118,5
5	2,0	23,0	71,5	105,0	131,0
6	2,0	12,0	41,3	60,0	70,5
7	2,0	14,5	53,8	85,9	106,5
8	2,0	14,8	51,5	77,8	88,5

**Média**            **2,00**                            **16,99**                            **60,33**                            **84,35**                            **101,56**

TABELA AIV.2 - RELAÇÃO DOS DADOS OBTIDOS PARA ANÁLISE DO CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE *Mimosa scabrella* NOS 3 TRATAMENTOS ESTUDADOS.

Rep.	$\Delta h^*$	Teor de Clorofila ( $\mu\text{g g}^{-1}$ folha)			Massa seca (g)					
		b	a	Total	Clor a/ Clor b	Parte Aérea	Raiz	Total	PA/PR	
C	1	27,00	74,677	244,439	319,116	3,273	1,110	0,450	1,560	2,467
	2	6,25	64,322	201,256	265,578	3,129	1,320	0,580	1,900	2,276
	3	14,50	64,009	194,822	258,832	3,044	1,410	0,660	2,070	2,136
	4	9,50	68,575	199,930	268,505	2,915	1,070	0,420	1,490	2,548
	5	15,25	60,178	207,470	267,648	3,448	1,330	0,600	1,930	2,217
	6	33,50	65,067	197,240	262,308	3,031	1,370	0,530	1,900	2,585
	7	38,25	88,892	203,415	292,307	2,288	1,330	0,580	1,910	2,293
	8	10,00	56,166	215,229	271,395	3,832	1,350	0,610	1,960	2,213
<b>média</b>	<b>19,28</b>	<b>67,736</b>	<b>207,975</b>	<b>275,711</b>	<b>3,120</b>	<b>1,286</b>	<b>0,554</b>	<b>1,840</b>	<b>2,342</b>	
C F	1	162,00	92,777	291,238	384,015	3,139	20,950	4,900	25,850	4,276
	2	119,00	101,046	306,802	407,848	3,036	20,920	4,710	25,630	4,442
	3	109,00	102,682	274,714	377,396	2,675	20,950	5,030	25,980	4,165
	4	115,00	100,919	315,555	416,474	3,127	21,160	5,070	26,230	4,174
	5	110,00	101,011	309,382	410,393	3,063	20,980	4,910	25,890	4,273
	6	121,00	95,257	280,016	375,273	2,940	20,960	4,690	25,650	4,469
	7	119,50	82,129	277,463	359,592	3,378	21,620	5,050	26,670	4,281
	8	117,00	101,253	304,395	405,649	3,006	21,270	4,970	26,240	4,280
<b>média</b>	<b>121,56</b>	<b>97,134</b>	<b>294,946</b>	<b>392,080</b>	<b>3,046</b>	<b>21,101</b>	<b>4,916</b>	<b>26,018</b>	<b>4,295</b>	
	1	89,00	70,485	187,096	257,581	2,654	11,290	4,880	16,170	2,314
	2	108,00	65,064	186,761	251,826	2,870	11,290	5,040	16,330	2,240
	3	94,50	73,660	193,417	267,077	2,626	11,590	4,820	16,410	2,405
	4	116,50	64,330	201,492	265,822	3,132	10,870	4,910	15,780	2,214
	5	129,00	54,273	163,098	217,371	3,005	11,190	4,960	16,150	2,256
	6	68,50	54,970	190,537	245,507	3,466	10,710	5,000	15,710	2,142
	7	104,50	53,440	181,761	235,200	3,401	10,920	5,050	15,970	2,162
	8	86,50	55,874	166,780	222,654	2,985	11,390	4,810	16,200	2,368
<b>média</b>	<b>99,56</b>	<b>61,512</b>	<b>183,868</b>	<b>245,380</b>	<b>3,018</b>	<b>11,156</b>	<b>4,934</b>	<b>16,090</b>	<b>2,263</b>	

\*-  $\Delta h$ - Diferença entre altura final e inicial das mudas.

TABELA IV.3 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTES AS VARIÁVEIS DO CRESCIMENTO DE *Mimosa scabrella* PARA O EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio									
		$\Delta h$	$\Delta d$	Clorofila b	Clorofila a	Clorofila Total	Clorofila a/b	Massa Seca Aérea	Massa Seca Raiz	Massa Seca Total	Massa Seca a/r
Tratamento	2	23202,558**	0,533**	2895,957**	27305,736**	47976,805**	0,023 <sup>ns</sup>	785,272**	50,955**	1181,559**	10,602**
Erro	21	266,184	0,002	71,475	228,84	396,556	0,111	0,054	0,012	0,075	0,016
Total	23	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	Coeficiente de variação (%)	20,36	9,85	11,2	6,61	6,54	10,89	2,08	3,21	1,87	4,32
	Qui-quadrado ( $\chi^2$ )	1,38	0,654	0,978	0,359	0,06	3,983	4,455	2,591	1,991	2,519

\*\* - significativo ao nível de 1% de probabilidade.

\* - significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> - não significativo

TABELA AIV.4 - TEOR DE NUTRIENTES NAS FOLHAS DE *Mimosa scabrella* nos 3 TRATAMENTOS ESTUDADOS EM CASA DE VEGETAÇÃO.

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn
	g Kg <sup>-1</sup>					mg Kg <sup>-1</sup>			
C		1,27	7,58	16,08	2,37	252	496	17	309
		1,11	6,80	13,91	1,86	206	522	16	293
		1,35	8,25	15,59	2,24	234	565	21	257
NC	23,50	1,54	8,13	9,80	1,86	150	52	15	194
	26,50	1,40	7,37	14,09	2,37	141	55	16	158
	25,00	1,49	7,90	11,18	1,86	214	61	19	231
CF	26,10	1,28	6,33	11,83	1,49	152	600	15	218
	24,70	1,66	9,58	10,32	1,62	192	511	20	201
	25,40	1,72	8,17	10,56	1,61	172	510	14	229



TABELA IV.5 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTES AS VARIÁVEIS DE NUTRIÇÃO DE *Mimosa scabrella* PARA O EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio	GL	Quadrado Médio							
		Nitrogênio		Fósforo	Potássio	Cálcio	Magnésio	Ferro	Manganês	Cobre	Zinco
Tratamento	1	2,94 <sup>ns</sup>	2	0,078 <sup>ns</sup>	0,175 <sup>ns</sup>	15,648*	0,282 <sup>ns</sup>	3670,333 <sup>ns</sup>	228604,333**	2,333 <sup>ns</sup>	6940,111*
Erro	4	2,48	6	0,026	1,112	2,25	0,054	840,556	1309,222	7,222	746,89
Total	5	-----	8	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	Coeficiente de variação (%)	3,19	Coeficiente de variação (%)	11,24	13,53	11,91	12,11	15,23	9,66	15,81	11,77
	Qui-quadrado ( $\chi^2$ )	0,072	Qui-quadrado ( $\chi^2$ )	2,242	3,054	1,676	2,619	0,91	4,547	0,301	1,302

\*\* - significativo ao nível de 1% de probabilidade.

\* - significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> - não significativo

**ANEXO V**

---

TABELA AV.1.- MEDIÇÕES NO LENHO JUVENIL DE *Podocarpus lambertii* PARA O EXPERIMENTO EM CAMPO.

C1	Comprimento Traqueíde ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro Traqueíde ( $\mu\text{m}$ )	Espessura Parede Celular Traqueíde ( $\mu\text{m}$ )	Altura Raio ( $\mu\text{m}$ )	Largura Raio ( $\mu\text{m}$ )
1	1165,00	24,69	2,71	63,17	11,84
2	787,96	21,97	2,58	70,17	11,37
3	1050,94	20,55	2,57	67,33	10,24
4	986,17	21,31	2,21	69,51	11,23
5	1048,14	19,24	2,25	69,33	10,29
6	1021,37	21,31	2,14	68,67	10,85
7	1025,93	23,17	2,37	68,50	10,94
8	1148,26	23,59	2,40	69,14	10,38
Média	<b>1029,22</b>	<b>21,98</b>	<b>2,40</b>	<b>68,23</b>	<b>10,89</b>
C2	Comprimento Traqueíde ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro Traqueíde ( $\mu\text{m}$ )	Espessura Parede Celular Traqueíde ( $\mu\text{m}$ )	Comprimento Raio ( $\mu\text{m}$ )	Largura Raio ( $\mu\text{m}$ )
1	1273,97	26,47	2,69	93,08	15,67
2	1157,65	25,82	2,83	92,67	14,63
3	1044,69	22,73	2,44	85,55	12,34
4	1156,83	26,78	2,71	90,51	12,78
5	1155,67	27,22	2,41	90,91	13,04
6	1085,84	24,81	2,39	81,88	14,20
7	1255,79	22,16	2,33	96,94	14,43
8	1221,55	25,89	2,42	85,43	12,11
Média	<b>1169,00</b>	<b>25,36</b>	<b>2,53</b>	<b>89,62</b>	<b>13,65</b>
NC	Comprimento Traqueíde ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro Traqueíde ( $\mu\text{m}$ )	Espessura Parede Celular Traqueíde ( $\mu\text{m}$ )	Comprimento Raio ( $\mu\text{m}$ )	Largura Raio ( $\mu\text{m}$ )

1	1409,61	24,07	2,08	79,63	13,05
2	1414,24	24,19	2,15	78,14	12,12
3	1455,12	23,39	2,03	69,98	11,18
4	1503,66	23,31	2,04	75,03	11,42
5	1387,31	21,99	2,22	77,14	13,25
6	1374,16	26,59	2,50	73,15	10,80
7	1457,91	24,84	2,05	73,52	10,58
8	1488,67	20,86	2,07	76,40	11,05
<b>Média</b>	<b>1436,33</b>	<b>23,65</b>	<b>2,14</b>	<b>75,37</b>	<b>11,68</b>

TABELA V.2 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTES AS VARIÁVEIS DE ANATOMIA DE *Podocarpus lambertii* PARA O EXPERIMENTO EM CAMPO.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio				
		Traqueíde			Raio	
		Comprimento	Diâmetro	Espessura Parede celular	Comprimento	Largura
Tratamento	2	342329,61**	22,841**	0,308**	948,954**	16,134*
Erro	21	7298,389	2,969	0,033	13,001	0,985
Total	23	-----	-----	-----	-----	-----
	Coefficiente de variação (%)	7,05	7,28	7,74	4,64	8,22
	Qui-quadrado ( $\chi^2$ )	4,804	0,027	0,385	4,253	3,739

\*\* - significativo ao nível de 1% de probabilidade.

\* - significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> - não significativo

TABELA AV.3 - MEDIÇÕES NO LENHO JUVENIL DE *Podocarpus lambertii* PARA O EXPERIMENTO EM ESTUFA

C	Comprimento Traqueíde (µm)	Diâmetro Traqueíde (µm)	Espessura Parede Celular Traqueíde (µm)	altura Raio (µm)	Largura Raio (µm)
1	1109,47	20,36	1,81	67,17	10,85
2	1021,62	21,33	1,57	65,39	11,88
3	1040,23	21,86	1,77	67,24	11,17
4	987,19	22,26	1,75	66,85	11,57
5	952,35	23,71	1,99	57,00	12,00
6	993,01	23,32	2,09	62,43	10,60
7	1075,21	21,30	1,67	66,81	10,36
8	1105,16	21,64	1,72	63,67	9,34
Média	<b>1035,53</b>	<b>21,97</b>	<b>1,80</b>	<b>64,57</b>	<b>10,97</b>
NC	Comprimento Traqueíde (µm)	Diâmetro Traqueíde (µm)	Espessura Parede Celular Traqueíde (µm)	Comprimento Raio (µm)	Largura Raio (µm)
1	1015,39	22,50	1,72	173,65	14,28
2	951,64	23,84	1,91	152,59	14,22
3	940,62	23,11	1,89	160,31	12,69
4	957,39	20,76	1,64	150,50	13,93
5	1078,28	22,06	1,66	162,80	15,28
6	1065,00	21,82	1,67	148,43	12,94
7	1140,92	22,39	1,51	109,80	10,43
8	1028,42	21,98	1,49	112,14	11,20
Média	<b>1022,21</b>	<b>22,31</b>	<b>1,68</b>	<b>146,28</b>	<b>13,12</b>

TABELA V.4 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTES AS VARIÁVEIS DE ANATOMIA DE *Podocarpus lambertii* PARA O EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio				
		Traqueíde			Raio	
		Comprimento	Diâmetro	Espessura Parede celular	Comprimento	Largura
<b>Tratamento</b>	1	709,969 <sup>ns</sup>	0,452 <sup>ns</sup>	0,049 <sup>**</sup>	26703,728 <sup>**</sup>	18,527 <sup>*</sup>
<b>Erro</b>	14	4154,388	1,026	0,026	276,067	1,749
<b>Total</b>	15	-----	-----	-----	-----	-----
	<b>Coeficiente de variação (%)</b>	6,26	4,57	9,26	15,76	10,98
	$\chi^2$	0,276	0,227	0,08	15,845	2,389

TABELA AV.5 – MEDIÇÕES NO LENHO JUVENIL DE *Allophylus edulis* PARA O EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.

C	Comprimento Vaso ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro Vaso ( $\mu\text{m}$ )	Espessura Parede Celular Vaso ( $\mu\text{m}$ )	Comprimento Fibra ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro Fibra ( $\mu\text{m}$ )	Espessura Parede Celular Fibra ( $\mu\text{m}$ )	Altura Raio ( $\mu\text{m}$ )	Largura Raio ( $\mu\text{m}$ )	Poros ( $\text{mm}^2$ )
1	385,30	42,38	2,09	503,39	17,78	1,72	136,49	11,96	222
2	329,94	35,27	1,81	454,66	18,46	1,78	142,11	11,78	226
3	395,36	33,21	1,72	476,31	16,87	1,78	169,11	10,52	212
4	332,99	38,90	1,91	479,07	18,38	1,71	136,48	11,39	235
5	362,06	43,52	2,07	472,50	16,39	1,74	170,36	12,01	219
6	318,57	35,19	1,92	447,17	16,29	1,69	191,53	9,69	215
7	283,06	34,95	1,88	344,05	15,90	1,69	199,68	10,89	212
8	329,87	38,38	2,02	446,46	16,18	1,58	167,44	12,82	223
	<b>342,14</b>	<b>37,72</b>	<b>1,93</b>	<b>452,95</b>	<b>17,03</b>	<b>1,71</b>	<b>164,15</b>	<b>11,38</b>	<b>220</b>
NC	Comprimento Vaso ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro Vaso ( $\mu\text{m}$ )	Espessura Parede Celular Vaso ( $\mu\text{m}$ )	Comprimento Fibra ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro Fibra ( $\mu\text{m}$ )	Espessura Parede Celular Fibra ( $\mu\text{m}$ )	Comprimento Raio ( $\mu\text{m}$ )	Largura Raio ( $\mu\text{m}$ )	Poros ( $\text{mm}^2$ )
1	313,098	43,64	2,34	427,54	43,64	2,05	175,97	12,67	208
2	309,308	36,78	2,05	409,69	36,78	1,90	164,25	12,32	218
3	312,671	33,61	2,63	413,72	33,61	1,96	174,37	12,89	228

4	318,531	28,77	1,42	430,67	28,77	1,27	190,14	13,32	197
5	316,65	29,71	1,75	381,76	29,71	1,58	185,21	14,15	228
6	289,26	38,78	2,43	330,42	38,78	2,00	185,55	12,63	217
7	338,784	36,32	2,28	405,39	36,32	1,99	168,68	13,17	210
8	311,234	32,62	1,99	424,81	32,62	1,37	165,56	12,59	214
	<b>313,69</b>	<b>35,03</b>	<b>2,11</b>	<b>403,00</b>	<b>35,03</b>	<b>1,76</b>	<b>176,22</b>	<b>12,97</b>	<b>215</b>

TABELA AV.6 -.ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTES AS VARIÁVEIS DE ANATOMIA DE *Allophylus edulis* PARA O EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio								
		Vaso			Fibra			Raio		Poros
		Diâmetro	Espessura Parede celular	Comprimento	Diâmetro	Espessura Parede celular	Comp.	Comp	Largura	Unidades /mm <sup>2</sup>
Tratamento	1	29,028 <sup>ns</sup>	0,135 <sup>ns</sup>	3238,093 <sup>ns</sup>	1295,442 <sup>**</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	9980,411 <sup>*</sup>	582,184 <sup>n</sup> <sub>s</sub>	10,05 <sup>**</sup>	121,0 <sup>ns</sup>
Erro	14	18,977	0,086	771,95	12,538	0,051	1701,417	341,504	0,651	84
Total	15	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	Coeficiente de variação (%)	11,98	14,52	8,47	13,6	12,99	9,64	10,86	6,63	4,21
	$\chi^2$	0,478	6,915	5,681	11,904	12,543	0,86	4,698	1,801	0,516

\*\* - significativo ao nível de 1% de probabilidade.

\* - significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> - não significativo



TABELA AV.7 – MEDIÇÕES NO LENHO JUVENIL DE *Mimosa scabrella* PARA O EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.

C	Comprimento Vaso ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro Vaso ( $\mu\text{m}$ )	Espessura Parede Celular Vaso ( $\mu\text{m}$ )	Comprimento Fibra ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro Fibra ( $\mu\text{m}$ )	Espessura Parede Celular Fibra ( $\mu\text{m}$ )	Altura Raio ( $\mu\text{m}$ )	Largura Raio ( $\mu\text{m}$ )	Poros ( $\text{mm}^2$ )
1	185,59	36,41	3,28	403,24	14,68	3,17	290,09	22,29	57
2	199,95	35,97	3,62	438,34	13,26	3,41	274,24	23,71	62
3	195,43	35,88	3,65	528,24	15,39	3,25	298,36	20,27	60
4	199,84	37,77	3,14	500,48	13,93	3,28	334,36	18,55	76
5	192,48	39,95	3,50	404,41	14,90	3,44	262,99	19,38	82
6	197,46	36,82	3,69	409,16	14,40	3,00	212,74	18,77	65
7	191,54	39,88	3,17	453,85	16,93	3,61	233,52	19,17	70
8	205,23	40,97	3,43	466,34	12,92	3,24	272,46	22,55	68
Média	<b>195,94</b>	<b>37,96</b>	<b>3,43</b>	<b>450,51</b>	<b>14,55</b>	<b>3,30</b>	<b>272,35</b>	<b>20,59</b>	<b>68</b>
NC	Comprimento Vaso ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro Vaso ( $\mu\text{m}$ )	Espessura Parede Celular Vaso ( $\mu\text{m}$ )	Comprimento Fibra ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro Fibra ( $\mu\text{m}$ )	Espessura Parede Celular Fibra ( $\mu\text{m}$ )	Comprimento Raio ( $\mu\text{m}$ )	Largura Raio ( $\mu\text{m}$ )	Poros ( $\text{mm}^2$ )
1	231,749	83,39	4,40	483,18	12,77	3,15	290,58	24,00	43
2	259,516	76,32	4,05	468,18	13,80	3,31	311,79	22,23	42
3	229,355	74,81	3,71	453,57	13,79	3,12	320,34	22,05	47

4	216,496	72,67	3,75	445,18	14,56	3,98	332,47	20,79	39
5	252,025	76,00	3,77	536,91	16,64	3,39	292,77	24,99	40
6	204,028	85,93	4,26	533,45	17,20	3,43	307,09	26,54	41
7	225,197	89,49	4,29	554,53	13,64	3,82	311,56	28,26	43
8	216,657	74,65	4,15	577,17	15,74	3,01	306,42	24,21	38
	<b>229,38</b>	<b>79,16</b>	<b>4,05</b>	<b>506,52</b>	<b>14,77</b>	<b>3,40</b>	<b>309,13</b>	<b>24,13</b>	<b>41</b>

TABELA V.8 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTES AS VARIÁVEIS DE ANATOMIA DE *Mimosa scabrella* PARA O EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio								
		Vaso			Fibra			Raio		Poros
		Diâmetro	Espessura Parede celular	Comprim	Diâmetro	Espessura Parede celular	Comprim.	Comprim.	Largura	unidades/mm <sup>2</sup>
Tratamento	1	6790,131**	1,501**	4472,366**	0,185 <sup>ns</sup>	0,041 <sup>ns</sup>	12550,55*	9703,237**	50,321**	70092,563**
Erro	14	21,329	0,06	190,945	2,055	0,075	2324,694	545,071	5,018	595,741**
Total	15	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	Coefficiente de variação (%)	7,89	6,57	6,5	9,78	8,18	10,08	8,21	10,02	8,84
	Qui-quadrado ( $\chi^2$ )	6,888	0,302	6,869	0,321	2,276	0,039	3,7	0,314	4,824

\*\* - significativo ao nível de 1% de probabilidade.

\* - significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> - não significativo