

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MERILLUCE SAMARA WEIERS

**XILEMA SECUNDÁRIO DE *Guettarda uruguensis* CHAM. & SCHLTDL. E *Schinus
terebinthifolia* RADDI EM ÁREA CONTAMINADA COM ÓLEO MINERAL
ISOLANTE E BIORREMEIADA**

CURITIBA
2012

MERILLUCE SAMARA WEIERS

XILEMA SECUNDÁRIO DE *Guettarda uruguensis* CHAM. & SCHLTDL. E *Schinus terebinthifolia* RADDI EM ÁREA CONTAMINADA COM ÓLEO MINERAL ISOLANTE E BIORREMEIADA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica, Área de Concentração em Estrutura e Fisiologia do Desenvolvimento Vegetal, Departamento de Botânica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Botânica.

Orientadora:
Profa. Dra. Cleusa Bona

Co-orientadora:
Profa. Dra. Erika Amano

CURITIBA
2012

Universidade Federal do Paraná
Sistema de Bibliotecas

Weiers, Merilluce Samara

Xilema secundário de *Guettarda uruguensis* cham. & schldl. e *Schinus terebinthifolia* raddi em área contaminada com óleo mineal isolante e biorremediada. / Merilluce Samara Weiers. – Curitiba, 2012.

41 f.: il. ; 30cm.

Orientadora: Cleusa Bona

Co-orientadora: Erika Amano

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Botânica.

1. Solos – Contaminação 2. Biorremediação 3. Rubiaceae 4. Anacardiaceae I. Título II. Bona, Cleusa III. Amano, Erika IV. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Botânica.

CDD (20. ed.) 574.5222



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BOTÂNICA



247^a.
2012

Ata de Julgamento da Dissertação de Mestrado da pós-graduanda. **MERILLUCE SAMARA WEIERS**. Aos vinte e sete dias do mês de fevereiro de dois mil e doze, às quatorze horas na Sala 426, no Bloco da Botânica, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, na presença da Comissão Examinadora, composta pelos Professores Doutores Cleusa Bona (UFPR) presidente e orientadora, Edenise Segala Alves (IBT-SP) e Yoshiko Saito Kuniyoshi (UFPR) como titulares, foi aberta a sessão de julgamento da Dissertação intitulada: “**Xilema secundário de *Guettarda uruguensis* Cham. & Schldl. e *Schinus terebinthifolia* Raddi em área contaminada com óleo mineral isolante e biorremediada**”. Após a apresentação, perguntas e esclarecimentos acerca da Dissertação, a **Comissão Examinadora aprova, com dois votos favoráveis e um contrário, o trabalho da ALUNA Merilluce Samara Weiers**. Nada mais havendo a tratar, encerrou-se a sessão da qual foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos componentes da Comissão Examinadora.

Profa.Dra.Cleusa Bona.....

Profa. Dra. Edenise Segala Alves.....

Profa.Dra. Yoshiko Saito Kuniyoshi.....

Dedico esta dissertação ao meu exemplo de vida, Valdiria Aparecida Adão Weiers, que sempre me estimulou a dar este grande passo. Esta pessoa com muita sabedoria, discernimento, bom senso e dedicação esteve ao meu lado me encorajando nas horas difíceis e me aplaudindo nos momentos de glória. Obrigada por ser minha mãe, fonte de inspiração, apoio e ensino diário.

AGRADECIMENTOS

Chegou a hora de expressar os meus sinceros agradecimentos a vários e tantos amados familiares e amigos, tanto aos antigos e queridos, quanto aos que se manifestaram nesse período. Eu sei que corro o risco de não dar conta desse “Muito obrigada!” como seria merecido, pois será muito difícil enunciar a beleza que foi essa vibração de energias e impulsos que foram chegando. Para uma melhor percepção dessa vibração devo contar que esta não foi uma jornada breve, mas uma travessia que parecia sem fim, principalmente pelas intercorrências pessoais e profissionais de toda ordem, que me atropelaram. Esses percalços, longe de obscurecerem o trajeto, aumentaram-lhe o brilho, e ao invés de me deterem, impulsionaram-me com mais força.

Se o desafio foi enorme, as motivações eram grandiosas, somadas às espontâneas generosidades que fizeram possível a transformação de instantâneos momentos de angústia e sofrimento em uma estrada larga, margeada de flores, frutos e frondosas árvores. Uma estrada toda verde, repleta de cheiros, cores, e sons, cujo nome é esperança e cuja base é a busca de saberes, representada por um “feixe de possibilidades”.

Talvez esta dissertação seja o resultado mais claro desse processo de construção em meio a uma conspiração de afetos e amizades. Dessa forma, dando continuidade à vida, dedico algumas palavras àqueles que dela fazem parte direta ou indiretamente ou, ainda, pelo fato de simplesmente existirem.

- Aos meus pais, Rubens Weiers e Valdiria Aparecida Adão Weiers, os mais profundos agradecimentos por suas sábias lições de esperança; sempre repetindo palavras essenciais como, por exemplo, amor, crença, compreensão, alegria infundiram-me a confiança necessária para realizar os meus sonhos.
- A minha irmã, Graciella Greice Weiers, que além do incentivo, motivação, me auxiliou por diversas vezes.
- Aos meus familiares que sempre me deram amor e força, valorizando meus potenciais.
- A todos os meus amigos e amigas que sempre estiveram presentes me aconselhando e incentivando com carinho e dedicação.

- Aos colegas de turma pelo convívio, solidariedade e amizade compartilhadas todo esse tempo.
- Ao Fernando Andreacci e Flávio Beilke amigos da graduação e que juntos iniciamos o processo de pós-graduação e por diversas vezes desabafamos, trocamos informações e fomos companheiros nessa jornada.
- A Ligia Debone Piazza que no último ano sempre esteve ao meu lado ajudando, dando força e apoio.
- As Prof.^{as} Dras. Cleusa Bona e Erika Amano pela orientação.
- Ao Osmar dos Santos Ribas que auxiliou na identificação das espécies.
- Ao Prof.^o Dr. Gedir de Oliveira Santos por ter cedido seus alunos e auxiliado em diversos momentos.
- Ao Bruno Amaral Bezerra e ao Fernando Esteban Montero que me ajudaram na coleta das amostras de xilema secundário e de solo.
- Ao biólogo Nilson Belém Filho, pela disponibilidade em ajudar e pela amizade e incentivo.
- Ao Prof.^o Walmes Marques Zeviani pelo auxílio na análise estatística.
- Ao Prof.^o Dr. Renato Marques pelo auxílio na análise de atributos físico-químicos.
- Ao Prof.^o Dr. Paulo Cesar Botosso pelo auxílio em diversos momentos.
- A COPEL por ter possibilitado a coleta das amostras.

Há muito mais pessoas a agradecer, a todos aqueles que, embora não nomeados, me presentearam com seus preciosos apoios em distintos momentos e por suas presenças afetivas em inesquecíveis dias, o meu reconhecido e carinhoso muito obrigada.

“É melhor tentar e falhar,
que preocupar-se e ver a vida passar;
é melhor tentar, ainda que em vão,
que sentar-se fazendo nada até o final.
Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me esconder.
Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade viver ...”
Martin Luther King

RESUMO

Em 2004 foi identificada uma área, de Floresta Ombrófila Mista, com alta contaminação no solo por óleo mineral isolante (OMI) na Companhia Paranaense de Energia – COPEL (Curitiba, Paraná). Nessa área, a COPEL, desde 1954, realiza o armazenamento e manutenção de equipamentos e o descarte de OMI. A área contaminada foi biorremediada em 2004, reduzindo significativamente o nível de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) no solo. Com o objetivo de avaliar possíveis alterações na estrutura do xilema secundário caulinar de *Guettarda uruguensis* Cham. & Schlttdl. e *Schinus terebinthifolia* Raddi, crescendo nessa área, comparou-se o xilema secundário do período contaminado e pós-biorremediado e das plantas da área contaminada e não contaminada. As amostras do solo e do xilema secundário foram coletadas nas duas áreas. Foram retiradas amostras do xilema secundário de cinco indivíduos de cada espécie, em cada área, analisadas em secção transversal e macerado, e comparadas de forma qualitativa e quantitativa. O xilema secundário de *G. uruguensis* é formado por camadas de crescimento distintas, demarcadas pelo achatamento radial e maior espessamento da parede das fibras; vasos com porosidade difusa e predominância de vasos múltiplos. *G. uruguensis* apresentou maior comprimento das fibras nas plantas da área não contaminada, maior proporção de vasos solitários nas amostras da área contaminada e menor frequência dos vasos no xilema secundário formado no período contaminado em relação ao período biorremediado. Em *S. terebinthifolia*, as camadas de crescimento são pouco distintas, demarcadas pelo maior espessamento da parede das fibras; vasos com porosidade difusa; arranjo radial e vasos múltiplos. *S. terebinthifolia* apresentou maior proporção de vasos em cachos na área contaminada e a maior espessura da parede das fibras na área não contaminada. Conclui-se que houve alterações anatômico-estruturais no xilema secundário de *G. uruguensis* e *S. terebinthifolia* em solo contaminado com provável recuperação no crescimento dos indivíduos após biorremediação.

Palavras-chave: Anatomia ecológica. Rubiaceae. Anacardiaceae. Biorremediação. Contaminação por hidrocarboneto.

ABSTRACT

In 2004 was identified an area of high contamination by insulating mineral oil (OMI). The area belongs to the Energy Company of the Parana State - COPEL and is cover by Araucaria Forest. COPEL, since 1954, performs the storage and maintenance of equipment and discard of OMI. In 2004, the contaminated area was bioremediated, significantly reducing the level of total petroleum hydrocarbons (HTP). The structure of secondary xylem of stems of *Guettarda uruguensis* Cham. & Schltld. and *Schinus terebinthifolia* Raddi growing in this area was evaluated by comparing the secondary xylem of the period during contamination and post-bioremediation. The data was compared with other samples from uncontaminated soil. Soil samples and the secondary stem xylem were collected in both areas. Samples were taken from the secondary xylem of five individuals of each species in each area, analyzed in cross section and macerated, and compared both qualitatively and quantitatively. The secondary xylem of *G. uruguensis* consists of different layers of growth, marked by radial flattening and increased wall thickening of the fibers, vessels with diffuse porosity and prevalence of multiple vessels. *G. uruguensis* presented higher length of the fibers on the plants of uncontaminated area and higher proportion of solitary vessels in the samples of contaminated area, while plants from contaminated area registered lower frequency of vessels in the xylem formed in the period contaminated in relation to period bioremediated. To *S. terebinthifolia* layers of growth are slightly different, marked by increased wall thickness of the fibers, vessels with diffuse porosity, vessels in radial arrangement and multiples vessels. *S. terebinthifolia* had a higher proportion of vessels in clusters in the contaminated area and increased wall thickness of fibers in the uncontaminated area. This work conclude that levels of contamination by OMI in the area of COPEL were not phytotoxic to *G. uruguensis* and *S. terebinthifolia*.

Keywords: Ecological Anatomy. Rubiaceae. Anacardiaceae. Araucaria Forest. Bioremediation.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 MATERIAL E MÉTODOS	16
3 RESULTADOS	20
4 DISCUSSÃO	26
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
Anexo I	38
Anexo II	41

1 INTRODUÇÃO

As espécies arbóreas adultas acumulam, no interior de seus caules e raízes, quantidade significativa de xilema secundário, que pode ser analisado quanto a sua estrutura anatômica por longos períodos. A quantidade de xilema secundário produzido depende da espécie, do crescimento e das condições ambientais (DICKISON, 2000). Sendo esse formado pela atividade do câmbio vascular, que pode ter atividade sazonal influenciada pelas condições ambientais (variações das estações do ano, como temperatura, precipitação e inundação) (SCHWEINGRUBER, 2007). BAAS & CARLQUIST (1985) identificaram em duas regiões áridas distintas (sul da Califórnia e Israel) alterações em características como diâmetro, comprimento e frequência dos vasos, espessura da parede e comprimento das fibras, altura e largura dos raios. Os autores concluíram que as diferenças entre as duas floras pode ser fortemente atribuída à composição florística e a segurança e eficiência no transporte de seiva, além da resistência das diferentes taxas de aridez. ALVES & ANGYALOSSY-ALFONSO (2000; 2002) estudaram diversas espécies da flora brasileira relacionando-as com os fatores ecológicos, apresentando resultados referentes às espécies de ambientes xéricos.

Trabalhos com anatomia ecológica do xilema secundário de espécies que crescem em diferentes ambientes também registraram alterações importantes. Diferenças no diâmetro e frequência dos vasos e comprimento das fibras em *Casearia sylvestris* e *Machaerium villosum*, ocorrendo no cerrado e na Floresta Estacional Semidecídica (CECCANTINI, 1996) e as mesmas alterações em *Blepharocalyx salicifolius* em duas regiões do Rio Grande do Sul (DENARDI & MARCHIORI, 2005). Diferenças no diâmetro dos vasos e das pontuações intervasculares em *Copaifera langsdorffii*, de floresta e cerrado (MARCATI *et al.*, 2001). BOSIO *et al.* (2010) registraram variações no comprimento e diâmetro dos vasos e fibras, espessura da parede das fibras, largura e frequência dos raios de *Miconia sellowiana* em três tipos de vegetação do Estado do Paraná e COSMO *et al.* (2008) constataram variações na frequência dos vasos, comprimento dos vasos e das fibras de *Sebastiania commersoniana* em diferentes condições geomorfológicas e pedológicas da planície do rio Iguaçu no Paraná, dentre outros.

O alto crescimento da população mundial tem demonstrado a grande exploração dos HTP provenientes, sobretudo, do aumento no consumo de

combustíveis fósseis. Em caso de acidente, as plantas são normalmente os primeiros organismos a serem contaminados pelos hidrocarbonetos, que causam efeitos diretos (MALALLAH *et al.*, 1996), como alterações morfoanatômicas e até a morte dos indivíduos (MARANHO *et al.*, 2009). As contaminações do solo por HTP vêm sendo estudadas quanto ao seu efeito na germinação, crescimento, desenvolvimento, estrutura anatômica e estado nutricional das plantas. Esses estudos envolvem geralmente experimentos com contaminação em laboratório (ADAM & DUNCAN, 2003; ALKIO *et al.*, 2005; BAEK *et al.*, 2004; GREEN *et al.*, 1996; HUTCHINSON & FREEDMAN, 1978; KECHAVARZI *et al.*, 2007; LIN & MENDELSSOHN, 1996; MALALLAH *et al.*, 1996; 1997; 1998; MERKL *et al.*, 2005; WYSZKOWSKI *et al.*, 2004). Em estudos com espécies arbóreas nativas em solo contaminado com HTP, ocorrem em sua maioria, com plantas juvenis: em *Campomanesia xanthocarpa* foram observadas alterações no crescimento, morfologia e anatomia da raiz e caule (GOGOSZ *et al.*, 2010; MAYER *et al.*, 2005); em *Schinus terebinthifolia* foram registradas alterações na germinação, crescimento e morfoanatomia do eofilo, folha e raiz (BONA *et al.*, 2011a; 2011b; OLIVEIRA *et al.*, 2008; REZENDE, 2006); *Sebastiania commersoniana* apresentou alterações na morfoanatomia do eofilo e raiz (BARDELI-DA-SILVA, 2006; BONA *et al.*, 2011a); em *Mimosa pilulifera* foram observadas alterações na morfologia do eofilo (INCKOT *et al.*, 2008) e *Erythrina crista-galli* com alterações na estrutura anatômica das raízes (FARIAS *et al.*, 2009).

As pesquisas em anatomia do xilema secundário de espécies arbóreas adultas sob influências de contaminações com HTP ainda são escassas no contexto brasileiro, sendo que MARANHO *et al.* (2009) avaliaram *Podocarpus lambertii* em uma área de derramamento de petróleo, e constataram diferenças na estrutura do xilema secundário, registraram variação dimensional do comprimento das traqueídes, diferenciando as camadas de crescimento formadas um ano após a contaminação. Sobre o efeito do solo contaminado por OMI, nas plantas, foi registrado redução significativa no crescimento juvenil de *S. terebinthifolia* Raddi, *Mimosa scabrella* Benth. e *Vicia faba* L. (BONA & SANTOS, 2008).

No ano de 2004 foi identificada uma área com alta contaminação de óleo mineral isolante (OMI), oriundo de equipamentos elétricos, na Companhia Paranaense de Energia – COPEL, onde, desde 1954, é realizado o armazenamento e manutenção de equipamentos. Nessa área cresce uma densa vegetação de

Floresta Ombrófila Mista com árvores com cerca de 30 anos (FIGURA 1 A). Num primeiro estudo sobre os efeitos da contaminação do OMI nas plantas foi registrado a redução significativa no crescimento e desenvolvimento de espécies arbóreas e herbáceas. No entanto, não há informações sobre o efeito desse contaminante na estrutura morfológica e anatômica das plantas (BONA & SANTOS, 2008).

Após a detecção dessa contaminação na área da COPEL foi implantado um processo de biorremediação em 2004, com o objetivo de diminuir os níveis de hidrocarbonetos no solo. A biorremediação é uma técnica que utiliza organismos vivos para remover contaminantes do solo, da água e da atmosfera (PANDEY *et al.*, 2000). Essa técnica inclui a inoculação de microrganismos, hábeis para a degradação, aplicação de enzimas e o uso de plantas, para conter e transformar poluentes que estão no solo (HUTCHINSON *et al.*, 2001; LI *et al.*, 1997; MERKL *et al.*, 2004). A biorremediação, utilizada na área da COPEL, baseou-se em um sistema cíclico de tratamento onde o poluente e a água foram bombeados até os tanques com bactérias degradadoras do OMI. Após o tratamento a água era devolvida ao solo por meio de trincheiras (FIGURA 1 B). O resultado desse tratamento foi uma significativa redução dos hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP), na análise realizada pela COPEL, baixando de 12.698 mg/kg em 2004 para 494 mg/kg em 2007 (COPEL, 2008).



FIGURA 1. A - Vista aérea da área da COPEL, Atuba, Curitiba, PR, na área contaminada com óleo mineral isolante (retângulo vermelho) e área não contaminada (retângulo branco). B - Sistema cíclico de tratamento para biorremediação. Tanques de coleta e tratamento por bactérias (seta estreita). Trincheiras drenantes (seta larga).

Estudos de plantas em solos biorremediados têm demonstrado efeitos positivos, como: aumento da biomassa, maior crescimento e desenvolvimento da plântula (GOGOSZ *et al.*, 2010; INCKOT *et al.*, 2008; 2011; OGBONNA *et al.*, 2007). GOGOSZ *et al.* (2010) mencionaram que o processo de biorremediação diminuiu os efeitos do solo contaminado com petróleo sobre o desenvolvimento de *Campomanesia xanthocarpa*. Para INCKOT *et al.* (2008) a biorremediação do solo reduziu os efeitos do contaminante tanto no ápice quanto nos pelos radiciais de *Mimosa pilulifera*.

Nesse sentido, espera-se que a vegetação arbórea submetida à contaminação por OMI possa evidenciar alterações no xilema secundário, formado no período de contaminação (1954-2004) e pós-biorremediação do solo (2007-2010). O objetivo do trabalho foi o de avaliar a estrutura celular do xilema secundário caulinar de duas espécies arbóreas nativas, *Guettarda uruguensis* Cham. & Schltl., Rubiaceae e *Schinus terebinthifolia* Raddi, Anacardiaceae, crescendo, em solo contaminado por OMI e posteriormente biorremediado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Esse estudo foi desenvolvido em duas áreas recobertas por vegetação de Floresta Ombrófila Mista secundária, localizada na região metropolitana de Curitiba, Paraná, Brasil. Esse local servia de descarte de OMI, desde 1954, e sendo biorremediada, a partir de 2004, por bactérias, para redução dos hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) no solo e uma outra área não contaminada (25°23'35,88"S, 49°11'40,13"W). Em 2004 a área que estava contaminada (25°33'40,81"S, 49°11'41,01"W) apresentava teor de HTP de 12.698 mg/kg e após a biorremediação em 2007, constatou-se redução significativa nos níveis de hidrocarbonetos, baixou para 494 mg/kg (COPEL, 2008).

Para a análise dos atributos físico-químicos do solo das duas áreas, em 2010, foram coletadas cinco amostras, de 0 a 20 cm de profundidade, e cinco amostras mistas (de duas em duas) a 1 m de profundidade para a análise de HTP. A análise dos atributos físico-químicos foi realizada pelo Laboratório de Química e Fertilidade do Solo do Departamento de Solos da UFPR e a análise de TPH foi realizada pelos laboratórios do LACTEC. A qualidade do solo foi avaliada, segundo os padrões delimitados pela lista holandesa de valores, publicada pela CETESB (1999) e a classificação e análise dos atributos físico-químicos do solo foram descritos conforme PEDRON *et al.* (2007) e CQFS (2004).

Amostras do xilema secundário de cinco indivíduos de *Guettarda uruguensis* Cham. & Schltidl., Rubiaceae, com maior diâmetro, foram coletadas na área contaminada (Diâmetro a altura do peito(DAP) = 10,18 cm; 14,80 cm; 12,09 cm; 9,86 cm e 9,39 cm) e na área não contaminada (DAP = 13,05 cm; 9,39 cm; 9,23 cm; 8,27 cm e 7,63 cm), no ano de 2010 (FIGURA 2 A). O mesmo procedimento foi feito para *Schinus terebinthifolia* Raddi, Anacardiaceae na área contaminada (DAP = 28,01 cm; 26,73 cm; 39,78 cm; 35,65 cm e 30,55 cm) e na área não contaminada (DAP = 18,93 cm; 28,80 cm; 31,35 cm; 22,91 cm e 18,46 cm). As amostras de cada indivíduo foram retiradas com o uso de trado de incremento, na mesma região do caule, em sequência, e fixadas em FAA 70 (FIGURA 2 B-H) (JOHANSEN, 1940). Com vistas à proteção da área lesionada, procedeu-se o tratamento com sulfato de cobre e óxido de cálcio na proporção de 1:1 (FIGURA 2 I).



FIGURA 2. Etapas da coleta de amostras não destrutivas de madeira. A – *Guettarda uruguensis* em solo contaminado. B - Identificação com plaqueta numérica dos indivíduos. C – Preparo superficial e remoção da casca com uso de formão. D, E – Coleta com uso de trado de incremento. F, G, H – Retirada da amostra do trado. I – Detalhe do tratamento preventivo da lesão.

As amostras, com 2 cm, foram divididas no sentido tangencial (do câmbio à medula), em subamostras de 4 mm, representadas pelas letras de A a E. Essas foram desidratadas em série etanólica, infiltradas e incluídas em resina sintética (Leica Historresin®), seguindo as instruções do fabricante. As secções transversais foram feitas em micrótomo de rotação, distendidas em lâminas histológicas, coradas com azul de toluidina (O'BRIEN *et al.*, 1965) e montadas em resina sintética.

Para obtenção do tecido macerado de acordo com a metodologia proposta por FRANKLIN (1945) foram estabelecidas subamostras de 2 mm, a partir do câmbio, representadas pelas letras de A a J. Os elementos celulares foram corados

com safranina aquosa e montados em lâminas semipermanentes, em gelatina glicerinada (KAISER, 1880, *apud* KRAUS & ARDUIN, 1997)¹.

Para a descrição do xilema secundário das espécies foram realizados cortes longitudinais tangenciais e radiais, à mão livre, com uso de navalha. Esses foram clarificados em hipoclorito de sódio a 50%, lavados em água destilada, corados com azul de toluidina (O'BRIEN *et al.*, 1965), desidratados em série etanólica e montados em lâminas permanentes com resina sintética.

O xilema secundário das espécies foi descrito segundo as normas propostas pelo IAWA Committee (1989). As análises anatômicas, qualitativa e quantitativa, foram realizadas entre as subamostras dos indivíduos da área contaminada englobando o período de contaminação e o de pós-biorremediação, e entre os indivíduos da área contaminada com os da área não contaminada. Foram mensuradas as seguintes características: diâmetro tangencial, frequência e comprimento dos elementos de vasos, comprimento das fibras e espessura da parede das fibras. O número de mensurações foi fixado em n=30, para cada parâmetro avaliado. Para análise estatística foram utilizadas a análise de variância e o teste de Tukey com nível nominal de significância de 5%.

Para verificar a quantidade de camadas de crescimento existem nas espécies foram marcadas as prováveis camadas, pelo achatamento das fibras, de forma a incluir o xilema secundário formado antes do processo de biorremediação. Para essa definição as amostras foram coladas em suportes de madeira, desidratadas a temperatura ambiente, polidas e as camadas marcadas com observação em microscópio estereoscópico. Dessa forma, a análise anatômica foi realizada nos 2 cm próximos ao câmbio contendo o xilema secundário suficiente (FIGURA 3 e 4).

¹ KAISER, E. Verfahren zur herstellung einer tadellosen glycerin-gelatine. **Botanisch Zentralb**, Stuttgart, v.180, p.25-26, 1880.

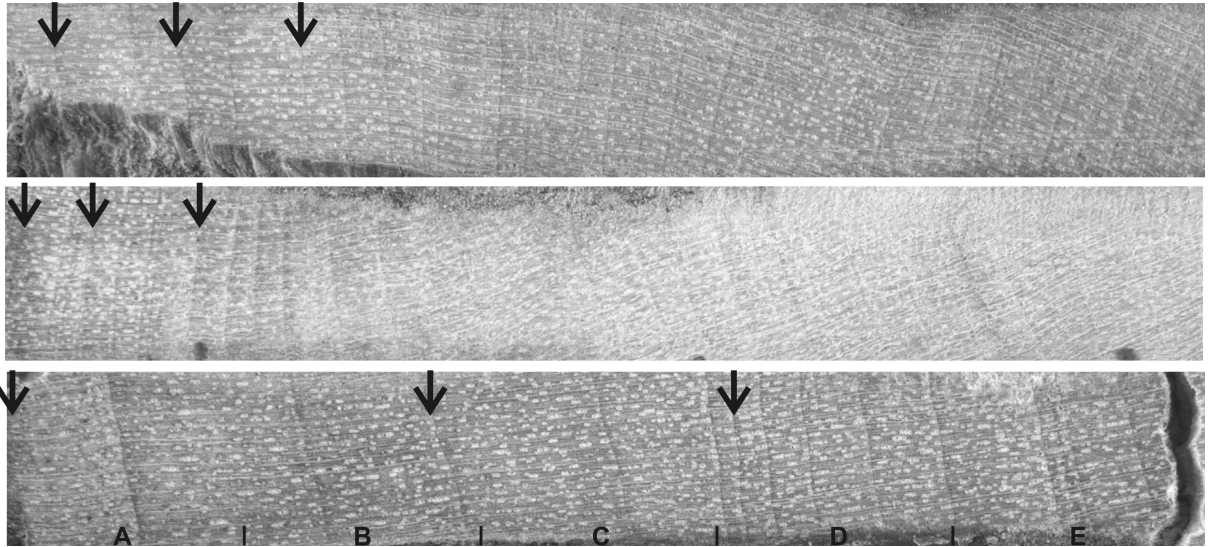


FIGURA 3. Camadas de crescimento do xilema secundário de três indivíduos de *Guettarda uruguensis* da área contaminada. Setas indicam os anéis formados em 2010, 2007 e 2004, a partir da esquerda para a direita. A-E = Subamostras de 4 em 4 mm.

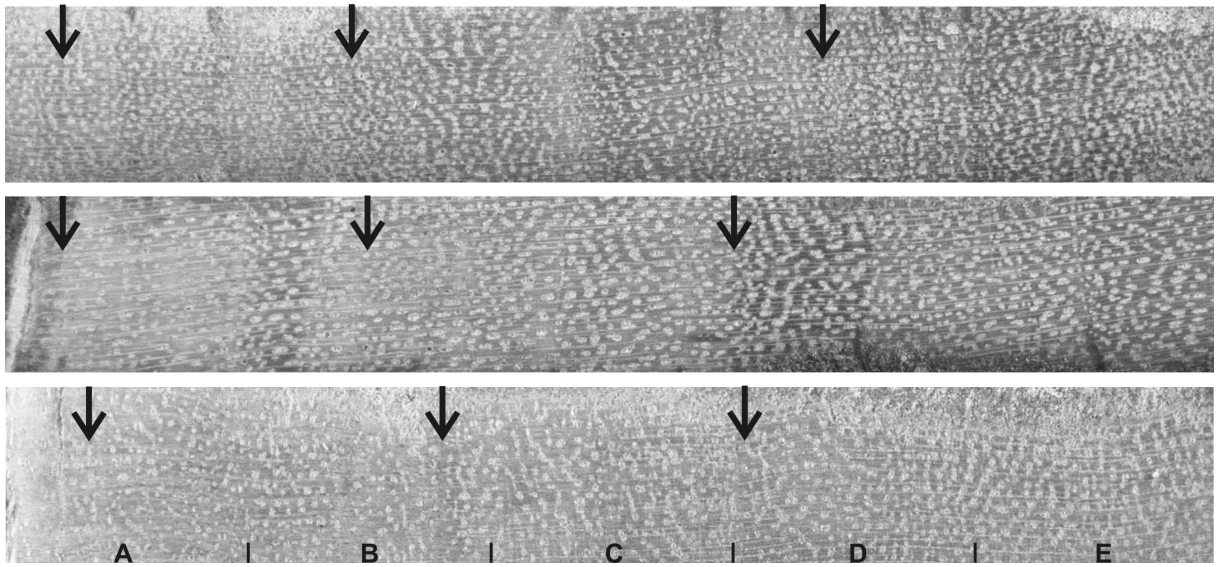


FIGURA 4. Camadas de crescimento do xilema secundário de três indivíduos de *Schinus terebinthifolia* da área contaminada. Setas indicam os anéis formados em 2010, 2007 e 2004, a partir da esquerda para a direita. A-E = Subamostras de 4 em 4 mm.

3 RESULTADOS

3.1 Análise do Solo

O resultado da análise dos atributos físico-químicos do solo contaminado e do não contaminado está apresentado na TABELA 1. A análise dos teores de hidrocarbonetos totais de petróleo está representada na TABELA 2.

TABELA 1. Atributos físico-químicos do solo contaminado com óleo mineral isolante e biorremediado (C) e não contaminado (NC). (SB = Soma de bases; T = Capacidade de troca de cátions (pH 7); M.O. = Matéria orgânica; V = Saturação por bases; m = saturação de alumínio. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si (F 5%). (Laboratório de Química e Fertilidade do Solo do Departamento de Solos da UFPR).

Amostra	pH CaCl ₂	Al ⁺³	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	SB	T	P	M.O.	V	m	Argila
		cmol _c /dm ³					mg/dm ³		g/dm ³	%	%	g/kg
C1	4,2	2,4	5,6	3,5	0,18	9,28	19,78	5,3	31,8	47	21	500
C2	4,9	0	8,9	4,9	0,18	13,98	18,58	6,5	25,3	75	0	400
C3	4,4	0,9	6,4	4	0,17	10,57	17,77	6,8	29,6	59	8	400
C4	4,7	0,4	8,8	6	0,18	14,98	21,18	3,8	27,4	71	3	550
C5	4,6	0,4	5,7	3,9	0,21	9,81	15,21	5,9	27,4	64	4	375
Média	4,56b	0,82a	7,08 ^a	4,46a	0,18a	11,72a	18,50a	5,66b	28,3b	63,2b	7,2a	445a
NC1	5,3	0	8,9	5,1	0,22	14,22	17,92	15,6	44,5	79	0	300
NC2	5,8	0	13,2	5,7	0,23	19,13	21,83	16,2	62,6	88	0	400
NC3	6,1	0	10,4	3,8	0,19	14,39	16,59	20,1	49,4	87	0	250
NC4	5,4	0	7,9	4	0,18	12,08	15,08	14,6	39,7	80	0	275
NC5	4,7	0,3	8	3,5	0,3	11,8	17,8	25,5	54,5	66	2	400
Média	5,46a	0,06a	9,68a	4,42a	0,22a	14,32a	17,84a	18,4a	50,14a	80 ^a	0,4a	325b

TABELA 2. Teor de Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (HTP) no solo da área contaminada com óleo mineral isolante e biorremediada (C) e na não contaminada (NC) em 2010. (Laboratório do LACTEC).

Amostra	HTP (mg/kg)	Amostra	HTP (mg/kg)
C1	429	NC1	131
C2	373	NC2	19
C3	56	NC3	187
C4	392	NC4	261

C5	112	NC5	261
MÉDIA	272,4		171,8

3.2 Xilema

O xilema secundário do caule de *G. uruguensis* possui camadas de crescimento distintas demarcadas pelo achatamento radial e maior espessamento da parede das fibras; porosidade difusa; arranjo radial; poucos vasos solitários, agrupamentos de vasos mais frequentes, geminados e múltiplos radiais de 3 ou mais, e menos frequentes, em cachos (TABELA 3, FIGURA 5 A-F); vasos com ou sem apêndices; placas de perfuração simples; pontoações intervasculares e raio-vasculares areoladas alternas. Fibras libriformes, septadas (FIGURA 5 G) e de paredes finas a espessas (FIGURA 5 B-D). Parênquima axial paratraqueal escasso (FIGURA 5 D). Parênquima radial, em sua maioria, do tipo bisseriado, sendo raramente unisseriado, formado por camadas de células procumbentes e uma fileira de células eretas na margem (FIGURA 5 G-H).

Qualitativamente, *G. uruguensis* apresentou, quanto ao agrupamento dos vasos, maior proporção de vasos solitários nas plantas da área contaminada (FIGURA 5 C) em relação às da não contaminada (TABELA 3, FIGURA 5 A). As fibras apresentaram paredes finas à espessas na área contaminada (FIGURA 5 C-F) e na área não contaminada variaram de finas e finas à espessas (FIGURA 5 A-B).

TABELA 3. Agrupamento dos vasos em *Guettarda uruguensis* em área contaminada com óleo mineral isolante (C) e não contaminada (NC).

	Vasos solitários %	Vasos geminados %	Vasos múltiplos radiais de 3 ou mais %	Vasos em cachos %	Média do nº de vasos por agrupamento
C	45,01	25,63	25,43	3,88	3-6,4
NC	34,20	34,20	27,46	4,00	3-5,2

Para a análise de variância dos caracteres anatômicos de *G. uruguensis* a única variável com alteração na comparação das subamostras, entre os indivíduos da área contaminada, foi a frequência dos vasos, sendo maior nas subamostras A (FIGURA 5 E), formadas no período da pós-biorremediação, em relação às subamostras D (FIGURA 5 F), formadas no período contaminado (TABELA 4). Não

houve variação na frequência dos vasos entre os indivíduos da área contaminada e não contaminada, e nem entre as subamostras dos indivíduos da área não contaminada. Na comparação dos indivíduos entre as duas áreas houve alteração no comprimento das fibras, com maior comprimento na área não contaminada (TABELA 5).

TABELA 4. Valores médios da frequência dos vasos em *Guettarda uruguensis* em área contaminada com óleo mineral isolante (C) e não contaminada (NC). Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si (teste de Tukey 0,05). Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si (teste de Tukey 0,05). A – E: subamostras de 4 em 4 mm do câmbio em direção a medula.

	Frequência dos vasos (unidade)	
	C	NC
A	72.0800 A a	38.7600 A a
B	62.9267 A ab	54.5200 A a
C	60.4933 A ab	41.2333 A a
D	51.5000 A b	46.6400 A a
E	57.4200 A ab	43.2600 A a

TABELA 5. Valores médios do comprimento das fibras e dos elementos de vasos (subamostras de 2 em 2 mm), espessura da parede das fibras e diâmetro dos vasos (subamostras de 4 em 4 mm) em *Guettarda uruguensis* em área contaminada com óleo mineral isolante (C) e não contaminada (NC). Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si (teste de Tukey 0,05).

	Comprimento das fibras (μm)	Comprimento dos elementos de vasos (μm)	Espessura da parede das fibras (μm)	Diâmetro dos vasos (μm)
NC	1037.0040 a	606.3362 a	2.9507 a	51.2122 a
C	945.4959 b	592.9453 a	3.1891 a	53.3908 a

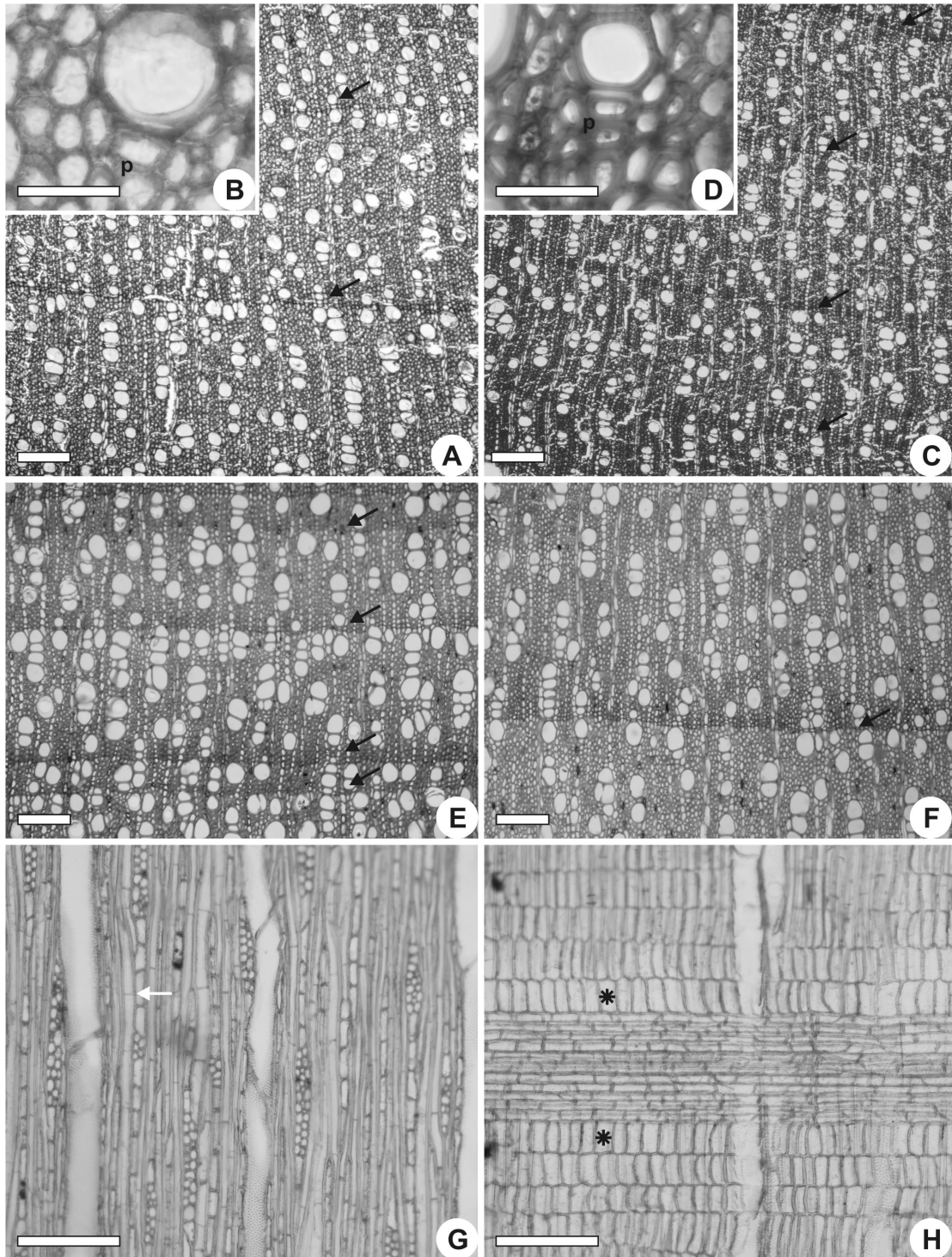


FIGURA 5. A-H. Xilema secundário de *Guettarda uruguensis*. A-F: seções transversais. A: Subamostra E da área não contaminada, observar menor proporção de vasos solitários, fibras com paredes mais finas e parênquima paratraqueal no detalhe (p) (B). C: Subamostra C da área contaminada, observar maior proporção de vasos solitários, fibras com paredes mais espessas e parênquima paratraqueal no detalhe (p) (D). E: Subamostra A da área contaminada, observar maior frequência dos vasos. F: Subamostra D da área contaminada, observar menor frequência dos vasos. G: Corte tangencial. Observar presença de fibras septadas (seta branca). H: Corte Radial. Observar presença de uma fileira de células eretas (*) contínuas com o parênquima axial. Setas pretas = Marcação da camada de crescimento. FIGURA 5. B e D barra = 50 μm . FIGURA 5 A, C, E-H barra = 200 μm .

S. terebinthifolia caracteriza-se por possuir camadas de crescimento pouco distintas demarcadas por espessamento da parede das fibras; porosidade difusa; vasos em arranjo radial; vasos na maioria múltiplos; placas de perfuração simples; pontoações intervasculares areoladas alternas; pontoações raio-vasculares alongadas. Fibras libriformes, septadas, de paredes delgadas a espessas e com presença de amido. Parênquima axial apotraqueal difuso e paratraqueal escasso. Parênquima radial, predominantemente, do tipo bisseriado, formado por camadas de células procumbentes, uma a duas fileiras marginais constituídas por células quadradas (FIGURA 6 D) e presença de cristais prismáticos nas células quadradas. Presença de compostos fenólicos no parênquima axial e nas células do raio (FIGURA 6 A-B).

Na análise qualitativa, *S. terebinthifolia* teve maior proporção de vasos em cachos nos indivíduos da área contaminada (TABELA 6, FIGURA 6 A-B). A espessura da parede das fibras foi fina na área contaminada (FIGURA 6 B) variando de fina à espessa na área não contaminada (FIGURA 6 A). Houve uma tendência do diâmetro dos vasos ser maior na área não contaminada do que na contaminada (FIGURA 6 A-B), perceptível em análise qualitativa e na análise estatística com significância de 7%.

TABELA 6. Agrupamento dos vasos em *Schinus terebinthifolia* em área contaminada com óleo mineral isolante (C) e não contaminada (NC).

	Vasos solitários (%)	Vasos geminados (%)	Vasos múltiplos radiais de 3 ou mais (%)	Vasos em cachos (%)	Média do nº de vasos por agrupamento
C	50,60	17,45	17,59	14,33	3-7,28
NC	54,66	18,68	16,72	9,92	3-6,24

Na comparação dos indivíduos de *S. terebinthifolia* da área contaminada com a não contaminada, a espessura da parede das fibras foi maior nos indivíduos da não contaminada (TABELA 7, FIGURA 6 A). Não houve variação anatômica entre as subamostras dos indivíduos da área contaminada.

TABELA 7. Valores médios da espessura da parede das fibras, diâmetro dos vasos e frequência dos vasos (subamostras de 4 em 4 mm), comprimento das fibras e dos elementos de vasos (subamostras de 2 em 2 mm) em *Schinus terebinthifolia* em área contaminada com óleo mineral isolante (C) e não contaminada (NC). Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si (teste de Tukey 0,05).

Espessura da parede das fibras µm	Diâmetro dos vasos µm	Frequência dos vasos (unidade)	Comprimento das fibras µm	Comprimento dos elementos de vasos µm
--------------------------------------	--------------------------	-----------------------------------	------------------------------	--

NC	2.8492 a	19.3337 a	43.1760 a	554.8481 a	327.9477 a
C	2.5548 b	15.2779 a	53.1573 a	558.8105 a	313.8253 a

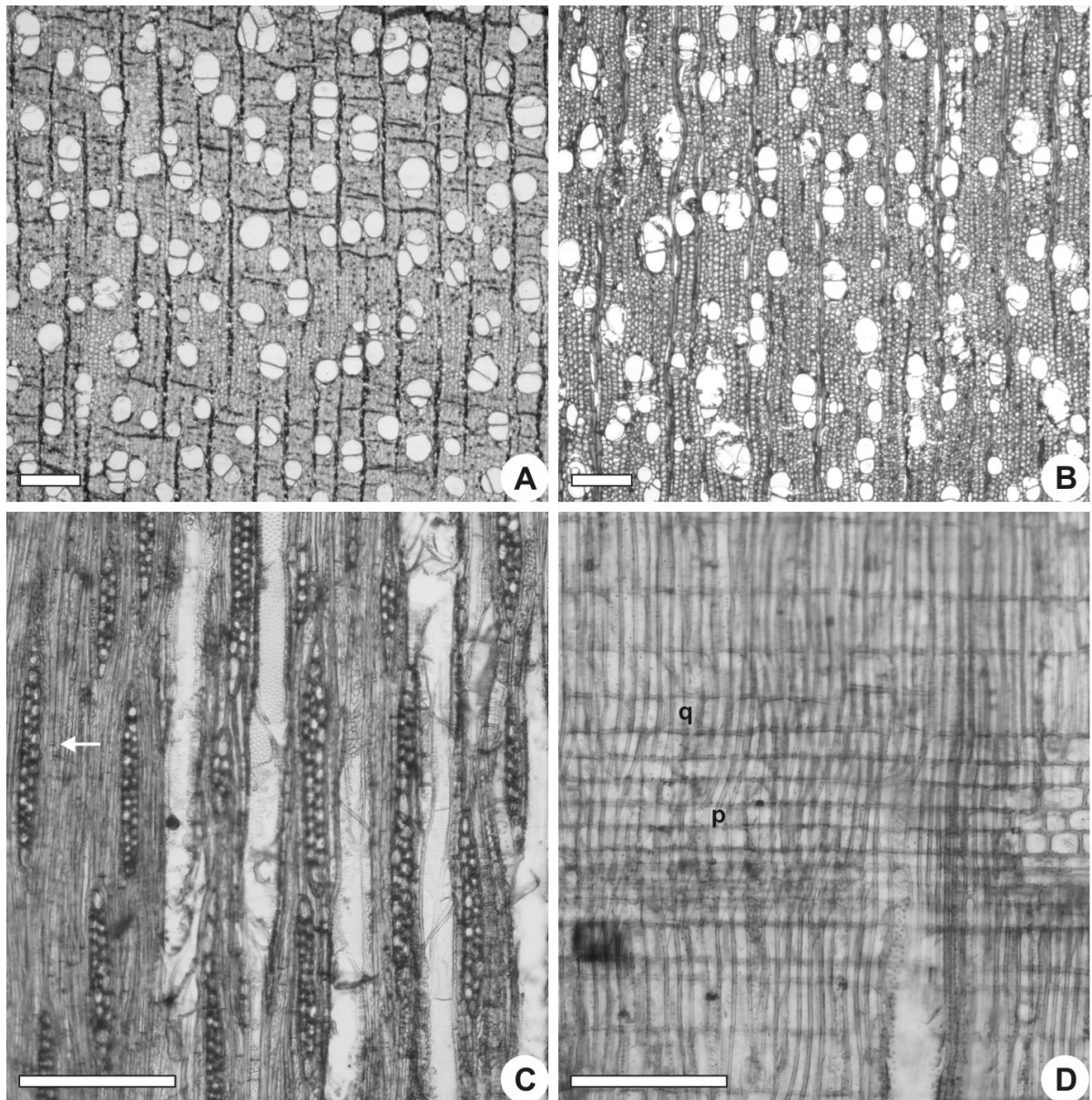


FIGURA 6. A-D. Xilema secundário de *Schinus terebinthifolia*. A-B. Cortes transversais. A: Subamostra C da área não contaminada, observar menor proporção de vasos em cachos, maior diâmetro dos vasos e maior espessura da parede das fibras. B: Subamostra D da área contaminada, observar maior proporção de vasos em cachos, menor diâmetro dos vasos e menor espessura da parede das fibras. C: Corte tangencial. Observar presença de fibras septadas (seta branca). D: Corte radial. Observar presença de células procumbentes (p) e quadradas (q). Barra = 200 μ m.

4 DISCUSSÃO

Nas áreas estudadas o solo apresentou pH CaCl₂, concentração de fósforo, matéria orgânica e a saturação por bases maiores na área não contaminada, enquanto que a concentração de argila foi maior na área contaminada. Os valores de pH CaCl₂ foram baixos em ambas as áreas, porém não são desfavoráveis ao crescimento das plantas (CQFS, 2004). Os valores de fósforo são baixos e não proporcionam um crescimento adequado para as plantas na área contaminada, e altos e adequados na área não contaminada (CQFS, 2004). A matéria orgânica, na área contaminada, possui concentração média e adequada, enquanto que na área não contaminada se encontra em alta concentração (CQFS, 2004). Os solos se equilibram, quanto à matéria orgânica e argila (LOPES & GUIDOLIN, 1989; CQFS, 2004). A saturação por bases é superior a 50% em ambas as áreas e indica solo fértil (CQFS, 2004). Os teores de alumínio, cálcio, magnésio, potássio, soma de bases, capacidade de troca de cátions e saturação de alumínio foram semelhantes e adequados entre as áreas (CQFS, 2004). Os solos de ambas as áreas, em 2010, são considerados limpos e com baixo teor de HTP.

A estrutura do xilema secundário do caule de *G. uruguensis* difere das características relatadas para a espécie por MARCHIORI (1986), com a diferença de que os vasos eram predominantemente solitários, as pontoações raiovasculares arredondadas e a ausência de parênquima axial. As camadas de crescimento bem marcadas em *G. uruguensis* é uma característica comum nas espécies da flora do Brasil (ALVES & ANGYALOSSY-ALFONSO, 2000) e podem estar relacionadas às condições ambientais (CARLQUIST, 1988) e a fenologia (REGO *et al.*, 2007), pois a espécie é semidecídua e perde 90% das folhas no mês de julho (ATHAYDE *et al.*, 2009).

S. terebinthifolia apresentou parênquima paratraqueal escasso e o parênquima radial, predominantemente, do tipo bisseriado, formado por camadas de células procumbentes, uma a duas fileiras marginais constituídas por células quadradas diferindo de TAVARES (1970) em parênquima paratraqueal escasso pouco distinto e o parênquima radial constituído por células procumbentes no centro e 1 a 2 fileiras de células marginais eretas.

Os efeitos dos HTP nas plantas ou no solo variam conforme os níveis do contaminante e o tempo de exposição à contaminação. As propriedades do solo são alteradas, tornando o solo hidrofóbico, com conseqüente redução da disponibilidade de água, nutrientes e oxigênio (DE JONG, 1980). Quando o solo é contaminado por hidrocarbonetos ou então, em processo de biorremediação, ocorre o aumento da atividade dos microrganismos e esses competem com as plantas pelos nutrientes disponíveis, com conseqüente redução na disponibilidade de nutrientes para as plantas (DE JONG, 1980; LI *et al.*, 1997; MERKL *et al.*, 2004). Os resultados da análise do solo biorremediado da área em estudo se apresentou com os menores teores de nutrientes em relação ao solo não contaminado, corroborando com as observações de LI *et al.* (1997) e DE JONG (1980). De acordo com alguns trabalhos (GOGOSZ *et al.*, 2010; NOGUEIRA *et al.*, 2011; OGBONNA *et al.*, 2007), os solos contaminados com HTP que foram submetidos à biorremediação diminuíram à toxicidade e favoreceram o crescimento e desenvolvimento das plantas. A biorremediação do solo proporcionou aumento na germinação das sementes de *Abelmoshus esculetus* (OGBONNA *et al.*, 2007), aumento da biomassa e altura das plântulas de *Campomanesia xanthocarpa* (GOGOSZ *et al.*, 2010) e do crescimento das plântulas de *Allophylus edulis* (NOGUEIRA *et al.*, 2011). Com isso, o processo de biorremediação pode ter auxiliado na recuperação do crescimento de *G. uruguensis* e *S. terebinthifolia*.

A maior frequência dos vasos foi observada em *G. uruguensis*, após a biorremediação e menor frequência no período contaminado, sem alteração no diâmetro. Esse resultado evidencia um aumento na condução de água, no solo biorremediado, indicando provável estresse hídrico no período contaminado. Para *S. terebinthifolia* não houve alteração na frequência dos vasos, no entanto, seu diâmetro aumentou na área não contaminada. Como demonstra a literatura, a maior frequência dos vasos de menor diâmetro ocorre nas espécies de ambientes xeromórficos (BAAS, 1973; BARAJAS-MORALES, 1985; CARLQUIST, 1988; LINDORF, 1994). Essa aclimatização, nas espécies que sofrem com o déficit hídrico, proporciona maior segurança ao transporte de água (BAAS *et al.*, 1983). Contrariando essa tendência, LUCHI (2004) registrou redução na frequência dos vasos, em *Croton urucurana*, em condição de estresse hídrico, porém com menor diâmetro dos vasos. O maior diâmetro dos vasos segundo, BAAS (1976); BAAS *et al.* (1983), CARLQUIST (1975), FAHN *et al.* (1986) e ZIMMERMANN (1983) contribui

para uma maior eficiência condutora, porém são menos seguros, e mais predispostos à formação de bolhas que ocasionam o bloqueio hídrico. Com isso, algumas espécies se adaptam para uma maior eficiência e segurança, como as espécies de ambientes méxicos que possuem vasos de maior diâmetro (BARAJAS-MORALES, 1985; BOSIO *et al.*, 2010; LUCHI, 2004) e as de ambientes xéricos que possuem vasos de menor diâmetro, proporcionando uma menor formação de embolias (BAAS *et al.*, 1983; CARLQUIST, 1988; FAHN *et al.*, 1986). Para *S. terebinthifolia*, a tendência de maior diâmetro dos vasos ocorreu na área não contaminada e pode estar relacionada às melhores condições de absorção de água, uma vez que o solo continha baixos níveis de HTP.

Quanto ao agrupamento dos vasos, os solitários, estão em maior quantidade, geralmente aliados à maior condição hídrica (BARAJAS-MORALES, 1985; BISSING, 1982; FAHN *et al.*, 1986; LINDORF, 1994; LUCHI, 2004; VILLAGRA & ROIG, 1997), enquanto que há uma tendência dos agrupamentos dos vasos ocorrerem em ambientes com menor condição hídrica (BARAJAS-MORALES, 1985; CARLQUIST, 1988; FAHN *et al.*, 1986; LINDORF, 1994). Uma maior proporção de vasos solitários ocorreu em *G. uruguensis* da área contaminada, resultado oposto ao que se esperava em um solo com restrição hídrica, como o contaminado com HTP. Por outro lado, em *S. terebinthifolia*, a maior proporção de vasos em cachos, ocorreu nos indivíduos da área contaminada, estando de acordo com o esperado para um solo que causaria dificuldades na absorção de água, uma vez que o agrupamento dos vasos oferece maior segurança na condução de água, evitando embolia (CARLQUIST, 1988). Pelos resultados, fica claro que as espécies responderam de forma diferente ao estresse hídrico provocado pela contaminação com OMI.

Para os indivíduos de *S. terebinthifolia* não houve alteração no comprimento das fibras. Nas amostras de *G. uruguensis*, o maior comprimento das fibras foi registrado nos indivíduos da área não contaminada. Em condições de maior teor de OMI no solo e também pela área contaminada ter sido biorremediada, os indivíduos de *G. uruguensis* podem ter tido maior dificuldade na absorção, tanto de água, quanto de nutrientes, uma vez que o solo contaminado possui menor disponibilidade de nutrientes, resultando em menor comprimento das fibras. Assim sendo, a menor disponibilidade de nutrientes, fósforo e matéria orgânica da área contaminada pode

estar interferindo no crescimento dos indivíduos de *G. uruguensis*, resultando em menor comprimento das fibras.

A menor disponibilidade hídrica no solo, também está associada à maior espessura da parede das fibras (ALVES & ANGYALOSSY-ALFONSO, 2002; BARAJAS-MORALES, 1985; FAHN *et al.*, 1986; LUCHI, 2004). A maior espessura da parede das fibras em ambiente contaminado também corrobora as indicações de BARAJAS-MORALES (1985), FAHN *et al.* (1986) e LUCHI (2004) para condição de estresse hídrico. A variação qualitativa da espessura da parede das fibras, com paredes mais espessas em *G. uruguensis* na área contaminada, confirma o esperado para um solo que causaria dificuldades na absorção de água; os indivíduos de *S. terebinthifolia*, da área contaminada, possuem fibras de paredes mais finas, contradizendo ao que se refere à condição hídrica, sendo provável que a modificação seja decorrente de outras alterações no ambiente ou essa espécie possui pouca plasticidade fenotípica.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As alterações estruturais do xilema secundário de *G. uruguensis* e *S. terebinthifolia* apontam para uma provável deficiência hídrica e nutricional no solo contaminado e um provável restabelecimento da condição hídrica após a biorremediação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

ALVES, E. S. & ANGYALOSSY-ALFONSO, V. Ecological trends in the wood anatomy of some Brazilian species. 1: Growth rings and vessels. **IAWA Journal**, v. 21, p. 3-30, 2000.

ALVES, E. S. & ANGYALOSSY-ALFONSO, V. Ecological trends in the wood anatomy of some Brazilian species. 2: axial parenchyma, rays and fibres. **IAWA Journal**, Holanda, v. 23, n. 4, p. 391-418, 2002.

ATHAYDE, E. A.; GIEHL, E. L. H.; BUDKE, J. C.; GESING, J. P. A. & EISINGER, S.M. Fenologia de espécies arbóreas em uma floresta ribeirinha em Santa Maria, sul do Brasil. **Rev. Bras. Biociênc.**, v. 7, p. 43-51, 2009.

BAAS, P. The wood anatomical range in *Ilex* (Aquifoliaceae) and its ecological and phylogenetic significance. **Blumea**, v. 21, p. 193-258, 1973.

BAAS, P. Some functional and adaptive aspects of vessel member morphology. **Leiden Bot. Ser.**, v. 3, p. 157-181, 1976.

BAAS, P.; WERKER, E. E. & FAHN, A. Some ecological trends in vessel characters. **IAWA J.**, v. 4, p. 141-159. 1983.

BAAS, P. & CARLQUIST, S. A comparison of the ecological wood anatomy of the floras of southern California and Israel. **IAWA Journal**, v. 6, p. 349-353, 1985.

BAEK, K. H.; KIM, H. S.; OH, H. M.; YOON, B. D.; KIM, J. & LEE, I. S. Effects of crude oil, oil components, and bioremediation on plant growth. **Journal Environmental Science and Health**, v. 39, p. 2465-2472, 2004.

BARAJAS-MORALES, J. Wood structural differences between trees of two tropical forests. **IAWA J.**, v. 6, p. 355-364, 1985.

BARDELI-DA-SILVA, M. Y. **Influência do solo contaminado com óleo diesel na germinação, crescimento e morfoanatomia de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs (Euphorbiaceae)**. 81p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Departamento de Botânica, UFPR, 2006.

BISSING, D. R. Variation in qualitative anatomical features of the xylem of selected dicotyledonous woods in relation to water availability. **Bull. Torrey Bot. Club**, v: 109, p. 371-384, 1982.

BONA, C. & SANTOS, G. O. Avaliação botânica do desempenho do processo de biorremediação aplicado na área de proteção permanente do Atuba. **Relatório Técnico Final**. Curitiba: LACTEC – UFPR, 2 p., 2008.

BONA, C.; SILVA, M. Y. B.; RESENDE, I. M.; SANTOS, G. O.; SOUZA, L. A.; INCKOT, R. C. Efeito do solo contaminado com óleo diesel na estrutura da raiz e da folha de plântulas de *Sebastiania commersoniana* (Euphorbiaceae) e *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae). **Acta Botanica Brasílica** (Impresso), v. 25, p. 277-285, 2011a.

BONA, C.; REZENDE, I. M.; SANTOS, G. O.; SOUZA, L. A. Effect of soil contaminated by diesel oil on the germination of seeds and the growth of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) seedlings. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, vol. 54, n. 6: p.1379-1387, 2011b.

BOSIO, F.; SOFFIATTI, P. & BOEGER, M. R. T. Ecological wood anatomy of *Miconia sellowiana* (Melastomataceae) in three vegetation types of Paraná state, Brazil. **IAWA Journal**, v. 31, n. 2, p. 179-190, 2010.

CARLQUIST, S. **Ecological strategies of xylem evolution**. Berkeley, Los Angeles: University of Califórnia Press, 259 p., 1975.

CARLQUIST, S. **Comparative wood anatomy: systematic, ecological and evolutionary aspects of dicotyledons wood**. Springer Verlag, 1988.

CECCANTINI, G. **Anatomia ecológica do lenho de espécies de cerrado e mata: *Casearia sylvestris* Sw. e *Machaerium villosum* Vog.** Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

CETESB. Projeto CETESB – GTZ. 6530 – **Lista Holandesa de valores de qualidade do solo e das águas subterrâneas** – Valores STI, 1999.

COPEL. **Biorremediação do Pólo de Atuba**. Disponível em: <http://www.copel.com/hpcopel/root/nivel2.jsp?endereco=%2Fhpcopel%2Froot%2Fpagcopel2.nsf%2F5d546c6fdeabc9a1032571000064b22e%2F372a773f882c5b82032574050053ac48>, 2008.

COSMO, N. L. **Anatomia ecológica e crescimento do lenho de *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith & Downs, em diferentes condições geomorfológicas e pedológicas da planície do rio Iguaçu-PR**. Curitiba, UFPR, 2008.

CQFS - Comissão de Química e Fertilidade do Solo - RS/SC. **Manual de adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 10. ed., 2004.

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

DENARDI, L. & MARCHIORI, J. N. C. Anatomia ecológica da madeira de *Blepharocalyx salicifolius* (H. B. K.) Berg. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 15, n. 2, p. 119-127, 2005.

DICKISON, W. C. **Integrative plant anatomy**. Horcand academy Press, San Diego, 2000.

FAHN, A.; WERKER, E. & BAAS, P. **Wood Anatomy and Identifications of trees and shrubs from Israel and Adjacent regions**. The Israel Academy of Sciences and Humanities, 1986.

FARIAS, V. DE; MARANHO, L. T.; VASCONCELOS, E. C.; CARVALHO, M. A. S. F.; LACERDA, L. G.; AZEVEDO, J. A. M.; PANDEY, A. & SOCCOL, C. R. Phytodegradation potential of *Erythrina crista-galli* L., Fabaceae, in petroleum-contaminated soil. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 157, p. 10-22, 2009.

FRANKLIN, G. L. 1945. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. **Nature**, p. 155: 51.

GOGOSZ, A. M.; BONA, C.; SANTOS, G. O. & BOTOSSO, P. C. Germination and initial growth of *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. (Myrtaceae), in petroleum-contaminated soil and bioremediated soil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, n. 4, p. 977-986, 2010.

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, T. C. & FREEDMAN, W. Effects of experimental crude oil spills on subarctic boreal vegetation near Norman Wells. N. W. T. Canada. **Canadian Journal of Botany**, v. 56, p. 2424-2433, 1978.

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

IAWA Committee. International Association of Wood Anatomists. IAWA list of microscopic features for hardwood identification. **IAWA J.**, v. 10, p 219-332, 1989.

INCKOT, R. C.; BONA, C.; SOUZA, L. A. & SANTOS, G. O. Anatomia das plântulas de *Mimosa pilulifera* (Leguminosae) crescendo em solo contaminado com petróleo e solo biorremediado. **Rodriguésia**, v. 59, n. 3, p. 513-524, 2008.

INCKOT, R. C.; SANTOS, G. O.; SOUZA, L. A. & BONA, C. Germination and development of *Mimosa pilulifera* in petroleum contaminated soil and biorremediated soli. **Flora (Jena)**, v. 206, p. 261-266, 2011.

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

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. 145, p. 68-74, 2007.

KRAUS, J. E. & ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Editora da Universidade Rural, Rio de Janeiro, 1997.

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

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**, v. 32, n. 2, p. 202-209, 1996.

LINDORF, H. Eco-anatomical wood features of species from a very dry tropical forest. **IAWA J.**, v. 15, p. 361-376, 1994.

LUCHI, A. E. Anatomia do lenho de *Croton urucurana* Baill. (Euphorbiaceae) de solos com diferentes níveis de umidade. **Rev. Bras. Bot.**, v. 27, p. 271-280, 2004.

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

MALALLAH, G.; AFZAL, M.; MURIN, G.; MURIN, A. & ABRAHAN, D. Genotoxicity of oil pollution of some species of Kuwaiti flora. **Biologia**, 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. **Environmental Pollution**, v. 24, n. 8, p. 919-924, 1998.

MARANHO, L. T.; DZIEDZIC, M.; MUNIZ, G. I. B.; KUNIYOSHI, Y. S. & GALVÃO, F. Effects of the pollution by petroleum on the tracheids along the stem of *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl., Podocarpaceae. **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, p. 263-269, 2009.

MARCATI, C. R., ANGYALOSSY-ALFONSO, V. & BENETATI, L. Anatomia comparada do lenho de *Copaifera langsdorfii* Desf. (Leguminosae-Caesalpinoideae) de floresta e cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, p. 311-320, 2001.

MARCHIORI, J. N. C. Estudo anatômico da madeira de veludinho, *Guettarda uruguensis* Cham. et Schlecht. **Ciên. e Nat.**, v. 8, p. 115-123, 1986.

MAYER, J. L. S.; BONA, C.; SANTOS, G. O. & KOEHLER, H. S. Efeito do solo contaminado com petróleo no crescimento e desenvolvimento de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg (Myrtaceae). In: VI Simpósio Nacional e Congresso Latino-americano de Recuperação de Áreas Degradadas. **Anais**, p. 299-307, 2005.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R. & INFANTE, C. Phytoremediation in the tropics - The Effect of Crude Oil on the Growth of Tropical Plants. **Bioremediation Journal**, Philadelphia, v. 8, n. 1, p. 177-184, 2004.

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

NOGUEIRA, L.; INCKOT, R. C.; SANTOS, G. O.; SOUZA, L. A. & BONA C. Fitotoxicidade do solo contaminado por petróleo e biorremediado em *Allophylus edulis*. **Rodriguésia**, v. 62: p. 459-466, 2011.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N. & MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1965.

OGBONNA, D. N.; IWEGBUE, C. M. A.; SOKARI, T. G. & AKOKO, I. O. Effect of bioremediation on the growth of Okro (*Abelmoshus esculetus*) in the Niger Delta soils. **Environmentalist**, v. 27, n. 2, p. 303-309, 2007.

OLIVEIRA, L. S.; BONA, C.; SANTOS, G. O. & KOEHLER, H. S. Crescimento de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) em solo contaminado com petróleo. **Acta Ambiental Catarinense**, v. 5, n. 1/2, p. 22-33, 2008.

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

PEDRON, F. A.; DALMOLIN, R. S. D.; AZEVEDO, A. C.; BOTELHO, M.R. & MENEZES, F.P. Levantamento e Classificação de Solos em Áreas Urbanas: Importância, Limitações e Aplicações. **Rev. Bras. Agroc.**, v 13, p. 147-151, 2007.

REGO, G. M.; NEGRELLE, R. R. B. & MORELLATO, L. P. C. **Fenologia**: ferramenta para conservação, melhoramento e manejo de recursos vegetais arbóreos. Embrapa Florestas, 2007.

REZENDE, I. M. **Efeito do solo contaminado por óleo diesel na germinação de sementes e morfoanatomia de plântulas e tirodendros de *Schinus terebinthifolia* Raddi (Anacardiaceae)**. 88 p. Dissertação (Mestrado em Botânica), Setor de Ciências Biológicas, UFPR, Curitiba, 2006.

SCHWEINGRUBER, F.H. **Wood structure and environment**. Berlin: Springer, 2007.

TAVARES, E. J. S. Anatomia do lenho de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Bol. Rec. Nat.**, v. 8, p. 195-199, 1970.

VILLAGRA, P. E. & ROIG, F. A. J. Wood structure of *Prosopis alata* and *P. argentina* growing under different edaphic conditions. **IAWA J.**, v. 18, p. 37-51, 1997.

WYSZKOWSKI, M.; WYSZKOWSKA, J. & ZOILKOWSKA, A. Effect of soil contamination with diesel oil on yellow lupine yield and macroelements contents. **Plant Soil Environmental**, v. 50, n. 5, p. 218-226, 2004.

ZIMMERMANN, M. H. **Xylem structure and the ascent of sap**. Springer, Berlin Heidelberg New York, 1983.

ANEXOS

ANEXO I.

IAWA Journal – Instructions for preparation of manuscripts

General instructions

Start with a concise and informative title, followed by the name(s) and address(es) of the authors. The summary should not exceed 200 words, followed by 4--8 *Key words* identifying the subject matter. Double-space manuscript throughout, including tables, figure captions, and literature citations. Leave at least 2.5 cm margin on all sides of the typed pages. Do **not** use proportional spacing or justified margins.

The order of the text normally should be: Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion (Acknowledgements), References. In special cases deviations from these subdivisions (major headings) are acceptable, and sometimes further subdivisions within main sections are desirable. In very brief communications there is no need for any subdivision.

Type major headings (e.g., Introduction) and subheadings on a separate line.

Cite each figure and table in the text, and as far as possible, cite them in numerical order.

Literature citations in the text should be as follows:

1. *One author*: Smith (1960) or (Smith 1960).
2. *Two authors*: Smith and Gomez (1990) or (Smith & Gomez 1990).
3. *Three or more authors*: Smith et al. (1990) or (Smith et al. 1990). But give all author names in the References.
4. *Multiple references* when within parentheses (Liu 1977; Smith 1989, 1990).

References

Citations should conform to the following format:

1. *For books, e.g.*: Hillis, W.E. 1987. Heartwood and tree exudates. Springer Verlag, Berlin.
2. *For chapters in a book, e.g.*: Esau, K. 1964. Structure and development of the bark in dicotyledons. In: M.H. Zimmermann (ed.), The formation of wood in forest trees: 37--50. Academic Press, New York.
3. *For journals, e.g.*: Bailey, I.W. & C.G. Nast. 1945. Morphology and relationships of *Trochodendron* and *Tetracentron*, 1. Stem, root, and leaf. *J. Arnold Arbor.* 26: 143--154.

Use italics in the references for scientific names. Write out the name(s) of author(s), i.e., do not replace author names with a long dash, when the author(s) is / are the same as in the immediate preceding citation(s). Use only a period, without a space, between the initial(s) of an author's name. Leave one space between the volume number with colon and page numbers in a journal article. Use double hyphens between page numbers, e.g., *IAWA Bull.* n.s. 10: 72--81.

Illustrations

Hard copies: these should be either black-and-white photographs printed on glossy paper or text-figures executed in India ink (not on transparent or tracing paper), or photographic reproductions thereof. Group photographs into plates, and mount carefully, leaving not more than about 1 mm space between the individual photographs. Leave at least 2 cm margins around the grouped photographs. On a printed Journal page the maximum dimensions for a plate are 120 x 190 mm, but authors are advised to allow space for captions at the bottom of the page.

Digital: For digital photographs a resolution of at least **300 dpi** should be used and preferably they should be saved in tiff format.

Colour photographs: For inserting one colour plate/photograph, extra costs of USD or EUR 450 have to be charged. For printing more than one colour plate in an article, please request price information from the IAWA office.

Magnifications should be indicated by a scale bar.

Figure captions

Please consult recent issues of the IAWA Journal. Use 'Fig.' for singular and plural in the general text and in captions. For grouped figures in a single plate, begin with a list of figures in that plate, and if appropriate, follow with an inclusive general description of those figures. For instance:

Fig. 1--4. Transverse sections of *Ulmus* species. -- 1: *Ulmus americana*. -- 2: *Ulmus tonkinensis*. -- 3: *Ulmus rubra*. -- Scale bars = 250 μ m.

Important note: Use two hyphens between individual captions and explanations of scale bars and explanations of symbols used to label the figures.

Submission

Submit three type-script copies, and the original and two copies of the illustrations. Copies should be of high quality, suitable for review purposes, and show all important details. In addition to the type-script copies, the manuscript should be submitted on diskette (3.5 inch HD), ZIP 100 or CD-ROM. **Very important:** Do **not** combine text and illustrations (photographs, drawings, graphs) in one file, but submit separate files. Tables should also be kept separate from the main text.

At least one of the authors should be a paid-up IAWA member. There are no page charges to authors, except for colour plates, minimum charge USD or EUR 450. There is a charge for reprints, cost determined by the length of the article.

Manuscripts may be submitted to either:

P. Baas, National Herbarium Nederland, Universiteit Leiden branch, P.O. Box 9514, 2300 RA Leiden, The Netherlands; FAX: 31-71-5273511 or 31-71-5273522
e-mail: baas@nhn.leidenuniv.nl

E.A. Wheeler, Department of Wood & Paper Science, Box 8005, North Carolina State University, Raleigh NC 27695-8005, USA; FAX: 1-919-513-3496
e-mail: xylem@unity.ncsu.edu

ANEXO II

Tabela All. 1: Quadrados médios da análise de variância dos caracteres anatômicos em *Guettarda uruguensis* em área contaminada com óleo mineral isolante e não contaminada. Comparando todas as subamostras nos 2 cm. * significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste F. ^{ns} não significativo. Df = graus de liberdade.

	Df	Espessura da parede das fibras	Diâmetro dos vasos	Frequência dos vasos	Df	Comprimento das fibras	Comprimento dos vasos
Áreas	1	0.71 ^{ns}	59.33 ^{ns}	3200.53*	1	209343.34*	4482.89 ^{ns}
Resíduo	8	0.32	142.40	359.34	8	19319.88	9572.04
Subamostras entre as áreas	4	0.05 ^{ns}	24.21 ^{ns}	164.08 ^{ns}	9	7205.10 ^{ns}	1955.22 ^{ns}
Subamostras do contaminado	4	0.04 ^{ns}	34.82 ^{ns}	309.85*	9	4285.81 ^{ns}	1555.40 ^{ns}
Resíduo	32	0.08	32.94	90.60	72	13476.40	2396.21

Tabela All. 2: Quadrados médios da análise de variância para os caracteres anatômicos observados em *Schinus terebinthifolia* em área contaminada com óleo mineral isolante e não contaminada. Comparando todas as subamostras nos 2 cm. * significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste F. ^{ns} não significativo. Df = graus de liberdade.

	Df	Espessura da parede das fibra	Diâmetro dos vasos	Frequência dos vasos	Df	Comprimento das fibras	Comprimento dos vasos
Áreas	1	1.08*	205.62 ^{ns}	1245.34 ^{ns}	1	392.51 ^{ns}	4986.02 ^{ns}
Resíduo	8	0.16	47.86	1017.53	8	18669.44	5495.89
Subamostras das áreas	4	0.02 ^{ns}	1.35 ^{ns}	281.44 ^{ns}	9	1700.28 ^{ns}	893.63 ^{ns}
Subamostras do contaminado	4	0.06 ^{ns}	4.42 ^{ns}	113.54 ^{ns}	9	730.87 ^{ns}	541.46 ^{ns}
Resíduo	32	0.11	3.76	177.13	72	2159.00	594.16