

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA  
BIODIVERSIDADE**

**Espécies arbóreas de manguezais como potenciais fitorremediadoras de hidrocarbonetos provenientes de derrames de petróleo**

**Orientador/e-mail: Marcelo Schramm Mielke/ msmielke@uesc.br**

**Coorientador/e-mail: Ândrea Carla Dalmolin/ andreacarlad@gmail.com**

**Nome do Candidato/e-mail: Carolina Barreto Teles**

**Nível/Ano de ingresso: Doutorado/2020**

**Ilhéus 20/01/2021**

## RESUMO

A contaminação de um ambiente por compostos químicos pode ocorrer pelo despejo ou por derrame acidental. Atualmente o petróleo e seus derivados são contaminantes expressivos em ambientes marinhos. Uma vez derramado na água o petróleo cru libera hidrocarbonetos e outros compostos que podem causar danos irreversíveis para ecossistemas como os manguezais. Técnicas de remediação podem promover parcialmente a descontaminação de uma área, ou até mesmo isolar o material contaminado de forma a evitar a dispersão desses poluentes. A fitorremediação é reconhecida como uma alternativa eficaz para absorção e degradação de compostos liberados pelo petróleo. Assim, o emprego de fitorremediadores consiste em uma medida importante para tentar reverter as consequências de desastres, como o derramamento de óleo cru, que ocorreu a partir do segundo semestre de 2019 na costa do Nordeste brasileiro. Desta forma, o presente trabalho terá como objetivo avaliar os efeitos de poluentes originários do petróleo em áreas de manguezais, bem como o potencial de espécies arbóreas de mangue para fitorremediar o petróleo cru e derivados. Para tanto, a tese contará com três capítulos assim estruturados: (1) revisão cienciométrica com o intuito de saber as lacunas de conhecimento no que diz respeito a pesquisas sobre poluição nos manguezais em uma escala global; (2) avaliação do potencial fitorremediador de espécies arbóreas de mangue no estado da Bahia, Brasil; (3) descrição dos efeitos desses contaminantes para as plantas através de análises da fisiologia e anatomia vegetal de propágulos cultivados em casa de vegetação.

**Palavras-chaves:** Anatomia Vegetal, bioacumulação, derramamento de óleo cru, desastre ambiental, poluição marinha.

## INTRODUÇÃO

A contaminação por compostos químicos pode ocorrer pela disposição ou derrame acidental, e resíduos provenientes de atividades agrícolas, industriais, domésticas ou extrativistas, produzindo impactos desastrosos e limitando o uso dos ambientes contaminados (MARQUES et al. 2010). O petróleo, exemplo de contaminante químico, é um óleo de origem fóssil formado em rochas sedimentares em áreas marítimas ou terrestres (PETROBRAS, 2019). Nos últimos dois anos a *International Taker Owers Pollution Federation* (ITOPF), constatou e atendeu 32 incidentes de derramamento de petróleo no mundo, além disso, 5.202 containers contendo petróleo e/ou seus derivados perdidos nos oceanos foram resgatados (ITOPF 2019). Dentre esses incidentes está o que ocorreu na segunda metade do ano de 2019 no nordeste do Brasil.

No final de agosto até o mês de dezembro do ano de 2019, a costa do Nordeste Brasileiro recebeu toneladas de petróleo cru, e relatos mostram que no mês de junho de 2020 essas manchas voltaram a ocorrer (LOURENÇO, et al, 2020). Composto altamente nocivo à saúde humana bem como à fauna e flora locais (MAGRIS, et al, 2020). Estratégias de coleta manual das manchas de óleo foram feitas de forma incansável por voluntários e agentes do governo, porém existem micro fragmentos e uma parte solúvel do óleo que podem se

depositar no solo das praias e dos manguezais podendo causar danos a longo prazo.

Uma vez derramado na água, o petróleo cru libera hidrocarbonetos e outros compostos que flutuam pela diferença de densidade impedido processos naturais do ambiente como a entrada de luz e fotossíntese. Derivados do petróleo bruto podem solubilizar afetando direta ou indiretamente várias espécies presentes no ambiente, gerando uma ameaça real à saúde pública, bem como podendo causar a extinção de espécies nas regiões afetadas (de MESA et al. 2006). Quando o derramamento de petróleo ocorre em ambiente marinho, os manguezais são ecossistemas potencialmente afetados.

Ecossistemas litorâneos, os manguezais localizam-se em áreas relativamente abrigadas como baías, estuários e lagunas, e por ocorrerem em terrenos baixos estão sujeitos a ação das marés (IBGE, 2019). A vegetação arbórea encontrada nesses ecossistemas possui raízes adventícias irradiantes do centro do tronco, firmando-os no sedimento lodoso característico dessas formações. Os manguezais possuem formações vegetacionais densas, mas de baixa riqueza arbórea, sendo quatro as espécies que caracterizam os manguezais brasileiros: *Rhizophora mangle* L., *Avicennia germinans* (L.) L., *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm. ex Moldenke, *Laguncularia racemosa* (L.) C.F. Gaertn. (RIZZINI, 1997). Contrastante ao baixo número de espécies vegetais, manguezais são consideradas importantes para vida marinha por abrigarem e serem berçários naturais para várias espécies da fauna (NAGELKERKEN et al. 2008). Toda a biodiversidade associada a essa fisionomia vegetal está exposta à chegada de poluentes, seja por via terrestre ou marítima, e assim sofrem diretamente os impactos dessas substâncias (SANDILYAN E KATHIRESAN, 2012).

No entanto, existem técnicas para mitigar esses impactos. A biorremediação é caracterizada pela utilização de organismos vivos e seus derivados para degradar ou isolar compostos poluentes em um determinado ambiente (VAN DILLEWYN et al. 2009), sendo a fitorremediação uma das formas mais proeminentes. Esta técnica utiliza plantas e comunidades microbianas associadas à sua rizosfera, para degradar, isolar ou imobilizar poluentes do solo e das águas, buscando mitigar os impactos ao meio ambiente (HUANG et al. 2005, TAVARES, OLIVEIRA & SALGADO, 2013).

Espécies vegetais presentes na vegetação de manguezais podem atuar como eficientes fitorremediadoras e, por serem tolerantes a salinidade, são consideradas mais adequadas para a remediação de poluentes (e.g. metais pesados) nestes ambientes influenciados pela salinidade oceânica (ZAIER et al. 2010). Já é comprovada a eficiência das espécies de mangue como fitorremediadoras. Estudos apontam que *Rhizophora mangle* e *Avicennia schaueriana* em degradar até 87% dos hidrocarbonetos provenientes do petróleo no solo de manguezais. Essa degradação pode ocorrer devido associação com fungos micorrízicos e, até mesmo, devido a produção de fitoquelantes (HALL, 2002, MOREIRA, et al. 2011, 2013). Porém existem lacunas quanto à contaminação por petróleo cru e seus efeitos na flora de manguezais. Diante disso a presente pesquisa contará com três capítulos, a fim de responder as seguintes perguntas: (a) O que se sabe sobre contaminação por compostos petroquímicos nos manguezais em uma escala mundial? (b) Todas as espécies de mangue da Bahia são potenciais fitorremediadoras na contaminação por petróleo cru? (c) Quais os efeitos dos hidrocarbonetos na fisiologia e anatomia das espécies vegetais?

## OBJETIVOS

### *Objetivo geral:*

Avaliar os efeitos de poluentes originários do petróleo em áreas de manguezais, bem como o potencial de espécies arbóreas de mangue para fitorremediar o petróleo cru e derivados.

### *Objetivos específicos:*

- Realizar uma revisão cienciométrica, em escala global, sobre os efeitos dos contaminantes de origem petrolífera em manguezais, identificando as principais lacunas de conhecimento e pesquisas sobre esse tema.
- Testar em ambiente de casa de vegetação a capacidade de espécies exclusivas de manguezais como potenciais fitorremediadoras com a finalidade de reverter à contaminação existente;
- Analisar os efeitos de hidrocarbonetos e demais componentes do petróleo na fisiologia e anatomia foliar das espécies exclusivas de manguezais do estado da Bahia;

## **METODOLOGIA**

A metodologia a seguir está estruturada em três capítulos de pesquisa que compõem o projeto de tese.

### ***1) Revisão cienciométrica: O que se sabe sobre o efeito da contaminação de petróleo em manguezais no mundo? E o que falta saber?***

#### *1.1 ) Coleta de dados:*

Realizaremos uma busca por artigos reunidos nos bancos de dados das plataformas Web of Science e Scopus com as seguintes palavras chaves: “*Mangrove\**” OR “*Salt Marshes*” AND “*oil pollution*” OR “*marine oil pollution*” OR “*pollution by hydrocarbons*” OR “*oil*” OR “*petroleum*”. Serão utilizados artigos publicados entre os anos de 2000 até 2020.

Após a coleta dos artigos nas plataformas, utilizaremos o pacote *Bibliometrix* para a obtenção do *doi* (*Digital Object Identifier*), nomes dos autores, título da publicação, revista, ano de publicação, e país em que cada artigo foi publicado. Utilizaremos o *Bibliometrix* para a retirada dos artigos duplicados (encontrados em ambas as plataformas acima descritas). Uma vez retirados os artigos duplicados, iniciaremos o processo de leitura dos resumos para nos certificarmos de que as informações presentes nos mesmos sejam de interesse da pesquisa. A partir dessa etapa, selecionaremos os artigos conforme a sua adequação à pergunta central do tema investigado. Os artigos selecionados serão lidos para a coleta das seguintes informações: Localização (coordenadas) da área de estudo, tipo de poluentes, efeito

dos poluentes, organismos modelos estudados. Para melhor definição de fatores de inclusão exclusão de artigos será adotada a montagem usaremos o guia de recomendação PRISMA.

## 1.2 ) *Análise de dados:*

Após a coleta de dados será utilizado o *Bibliometrix* para ter uma análise clara dos países que mais publicam com base nas palavras chaves usadas, em seguida usando o *software QGIS* será elaborado um mapa de calor a nível mundial relacionando a ocorrência de manguezais e a frequência relativa de estudos para cada tipo de poluente estudado. Relacionaremos também em uma escala temporal, a ocorrência de estudos por país, em relação ao tamanho das áreas de manguezais que possuem. Quantificaremos a proporção de estudos por agente contaminante e espécies modelo impactadas, avaliando assim possíveis tendências na pesquisa com poluentes em manguezais e apontando regiões e grupos ainda carentes de investigação. Avaliaremos ainda a frequência relativa de estudos em relação ao tipo de metodologia utilizada (e.g. ensaios fisiológicos, anatomia vegetal, estudos de densidade populacional entre outros) para mensurar a ação dos poluentes investigados, e o número de espécies modelos utilizadas.

## 2) *Potencial fitorremediador de espécies arbóreas de manguezais da Bahia*

### 2.1) *Análises de solo:*

As coletas serão realizadas em períodos em que a maré estará baixa e assim possibilitará a retirada do material com maior eficiência. Serão demarcadas aleatoriamente 30 parcelas de 5 x 5 m para coletas de três amostras de solo por parcela, para formação de uma amostra composta (pool). Amostras de sedimentos serão coletadas de 0 a 30 cm de profundidade, aleatoriamente, em três locais contaminados e em três locais isentos da contaminação. Após as coletas os materiais serão armazenados em sacos plásticos e alocados em câmaras frias à 4°C. Em seguida as amostras serão secas e maceradas com um moinho de martelos de solo, para então serem peneiradas em uma peneira granulométrica com abertura de malha de 2mm para garantir sua uniformidade.

As amostras coletadas serão enviadas para o laboratório LAPETRO da Universidade Federal Bahia onde, através de análises específicas serão avaliadas a presença de metais pesados e suas porcentagens bem como a ocorrência de hidrocarbonetos aromáticos. Saber a proporção de hidrocarbonetos aromáticos por grama de solo é de grande importância para determinar a dosagem a ser utilizada nos ensaios experimentais deste projeto.

### 2.2) *Análise de potencial fitorremediador:*

Os propágulos das espécies; *Rizophora mangle*, *Avicennia germinans*, *Avicennia schaueriana* e *Laguncularia racemosa*, serão coletados em locais aleatórios ao longo dos manguezais da costa do estado da Bahia; no total serão 50 propágulos de cada espécie, que

serão plantados diretamente em vasos de plástico com 24 cm de diâmetro x 21 cm de altura, dispondo um propágulo por vaso. O substrato utilizado será uma mistura de areia, solo de mangue e composto orgânico (respectivamente 1: 2: 1 em volume). Todas as plantas serão regadas diariamente e uma vez por semana a rega será realizada com 100 ml água do mar. Após o estabelecimento dos propágulos, o experimento seguirá com 10 repetições de cada tratamento (controle, óleo queimado, óleo cru) para as 4 espécies. Para o tratamento do experimento com contaminante, no substrato das plantas, de 12 vasos, serão acrescentados, 200 ml do óleo cru encontrado nas praias do Nordeste brasileiro e outros 12 vasos, 200 ml de óleo lubrificante de embarcação náutica queimado. Retiraremos uma amostra de solo no primeiro dia de experimento e outra após 15 dias para comparação da quantidade de contaminantes entre as mesmas. Para a análise da porcentagem de contaminantes, essas amostras também serão enviadas para o LAPETRO.

O potencial das plantas em extrair os compostos do solo será avaliado a partir do protocolo utilizado por Lotfinasabasl et al (2013), onde a planta será dividida em parte aérea e raiz e passará por um processo de secagem. Com as partes separadas e secas, elas serão maceradas, e adicionado sulfato anídrico de sódio e passar por um pulso sônico específico e em seguida por um balão volumétrico para que o que foi decantado possa ser analisado, para maior precisão será adicionado sílica, assim ao final da análise só restará hidrocarbonetos de origem petrolífera na amostra; por fim esse material será pesado gerando o fator TF, onde  $TF = \text{concentração de hidrocarbonetos das folhas} / \text{concentração de hidrocarboneto da raiz}$ . Dessa forma saberemos o potencial de mobilidade do hidrocarboneto da raiz para a parte aérea das mudas. Por fim o potencial total das plantas em extrair os hidrocarbonetos do solo será avaliado pelo coeficiente de fitoextração ou fator de transparência t, por meio da equação:  $t = \text{hidrocarbonetos totais das plantas} / \text{compostos totais do solo}$ , valor esse que será dado através da análise das amostras retiradas do experimento citado acima. Quanto maior esse fator, maior a absorção do contaminante. A fim de se testar a significância dos resultados encontrados, serão realizados testes estatísticos para avaliar a influência dos compostos para as variáveis acima apresentadas. Todas as análises serão realizadas no *software R*, observando-se o nível de significância de 0,05.

### 2.3) *Análise de dados:*

As análises comparativas serão realizadas através um teste de ANOVA, porém, a priori, será preciso analisar os pressupostos para ter certeza que cabe aos dados fazer determinado teste, caso contrário será realizada uma análise não paramétrica.

## **3) *Efeitos dos hidrocarbonetos na fisiologia e anatomia de espécies vegetais de manguezais na Bahia***

### 3.1) *Avaliação do crescimento:*

A partir da coleta realizada para o experimento acima (capítulo 2) serão selecionadas 10 mudas de cada espécie (*R. mangle*, *A. germinans*, *A. schaueriana* e *L. racemosa*) dentre as 6 mudas que não foram utilizadas previamente. Cada muda selecionada terá seu crescimento acompanhado por mais 45 dias, a serem contados a partir dos 15 dias iniciais de

estabelecimento dos propágulos, perfazendo um total de 60 dias de acompanhamento. Depois do tempo de acompanhamento, as mudas plantadas serão coletadas e analisadas nas seguintes variáveis: Área foliar (AF), Comprimento da raiz (CR), Comprimento de parte aérea (CA), Biomassa radicular (BR), Biomassa aérea (BA).

### 3.2. Fotossíntese:

Além disso será analisada a capacidade fotossintética, um medidor portátil de fotossíntese modelo Li-6400 (Li-Cor, EUA), equipado com uma fonte de luz artificial 6400-02B RedBlue e o medidor portátil SPAD-502 (Minolta Inc., Osaka, Japão) para medir índice de clorofila (VIDAL, et al, 2019).

### 3.2) Análise de dados:

As análises comparativas entre controle e os tratamentos será realizada um teste de ANOVA, seguindo os pressupostos da análise, será realizado também um teste post-hoc, para saber a similaridade entre os tratamentos, caso os dados não atendam os pressupostos serão realizadas análises não paramétricas.

### 3.3) Análise histológica:

Folhas, caules e raízes serão coletados de 20 indivíduos ( 2 de cada tratamento + 4 controle) escolhido aleatoriamente após os 60 dias. O total de amostras será utilizado para comparação de caracteres histológicos da raiz, caule e folha.

O material dos 8 indivíduos de cada espécie (*R. mangle*, *A. germinans*, *A. schaueriana* e *L. racemosa*) serão fixadas em FAA (formalina, ácido acético, álcool etílico 50%) por 24 horas (JOHANSEN, 1940) e FNT (formalina neutra tamponada; tampão fosfato, formalina) por 48 horas (LILLIE 1948, CLARK 1973), e levados para o Centro de Microscopia Eletrônica (CME), localizado na Universidade Estadual de Santa Cruz. O material será submetido a dessecação a vácuo, posteriormente conservado em álcool etílico a 70%. As amostras serão desidratadas através de uma série butílica terciária, em seguida, incluídas em parafina para os estudos histológicos (JOHANSEN, 1940). As secções transversais serão obtidas com auxílio de micrótomo rotativo (Model RM2245, Leica Microsystems), com espessuras variável (14 - 18 µm), depois coradas com safranina alcoólica 1.5% e azul de astra aquoso 1% (GERLARCH, 1969). A fotomicroscopia será realizada com Olympus BX51 e câmara digital Olympus A330. As imagens provenientes de fotomicrografias serão digitalizadas no Software CorelDRAW X3 e as escalas de figuras com projeção de lâmina micrométrica fotografada/digitalizada no Software Adobe Photoshop 9.0.

Após o processamento, serão comparadas as lâminas do material controle e dos tratamentos quanto; a estrutura e tamanho dos vasos condutores, tanto nas raízes, caule e folhas, estrutura e o tamanho dos tecidos de preenchimentos das três partes estudadas na planta, bem como a presença de deformidades ou o aparecimento de estruturas que indiquem defesa nas plantas (e.g. drusas, ou cristais) (GARCIA, et.al, 2017).

## IMPACTOS DO ESTUDO PARA A CONSERVAÇÃO

A comprovação da capacidade de espécies arbóreas de manguezais em alojar em seus tecidos substâncias poluentes no ambiente marinho, evidenciará mais um serviço ecossistêmico desempenhado por essas espécies, já reconhecidas como fonte de alimento, abrigo, sequestradoras de carbono azul e importante edificador das paisagens dos manguezais.

Assim, ressaltaremos mais uma função ecossistêmica através da sua atuação como fitorremediador e componente biótico mitigador de impactos gerados por materiais contaminantes. Esses resultados poderão ser utilizados em estratégias de sensibilização da sociedade para a conservação desse ecossistema ao longo da costa do Estado da Bahia ou até mesmo do Brasil. O conhecimento aqui levantado auxiliará na conservação desses ambientes costeiros, ainda mais no cenário atual, onde na 135ª Reunião Ordinária da Plenária do CONAMA, foi decidido extinguir a lei de que protegia Manguezais e Restingas. Cabe ressaltar que para além de sua notória importância ecológica como ecossistema, os manguezais são explorados economicamente por populações tradicionais (e.g marisqueiras) que utilizam de seus recursos como fonte de subsistência, e, portanto, dependem desses ecossistemas para seu sustento.

## REFERÊNCIAS

CANTAGALLO, Camila; MILANELLI, JOÃO CARLOS C.; DIAS-BRITO, DIMAS. Limpeza de ambientes costeiros brasileiros contaminados por petróleo: uma revisão. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 2, n. 1, p. 1-12, 2007.

DE MESA, Joaquín Benavides López et al. Bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. **Nova**, v. 4, n. 5, p. 82-90, 2006.

GERLACH, D. Botanische mikrotechnik. Stuttgart: Thieme Verlag, 311 p, 1984.

HUANG, Xiao-Dong et al. A multi-process phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (TPHs) from soils. **Microchemical Journal**, v. 81, n. 1, p. 139-147, 2005.

IBGE, disponível em:  
<https://cnae.ibge.gov.br/en/component/content/article.html?catid=0&id=1553&Itemid=616>  
0 acessado em: novembro de 2019.

JOHANSEN, D. A. Plant microtechnique. New York: Mc Grall-Hill, 523p, 1940.

LILLIE, R. D. Histopathologic technic and practical histochemistry. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 715 p, 1965.



LOURENÇO, Rafael André et al. Mysterious oil spill along Brazil's northeast and southeast seaboard (2019–2020): Trying to find answers and filling data gaps. **Marine Pollution Bulletin**, v. 156, p. 111219, 2020.

LOTFINASABASL, Sakineh; GUNALE, V. R.; RAJURKAR, N. S. Petroleum hydrocarbons pollution in soil and its bioaccumulation in mangrove species, *Avicennia marina* from Alibaug mangrove ecosystem, Maharashtra, India. **Int J Adv Res Tech**, v. 2, n. 2, p. 1-7, 2013.

MAGRIS, Rafael Almeida; GIARRIZZO, Tommaso. Mysterious oil spill in the Atlantic Ocean threatens marine biodiversity and local people in Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 153, p. 110961, 2020.

MARQUES, Marcia; AGUIAR, Christiane Rosas Chafim; DA SILVA, Jonatas José Luiz Soares. Desafios técnicos e barreiras sociais, econômicas e regulatórias na fitorremediação de solos contaminados. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 35, n. 1, p. 1-11, 2011.

MOREIRA, Icaro TA et al. Phytoremediation using *Rizophora mangle* L. in mangrove sediments contaminated by persistent total petroleum hydrocarbons (TPH's). **Microchemical Journal**, v. 99, n. 2, p. 376-382, 2011.

MOREIRA, Icaro TA et al. Phytoremediation in mangrove sediments impacted by persistent total petroleum hydrocarbons (TPH's) using *Avicennia schaueriana*. **Marine pollution bulletin**, v. 67, n. 1-2, p. 130-136, 2013.

NAGELKERKEN, I. S. J. M. et al. The habitat function of mangroves for terrestrial and marine fauna: a review. **Aquatic botany**, v. 89, n. 2, p. 155-185, 2008.

ITOPF, disponível em: <https://www.itopf.org/knowledge-resources/documents-guides/document/ocean-orbit/>, acessado em: novembro de 2019.

PETROBRAS, disponível em: <http://www.petrobras.com.br/pt/nossas-atividades/areas-de-atuacao/exploracao-e-producao-de-petroleo-e-gas/>, acessado em novembro, 2019.

QU, R. L. et al. Lead uptake by roots of four turfgrass species in hydroponic cultures. **HortScience**, v. 38, n. 4, p. 623-626, 2003.

RIZZINI C.T., Tratado de fitogeografia do Brasil: Aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos, ed. **Âmbito Cultural**, Rio de Janeiro, 1992

SANDILYAN, S.; KATHIRESAN, K. Mangrove conservation: a global perspective. **Biodiversity and Conservation**, v. 21, n. 14, p. 3523-3542, 2012.

TAVARES, SR de L.; OLIVEIRA, SA de; SALGADO, Carla Maciel. Avaliação de espécies vegetais na fitorremediação de solos contaminados por metais pesados. **Holos**, v. 5, p. 80-97, 2013.

VAN DILLEWIJN, Pieter et al. Bioremediation, a broad perspective. **Microbial biotechnology**, v. 2, n. 2, p. 125, 2009.

VIDAL, Daniela Baldez et al. Photosynthesis and growth of copaiba seedlings subjected to soil flooding. **Floresta e Ambiente**, v. 26, n. 1, 2019.

ZAIER, Hanen et al. Comparative study of Pb-phytoextraction potential in *Sesuvium portulacastrum* and *Brassica juncea*: tolerance and accumulation. **Journal of hazardous materials**, v. 183, n. 1-3, p. 609-615, 2010.