

MODIFICAÇÕES ANATÔMICAS EM PLANTAS DE TREVO VERMELHO INDUZIDAS POR HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO

TARAUÉL RODRIGUES LOPES¹; JOSIANE CARLA ARGENTA¹; FERNANDA REOLON TONEL²; CAROLINE LEIVAS de MORAES⁴; PATRÍCIA MARINI²; JULIANA APARECIDA FERNANDO²; DARIO MUNT de MORAES²

¹Universidade Federal de Pelotas, UFPel, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) - tarauel@gmail.com; josiane_argenta@yahoo.com.br

²UFPel, Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (PPGFV) - fernandareolon@yahoo.com.br; marinipati@gmail.com; juli_fernando@yahoo.com.br; moraesdm@ufpel.edu.br

³UFPel, FAEM, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, caroline.moraes@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O petróleo é um combustível fóssil de significativa importância para o desenvolvimento da economia mundial. Porém, pode representar um problema ambiental relevante, devido à sua frequente introdução no meio ambiente, não apenas sob a forma de petróleo, como também pela larga utilização industrial de seus derivados (AGUIAR et al., 2012).

Nos últimos anos, inúmeros derramamentos de derivados de petróleo foram registrados em solos brasileiros, o que tem motivado o desenvolvimento de novas técnicas que visam, principalmente, a descontaminação dessas matrizes, objetivando reduzir seus efeitos sobre o ecossistema. Entre esses compostos, encontra-se o óleo diesel, que é constituído por uma mistura complexa de parafina, alcenos cíclicos e compostos aromáticos, sendo geralmente mais tóxico para as plantas do que o petróleo bruto, devido aos seus altos teores de hidrocarbonetos (CHANDRAN; DAS, 2011).

Dentre as tecnologias utilizadas para a remediação de áreas contaminadas, está a técnica conhecida como fitorremediação, a qual é considerada uma tecnologia emergente com grande potencial para a limpeza eficaz e barata de uma larga escala de poluentes orgânicos e inorgânicos (ANDRADE et al., 2010). Assim, o conhecimento da forma como esses poluentes influenciam o desenvolvimento das plantas e o limite de tolerância das mesmas torna-se essencial em qualquer processo de recuperação de áreas contaminadas.

Nesse sentido, o presente trabalho objetivou verificar as modificações na anatomia e no crescimento de plantas de trevo vermelho, decorrentes da contaminação por óleo diesel, como forma de determinar sua possível capacidade fitorremediadora.

2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Foram utilizados vinte e quatro vasos de 4 L, para cada tratamento (0,0; 0,5; 1,0 e 1,5 % (v/v) de óleo diesel), aos quais foram adicionados substrato comercial e areia na proporção de 1:1 e semeadas cinco sementes de *Trifolium pratense* L., por vaso. As coletas para análises dos parâmetros de crescimento foram realizadas a cada 14 dias, a partir da emergência, durante 112 dias. As análises anatômicas foram efetuadas aos 30 dias após a emergência (DAE).

A massa seca total foi determinada gravimetricamente após secagem das plantas em estufa a $70 \pm 1^\circ\text{C}$ até massa constante e expressa em mg planta^{-1} . A área foliar foi obtida por medidor de área foliar da marca Li-Cor 3000 e os resultados expressos em $\text{mm}^2 \text{planta}^{-1}$.

Para as análises anatômicas, as amostras foliares e radiculares foram fixadas em Karnovsky (KARNOVSKY, 1965), desidratadas em série etílica, infiltradas em resina plástica (Leica Historessin®) e seccionadas a $5 \mu\text{m}$ de espessura em micrótomo rotativo (ANCAP, modelo 297). As seções foram montadas em lâminas de vidro e, posteriormente, coradas com azul de toluidina e montadas em resina sintética “Entellan” (Merck®). As imagens foram capturadas com câmera digital Olympus U-PMTVC, modelo 42 acoplada ao microscópio óptico Olympus BX1.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados relativos às variáveis mensuradas foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com posterior regressão polinomial.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A massa seca total e área foliar das plantas de trevo velho apresentaram aumento significativo, ao longo dos 112 dias DAE (Fig. 1A e 1B). A influência negativa do óleo diesel foi maior conforme o aumento da concentração do contaminante, quando comparados ao controle. No entanto, as plantas mantiveram um padrão de acúmulo de massa seca e área foliar em todos os tratamentos. Esses resultados demonstram que, embora o óleo diesel influencie no desenvolvimento das plantas de *T. pratense*, estas são capazes de manter seu crescimento sob tais condições.

A redução no crescimento e acúmulo de massa seca está relacionada principalmente a toxicidade de hidrocarbonetos de baixo peso molecular, sendo um efeito marcante ocasionado pela contaminação (KIRK et al., 2005) por óleo diesel. Além disso, as propriedades hidrofóbicas de hidrocarbonetos podem reduzir o potencial das plantas em absorver a água e sais minerais do solo (AFZAL et al., 2013). Em estudo realizado com alfafa (*Medicago sativa* L.), foi verificada redução significativa na biomassa, quando expostas a 10 g kg^{-1} de óleo diesel (BARRUTIA et al., 2011), resultados estes, que corroboram com o presente estudo.

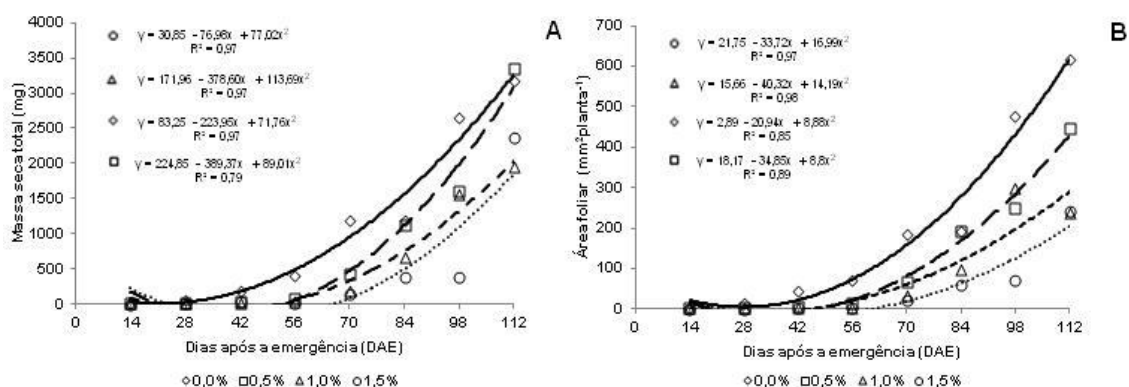


Figura 1 – Massa seca total (A) e área foliar (B) de plantas de *Trifolium pratense* L. submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel (v/v) durante 112 dias.

As raízes das plantas de trevo vermelho submetidas à contaminação por óleo diesel, pelo período de 30 dias apresentaram modificações anatômicas mais evidentes nas concentrações de 1 % e 1,5 % (v/v). Nessas condições, houve lise das células do parênquima cortical e, portanto, maior frequência de espaços intercelulares, fato possivelmente relacionado à tentativa de redução dos efeitos do déficit hídrico e ambiente anóxico gerados pelos hidrocarbonetos do solo (Fig. 2).

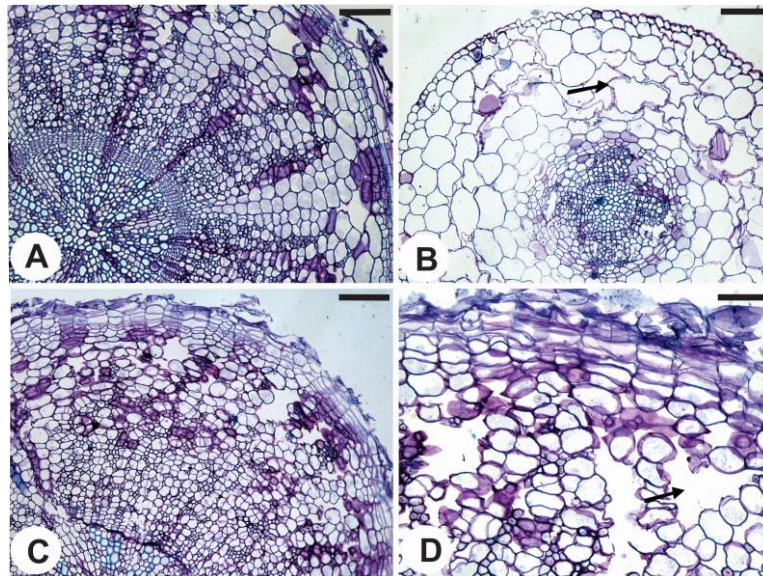


Figura 2 – A-D. Raiz. Secção longitudinal de raízes de *Trifolium pratense* L., aos 30 DAE. A. Controle (0,0%), B (1,0 %), C-D (1,5 %), as setas evidenciando o rompimento de células e espaços intercelulares. Folha. 4-6. Controle (0,0%), 5-7 (1,5 %). Barras: A, B, C (100 µm); D (50 µm).

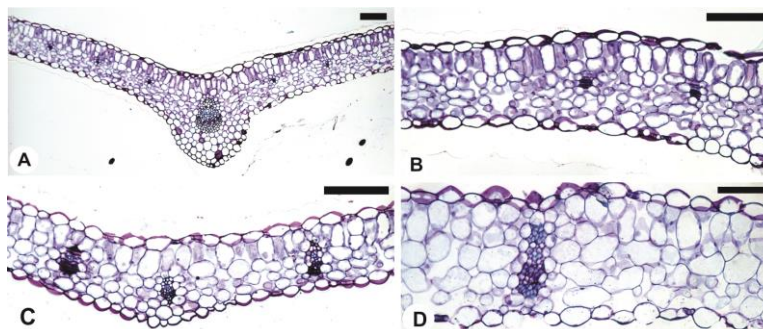


Figura 3 – A-D. Folha. Secção longitudinal de raízes de *Trifolium pratense* L., aos 30 DAE. A-B. Controle (0,0%), C-D (1,5 %). Barras: A, B, C (100 µm); D (50 µm).

No presente estudo não houve modificações perceptíveis nos elementos condutores de seiva (Fig. 3). Entretanto, estudos indicam um aumento no diâmetro do cilindro vascular em outras espécies de plantas, como *Glycine max* (L.) Merrill, *Zea mays* L. e *Pisum sativum* L., cultivadas sob contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e fluoranteno (MAKBUL et al., 2011; KUMMEROVÁ et al., 2013). As análises anatômicas foliares de *T. pratense* confirmam também que as concentrações de 1 % e 1,5 % de óleo diesel exercem influência sobre o desenvolvimento dos parênquimas paliçádico e lacunoso, não sendo possível distingui-los sob essas condições.

4. CONCLUSÃO

As plantas de *T. pratense* são capazes de tolerar as referidas concentrações de óleo diesel. Apresentam, portanto, características que podem ser indicadoras de sua capacidade fitorremediadora.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPERGS, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFZAL, M.; KHAN, S.; IQBAL, S.; MIRZA, M.S.; KHAN, Q.M. Inoculation method affects colonization and activity of *Burkholderia phytofirmans*. PsJN during phytoremediation of diesel-contaminated soil, International. **Biodegradation & Biodegradation**, v. 85, p. 331-336, 2013.

AGUIAR, C.R.C.; LOPES, B.C.; BARBOSA, M.V.D.B.; BALIEIRO, F.C.; GOMES, M.M. Fitorremediação de solos contaminados por petróleo. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v.6, p.3-9, 2012.

ANDRADE, J.A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I.C.S.F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química**, v. 35, p. 17-43. 2010.

BARRUTIA, O.; GARBISU, C.; EPELDE, L.; SAMPEDRO, M.C.; GOICOLEA, M.A.; BECERRIL, J.M. Plant tolerance to diesel minimizes its impact on soil microbial characteristics during rhizoremediation of diesel-contaminated soils. **Science of the Total Environment**, v. 409, p. 4087-4093, 2011.

CHANDRAN, P.; DAS, N. Degradation of diesel oil by immobilized *Candida tropicalis* and biofilm formed on gravels. **Biodegradation**, v. 22, p. 1181-1189, 2011.

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cellular Biology**, v. 27, p. 137-138, 1965.

KIRK, J.L.; KLIRONOMOS, J.N.; LEE, H.; TREVORS, J.T. The effects of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil. **Environmental Pollution**, v.133, 455-465. 2005.

KUMMEROVÁ, M.; ZEZULKA, S.; BABULA, P.; VÁNOVÁ, L. Root response in *Pisum sativum* and *Zea mays* under fluoranthene stress: morphological and anatomical traits. **Chemosphere**, v. 90, p. 665-673, 2013.

MAKBUL, S.; SARUHAN, G.N.; DURMUS, N.; GÜVEN, S. Changes in anatomical and physiological parameters of soybean under drought stress. **Turkish Journal of Botany**, v. 35, p. 369-377, 2011.