

## **EFEITO DO PETRÓLEO DE URUCU (COARI – AM) SOBRE A FISIOLOGIA DAS HERBÁCEAS AQUÁTICAS *Pistia stratiotes* L. (ARACEAE) E *Eichhornia crassipes* (MART.) SOLMS. (PONTEDERIACEAE)**

Janaína Belém GAMA<sup>1</sup>; Maria Teresa Fernandez PIEDADE<sup>2</sup>; Aline LOPES<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Bolsista PIBIC/CNPq; <sup>2</sup>Orientador INPA/CPBA; <sup>3</sup>Co-orientador INPA/Pós-graduação em Ecologia.

### **1. Introdução**

Atualmente o petróleo e seus derivados são as formas de energia mais utilizadas no mundo. O Estado do Amazonas é, hoje em dia, o terceiro maior produtor de gás natural do mundo e o segundo produtor terrestre de petróleo do Brasil (Conpet, 2005; Petrobrás, 2006). O petróleo extraído de Urucu é transportado por navios petroleiros pelo Rio Solimões, por cerca de 650 km, até a refinaria em Manaus (Val & Almeida-Val, 1999). Esse transporte implica risco de acidentes tanto para o ambiente aquático quanto para as áreas de várzea adjacentes (Keramitsoglou, 2003; Lopes, 2007). As várzeas possuem uma grande diversidade de macrófitas aquáticas que são responsáveis pela maior parte de sua produtividade primária (Melack & Forsberg, 2001) e servem de habitat para muitas espécies de animais (Piedade *et al.*, 1992). No entanto, estudos sobre o efeito da contaminação de águas continentais são escassos e, em se tratando de plantas amazônicas, são mais raros ainda (Lopes, 2007). Os poucos estudos realizados com a utilização de petróleo de Urucu mostram a alta toxicidade deste sobre as plantas aquáticas (Lopes *et al.*, 2009), com efeito tanto sobre a sobrevivência quanto sobre o crescimento e incorporação de biomassa de herbáceas aquáticas. Entender os processos que levam à morte das plantas é necessário para que medidas de contenção e remoção do óleo sejam mais eficientes. Isso só é possível por meio da avaliação dos efeitos fisiológicos da contaminação das plantas ao longo do tempo de exposição. O objetivo desse trabalho foi avaliar o estresse fisiológico exercido pela exposição ao petróleo de Urucu em duas espécies de macrófitas aquáticas da várzea amazônica.

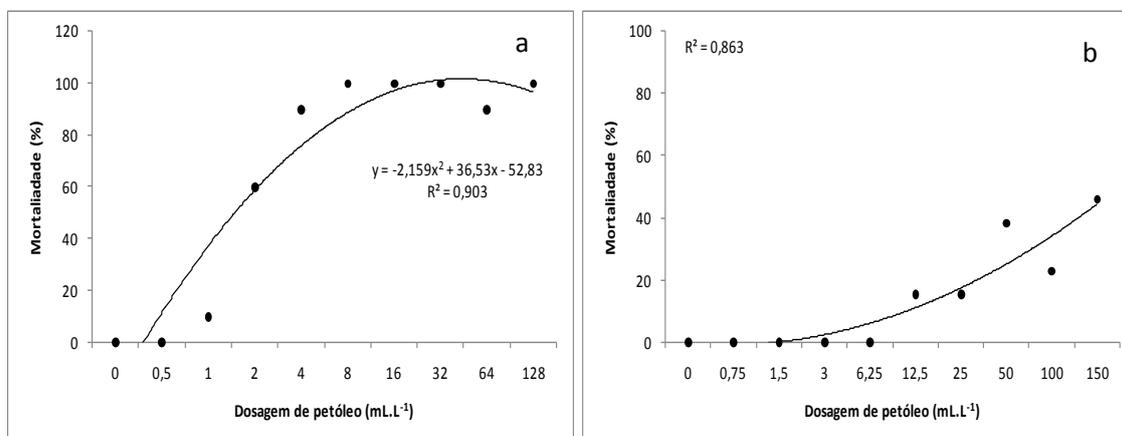
### **2. Materiais e Métodos**

As macrófitas aquáticas flutuantes *Eichhornia crassipes* e *Pistia stratiotes* foram coletadas manualmente na Ilha da Marchantaria (03°15'S, 60°00'W), localizada no Rio Solimões, Amazônia Central. Após a coleta, as plantas foram levadas ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Manaus, AM e colocadas em potes plásticos (uma planta por pote) de 18,5 cm altura x 20 cm diâmetro com 2L de água do poço artesiano. Foi utilizado petróleo proveniente da Base Petrolífera de Urucu, Amazonas. Primeiramente, foi realizado um experimento para a determinação da dosagem letal média (DL<sub>50</sub>) e das dosagens limitantes à sobrevivência de *P. stratiotes*, em 72 horas. Nesse experimento foram utilizadas 10 dosagens de petróleo variando entre 1 e 256 mL.L<sup>-1</sup>, mais um controle, sem petróleo. As réplicas foram distribuídas aleatoriamente, por sorteio, n=10. O cálculo da DL<sub>50</sub>, dosagem capaz de matar 50% da população testada em 72 horas, foi obtido pelo método estatístico de Spearman-Kärber, com intervalo de confiança de 95% (Hamilton *et al.*, 1977). A DL<sub>50</sub> foi posteriormente utilizada para a escolha das dosagens para o experimento com medidas fisiológicas. Como a DL<sub>50</sub> para *E. crassipes* já foi calculada por Lopes *et al.*, 2009 em 1,24 L m<sup>2</sup> em 91 dias de exposição, esta foi utilizada para distribuição das dosagens de petróleo nos experimentos com medidas fisiológicas para esta espécie. Para os testes fisiológicos as réplicas de ambas espécies foram distribuídas aleatoriamente em 6 dosagens, 0 a 4 mL.L<sup>-1</sup>, n=9. A eficiência do fotossistema II e os teores de clorofila *a* e *b* foram medidos, respectivamente, por meio de fluorômetro e cloroflóg portáteis, diariamente por 20 dias.

### **3. Resultados e Discussão**

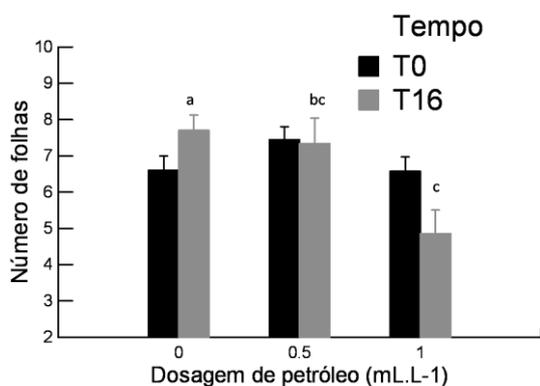
*Pistia stratiotes* apresentou uma DL<sub>50</sub> de 1,46 em 72h de exposição ao petróleo, valor bem menor ao calculado para *E. crassipes* por Lopes *et al.*, 2009, 1,24 L m<sup>2</sup> em 91 dias de exposição. A curva de mortalidade de *P. stratiotes* estabilizou em 16 dias de acompanhamento (Figura 1a), e para *Eichhornia crassipes*, nesse mesmo intervalo de

tempo, a mortalidade ainda estava aumentando, tendo estabilizado com 91 dias de exposição ao petróleo (Figura 1b). *Eichhornia crassipes* possui uma grande capacidade de estocar nutrientes em sua biomassa e por isso é utilizada para tratamento de águas contaminadas com diversos tipos de poluentes (Desougi, 1984; Vora e Rao, 1988; Oke e Elmo, 1990). Nos estudos realizados na Amazônia Central a espécie se mostrou bastante sensível ao petróleo (Prado e Rubin, 2003; Lopes, 2007; Lopes et al., 2009).



**Figura 1** - Efeito da dosagem de petróleo sobre a mortalidade de a) *P. stratiotes* e b) *E. crassipes* (Fonte: Lopes et al., 2009).

Quando analisados os indivíduos vivos após 16 dias de exposição ao petróleo, foi observado uma diminuição do número de folhas de *P. stratiotes* com o aumento da dosagem de petróleo ( $F_{(23,2)} = 6,99$ ,  $p = 0,004$ ; ANOVA) (Figura 2). Houve uma redução significativa do número de folhas entre os tratamentos de 0,5 e 1 mL em relação ao controle ( $p < 0,05$ , teste de Tukey).

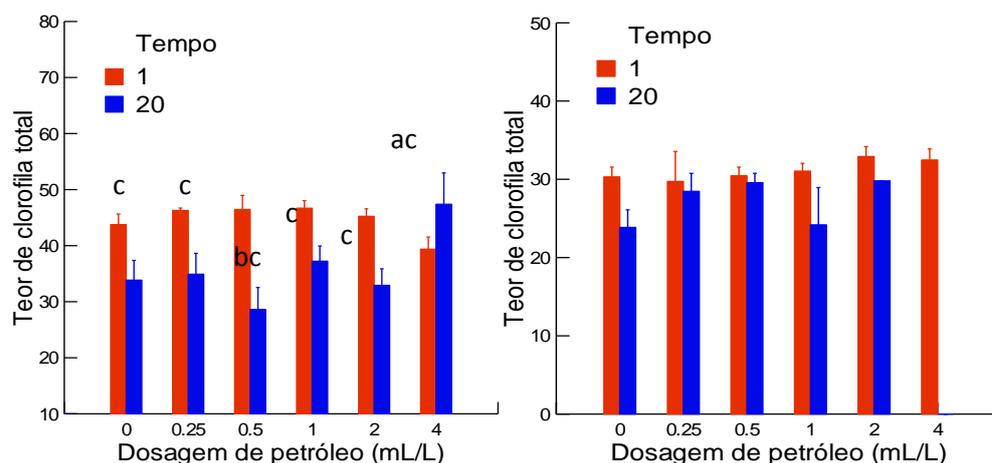


**Figura 2** - Efeito da dosagem de petróleo sobre o número de folhas de *P. stratiotes* no início (T0) e término do experimento (T16). Letras diferentes indicam tratamentos com diferenças estatísticas significativas.

A adição do petróleo de Urucu em meio contendo *Pistia stratiotes*, levou à redução de aproximadamente 50% da biomassa após 21 dias de exposição, e à mortalidade de todos os indivíduos após 98 dias em dosagens de  $0,30 \text{ L m}^{-2}$  (Silva e Camargo, 2007). Apesar de *P. stratiotes* apresentar cristais de oxalato de cálcio em suas folhas (Volk et al., 2002), o que poderia conferir maior tolerância a metais pesados, como os presentes no petróleo, pois facilitariam a incorporação desses elementos químicos (Mazen, 2004), ela se mostrou mais sensível ao petróleo que *E. crassipes*.

A eficiência do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) não foi afetada pelo petróleo em nenhuma das duas espécies ( $p > 0,05$ ). Somente *E. crassipes* apresentou diferença significativa no teor de clorofila total após 20 dias de exposição,  $F(5,40) = 3,5$ ,  $p < 0,01$  (Figura 3a), havendo um aumento significativo no tratamento com  $4 \text{ mL.L}^{-1}$ . Houve aumento no teor de clorofila *bde* *E.*

*crassipes* no tratamento com  $4\text{mL.L}^{-1}$  ( $F(5,40)=3,5$ ,  $p<0,01$ ), quanto a clorofila *a* não apresentou alterações em resposta a dosagem de petróleo ( $p>0,05$ ). Por outro lado *P. stratiotes* não apresentou variação de nenhum dos pigmentos clorofilianos em resposta a dosagem de petróleo ( $p>0,05$ ; Figura 3b). Os pigmentos clorofilianos participam de processos na absorção de energia luminosa para posterior conversão dessa energia em ATP. A clorofila *a* é a principal responsável pela coloração verde das plantas pela realização da fotossíntese (Meyer, 1974). Assim, o aumento do teor da clorofila *a* possibilita o aumento da taxa fotossintética. A clorofila *b* é um pigmento que ajuda a ampliar a faixa de absorção de luz que pode ser usada na fotossíntese. Essa clorofila *b* é auxiliar da clorofila *a*, transferindo a energia captada para as moléculas que realizarão a fotossíntese (Raven, 1983).



**Figura 3** - Efeito da dosagem de petróleo sobre o teor total de clorofila de: a) *E. crassipes* e b) *P. stratiotes*. Letras diferentes indicam tratamentos com diferenças estatísticas significativas.

#### 4. Conclusão

A dosagem e o tempo de exposição são fatores importantes na determinação do efeito do petróleo sobre *P. stratiotes* e *E. crassipes*. A determinação da dose letal média ( $DL_{50}$ ) mostrou ser um método eficiente para avaliar a influência destes fatores sobre a vegetação dos ecossistemas expostos ao risco de contaminação por esse poluente. *E. crassipes* mostrou-se mais tolerante ao petróleo de Urucu, apresentando  $DL_{50}$  em 91 dias semelhante a que *P. stratiotes* apresentou em 72 horas. Essa diferença de sensibilidade deve ser explicada por mecanismos fisiológicos diferenciais, tal como o aumento no teor de clorofila *b* em *E. crassipes* que permitiria uma maior eficiência no processo fotossintético.

#### 5. Referências Bibliográficas

Adam, G. & Duncan, H. 2002. Influence of diesel fuel on seed germination. *Environmental Pollution*, 120: 363–370.

Conpet – Programa Nacional da Racionalização do Uso dos Derivados do Petróleo e do Gás natural. Amazônia é alvo de investimentos em geração de energia para 2007. Ministério de Minas e Energia. Acesso em: 29 de nov. 2005. Disponível em: <http://www.conpnet.gov.br>.

Desougi, L.A. 1984. Mineral nutrient demands of the water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) in the White Nile, *Hydrobiologia*, 110: 99–108.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária — EMBRAPA. 1997. Manual de métodos de análises de solo. 2.ed. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 212p.

Hamilton, M. A., Russo, R.C.,Thurst, R. V., 1977. Thirrmmed Spearman-Kraber Method for Estimating Median Lethal Concentrations in Toxicity Bioassays. *Environmental Science Technology* 11(7),714-719; Correction 12(4),417 (1978).

Keramitsoglou, I., Certalis, C. &Kassomenos, P. 2003. Decision Support System for Managing Oil Spill Events. *Environmental Management*, 32(2): 290-298.

Lopes, A. & M.T.F. Piedade, 2009. Estabelecimento de *Echinochloapolystachya* (H.B.K.) Hitchcock (Poaceae) em solo de várzea contaminado com petróleo de Urucu. *Acta Amazônica* 39(3): 583-590.

Lopes, A. 2007. Respostas de Herbáceas Aquáticas Amazônicas ao Petróleo Cru de Urucu (Coari - AM). Dissertação de mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 129p.

Mazen, A. Calcium oxalate deposits in leaves of *Corchorusolitosius* as related to accumulation of toxic metals. *Russ. J. Plant Physiol.*, 51:281-285, 2004.

Meyer, S.E. Rosa L. 1974. Woody plant seed manual.Washington: USDA Forest Service, Disponível em: <http://www.wpsm.net/Rosa.pdf>. Acesso em: 12 jul. 2011.

Melack, J. M., Forsberg, B. R. 2001. Biochemistry of Amazon floodplain lakes and associates wetlands. In: M. E. McClain, R. L. Victoria & J. E. Richey (eds.) *The Biochemistry of the Amazon Basin*. Oxford: Oxford University Press, 235-274.

Okc, O.A.; Elmo, B.O. Elemental analysis of water hyacinth growing in the Badagry lagoon of Lagos state, Nigeria.*NigerianJournalofWeed Science*v.3 p. 67-70, 1990.

Petrobrás. 2006. Província Petrolífera de Urucu. Acesso em 05 de março de 2006. Disponível em: <<http://www2.petrobras.com.br>>.

Piedade, M. T. F., Junk, W. J., Mello, J. A. S. N. 1992. A floodplain grassland of the Central Amazon. In: S. P. Long, M. B. Jones. & J. M. Roberts (eds.). *Productivity of grass ecosystems of the Tropics and Sub-Tropics*. London: Chapman & Hall/UNEP, 127-158.

Piedade, Maria Teresa Fernandez; Junk, Wolfgang ; D'Ângelo, Sammya Agra ; Wittmann, Florian ; Schöngart, Jochen ; Barbosa, Keillah Mara do Nascimento ; Lopes, Aline. 2010 Aquatic herbaceous plants of the Amazon floodplains: state of the art and research needed. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 22: 165-178.

Prado, K. L. L., Rubin, M. A. L., 2003. Efeito de petróleo sobre a macrófita aquática *Eichhorniacrassipes* em experimento de laboratório. *Anais do VI Congresso de Ecologia do Brasil* 83-85.

Raven, J.A. 1983.The transport and function of silicon inplants.*Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 58(1):.179-207.

Silva, R.S.; Camargo, A.F.M. 2007. Effect of Urucu crude oil on the aquatic macrophyte *Pistia stratiotes*. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 19(2): 155-161.

Val, A. L., Almeida-Val, V. M. 1999. Effects of crude oil on respiratory aspects of some fish species of the Amazon, in: Val, A. L., Almeida-Val, V. M. F. (Eds.) *Biology of Tropical Fishes*, INPA, Manaus 22, 277-291.

Victorio, S. S., Camargo, A. F. M., Henry-Silva, G. G. 2006. Influência de diferentes concentrações de petróleo sobre macrófita aquática submersa enraizada *Egeria densa*. Livro de Resumos da Reunião Anual de Avaliação PRH-ANP 2006. 117-120.

Volk, G.M., Lynch-Holm, V.J., Kostman, T.A., Goss, L.J., And Franceschi, V.R., , 2002. The Role of Druse and Raphide Calcium Oxalate Crystals in Tissue Calcium Regulation in *Pistia stratiotes* Leaves, *Plant Soil* 4: 34-45.

Vora, A.B.; Rao, V. 1988. Water hyacinth as a scavenger of heavy metals from polluted waters of the river Sabarmati Ahmedabad. *Advances in Plant Science*, 1: 1-6.