

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BRUNA VENTURIN DAL PRÁ

**EFEITOS DA POLUIÇÃO POR PETRÓLEO EM FOLHAS E RAÍZES DE
Typha domingensis Pers. (TYPHACEAE)**

CURITIBA

2016

BRUNA VENTURIN DAL PRÁ

**EFEITOS DA POLUIÇÃO POR PETRÓLEO EM FOLHAS E RAÍZES DE
Typha domingensis Pers. (TYPHACEAE)**

Monografia apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas, no Curso de Graduação em Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Erika Amano
Coorientador: Prof. Dr. Christopher Thomas Blum

CURITIBA

2016

TERMO DE APROVAÇÃO

BRUNA VENTURIN DAL PRÁ

EFEITOS DA POLUIÇÃO POR PETRÓLEO EM FOLHAS E RAÍZES DE *Typha domingensis* Pers. (TYPHACEAE)

Monografia apresentada como requisito parcial à para obtenção do grau de Bacharel no Curso de Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná.

Prof^a Dra. Erika Amano
Orientadora – Departamento de Botânica, UFPR

Prof^o. Dr. Crhistopher Thomas Blum
Coorientador – Departamento de Engenharia Florestal, UFPR

Prof^o Dr. Gedir de Oliveira Santos
Banca – Departamento de Botânica, UFPR

Msc. Jaçanan Eloisa de Freitas Milani
Banca – Departamento de Engenharia Florestal, UFPR

*Dedico esta monografia a todos
aqueles que de alguma forma
contribuíram para a obtenção deste título.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por me dar forças e foco para que fosse possível chegar até aqui.

A minha família, meus pais, Rosemari e Aldemir, e meu irmão Matheus por todo o apoio, incentivo e amor durante toda a minha vida, principalmente pela compreensão durante os momentos de provas, trabalhos e finais de semestres. E... por revesarem a tarefa de me acompanharem até o ponto de ônibus todas as madrugadas.

Ao meu namorado, Luiz Paulo, por ter caminhado junto comigo durante todo o tempo do curso e pelos anos que ainda estão por vir. E, por me incentivar quando a preguiça e a dúvida batiam.

A professora Erika por todos esses anos de orientação, a amizade, a preocupação e o carinho, e principalmente por ter me aceitado de volta, para que este trabalho se tornasse possível. E, claro, por ser a melhor professora do curso, o Paraguai vai concordar.

Ao amigo e técnico do Laboratório de Botânica Estrural, Nilson Belém Filho, por todas as conversas sobre os mais diversos assuntos, e pela ajuda técnica durante toda a minha permanência no laboratório.

A equipe da Engenharia Florestal pelas idas à REPAR, em especial ao meu coorientador Christopher Thomas Blum e à Jaça por ter colaborado nas análises estatísticas e nas discussões.

A Thalita Gilda Santos pelo tempo investido nas análises de cromatografia.

Aos meus colegas de curso, obrigada por todos esses anos passados juntos, em especial ao Paraguai, por ter me feito aguentar muitos *fififis* pelo setor e pela amizade fiel.

Aos professores e professoras que ministraram diversas disciplinas durante esses seis anos de curso, obrigada pelo tempo dedicado.

E, agradeço também a todos aqueles que de alguma forma mandaram energias positivas durante esse momento de término de um ciclo.

Obrigada!

*"No fim, iremos conservar apenas aquilo com o que nos importamos.
Só nos importaremos com o que nos conectarmos.
E só conectaremos com aquilo que experimentarmos".*

Sarah Thomás

RESUMO

O petróleo e seus derivados são uns dos recursos mais explorados pela sociedade moderna e dessa exploração, muitas vezes, resultam impactos sobre o meio ambiente, seja pela contaminação do solo ou da água e por consequência da comunidade biótica, fauna e flora, da área. Com a presença do petróleo, muitas plantas apresentam estratégias para permanecer nesse local e, de alguma forma, retirar o poluente do meio ambiente, ou simplesmente tolerá-lo. Em julho de 2000, na Refinaria Getúlio Vargas, localizada no município de Araucária, Paraná, houve um vazamento em grande escala de petróleo que contaminou o solo da região e também corpos d'água próximos ao local, como o arroio Saldanha, o rio Barigui e o rio Iguaçu. Após o acidente a espécie *Typha domingensis* passou a ser predominante em uma região de várzea, também afetada pela contaminação, próxima ao rio Barigui. A fim de elucidar os efeitos que a poluição por petróleo poderia causar nas folhas e raízes de *T. domingensis*, foram realizados estudos da anatomia da raiz e da folha, e de biometria de folha, de uma área com menor concentração de TPH (Hidrocarbonetos Totais de Petróleo) e de locais com maior concentração de TPH. Também foi realizada microscopia de fluorescência, utilizando-se os filtros RPF e Texas Red, para detectar possíveis compostos de petróleo na planta. Foram analisadas a quantidade de folhas de 20 indivíduos de cada, assim como o comprimento das cinco maiores folhas para verificar se *T. domingensis* cresceria mais em solo com maior concentração de petróleo do que em solo com menor concentração, através do teste de comparação de médias *Levene*, no programa *Stratigraphics*. Os resultados anatômicos mostraram que não há diferença entre as plantas dos locais com menor e maior concentração de TPH. Na microscopia de fluorescência não foram detectados possíveis compostos de petróleo. Quando considerado o número de folhas por indivíduos foi observado que não há diferença significativa entre os locais, porém, quando considerado o comprimento das cinco maiores folhas entre os locais houve uma diferença significativa entre os ambientes, mostrando que a espécie cresceu mais em solo contaminado.

Palavras-chave: Fitorremediação. Morfologia foliar. Anatomia de órgãos vegetativos.

ABSTRACT

Oil and its derivatives are one of the most exploited resources by modern society and this exploitation often results in impacts on the environment, either by contamination of soil or water and consequently of the biotic community, fauna and flora, of the place. Due to the presence of petroleum many plants have strategies to stay in this place and somehow remove the pollutant from the environment, or simply tolerate it. In July 2000, at the Getúlio Vargas Refinery, located in the municipality of Araucária, Paraná, there was a large-scale oil spill that contaminated the region's soil, as well as bodies of water near the site, such as the Saldanha stream, the Barigui river And the Iguaçu River. After the accident the species *Typha domingensis* became predominant in a floodplain region also affected by the contamination, near the Barigui River. In order to elucidate the effects that oil pollution could cause on the leaves and roots of *T. domingensis*, root and leaf anatomy, and leaf biometry studies were carried out using material from a site with a lower concentration of TPH (Total Petroleum Hydrocarbons) and from sites with higher concentration of TPH. Fluorescence microscopy was also performed using the RPF and Texas Red filters to detect possible petroleum compounds in the plant. The number of leaves of 20 individuals at each site, as well as the length of the five largest leaves, were analyzed to verify if *T. domingensis* would grow better in soil with higher oil concentration than in soil with lower concentration, through the comparison was used the Levene test, in the Stratigraphics program. The anatomical results showed that there is no difference between the plants of the sites with lower and higher concentration of TPH. No possible petroleum compounds were detected by fluorescence microscopy. When the number of leaves per individuals was considered, there was no significant difference between the sites. However, when considered the length of the five largest leaves there was a significant difference between the environments, showing that the species grew more in contaminated soil.

Key-words: Phytoremediation. Leaf morphology. Vegetal Anatomy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Área de estudo	17
Figura 2. Bacia do Arroio Saldanha, superfície contaminada	18
Figura 3. Petróleo atingindo o rio Iguaçu	19
Figura 4. <i>Typha domingensis</i>	20
Figura 5. Mecanismos atuantes na fitorremediação	23
Figura 6. Modelo digital evidenciando valores de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) nos diferentes grupamentos sobre a várzea da REPAR, Araucária, PR	24
Figura 7. Secções transversais do ápice da raiz de <i>Typha domingensis</i> Pers. corados com azul de toluidina	28
Figura 8. Secções transversais da região distal da raiz de <i>Typha domingensis</i> Pers. corados com azul de toluidina	29
Figura 9. Cortes à mão livre de folhas de <i>Typha domingensis</i> Pers. corados com azul de toluidina. Figura a folha de local com maior concentração de TPH	30
Figura 10. Porção distal da raiz, de <i>Typha domingensis</i> Pers., de local com maior concentração de TPH em microscopia de fluorescência	31
Figura 11. Gráfico da média de folhas por indivíduo nas áreas A-CT (contaminada – maior concentração de TPH) e A-NC (não contaminada – menor concentração de TPH)	32
Figura 12. Gráfico da média do comprimento da folha das cinco folhas maiores por indivíduo nas áreas CT (contaminada – maior concentração de TPH) e NC (não contaminada – menor concentração de TPH)	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de P e da razão F para a análise de comparação de médias do número de folhas por indivíduo das áreas de maior concentração de TPH e de menor concentração	32
Tabela 2 Valores de P e da razão F para a análise de comparação de médias do comprimento, da folha, das cinco folhas maiores de cada indivíduo das áreas de maior concentração de TPH e de menor concentração	33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	JUSTIFICATIVA.....	15
1.2	OBJETIVOS	16
1.2.1	Objetivo Geral.....	16
1.2.2	Objetivos Específicos	16
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	ÁREA DE ESTUDO	17
2.2	A ESPÉCIE <i>TYPHA DOMINGENSIS</i> PERS.....	19
2.3	O PETRÓLEO NO AMBIENTE.....	21
2.4	MECANISMOS DE FITORREMEDIAÇÃO NAS PLANTAS.....	22
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1	COLETA	24
3.2	ANATOMIA.....	24
3.2.1	Seccionamento a mão livre	24
3.2.2	Cortes seriados.....	25
3.3	BIOMETRIA DAS FOLHAS	25
4	RESULTADOS.....	27
4.1	ANATOMIA.....	27
4.1.1	Raiz	27
4.1.2	Folha.....	29
4.1.3	Fluorescência	30
4.2	BIOMETRIA DAS FOLHAS	31
4.2.1	Número de folhas	31
4.2.2	Comprimento das folhas.....	32
5	DISCUSSÃO	34
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
6.1	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	37
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
	APÊNDICE A – TABELA COM OS DADOS DO NÚMERO DE FOLHAS E COMPRIMENTO DAS CINCO MAIORES DE LOCAL COM MENOR CONCENTRAÇÃO DE TPH	42

APÊNDICE B – TABELA COM OS DADOS DO NÚMERO DE FOLHAS E COMPRIMENTO DAS CINCO MAIORES DE LOCAL COM MAIOR CONCENTRAÇÃO DE TPH	43
---	----

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento da industrialização, a intensificação do uso de recursos naturais pela sociedade moderna vem resultando em significantes impactos para o meio ambiente, seja através da contaminação do ar, da água, do solo e da comunidade biótica por substâncias tóxicas (KHAN *et al*, 2007; MEDEIROS *et al*, 2007). Um desses recursos naturais mais explorados é o petróleo, que é utilizado para produção de energia e de materiais sintéticos diversos (RODRIGUES, 2005) e que, frequentemente, durante a sua logística de transporte entre a produção, o refinamento e a distribuição, resulta em desastres ambientais (BARDELLI-DA-SILVA, 2014). Esses desastres resultantes do derramamento de petróleo podem interferir nas condições ambientais do local causando impactos diretos, inúmeras vezes irreversíveis, aos elementos bióticos – fauna e flora – e abióticos do local (ABDUL-RASAQ, OMIDIJI, & OTITOLUJU, 2011; BARDELLI-DA-SILVA, 2014).

O petróleo, que é originado da transformação de grandes deposições de fósseis, é composto por uma variedade de compostos, hidrocarbonetos, divididos em alifáticos e aromáticos, e não-hidrocarbonetos, que se combinam de diversas formas (BARDELLI-DA-SILVA, 2014; MARANHO *et al*, 2006; MARANHO *et al*, 2009). Dentre os hidrocarbonetos que compõem o petróleo, os que resultam em maiores contaminações de solos e águas são os hidrocarbonetos aromáticos, dada a sua maior mobilidade na água e a sua toxicidade mais expressiva (BARDELLI-DA-SILVA, 2014). Outra característica do petróleo é a sua persistência no ambiente por um longo período, dada a sua lenta biodegradação (MICHEL *et al*, 2005).

No meio ambiente, a contaminação por petróleo pode atingir o lençol freático através da percolação pelo solo, ainda pode contaminar o solo e por vezes atingir a vegetação ao seu entorno. Quando ocorre a contaminação, o petróleo pode ocasionar problemas para a comunidade biótica, por meio do potencial carcinogênico dos hidrocarbonetos presentes (PORTHULURI & CERNIGLIA, 1994 apud BARDELLI-DA-SILVA, 2014). Por exemplo, um solo contaminado com petróleo reduz a sua atividade biológica, limitando principalmente o crescimento e o desenvolvimento das plantas (MARANHO *et al*, 2009; WYSZKOWSKI, WYSZKOWSKA & ZIÓLKOWSKA, 2004). Entretanto, algumas espécies de plantas são capazes de crescer em solos contaminados, uma das hipóteses, que pode

explicar a tolerância das espécies aos solos contaminados, é a de que essas espécies apresentem mecanismos de desintoxicação, onde o contaminante é armazenado em algum tecido e é convertido, por meio de enzimas, em algum produto benéfico para a planta propiciando o seu desenvolvimento nessas condições (ERNEST, 1976).

Em 16 de julho de 2000, na Refinaria Presidente Getúlio Vargas (REPAR), localizada na cidade de Araucária, Região Metropolitana de Curitiba, Paraná, houve um dos maiores desastres ambientais do país, onde, a partir de uma ruptura de um oleoduto, vazaram 4 milhões de litros de petróleo cru (BARDELLI-DA-SILVA, 2014; MARANHO *et al*, 2009; OLIVEIRA *et al*, 2008; MARANHO *et al*, 2006; MELO *et al*, 2003). Após a ruptura do *scraper* – ponto de ligação do oleoduto com a refinaria – o óleo escorreu através da encosta e atingiu o arroio Saldanha e por uma extensão de 2,25 km o óleo extravasou o canal, contaminando áreas de várzea até chegar no rio Barigui, um dos principais afluentes do rio Iguaçu, um dos rios mais importantes do sul do país (BARDELLI-DA-SILVA, 2014; MELO *et al.*, 2003). O óleo foi contido somente 40 km à jusante do rio Iguaçu, no município de Balsa Nova, Paraná (MELO *et al*, 2003).

No percurso acima citado, o petróleo atingiu principalmente áreas de Formação Pioneira com Influência Flúvio-lacustre, vegetação característica da região (BARDELLI-DA-SILVA, 2014), também conhecida como várzea, brejo, banhado ou planície de inundação, por apresentar como características marcantes a influência dos períodos de cheia e seca dos rios adjacentes, dada a sua interface entre os ambientes terrestres e aquáticos, e a comunicação sazonal, ou permanente entre o lençol freático e o espaço terrestre. No percurso percorrido pelo óleo as plantas que tiveram contato com este poluente tiveram mortalidade quase total (BARDELLI-DA-SILVA, 2014). Após o incidente, segundo relatório da FUNPAR (2001), a recolonização do local se deu principalmente por espécies herbáceas, favorecidas pelo regime de inundação pois crescem e se reproduzem em um curto período de tempo.

Após esse incidente e com base em estudos desenvolvidos na área foram evidenciadas algumas modificações na florística. Uma dessas modificações foi em relação à população de *Typha domingensis* Pers. (Typhaceae) que, anteriormente,

estava presente em 5,8% das parcelas (FUNPAR, 2001) e posteriormente passou a estar presente em 70% da área estudada (Bardelli-da-Silva, 2014). Sabe-se que *T. domingensis*, popularmente conhecida como taboa, é uma espécie característica de ambientes de várzea, devido a sua forma de crescimento por rizomas e folhas em touceiras, a elevada capacidade reprodutiva e a dispersão pelo vento, aspectos que favorecem a sua ocupação e manutenção nesse tipo de ecossistema (BARDELLI-DA-SILVA, 2014).

Além das características acima citadas, *Typha domingensis* apresenta uma plasticidade morfológica que lhe permite viver e se adaptar a uma variedade de ambientes com influência aquática, incluindo ambientes poluídos, além da sua resistência a metais pesados, por meio de acumulação (AKHTER, 2014).

Diante do contexto relatado pretende-se avaliar se a contaminação por petróleo afeta características biométricas e anatômicas de folhas e raízes de *Typha domingensis*, tendo em vista aparentemente, a contaminação por hidrocarbonetos parece favorecer sua abundância, conforme relatado por Bardelli da Silva (2014).

1.1 JUSTIFICATIVA

Investigar espécies afetadas por poluentes, como o petróleo, é interessante para conhecermos como o contaminante afeta as plantas e se essas podem ser possíveis fitorremediadoras. Espécies fitorremediadoras são aquelas que podem ajudar a melhorar a qualidade de um determinado local contaminado, seja o ar, o solo ou a água, muitas vezes reduzindo a quantidade do poluente ou deixando as suas características físicas e químicas mais propícias, com a diminuição dos contaminantes no meio (MATTA, TAVARES & MAHLER, 2007).

Typha domingensis é uma espécie dominante em diversos ambientes hidromórficos, sejam eles contaminados ou não, ela é uma espécie potencial de estudo na área da REPAR pois a espécie apresentou um aumento significativo na área após o acidente com o vazamento de petróleo em julho de 2000, considerando sua abundância relatada por Bardelli-da-Silva (2014), tornando-a uma espécie potencial para estudos desta natureza, despertando o interesse em analisar se esta planta teve alguma alteração morfológica ou anatômica acarretada pelo petróleo presente no solo.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Dada a dominância de *Typha domingensis* em um área contaminado por petróleo, pretende-se estudar os efeitos causados pelo contaminante nas folhas e raízes desta espécie.

1.2.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos do trabalho são:

- a) Analisar anatomicamente folhas e raízes de *Typha domingensis* presentes em áreas com diferentes níveis de contaminação com petróleo.
- b) Verificar através da anatomia da folha e da raiz, se a espécie *Typha domingensis* apresenta alguma característica anatômica favorável para permanência em locais contaminados por petróleo.
- c) Analisar a biometria das folhas de *Typha domingensis* em áreas contaminadas por petróleo e em área testemunha.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ÁREA DE ESTUDO

A área estudada tem aproximadamente 5,5 hectares e está localizada em propriedade da Refinaria Presidente Getúlio Vargas – REPAR, no município de Araucária, Paraná, no primeiro planalto paranaense, em uma planície adjacente ao arroio Saldanha, afluente do rio Barigui (Figura 1), que por sua vez deságua no rio Iguaçu.

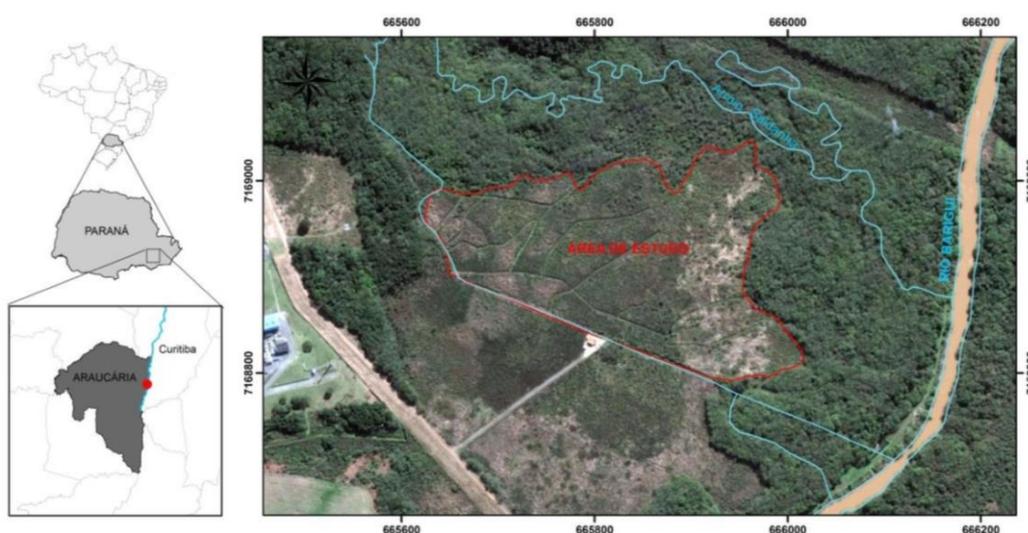


Figura 1. Área de estudo (Fonte: BARDELLI-DA-SILVA, 2014).

O clima da região é do tipo Cfb – temperado, segundo a classificação de Koeppen, as características são verões frescos, geadas frequentes e ausência de uma estação seca definida (BARDELLI-DA-SILVA, 2014).

O solo da região pertence à Formação Guabirotuba e à classe dos Gleissolos, que são solos hidromórficos com areias finas e sedimentos argilosos em igual proporção. Nesse solo a água pode atingir a superfície através da ascensão capilar (MELO, 2012; BARDELLI-DA-SILVA, 2014). Nessa condição se estabelece uma vegetação característica a essa condição hidromórfica a Formação Pioneira Flúvio-lacustre (RODERJAN, 2002; IBGE, 2012). Essa vegetação é bem representada por espécies das famílias Cyperaceae, Poaceae e Typhaceae, além de espécies de

Xyridaceae, Lentibulariaceae e Alismataceae, sendo também comum a presença de espécies arbóreas dispersas (RODERJAN, 2002).

Nesta área em julho de 2000 houve uma ruptura em um dos oleodutos durante a transferência de petróleo do terminal de São Francisco do Sul para a REPAR, em Araucária. Essa ruptura resultou no vazamento de 4 milhões de litros de petróleo através da encosta do arroio Saldanha (Figura 2), seguindo para o rio Barigui e em seguinte para o rio Iguaçu (Figura 3), onde foi contido no município de Balsa Nova, Paraná, 40 km à sua jusante. Esse foi considerado um dos maiores desastres ecológicos em ambientes de água doce no Brasil, pois atingiu diretamente a bacia hidrográfica do rio Barigui, principal afluente do terço superior do rio Iguaçu (FOLHA DE SÃO PAULO, 2013; GAZETA DO POVO, 2013; BARDELLI-DA-SILVA, 2014).

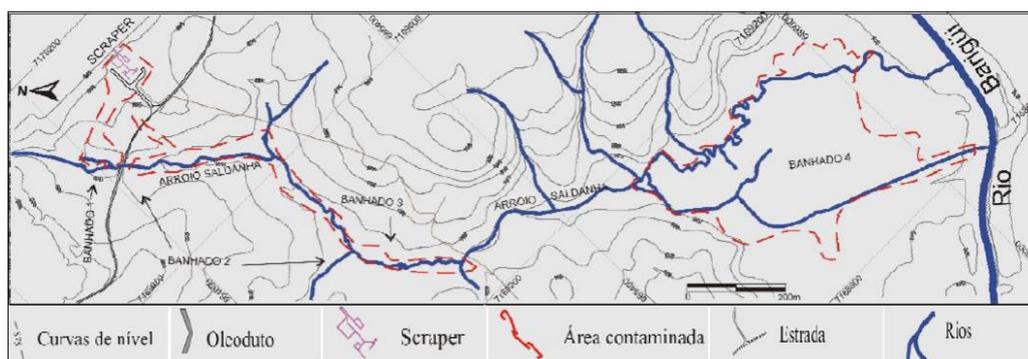


Figura 2. Bacia do Arroio Saldanha, superfície contaminada. (Fonte: BARDELLI-DA-SILVA, 2014 – modificado de MELO, 2006)

Estima-se que, segundo dados fornecidos pela REPAR, 800 mil litros desse óleo evaporaram, que 2,2 milhões de litros ficaram na área da refinaria sendo que um milhão de litros foram para os rios Barigui e Iguaçu, dos quais foram recuperados 2,85 milhões de litros, ação favorecida pelo período de estiagem na época (BARDELLI-DA-SILVA, 2014). Todavia, supõem-se que cerca de 350 mil litros de petróleo tenham percolado nos terrenos adjacentes ao longo do arroio Saldanha (BARDELLI-DA-SILVA, 2014).



Figura 3. Petróleo atingindo o rio Iguaçu. (Fonte: Gazeta do Povo, 2013)

Após o vazamento, as comunidades da vegetação ao entorno foram impactadas não somente pela presença do petróleo, mas também pelas atividades de controle e remoção do petróleo (BARDELLI-DA-SILVA, 2014).

Bardelli-da-Silva, após quatorze anos do acidente, observou que fisionomicamente a área possui certa heterogeneidade e que ocorrem certos grupos de espécies formando conjuntos. Também foi notada a dominância de sete espécies sobre as demais: *Typha domingensis* (cobrindo 70% da área), *Hymenachne pernambucensis* (Spreng.) Zuloaga, *Mimosa oblonga* Benth., *Mikania micrantha* Kunth, *Schoenoplectus californicus* (C.A. Mey.) Palla, *Neocabreria serrulata* (DC.) R. M. King & H. Rob. e *Thalia geniculata* L..

2.2 A ESPÉCIE *Typha domingensis* Pers.

Typha domingensis (Figura 4), popularmente conhecida como taboa, pertence a família Typhaceae, sendo considerada uma macrófita aquática emergente, perene, caule com porção rizomatosa grossa rastejante e outras porções eretas, essas com folhas longas e em touceiras (ESTEVES & SUZUKI, 2008), com altura entre 1,10 a 3 metros.

T. domingensis apresenta crescimento clonal, consistindo em um rizoma submerso com raízes associadas e broto, que pode ou não apresentar inflorescência (BELARMINO, 2013). Florescendo no início da primavera, ela apresenta inflorescência em espiga interrompida, com flores estaminadas e pistiladas, sendo a porção superior da espiga correspondente às flores masculinas e a porção inferior, engrossada, correspondendo às flores femininas, e aos frutos com plumas, esses dispersos pelo vento (ESTEVES & SUZUKI, 2008; IMOLENE, 2003).

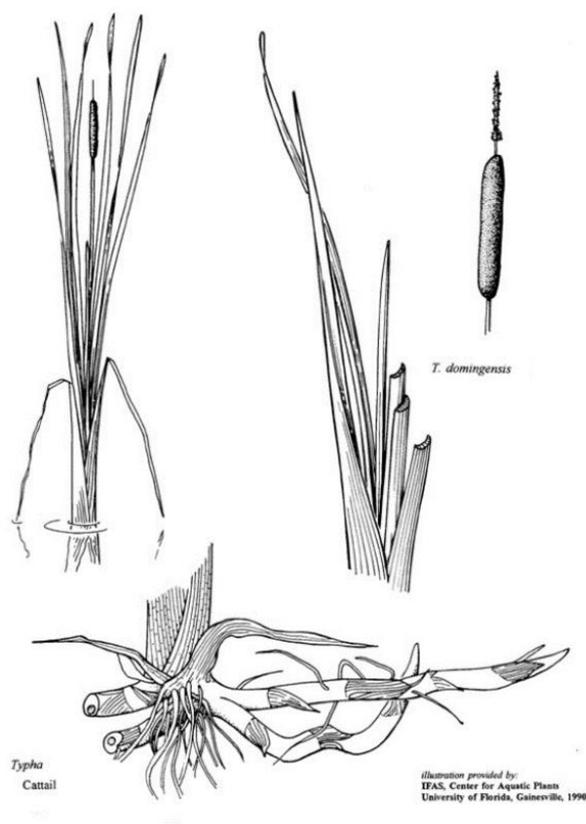


Figura 4. *Typha domingensis*. (Fonte: IFAS, 1990 – modificado)

A espécie *T. domingensis* é cosmopolita de regiões tropicais e subtropicais do sul do Brasil (RODERJAN *et al*, 2002), ocupando áreas úmidas, principalmente, as várzeas e os banhados.

Há estudos que relatam o potencial fitorremediador da espécie *T. domingensis* a ambientes perturbados (HEGAZY, ABDEL-GHANI & EL-CHAGHABY, 2011), pois ela apresenta um crescimento vegetativo rápido e alta produção de biomassa (SILVA, 2014).

2.3 O PETRÓLEO NO AMBIENTE

O petróleo é um combustível fóssil de grande importância para a economia mundial (AGUIAR *et al*, 2012) pois é utilizado para produção de energia e de materiais sintéticos diversos (RODRIGUES, 2005). Esse combustível é composto de hidrocarbonetos e não-hidrocarbonetos, como oxigênio, enxofre, nitrogênio e metais (BARDELLI-DA-SILVA, 2014), dentre os hidrocarbonetos destacam-se os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), que formam um grupo de xenobióticos que permanecem no ambiente por muito tempo (AGUIAR *et al*, 2012).

Compostos de petróleo e até mesmo o petróleo, quando entram em um ecossistema podem iniciar uma série de processos que irão afetar tanto os elementos abióticos quanto os bióticos (WYSZKOWSKI *et al*, 2004). O óleo interfere no funcionamento de diversos órgãos e sistemas de plantas e animais (ABDUL-RASAQ, OMIDIJI & OTITOLUJU, 2011).

O óleo pode causar a degradação do solo e a diminuição da sua fertilidade (WYSZKOWSKI, WYSZKOSKA & ZIOLOWSKA, 2004). Pode também alterar a concentração de oxigênio e nutrientes disponíveis para a comunidade biótica, além de diminuir a retenção de água (BONA *et al*, 2011).

Nas plantas, através do movimento apoplástico nos tecidos da raiz compostos xenobióticos, como o petróleo, entram pela raiz e se difundam entre as paredes celulares, indo até o xilema, sendo assim transportados para a parte aérea (BALASUBRAMANIAM, 2015; BALASUBRAMANIAM, CHAPMAN & HARVEY, 2015). Outra via de entrada é através do transporte simplástico, onde os compostos entram nas células (BALASUBRAMANIAM, 2015).

Na planta, o petróleo pode afetar o processo de fotossíntese, o crescimento, a produção de biomassa, a fixação de nitrogênio, a germinação de sementes, a morfologia e a anatomia, causando danos estruturais e à reprodução, entre muitos outros prejuízos (WYSZKOWSKI, WYSZKOSKA & ZIOLOWSKA, 2004; MARANHO *et al*, 2006; OLIVEIRA *et al*, 2008; FARIAS *et al*, 2009; ZAND, BIDHENDI & MEHRDADI, 2009; ABDUL-RASAQ, OMIDIJI & OTITOLUJU, 2011; BONA *et al*,

2011; SHARANOVA & BREUS, 2012; BALASUBRAMANIAM, CHAPMAN & HARVEY, 2015; BALLIANA *et al*, 2016).

2.4 MECANISMOS DE FITORREMEDIAÇÃO NAS PLANTAS

A fitorremediação é o uso de plantas - pois sabe-se que elas respondem rapidamente às mudanças ambientais (OLIVEIRA *et al.*, 2008) - assim como os microorganismos e as enzimas a elas associados, para degradar, reter, imobilizar ou reduzir a níveis baixos de toxicidade substâncias nocivas ao ambiente, visando recuperar o solo, a água ou o ar (MATTA, TAVARES & MAHLER, 2009; AGUIAR *et al*, 2012).

Uma das vantagens em utilizar-se a fitorremediação é que grandes áreas podem ser tratadas e também, ao mesmo tempo, as plantas usadas podem exercer um papel de melhoria da paisagem, embelezando o ambiente (AGUIAR *et al*, 2012). A fitorremediação também tem um menor custo quando comparada a outros modelos de remediação, como a remoção do solo ou a extração dos químicos nele presentes (ALKIO *et al*, 2005).

Na fitorremediação (Figura 5) os vegetais podem atuar de duas maneiras: direta ou indiretamente (SILVA, 2014), sendo que na fitorremediação direta as substâncias são absorvidas, acumuladas ou metabolizadas nos tecidos. Na fitorremediação indireta os poluentes sofrem redução da sua mobilidade, ou as plantas favorecem a atividades de microorganismos que irão degradar o contaminante (MATTA, TAVARES & MAHLER, 2009; LAMBERT, SOARES & SOUZA, 2012).

Os mecanismos de fitorremediação direta podem ser divididos em:

- a) Fitoextração: após a absorção do poluente contido no meio, ocorre o armazenamento desse no tecido do vegetal. Nesse processo as espécies são cultivadas e depois colhidas, com a intenção de deixar o local livre de contaminantes (MATTA, TAVARES & MAHLER, 2009).
- b) Fitotransformação (ou fitodegradação): consiste na absorção e metabolismo de poluentes, por meio de enzimas, no interior da planta. Essa técnica de fitorremediação é comumente aplicada na remediação de

compostos orgânicos (MATTA, TAVARES & MAHLER, 2009; LAMBERT, SOARES & SOUZA, 2012).

- c) Fitovolatização: após a absorção dos compostos poluentes, a planta os converte em substâncias voláteis que posteriormente serão liberadas para a atmosfera (SILVA, 2014). A volatilização pode ocorrer pela biodegradação na rizosfera ou após a passagem do poluente na planta, passando assim por diversos processos metabólicos internos e sendo liberado pela superfície das folhas (MATTA, TAVARES & MAHLER, 2009; LAMBERT, SOARES & SOUZA, 2012). A vantagem da utilização dessa técnica é a eliminação do contaminante do ecossistema (LAMBERT, SOARES & SOUZA, 2012).

Os mecanismos de fitorremediação indireta são divididos em:

- d) Fitoestimulação (ou rizodegradação): o vegetal estimula a biodegradação microbiana dos poluentes pois suas raízes mudam as condições do solo, aumentando a sua aeração, ajustando a umidade e produzindo exsudatos que favorecem o crescimento desses microorganismos (MATTA, TAVARES & MAHLER, 2009; SILVA, 2014).
- e) Fitoestabilização: A planta protege o solo do vento e das chuvas reduzindo o efeito da erosão do solo e por consequência, o transporte dos contaminantes (LAMBERT, SOARES & SOUZA, 2012).

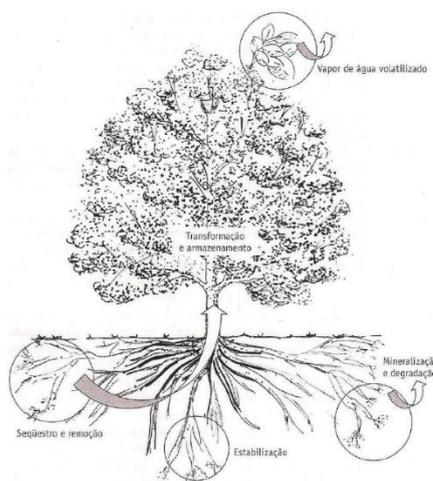


Figura 5. Mecanismos atuantes na fitorremediação. (Fonte: MATTA, TAVARES & MAHLER, 2009)

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETA

A planta estudada, *Typha domingensis*, foi coletada na REPAR – Refinaria Presidente Getúlio Vargas, município de Araucária, Paraná, no local onde ocorreu o derramamento de petróleo em julho de 2000. Foram coletados espécimes em diferentes pontos (Figura 6), onde de acordo com Bardelli-da-Silva (2014), com valores de TPH (hidrocarbonetos totais de petróleo) em diferentes concentrações. Após a coleta, as amostras utilizadas para a anatomia foram fixadas em FAA 50%, de acordo com Johansen (1940) e em solução de Karvovsky (KARNOVSKY, 1965).

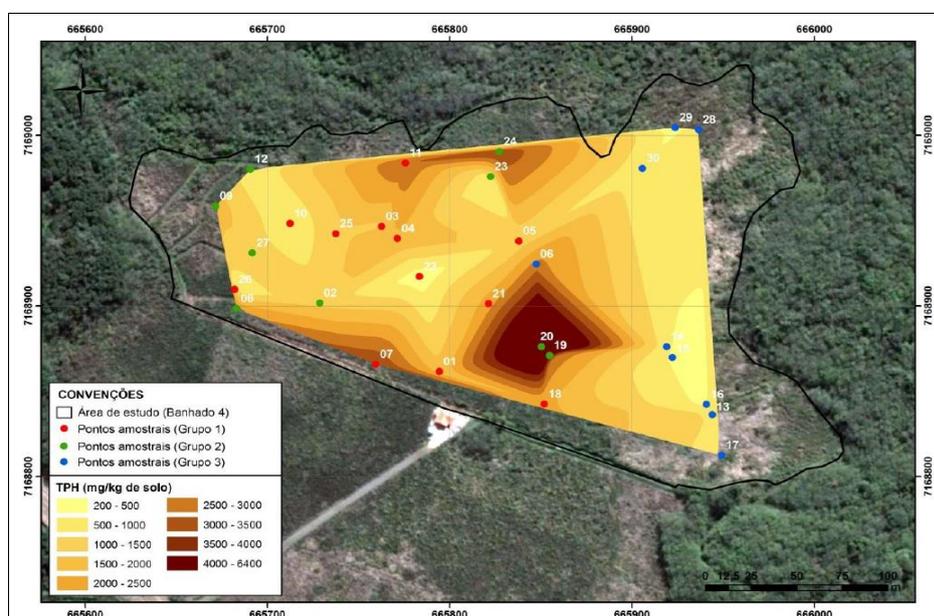


Figura 6. Modelo digital evidenciando valores de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) nos diferentes grupamentos sobre a várzea da REPAR, Araucária, PR. (Fonte: BARDELLI-DA-SILVA, 2014)

3.2 ANATOMIA

3.2.1 Seccionamento a mão livre

Os cortes para análise anatômica das folhas e raízes, fixadas em FAA 50% (JOHANSEN, 1940), foram seccionados à mão livre com o auxílio de uma lâmina de barbear. Estes foram primeiramente clarificados com hipoclorito 50% para posterior

coloração com azul de toluidina (O'BRIEN *et al.* 1965). Após a coloração foram montadas lâminas semipermanentes com gelatina glicerinada (KAISER, 1880).

Para detectar as principais classes de compostos químicos presentes nos órgãos vegetativos foram aplicados diferentes testes histoquímicos nas amostras seccionadas. Assim, para a detecção de compostos fenólicos, utilizou-se solução de cloreto férrico, seguindo a metodologia descrita por Johansen (1940). Para a detecção de lipídeos totais foi utilizado o reagente Sudan III, seguindo a metodologia descrita por Sass (1951).

Posteriormente à coloração e aos testes histoquímicos as lâminas foram observadas em microscópio óptico.

3.2.2 Cortes seriados

Para a realização dos cortes seriados das folhas e raízes, porção distal e ápice, as amostras, depois de fixadas em Karnovsky, foram emblocadas em historresina (Leica Historresin[®], Leica Microsystem, Alemanha), seccionadas transversalmente com 6 µm de espessura em micrótomo rotativo.

Após a secção das amostras, as lâminas foram primeiramente analisadas em fluorescência, no microscópio Olympus DP72, filtros RPF e Texas Red, para a detecção de compostos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, seguindo a metodologia de Wild *et al* (2015).

Posteriormente à análise de fluorescência, as lâminas foram coradas com azul de toluidina (O'BRIEN *et al.* 1965). Na sequência, as lâminas foram montadas com resina sintética e analisadas em microscópio óptico.

3.3 BIOMETRIA DAS FOLHAS

Para detectar possíveis alterações biométricas em *T. domingensis* foram amostrados 40 indivíduos ao total, 20 espécimes de pontos com maior concentração de TPH (contaminado) e 20 de pontos com menor concentração (não contaminado). Destas plantas foram contados o número de folhas por indivíduo e mensurado o

comprimento das cinco maiores folhas de cada indivíduo, com o auxílio de uma trena.

Para a comparação da quantidade de folhas por indivíduo entre as áreas com maior e com menor concentração, assim como para a comparação do comprimento das cinco maiores folhas entre as áreas, foi realizado o teste de comparação de médias, *Levene*, no programa Statgraphics[®], adotando-se o nível de probabilidade de 95%.

4 RESULTADOS

4.1 ANATOMIA

4.1.1 Raiz

4.1.1.1 Ápice

Não foram evidenciadas diferenças anatômicas nos ápices das raízes de *Typha domingensis*, das regiões com maior e menor concentração de TPH. O ápice das raízes (Figura 7) apresenta: epiderme unisseriada; região cortical externa composta por células menores e justapostas; parênquima cortical com drusas e ráfides; endoderme; o periciclo parenquimatoso com 1-2 camadas de células; e o cilindro vascular com o xilema intercalado com o floema.

Os testes histoquímicos, cloreto férrico e Sudam III, não evidenciaram a presença de compostos fenólicos e lipídeos totais, respectivamente.

4.1.1.2 Região distal

Nessa região o parênquima cortical começa a se diferenciar em aerênquima, e nota-se a ausência de drusas ou ráfides (Figura 8).

Na porção distal das raízes de *T. domingensis* também não foram observadas diferenças anatômicas entre as regiões com maior e menor concentração de TPH (Figura 8). Nessa porção mais distal da raiz as características apresentadas são: a epiderme unisseriada; região cortical externa composta por células menores e justapostas; o parênquima cortical começa a se diferenciar em aerênquima através do aumento dos espaços intercelulares e do colapso de células, ausência de drusas ou ráfides; e, a medula, com os vasos do xilema e o parênquima medular.

Assim como no ápice, os testes histoquímicos, cloreto férrico e Sudam III, não detectaram a presença de compostos fenólicos e lipídeos totais, respectivamente, nos exemplares dos locais com maior e menor concentração de TPH.

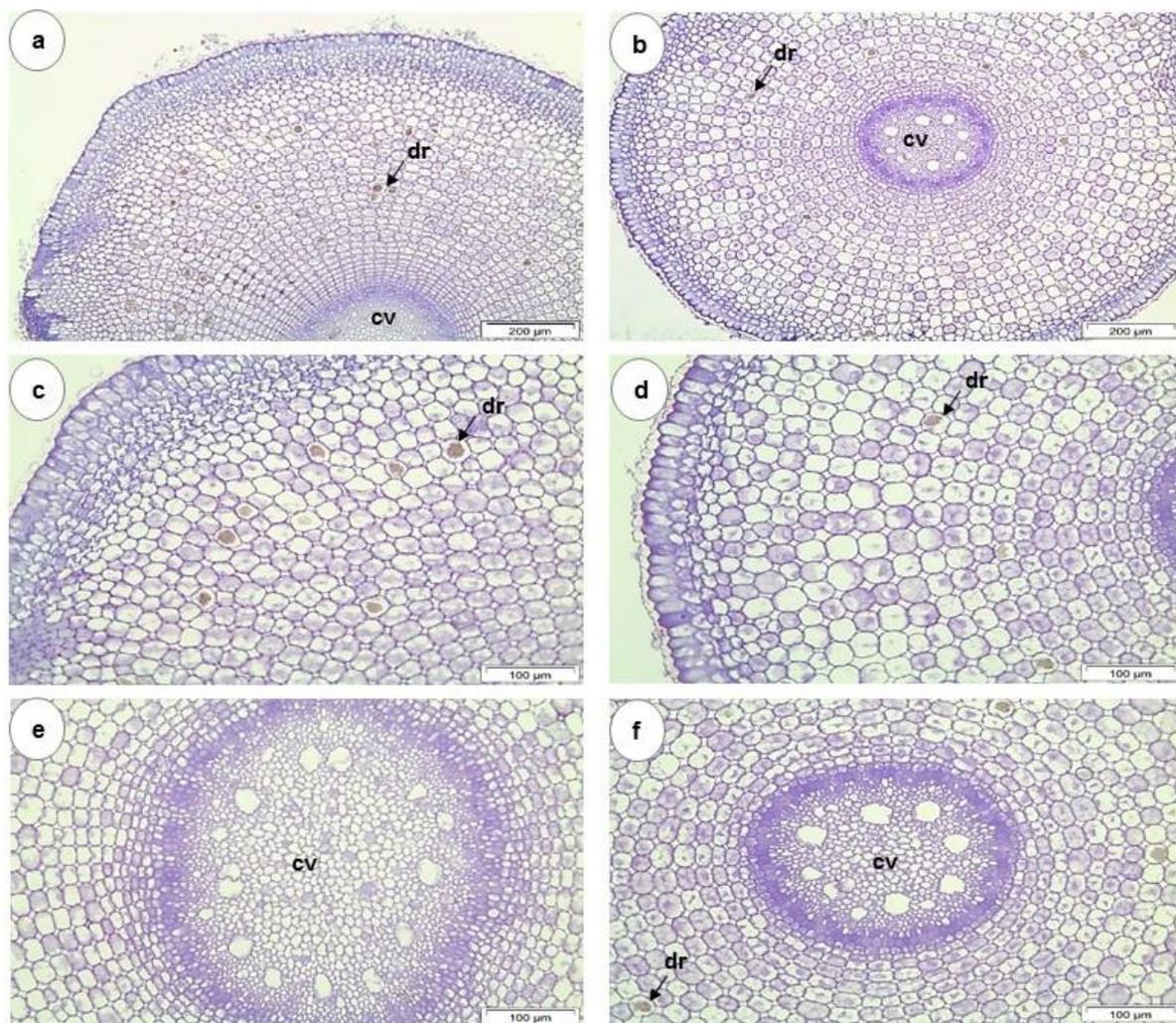


Figura 7. Secções transversais do ápice da raiz de *Typha domingensis* Pers. corados com azul de toluidina. Figuras a, c, e ápices de local com maior concentração de TPH. Figuras b, d, f ápices de local com menor concentração de TPH. dr – drusa; cv – cilindro vascular (Fonte: Autora, 2016)

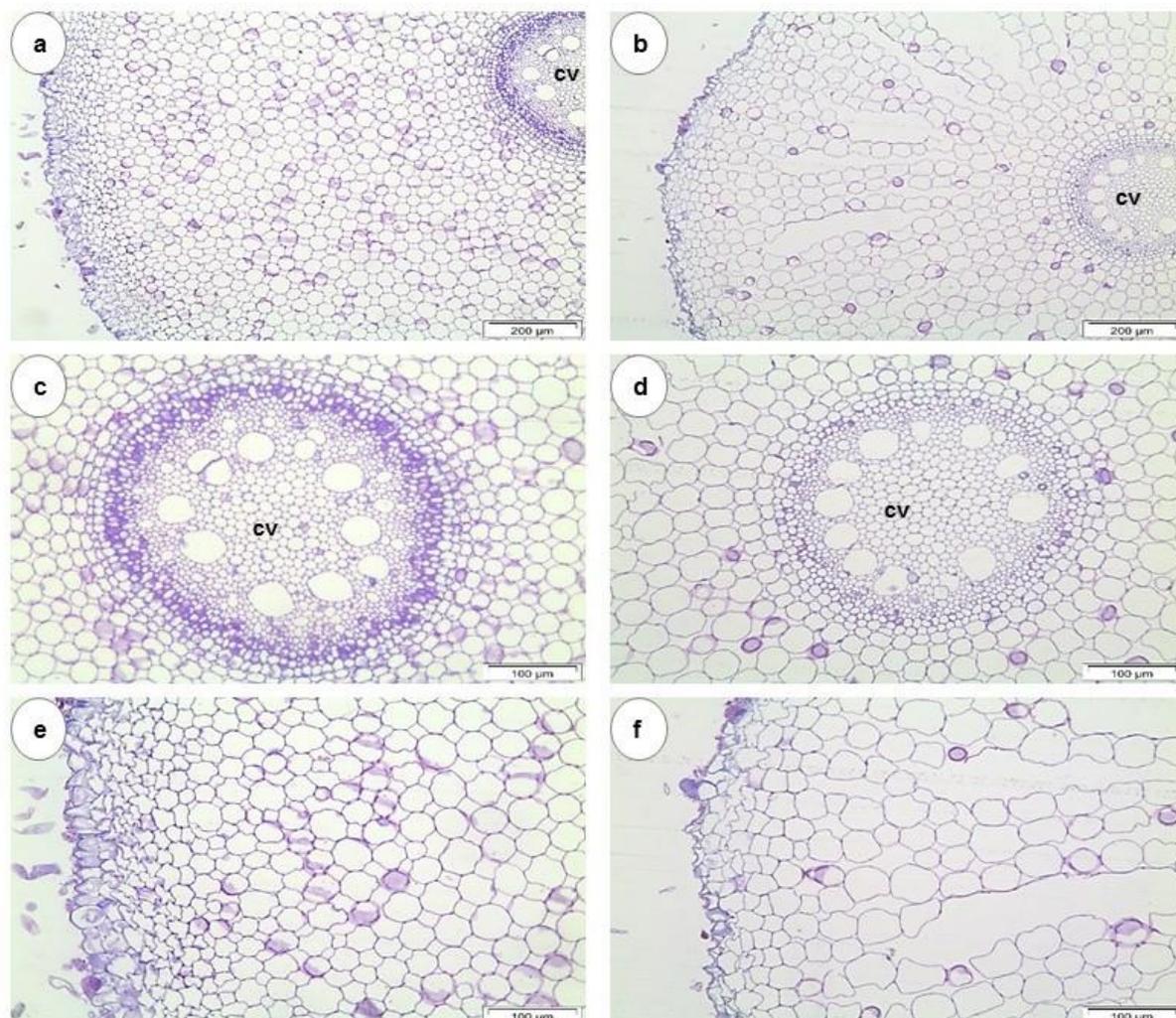


Figura 8. Secções transversais da região distal da raiz de *Typha domingensis* Pers. corados com azul de toluidina. Figuras a, c, e região distal da raiz de local com maior concentração de TPH. Figuras b, d, f região distal da raiz de local com menor concentração de TPH. cv – cilindro vascular (Fonte: Autora, 2016)

4.1.2 Folha

Não foram observadas diferenças anatômicas entre as folhas de *Typha domingensis* de local contaminado e não contaminado. Assim como para as raízes, os testes histoquímicos, cloreto férrico e Sudam III, não detectaram a presença de compostos fenólicos e lipídeos totais, respectivamente.

As folhas de ambos locais (Figura 9) apresentam epiderme unisseriada e fibras nas camadas subepidérmicas, em ambas as faces. O parênquima paliçádico tem três camadas de células nas duas faces, internamente a ele há o parênquima esponjoso, com grandes câmaras de ar com diafragmas. Os feixes vasculares estão

dispostos nas regiões onde encontra-se o parênquima esponjoso, alguns feixes localizam-se próximos ao parênquima paliádico, e são conectados à epiderme por uma bainha vascular fibrosa. Nas extremidades do bordo foliar há a presença de esclerênquima.

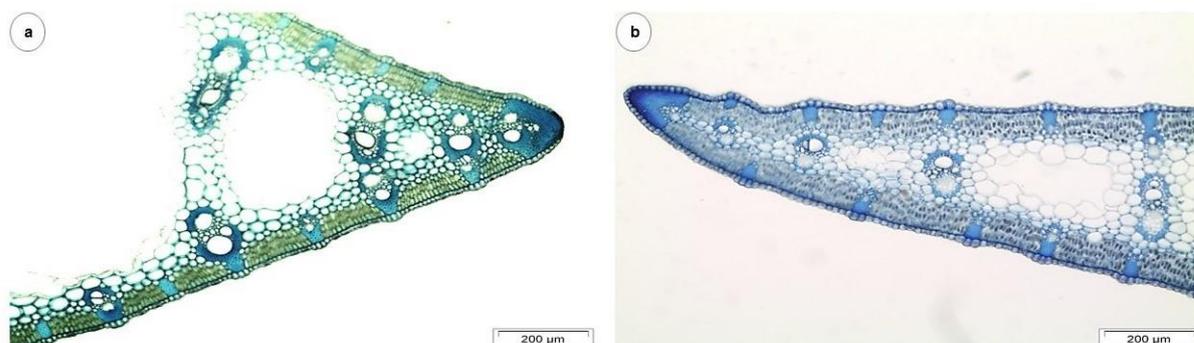


Figura 9. Cortes à mão livre de folhas de *Typha domingensis* Pers. corados com azul de toluidina. Figura a folha de local com maior concentração de TPH. Figura b folha de local com menor concentração de TPH. (Fonte: Autora, 2016)

4.1.3 Fluorescência

Na microscopia de fluorescência não foi observada presença de compostos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (Figura 10) houve apenas a autofluorescência das paredes celulares na região do cilindro vascular das raízes.

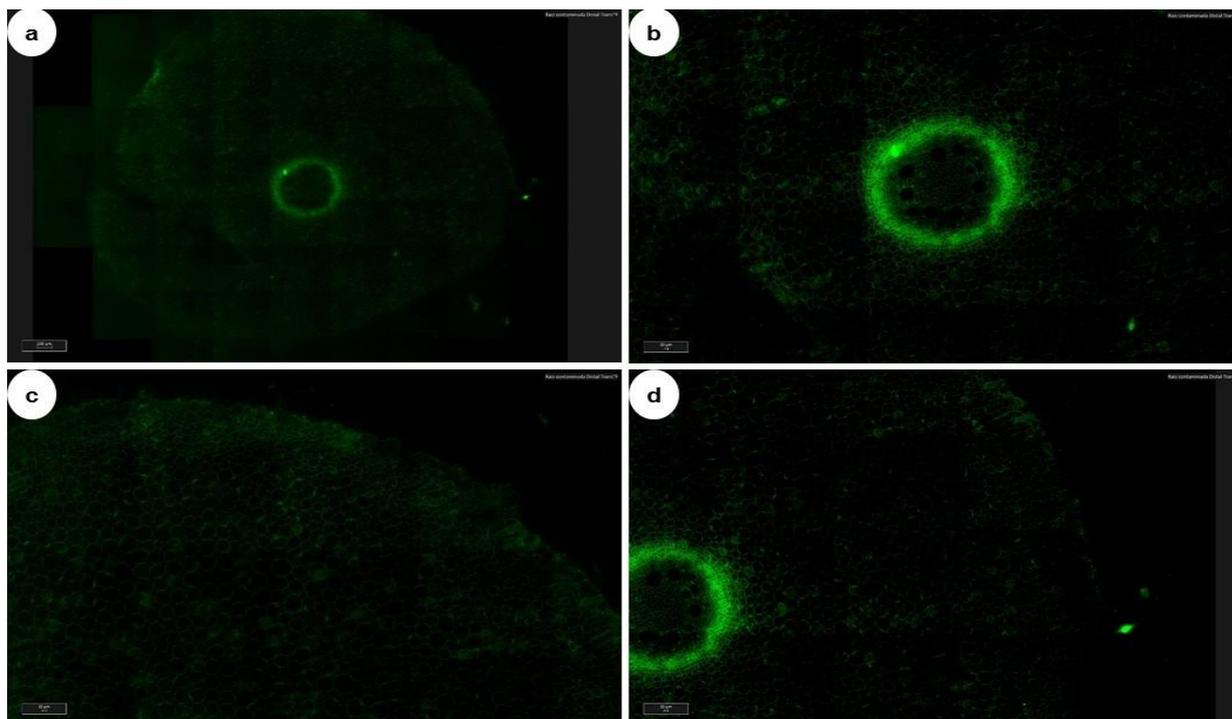


Figura 10. Porção distal da raiz, de *Typha domingensis* Pers., de local com maior concentração de TPH em microscopia de fluorescência. Figura a 100µm. Figuras b, c, d 10µm. (Fonte: Autora, 2016)

4.2 BIOMETRIA DAS FOLHAS

4.2.1 Número de folhas

O número de folhas por indivíduo de cada área, a de maior concentração de TPH (contaminada) e a de menor concentração (não contaminada), não foi significativamente diferente entre si (Tabela 1), sendo a razão F, uma razão entre a estimativa entre grupos e a estimativa dentro do grupo, igual a 0,33, e o valor P do teste F é superior ou igual a 0,05, sendo igual a 0,5704, não existe uma diferença estatisticamente significativa entre as médias das duas áreas, ao nível de confiança de 95% (Figura 11).

Tabela 1. Valores de P e da razão F (ao nível de 95% de confiança) para a análise de comparação de médias do número de folhas por indivíduo das áreas de maior concentração de TPH e de menor concentração. (Fonte: Autora, 2016)

Número de folhas por indivíduo		
	Menor quantidade de TPH (não contaminado)	Maior quantidade de TPH (contaminado)
Média	12,7 folhas	13,1 folhas
Desvio padrão	2,2	2,2
Erro amostral	1,0	1,0
F-Ratio	0,33	
P-Value	0,5704	

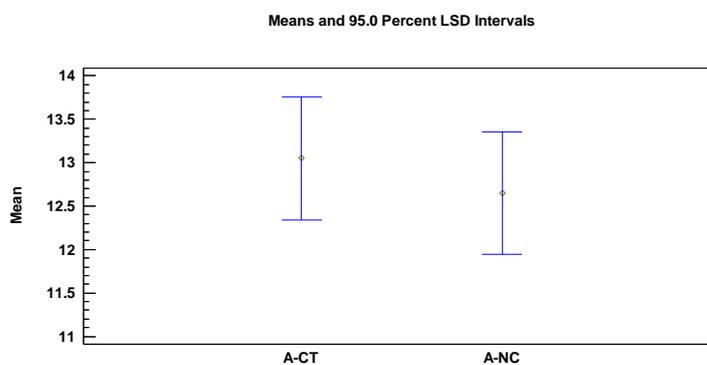


Figura 11. Gráfico da média de folhas por indivíduo nas áreas A-CT (contaminada – maior concentração de TPH) e A-NC (não contaminada – menor concentração de TPH). (Fonte: Autora, 2016)

4.2.2 Comprimento das folhas

O tamanho médio das cinco maiores folhas por indivíduo, medindo a folha inteira (Tabela 2) apresentou diferença significativa entre as regiões de coleta, com a razão F igual a 3,41685, e o valor P do teste F de 0,0007, inferior a 0,05, mostrando que existe uma diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de confiança de 95% (Figura 12).

Tabela 2. Valores de P e da razão F (ao nível de 95% de confiança) para a análise de comparação de médias do comprimento das cinco maiores folhas de cada indivíduo das áreas de maior concentração de TPH e de menor concentração. (Fonte: Autora, 2016)

Comprimento das 5 maiores folhas por indivíduo		
	Menor quantidade de TPH (não contaminado)	Maior quantidade de TPH (contaminado)
Média	208,8 cm	223,4 cm
Desvio padrão	11,0	26,0
Erro amostral	5,2 cm	11,4 cm
F-Ratio	3,41685	
P-Value	0,0007	

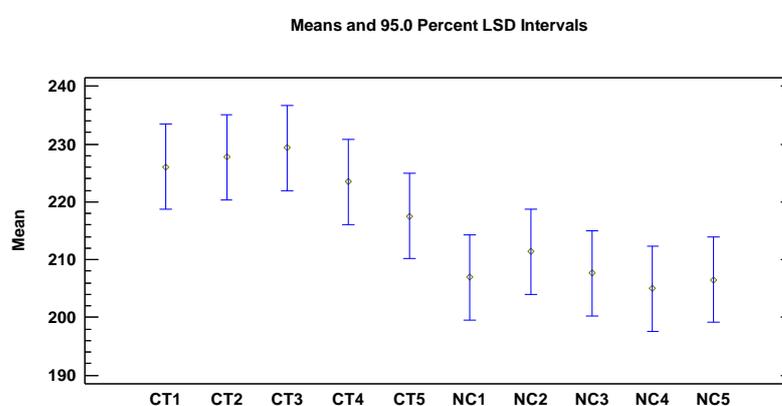


Figura 12. Gráfico da média do comprimento da folha das cinco folhas maiores por indivíduo nas áreas CT (contaminada – maior concentração de TPH) e NC (não contaminada – menor concentração de TPH). (Fonte: Autora, 2016)

5 DISCUSSÃO

As plantas são organismos que respondem rapidamente às mudanças ambientais ocorridas no seu ambiente (OLIVEIRA *et al*, 2008). Algumas plantas não toleram e outras são tolerantes a diferentes tipos de contaminação, as tolerantes são utilizadas nos processos de fitorremediação de ambientes contaminados, para proteger o solo dos efeitos da chuva e do vento e, conseqüentemente, evitando que o contaminante se espalhe (MATTA, TAVARES & MAHLER, 2009; LAMBERT, SOARES & SOUZA, 2012) – processo chamado de fitoestabilização – ou outros processos abaixo mencionados.

Uma das vias de fitorremediação realizada pelas plantas é a fitoextração, onde a planta armazena o contaminante retirado do meio em seus tecidos (MATTA, TAVARES & MAHLER, 2009). Acreditava-se, como hipótese inicial, que a espécie estudada apresentasse esse mecanismo, porém, através dos resultados anatômicos obtidos nesse trabalho nota-se que a espécie *T. domingensis* não adota esse mecanismo de fitorremediação pois, não foram observadas diferenças nos tecidos e células, na anatomia da raiz, ápice e região distal, e folhas (Figuras 9, 10 e 11), e nos testes histoquímicos não foram detectados compostos fenólicos e óleos nos tecidos. Em estudos realizado por Oliveira (2004) e Farias (2005), com as espécies *Schinus terebinthifolius* e *Rhynchospora corymbosa*, respectivamente, também não foram verificadas diferenças visíveis na disposição dos tecidos ou danos nas células da raiz.

Com a microscopia de fluorescência (Figura 10) que, segundo a metodologia de Wild *et al* (2005), denotaria fluorescência azul caso houvesse hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, como o antraceno e o fenantreno, verificou-se que nos indivíduos de *T. domingensis* da área estudada não ocorre absorção e armazenamento do poluente em tecidos.

Porém, Bardelli-da-Silva (2006) observou na anatomia da raiz e dos eofilos, em plântulas da espécie *Sebastiania commersoniana*, que quanto maior o tempo após a contaminação, menor foram os danos nas plântulas. Isso pode ter ocorrido com a espécie *Typha domingensis*, pois os indivíduos analisados no presente estudo não estavam em desenvolvimento inicial.

Outra via de fitorremediação é a fitovolatilização, onde a planta converte os contaminantes em compostos voláteis, esses sendo posteriormente liberados para a atmosfera (MATTA, TAVARES & MAHLER, 2009; LAMBERT, SOARES & SOUZA, 2012). Em análises prévias de Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) não foram evidenciados compostos voláteis derivados de petróleo nas folhas de *Typha domingensis*, mostrando que a espécie não realiza remediação pela conversão do petróleo em compostos voláteis (Thalita Gilda Santos, comunicação pessoal).

Também foi observado que as folhas dos indivíduos de *T. domingensis* nas áreas com maior concentração de TPH cresceram mais do que os de locais com menor concentração, como mostra a Figura 12. Esse crescimento maior nas folhas dos locais com maior concentração de petróleo mostra que de alguma forma a espécie estudada tolera o ambiente contaminado com esse tipo de poluente ou ela se beneficia dos compostos do contaminante para o seu crescimento.

A tolerância ao ambiente ou o aproveitamento de compostos provenientes do petróleo realizado por *T. domingensis* podem ser atribuídos a diversos fatores, dentre eles, o tipo de petróleo que vazou na época, por ele ser do tipo paraníptico, um tipo de petróleo composto de 71% de compostos saturados, 18% de compostos aromáticos, 10% de resina e 1% de asfaltenos, apresentando um grau de toxicidade menor que outros (PETROBRAS, 2003). Outro fator que pode facilitar a tolerância de *T. domingensis*, e o seu maior crescimento nesse ambiente é o mecanismo de remediação por degradação, ou transformação, no qual a planta quebra o poluente através de processos metabólicos enzimáticos, internamente ou externamente, próximo a raiz (MATTA, TAVARES & MAHLER, 2009; LAMBERT, SOARES & SOUZA, 2012). A planta pode metabolizar o petróleo e utilizar o carbono, resultante desse metabolismo, como fonte de crescimento, porém se esta espécie realizasse esse mecanismo seriam evidenciados compostos de petróleo na camada da epiderme dos ápices das raízes, o que não ocorreu.

Pode-se citar a fitoestimulação como outra razão que pode favorecer a permanência de *T. domingensis* neste tipo de ambiente, também conhecida como rizodegradação e ocorre pela ação de organismos que se alimentam pela absorção de substâncias orgânicas, que nesse caso seria o petróleo, existentes próximos às

raízes das plantas dos locais contaminados (MATTA, TAVARES & MAHLER, 2009; LAMBERT, SOARES & SOUZA, 2012). As raízes criam condições mais favoráveis para a presença desses microorganismos, pois elas aumentam a aeração no solo, assim como produção e fornecimento de exsudatos – substâncias que saem das raízes, como açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos, entre outros compostos (MATTA, TAVARES & MAHLER, 2009; LAMBERT, SOARES & SOUZA, 2012). Esses microorganismos passam então a consumir e digerir os compostos orgânicos presentes no meio para a sua nutrição e produção de energia, reduzindo assim o grau de toxicidade do contaminante, gerando outros subprodutos, como álcoois, ácidos, dióxido de carbono e água, assim possibilitando a sua absorção pelas plantas (MATTA, TAVARES & MAHLER, 2009).

Matta, Tavares & Mahler (2009) apresentaram, em seu livro intitulado Fitorremediação – o uso de plantas na melhoria da qualidade ambiente, que outra espécie de taboa, *Typha latifolia*, realiza o último mecanismo descrito, a rizodegração, em solos contaminados com compostos orgânicos, como TPHs e HPAs. Isso pode também estar ocorrendo no local e com a espécie estudada. Porém, estudos de análise da microbiota do solo do local são necessários para confirmar esta hipótese. A espécie *T. domingensis* pode estar realizando esse tipo de fitorremediação, com um mutualismo junto aos microorganismos, onde a planta absorve os subprodutos, produzidos pelos microorganismos, para seu crescimento, já que no local estudado a planta apresentou maior crescimento em solo com maior concentração de petróleo do que em solo com menor concentração. Porém, um estudo complementar precisa ser realizado.

No estudo de Bardelli-da-Silva (2014), após doze anos da contaminação, *T. domingensis* teve uma frequência de 70% na área, mostrando que além do possível mutualismo com uma microbiota, a espécie pode apresentar um maior crescimento nesse local pela ausência de competidores interespecíficos que utilizem os compostos provindos do contaminante como recurso. No entanto, estudos com outras espécies, similares ao aqui realizado com *T. domingensis*, são necessários para averiguar se de fato não ocorre essa competição.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com esse estudo conclui-se que:

- ✓ Anatomicamente não foram observadas diferenças nas folhas e raízes de *Typha domingensis* sob efeito de petróleo.
- ✓ A espécie *Typha domingensis* tolera ambientes contaminados por petróleo ou se beneficia desse contaminante dado o maior crescimento das suas folhas nesses locais do que em locais de menor concentração.
- ✓ É possível que a espécie de taboa estudada, *T. domingensis*, realize o mecanismo de fitoestimulação, e assim estar aproveitando subprodutos da degradação do petróleo para o seu crescimento.

6.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Estudar os microorganismos em locais com maior contaminação e avaliar se a planta absorve os subprodutos da degradação do petróleo promovendo o maior crescimento da espécie.

Ampliar o estudo com um maior número de espécies na área, para analisar outras estratégias adaptativas à contaminação por petróleo.

Avaliar experimentalmente, com a marcação do petróleo em condições controladas, a absorção do poluente pelas espécies presentes na área.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDUL-RASAQ, A.; OMIDIJI, S. O.; OTITOLUJU, A. A. Morphological and anatomical effects of crude oil on *Pistia stratiotes*. **The Environmentalist**, [s.l.], v. 31, n. 3, p.288-298, 15 jun. 2011. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s10669-011-9333-x>
- AGUIAR, C. R. C. et al. Fitorremediação de solos contaminados por petróleo. **Ciências Agrárias e Biológicas**, -, v. 6, n. 1, p.3-9, 2012.
- AKHTER, Noreen. **Adaptive response of *Typha domingensis* Pers. ecotypes to nickel and salinity stresses**. 2014. 183 f. Tese (Doutorado) - Curso de Sciences, University Of Agriculture Faisalabad, Pakistan, 2014.
- ALKIO, M. Stress responses to polycyclic aromatic hydrocarbons in *Arabidopsis* include growth inhibition and hypersensitive response-like symptoms. **Journal Of Experimental Botany**, [s.l.], v. 56, n. 421, p.2983-2994, 10 out. 2005. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/eri295>.
- BALASUBRAMANIAM, A. The Influence of Plants in the Remediation of Petroleum Hydrocarbon- Contaminated Sites. **Pharmaceutical Analytical Chemistry: Open Access**, [s.l.], v. 01, n. 01, p.1-11, 2015. OMICS Publishing Group. <http://dx.doi.org/10.4172/2471-2698.1000105>
- BALASUBRAMANIAM, A.; CHAPMAN, M. M.; HARVEY, P. J. Responses of tall fescue (*Festuca arundinacea*) to growth in naphthalene-contaminated sand: xenobiotic stress versus water stress. **Environmental Science And Pollution Research**, [s.l.], v. 22, n. 10, p.7495-7507, 27 jan. 2015. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-015-4084-8>
- BALLIANA, A. G. et al. Development of *Canavalia ensiformis* in soil contaminated with diesel oil. **Environmental Science And Pollution Research**, [s.l.], p.1-8, 20 out. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-016-7674-1>
- BARDELLI-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)**. 2006. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Botânica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- BARDELLI-DA-SILVA, M. Y. **Florística e estrutura de uma formação pioneira com influência flúvio-lacustre 12 anos após derramamento de óleo, Araucária, Paraná**. 2014. 129 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.
- BELARMINO, M. G. **O sequestro de carbono por rametes de *Typha domingensis* Pers. (Typhaceae) no contexto de adaptação e mitigação das mudanças climáticas**. 2013. 74 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Ambientais e Conservação, UFRJ, Macaé, 2013.
- BONA, C. et al. 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 Bot. Bras.**, [s.l.], v. 25, n. 2, p.277-285, jun. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-33062011000200003>

ERNEST, W. H. O. Physiological and biochemical aspects of metal tolerance. In: MANSFIELD, I. A. **Effects of air pollutants on plants**. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1976. p. 115-133.

ESTEVEES, B. S.; SUZUKI, M. S. Efeito da salinidade nas plantas. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 4, p.662-679, 2008.

FARIAS, L. H. M. **Efeitos do solo contaminado por petróleo nas folhas e raízes de *Rhynchospora corymbosa* (L.) Britt. (Cyperaceae)**. 2005. 73 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Botânica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

FARIAS, V. *et al.* Phytodegradation Potential of *Erythrina crista-galli* L., Fabaceae, in Petroleum-Contaminated Soil. **Appl Biochem Biotechnol**, [s.l.], v. 157, n. 1, p.10-22, 10 mar. 2009. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-009-8531-1>

FOLHA DE SÃO PAULO. Petrobras é condenada por vazamento de óleo no Paraná. Disponível em: <<https://goo.gl/sznzRU>>. Acesso em: 08 nov. 2016.

FUNDAÇÃO DA UNIVERSIDADE FEDERAL PARA O DESENVOLVIMENTO DA CIÊNCIA, DA TECNOLOGIA E DA CULTURA (FUNPAR). **Diagnóstico e monitoramento da cobertura vegetal da área de influência direta e indireta do vazamento de óleo da Refinaria Presidente Getúlio Vargas – REPAR, Araucária / PR: Fase I – Diagnóstico**. UFPR, Curitiba, 2001. 82 p.

HEGAZY, A. K.; ABDEL-GHANI, N. T.; EL-CHAGHABY, G. A.. Phytoremediation of industrial wastewater potentiality by *Typha domingensis*. **International Journal Of Environmental Science & Technology**, [s.l.], v. 8, n. 3, p.639-648, jun. 2011. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/bf03326249>

IBGE. **Manual Técnico da Vegetação Brasileira**. 2. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 2012. 275 p.

IFAS. Imagem *Typha domingensis*. Disponível em: <<https://goo.gl/ktKOAo>>. Acesso em: 08 nov. 2016.

IMOLENE, L. M.. **Avaliação da macrófita aquática *Typha domingensis* Pers. no pós-tratamento de efluentes do campus da UFMS e do hospital universitário, em banhados construídos de fluxo subsuperficial**. 2003. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Saneamento Ambiental e Recursos Hídricos, UFMS, Campo Grande, 2003.

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

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

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

KHAN, M. A. *et al.* Pollution Effect on the Cambial Structure of *Citrus reticulata* var. tangelos. **International Journal Of Botany**, [s.l.], v. 3, n. 4, p.342-350, 1 abr. 2007. Science Alert. <http://dx.doi.org/10.3923/ijb.2007.342.350>.

LAMBERT, L. F. M.; SOARES, R. P. S.; SOUZA, S. C. O uso da fitorremediação para recuperação de solos contaminados por petróleo. **Iii Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**, Goiânia, p.1-5, 2012.

MARANHO, L. T. *et al.* Efeitos da poluição por petróleo na estrutura da folha de *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl., Podocarpaceae. **Acta Bot. Bras.**, [s.l.], v. 20, n. 3, p.615-624, set. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-33062006000300011>

MARANHO, L. T. *et al.* Effects of the pollution by petroleum on the tracheids along the stem of *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl., Podocarpaceae. **Braz. J. Biol.**, [s.l.], v. 69, n. 2, p.263-269, maio 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1519-69842009000200005>

MATTA, J. C. M.; TAVARES, S. R. L.; MAHLER, C. F. **Fitorremediação: O uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental**. São Paulo: Oficina de Textos, 2007.

MEDEIROS, J. G. S. *et al.* Tree-ring characterization of *Araucaria columnaris* Hook and its applicability as a lead indicator in environmental monitoring. **Dendrochronologia**, Piracicaba, v. 26, n. 3, p.165-171, 31 out. 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dendro.2008.07.002>

MELO, C. L., *et al.* Contaminação do Lençol Freático pelo Vazamento de Óleo na Refinaria Presidente Getúlio Vargas - REPAR, Município de Araucária, Paraná. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, [s.l.], v. 8, n. 1, p.13-19, 2003. Associação Brasileira de Recursos Hídricos - ABRH. <http://dx.doi.org/10.21168/rbrh.v8n1.p13-19>

MICHEL, J.; TREVOR, G.; WALDRON, J.; BLOCKSISIDGE, C.T.; ETKIN, D.S. & URBAN, R. Potentially Polluting Wrecks in Marine Waters. **International Oil Spill Conference**. Miami, p. 1-84, 2005.

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

OLIVEIRA, L. S. **Influência do solo contaminado com petróleo na morfologia e fisiologia de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)**. 2004. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Botânica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

OLIVEIRA, L. S. *et al.* Crescimento de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) em solo contaminado com petróleo. **Acta Ambiental Catarinense**, Chapecó, v. 5, n. 1, p.21-33, 2008. Disponível em: <https://goo.gl/AcKnSh> Acesso em: 09 nov. 2016.

PETROBRAS. **Caracterização física e química preliminar do óleo derramado na REPAR em julho de 2000**. Curitiba, 2003. 2p. Relatório técnico.

RODERJAN, C. V. *et al.* As unidades fitogeográficas do Estado do Paraná. **Ciência e Ambiente**, Santa Maria, v. 24, n. 1, p.42-75, 2002.

RODRIGUES, T. T. **Os efeitos do solo contaminado com petróleo na estrutura anatômica e estado nutricional do lenho jovem de *Campomanesia xanthocarpa* Berg (Myrtaceae) e *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith & Downs (Euphorbiaceae)**. 2005. 154 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. 2^a ed. Ames, The Iowa State College Press, 391 p. 1951.

SHARANOVA, N.; BREUS, I. Tolerance of cultivated and wild plants of different taxonomy to soil contamination by kerosene. **Science Of The Total Environment**, v. 424, p.121-129, 2012.

SILVA, C. O. **Características anatômicas e fisiológicas de *Typha domingensis* Pers. submetida a concentrações crescentes de arsênio**. 2014. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Botânica Aplicada, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

ZAND, A. D.; BIDHENDI, G. N.; MERHDADI, N. Phytoremediation of total petroleum hydrocarbons (TPHs) using plant species in Iran. **Tubitak**, Iran, v. 34, p.429-438, 2010.

WILD, E. *et al.* Direct Observation of Organic Contaminant Uptake, Storage, and Metabolism within Plant Roots. **Environmental Science & Technology**, [s.l.], v. 39, n. 10, p.3695-3702, maio 2005. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/es048136a>.

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

**APÊNDICE A – TABELA COM OS DADOS DO NÚMERO DE FOLHAS E
COMPRIMENTO DAS CINCO MAIORES DE LOCAL COM MENOR
CONCENTRAÇÃO DE TPH**

MENOR CONCENTRAÇÃO DE TPH						
Indivíduo	Nº DE FOLHAS	COMPRIMENTO DAS 5 MAIORES (cm)				
		1	2	3	4	5
1	14 folhas	228	236	237	240	221
2	15 folhas	221	229,5	189	221,4	230,5
3	12 folhas	203,2	227,7	221,3	192,7	216
4	16 folhas	215,7	217,7	202	214,5	222,5
5	16 folhas	193,7	208	182,7	200,2	209,5
6	11 folhas	188	204	204,2	180,4	184
7	14 folhas	211,7	225,7	214,5	205,5	219,9
8	14 folhas	227,5	215,5	224,5	207	221
9	13 folhas	225	219,5	197,2	216,4	206,7
10	12 folhas	194	213,2	206,6	211,5	201,5
11	12 folhas	220	228	222,4	231	220
12	9 folhas	195	187	202,5	179,7	187
13	11 folhas	211,9	220,6	219,5	217,3	206,8
14	11 folhas	202,7	220,2	216,6	183,8	214,6
15	8 folhas	206	181	188,4	219,3	199,2
16	11 folhas	187	198,4	210,6	204,5	202,8
17	15 folhas	195	197,7	202	207,6	186,9
18	12 folhas	221,9	208,4	221,7	204,1	202,5
19	12 folhas	208	224	221	191	204,5
20	15 folhas	205	190	199,5	207	188

**APÊNDICE B – TABELA COM OS DADOS DO NÚMERO DE FOLHAS E
COMPRIMENTO DAS CINCO MAIORES DE LOCAL COM MAIOR
CONCENTRAÇÃO DE TPH**

MAIOR CONCENTRAÇÃO DE TPH						
Indivíduo	Nº DE FOLHAS	COMPRIMENTO DAS 5 MAIORES (cm)				
		1	2	3	4	5
1	15 folhas	208,7	212	198,5	190,4	171,5
2	14 folhas	206,4	191,8	179	162,2	148,5
3	12 folhas	200	187	167,4	148	156
4	11 folhas	199,5	191	179	159	150
5	15 folhas	224,5	231,5	212	207,5	193
6	10 folhas	228	239,5	253,8	213,2	250,6
7	11 folhas	248	254,6	263,3	250	238
8	14 folhas	190,7	248,7	224,5	241	240,5
9	9 folhas	223	209,2	192,2	193,5	219,1
10	16 folhas	237	247,2	248	238	198,5
11	12 folhas	229	242,9	264,4	264	266,5
12	14 folhas	254,5	247,1	251	259,5	250,6
13	15 folhas	214	230,5	238	237,5	219,2
14	12 folhas	223	247	233,4	209,5	224,2
15	9 folhas	221	199	244,3	253	223,5
16	15 folhas	237,9	250,5	254,4	241,4	214,5
17	15 folhas	262,1	259	253,2	256,5	243,5
18	12 folhas	257,7	218,5	234	254	241,9
19	15 folhas	245,5	227,7	244	229	238,7
20	15 folhas	193,9	205,5	222	230	216