



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO – UFMA.
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICA E DA SAÚDE – CCBS.
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA E LIMNOLOGIA – DEOLI.
CURSO DE OCEANOGRAFIA.

EMILLY GABRIELLE DO NASCIMENTO ABREU.

EFEITOS DO ÓLEO DIESEL NA GERMINAÇÃO DE *Laguncularia racemosa*, C F Gartn. EM LABORATÓRIO.

São Luís – MA

2021

EMILLY GABRIELLE DO NASCIMENTO ABREU.

**EFEITOS DO ÓLEO DIESEL NA GERMINAÇÃO DE *Laguncularia racemosa*, C F
Gartn EM LABORATÓRIO.**

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Oceanografia da Universidade Federal do Maranhão, para obtenção do Grau de Bacharel em Oceanografia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Flávia Rebelo Mochel.

São Luís – MA

2021

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Abreu, Emilly Gabrielle do Nascimento.

EFEITOS DO ÓLEO DIESEL NA GERMINAÇÃO DE *Laguncularia racemosa*, C F Gartn. EM LABORATÓRIO / Emilly Gabrielle do Nascimento Abreu. - 2021.

37 f.

Coorientador(a): Ilisandra Zanandrea.

Orientador(a): Flávia Rebelo Mochel.

Monografia (Graduação) - Curso de Oceanografia,
Universidade Federal do Maranhão, São Luis, 2021.

1. Combustível. 2. Manguezal. 3. Tecido vegetal. I.
Mochel, Flávia Rebelo. II. Zanandrea, Ilisandra. III.
Título.

EMILLY GABRIELLE DO NASCIMENTO ABREU

**EFEITOS DO ÓLEO DIESEL NA GERMINAÇÃO DE *Laguncularia racemosa*, C F
Gartn EM LABORATÓRIO.**

Monografia apresentada ao Curso de
Graduação em Oceanografia da
Universidade Federal do Maranhão, para
obtenção do Grau de Bacharel em
Oceanografia.

Aprovada em ____ de ____ de ____.

Banca Examinadora

Prof.^a Dr.^a FLÁVIA REBELO MOCHEL

Orientadora/DEOLI/UFMA

Prof.^a Dr.^a ILISANDRA ZANANDREA

Coorientadora/DEBIO/UFMA

Dr. JAMES WERLLEN DE JESUS AZEVEDO

Banca/DEOLI/UFMA

Prof.^a Dr.^a NAÍLA ARRAES DE ARAÚJO

Suplente/DEOLI/UFMA

DEDICATÓRIA

A minha mãe, por toda dedicação em prol de meus estudos e obtenção de minha formação.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo sustento durante toda graduação e por me permitir chegar até aqui. Toda honra e toda glória seja dada à ti senhor.

Agradeço a minha mãe Dorinalva, minha maior incentivadora, que sempre priorizou meus estudos e forneceu todo suporte, para que este sonho pudesse se tornar realidade. Agradeço ao meu irmão Filipe, minhas avós Creuza e Domingas, meu avó Francisco, minhas tias e tios, primas e primos, por todo carinho.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Flávia Rebelo Mochel, por todo conhecimento compartilhado, oportunidades de pesquisas e desenvolvimento acadêmico. Sou imensamente grata querida professora, por todo empenho e dedicação com seus alunos.

Aos integrantes do Laboratório de Manguezais – LAMA, o qual eu faço parte. Por todos esses anos de companheirismo.

Aos meus amigos e amigas de graduação, que muito contribuíram ao longo desses anos, tornando assim à experiência acadêmica mais leve.

À todo corpo docente do Departamento de Oceanografia e Limnologia, que se dispuseram a nós ensinar, gerando conhecimento e agregando valor ao nosso propósito. Assim como a todos funcionários do departamento, em especial ao senhor Junior e senhor Davi, que sempre colaboraram para o desenvolvimento de nossas pesquisas.

E minha banca examinadora, Flávia, Ilizandra, James e Naíla por prontamente terem aceitado o convite em me orientar, na construção do meu trabalho de conclusão de curso.

*Se a educação sozinha não
transforma a sociedade, sem ela
tampouco a sociedade muda.*

Paulo Freire

RESUMO

O manguezal é um ecossistema costeiro e de transição entre de transição entre os ambientes terrestres e marinhos, e serve de berçário ecológico para diversas espécies, além de possui um alto valor econômico. Dentre os derivados do petróleo, o óleo diesel apresenta-se como um potencial contaminante de ecossistemas aquáticos. A partir dessas constatações houve a necessidade de se realizar pesquisas, e análises morfológicas que contribuam para o conhecimento das respostas da espécie *Laguncularia racemosa* a tensores ambientais. As mudas produzidas em viveiro estão em um ambiente propício para bioensaios e simulação de diferentes condições experimentais, entre elas a variação e exposição de diferentes percentuais de óleo diesel S10. A praia do Mangue Seco, situa-se no município de Raposa, à noroeste do município de São Luís, Ilha de São Luís, Maranhão entre as coordenadas 2° 27' 06,86" e 2° 27' 21,81" S e 44° 09' 20,33" e 44° 09' 45,76" W. Para as análises estatísticas, foi utilizado software Past 3.14, onde as hipóteses foram testadas quanto as suas diferenças e significâncias. O presente estudo, mostrou-se possivelmente influenciado pelo óleo diesel S10, onde afetou germinação, desenvolvimento e tecidos vegetais da espécie de mangue *Laguncularia racemosa*, visto que de acordo com dados estatísticos obtidos, notou-se que o controle apresentou bons índices de germinabilidade (%), em comparação aos tratamentos que receberam introdução de óleo diesel S10, onde houve maiores índices de mortalidade (%).

Palavras-chaves: Manguezal, combustível, tecido vegetal.

ABSTRACT

The mangrove is a coastal ecosystem and transition between transition between terrestrial and marine environments, and serves as an ecological nursery for several species, besides having a high economic value. Among petroleum derivatives, diesel oil presents itself as a potential contaminant of aquatic ecosystems. Based on these findings, there was a need to conduct research, and morphological analyses that contribute to the knowledge of the responses of the species *Laguncularia racemosa* to environmental tensors. The seedlings produced in a nursery are in an environment conducive to bioassays and simulation of different experimental conditions, including the variation and exposure of different percentages of S10 diesel oil. Mangue Seco beach, it is located in the municipality of Raposa, northwest of the municipality of São Luís, São Luís Island, Maranhão between the coordinates 2° 27' 06.86" and 2° 27' 21.81" S and 44° 09' 20.33" and 44° 09' 45.76" W. For statistical analyses, past 3.14 software was used, where the hypotheses were tested for their differences and significance. The present study was possibly influenced by Diesel Oil S10, where it affected germination, development and plant tissues of the mangrove species *Laguncularia racemosa*, since according to statistical data obtained, it was observed that the control showed good germination rates (%), compared to treatments that received introduction of S10 diesel oil, where there were higher mortality rates (%).

Keywords: Mangrove, fuel, vegetable tissue.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Localização da praia do Mangue Seco, no município de Raposa, Maranhão.

Figura 2 – *Laguncularia racemosa*, C F Gartn.

Figura 3 – Água estuarina coletada do canal do Mangue Seco, verificando a salinidade com um refratômetro modelo Q767-3 Quimis.

Figura 4 – Óleo diesel S10 utilizado na realização do procedimento experimental.

Figura 5 – Introdução de óleo diesel S10 nas cubetas, em 500 ml de água estuarina.

Figura 6 – Etapa de embebição de propágulos de *Laguncularia racemosa*.

Figura 7 – Germinação de propágulo de *Laguncularia racemosa*, com extrusão do hipocótilo.

Figura 8 – Encerramento do período de germinação de *Laguncularia racemosa*.

Figura 9 – Após a finalização do procedimento experimental, foi realizado a contagem do índice de mortalidade dos propágulos não germinados em A) B) C) D) E) F).

Figura 10 – Análise boxplot de mortalidade (%).

Figura 11 – Análise boxplot de germinabilidade (%).

Figura 12 – Distribuição dos componente 1 e componente 2, de acordo com a análise de PCA.

Figura 13 – Análise de clustering, agrupamento conforme a similaridade dos percentual de óleo diesel S10.

Figura 14 – Distribuição total da soma de mortalidade x sobrevivência.

Figura 15 – Cortes histológicos de propágulo de *Laguncularia racemosa*, corados com Azul de Toluidina 1% e Safranina 1% para análise em microscópio óptico. Sendo A) Controle e B) tratamento 4% de óleo diesel S10.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Transformação de Volume (ml) em Percentual (%) de óleo diesel S10 utilizado na realização do procedimento experimental.

Tabela 2 – Percentual de porcentagem dos índices de mortalidade e sobrevivência.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CERMANGUE – Centro de Recuperação de Manguezais

DEOLI – Departamento de Oceanografia e Limnologia

FISPQ – Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico

H₂O – Água destilada

LFAV – Laboratório de Fisiologia e Anatomia Vegetal

LAMA – Laboratório de Manguezais

ML – Mililitro

NaClO – Hipoclorito de sódio

PCA – Principal Component Analysis

UFMA – Universidade Federal do Maranhão

% – Percentual

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	17
2.2 Objetivo geral	17
2.3 Objetivo específico	17
3. METODOLOGIA	17
3.1 Caracterização da área de estudo	17
3.2 Procedimentos de amostragem	19
3.3 Germinabilidade	21
3.4 Análise de dados	24
3.5 Cortes histológicos	25
3.6 Análise estatística	26
4. RESULTADOS E DISSCUÇÃO	26
5. CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

1. INTRODUÇÃO

O manguezal é um ecossistema costeiro, de transição entre os ambientes terrestres e marinhos, característico de regiões tropicais e subtropicais, sujeito ao regime das marés. Dessa forma, possui uma vegetação arbórea que é totalmente adequada ao substrato salino presente na composição da água marinha (SALGADO NETO, 2012).

São importantes pois, além de serem berçários para muitas espécies de valor ecológico e econômico, influenciam o clima local e global, auxiliam no controle de enchentes, atuam na produção de oxigênio e no sequestro de carbono na zona costeira. O ecossistema manguezal funciona como um filtro biológico retendo substâncias poluentes, produz matéria orgânica e protege o litoral formando uma barreira à erosão, diminuindo a energia das marés, ondas e ventos. Segundo Paula et al. (2012) E MOCHEL (2016),

Segundo a Lei Federal nº 12.651/12, uma APP pode ser caracterizada como uma área protegida, coberta ou não por vegetação nativa, com função ambiental de preservar os recursos hídricos, a paisagem, a estabilidade geológica e a biodiversidade, facilitar o fluxo gênico de fauna e flora, proteger o solo e assegurar o bem-estar das populações humanas (BRASIL 2012).

Embora seja considerado importante o seu valor de existência, as florestas de mangues, ao longo dos anos, vêm sendo alvo de degradação resultante da ação humana, que ao desenvolver-se tecnologicamente e crescer em termos populacionais, tende a consumir de forma rápida e insustentável os recursos naturais (COUTINHO, 2004).

Contudo, observa-se que, mesmo diante da tutela do Estado, atividades econômicas de alto impacto vêm consumindo áreas de manguezal ao longo da costa brasileira, especialmente a nordestina (MEIRELES; QUEIROZ, 2012).

A recuperação de áreas degradadas está prevista na Constituição Federal do Brasil de 1988 e na Lei Lei n. 6.938/81 regulamentada pelo Decreto-Lei Decreto-Lei n. 97.632/89 como parte integrante e obrigatória do Relatório de Impacto Ambiental e deve ser orientado por um planejamento técnico chamado Plano de Recuperação de Área Degradada, PRAD (ALMEIDA, 2016).

A germinação de sementes é um processo biológico dependente de fatores ambientais como água, temperatura, oxigênio e luz. Através da embebição ocorrem a reidratação dos tecidos das sementes, ativação de reações metabólicas e mobilização das reservas necessárias para o crescimento (Bewley & Black 1994).

A fase de germinação e estabelecimento de plântula é um estágio crítico no ciclo de vida de todas as plantas, mas é particularmente crucial para as espécies de mangue devido às condições do ambiente entre-marés. As plântulas de mangue, além de manter-se frente ao estresse típico de sistemas florestais como sombreamento e herbivoria, deve superar substratos instáveis e anaeróbicos, inundação periódica pelas marés e altas salinidades (McKee, 1995). A influência de fatores abióticos, como salinidade (Ball, 1988; Karim & Karim, 1993; Ghowail et al., 1993), potencial redox, pH, alagamento (Wakushima et al., 1994; McKee, 1996; Pezeshki et al., 1997), luz, nutrientes (McKee, 1995) e distúrbios (Ellison & Farnsworth, 1993), vem sendo demonstrada em diversos estudos com plântulas de mangue.

A Anatomia Vegetal é o ramo da Botânica que estuda a estrutura interna dos organismos vegetais, permitindo a descrição de células, tecidos e órgãos quanto a sua ontogênese, constituição e função (APPEZZATO-DA-GLÓRIA & CARMELLO-GUERREIRO 2003).

O desenvolvimento de um estudo morfológico interno em plantas necessita o preparo prévio do material para observação em Microscopia de Luz. Assim, várias etapas antecedem esse procedimento, incluindo coleta, fixação, desidratação, infiltração, emblocamento, corte e coloração do material. Estas etapas devem seguir premissas básicas para se obter o resultado desejado (SASS, 1940).

Segundo Sousa, Kennedy e Mitchel (2003) o tamanho do propágulo, por meio da sua influência no desempenho das mudas, pode afetar a taxa e o curso da regeneração após perturbação. Uma vantagem de tamanho precoce de plântulas, provenientes de propágulos com peso maior, poderia fazer uma grande diferença na sua resiliência, uma vez que durante o auto desbaste natural, as plântulas maiores se sobressaem as menores em crescimento e sobrevivência (Sousa, Kennedy e Mitchel 2003).

Os efeitos do petróleo e seus derivados nos manguezais vêm sendo investigados há mais de 40 anos através de experimentos de campo e laboratório, além de observações diretas de derrames acidentais (NOAA, 2003).

Os manguezais estão entre os ecossistemas costeiros mais ameaçados nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. O equivalente a pelo menos 35%-50% dessas florestas costeiras tem sido destruída, com uma perda anual de 0.4% do total de manguezais remanescentes no mundo (ALONGI 2002; DIEGUES 1999; FAO 2007; GIRI ET AL. 2011; HAMILTON & CASEY 2016; J. LÓPEZ-PORTILLO ET AL. 2017). López-Portillo et al. 2017 citam que as principais causas da degradação dos manguezais podem ser de origem natural,

como por exemplo erosão e efeitos indiretos provocados por tsunamis; ou podem ser de origem antrópica causados pela poluição por óleo, assoreamento, aquicultura, etc.

Dentre os impactos antropogênicos nas regiões costeiras, a contaminação aquática caracteriza-se como uma das mais complexas e, portanto, mais desafiadoras de se avaliar. Dejetos e subprodutos das mais variadas atividades, como os provenientes da atuação da indústria do petróleo e da ineficiência na coleta e tratamento do esgoto doméstico, compreendem misturas complexas, que quando não tratados e lançados diretamente no ambiente, podem exercer danos variados nos organismos expostos. Esses compostos químicos, tecnicamente chamados de xenobióticos, podem causar alterações biológicas em nível molecular, celular ou fisiológico, resultando em um efeito negativo não apenas nas comunidades animais e vegetais naturais, como nos organismos cultivados e destinados para o consumo humano (MOORE et al., 2004).

Dentre os derivados do petróleo, o óleo diesel apresenta-se como um potencial contaminante de ecossistemas aquáticos pela sua utilização como combustível marítimo de pequenas e médias embarcações, e navios. Além disso, efluentes contendo óleo diesel constantemente atingem as regiões costeiras como consequência de sua utilização como combustível de veículos rodoviários e máquinas em geral (KENNISH, 1992).

De acordo com Gabardo (2007) e Tiburtius et al. (2005), o aporte crônico de petróleo e seus derivados pode ocorrer através do escoamento urbano, de efluentes industriais e domésticos, da navegação, do transporte e da produção em áreas offshore, além de pequenos e contínuos vazamentos de combustíveis em pontos de distribuição. Como a maior parte do consumo de petróleo ocorre em terra, os rios, sistemas de drenagem de águas pluviais e de esgotamento sanitário carregam a maior parcela de óleo que chega aos ecossistemas costeiros (FILHO, 2006; LATIMER; ZHENG, 2003). Porém, vale ressaltar que muitos destes compostos também ocorrem naturalmente na região costeira e oceanos por exsudação natural de petróleo (BURGESS; AHRENS; HICKEY, 2003).

A maioria destes estudos demonstra que o óleo prejudica ou mata as árvores de mangue. O que é menos óbvio é como estes danos ocorrem e os mecanismos de toxicidade envolvidos (NRC, 2003).

Os efeitos agudos e crônicos variam de acordo com o tipo de planta e de óleo envolvido. *Laguncularia racemosa* é mais sensível do que *Rhizophora mangle* (TOUCHETTE et al., 1992),

juvenis são mais sensíveis do que plantas já estabelecidas (IMBERT et al., 2000) e óleos leves são mais tóxicos que os óleos densos (DUKE et al. 2000).

A partir dessas constatações houve a necessidade de se realizar pesquisas, e análises morfológicas que contribuam para o conhecimento das respostas da espécie *Laguncularia racemosa* a tensores ambientais, desde a fase inicial de seu desenvolvimento e cujos resultados possam se traduzir em novas técnicas de recuperação ecológica. A produção de mudas de mangue em viveiro em ambiente controlado é um dos requisitos básicos para a recuperação ecológica induzida (MOCHEL, 2019). As mudas produzidas em viveiro estão em um ambiente propício para bioensaios e simulação de diferentes condições experimentais, entre elas a variação e exposição de diferentes percentuais de óleo diesel S10.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente estudo tem por objetivo principal, analisar a influência de óleo diesel S10, submetido à diferentes percentuais na germinação da espécie *Laguncularia racemosa*, produzidas em laboratório.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Monitorar a germinação e desenvolvimento dos propágulos.
- ✓ Verificar as diferenças nas respostas entre os propágulos do controle e tratamentos, submetidos aos percentuais de óleo diesel experimentais.
- ✓ Analisar em microscópio óptico a morfologia de cortes histológicos, sob os efeitos de óleo diesel S10 nas estruturas e tecidos vegetais dos propágulos de *Laguncularia racemosa*.
- ✓ Analisar e identificar as ocorrências, taxas de mortalidade e sobrevivência em germinação dos propágulos da espécie.

3. METODOLOGIA

3.1 Caracterização da área de estudo

A praia do Mangue Seco, situa-se no município de Raposa, à noroeste do município de São Luís, Ilha de São Luís, Maranhão entre as coordenadas 2° 27' 06,86" e 2° 27' 21,81" S e 44° 09' 20,33" e 44° 09' 45,76" W, conforme à **Figura 1**. A escolha da área deu-se em função de uma avaliação qualitativa da área, associado a distância dos grandes centros urbanos. Gerando um cenário de baixa interferência antrópica resultando exuberante área de vegetação

e disponibilidade de propágulos e água estuarina do ecossistema manguezal, bem característico da classificação climática da região.

O clima é equatorial quente e úmido, cuja temperatura apresenta-se em torno de 28°C, ventos predominantemente de Nordeste com velocidade média de 6 m/s. A pluviosidade média é de 2.900 mm/ano, sendo marcada por um período de estiagem de julho a dezembro e chuvoso entre janeiro à junho, sobretudo nos meses de fevereiro, março e abril (ARAÚJO; RANGEL, 2012).

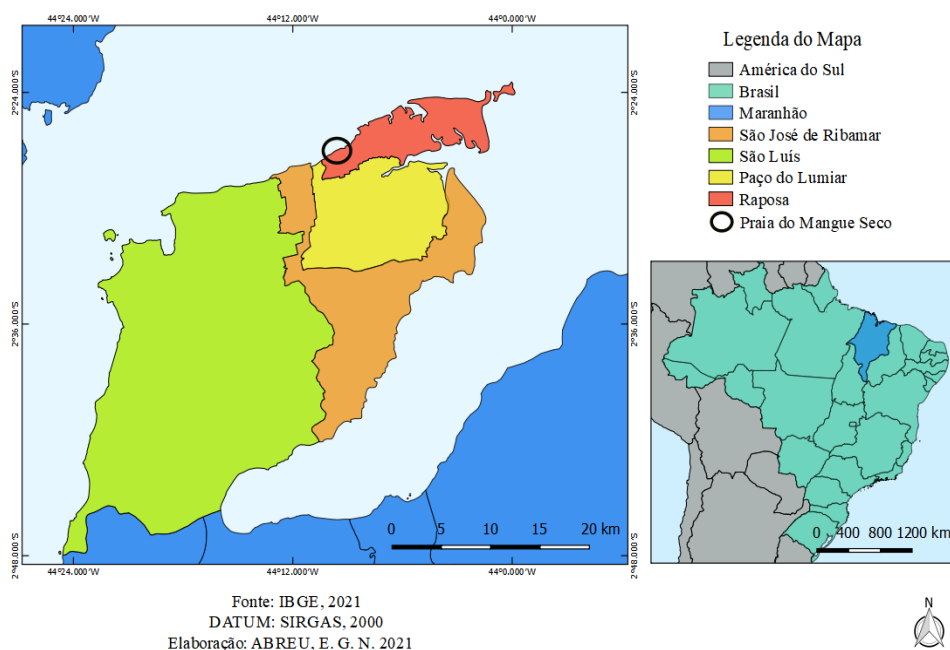
Seu município possui uma população estimada (2021) 31.586 pessoas, e área da unidade territorial (2020) com aproximadamente 79,213 km², segundo dados do IBGE (2021).

Localizando-se em direção ao norte pelo Oceano Atlântico, ao sul pelos municípios de Paço do Lumiar e de São José de Ribamar, a leste pela ilha de Curupu e a baía de São Marcos e a oeste pelo município de São Luís. O acesso à praia do Mangue Seco é feito através da estrada da Raposa (MA-203).

A economia da comunidade Mangue Seco, tal como as principais fontes de renda do município de Raposa, é proveniente do artesanato, turismo, e pesca artesanal, oriunda da extração e comercialização de mariscos, crustáceos e peixes, além da extração da madeira do manguezal para construção de moradias e embarcações.

Figura 1 – Localização da praia do Mangue Seco, no município de Raposa, Maranhão.

MAPA DE LOCALIZAÇÃO DA PRAIA DO MANGUE SECO - RAPOSA/MA



3.2 Procedimentos de amostragem

Foi realizado 3 coletas, sendo elas divididas em três procedimentos; experimento 01, réplica e tréplica, além de seus respectivos valores em nº de propágulos colhidos e maduros, sendo 1197 (à soma total dos propágulos do experimento 01), e 171 (valor distribuído nas 07 cubetas); 1036 (à soma total dos propágulos da réplica), e 148 (valor distribuído nas 07 cubetas); 280 (à soma total dos propágulos da tréplica), e 40 (valor distribuído nas 07 cubetas) de propágulos maduros de *Laguncularia racemosa*, colhidos com o auxílio de luvas de travas de borracha e tesouras de poda, diretamente do ramo da árvore-mãe, conforme à **Figura 2**. e acondicionados em um cofo de palha, para evitar a desidratação. Após a coleta, os propágulos foram transportados ao Laboratório de Manguezais – LAMA/Centro de Recuperação de Manguezais – CERMANGUE. No Departamento de Oceanografia e Limnologia – DEOLI, da Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

A coleta e seleção dos propágulos foi realizada criteriosamente de acordo com as recomendações de Mochel et. al. (2019) e Goforth & Thomas (1979), optando-se pelos propágulos saudáveis com maior possibilidade de sucesso em seu desenvolvimento.

A água estuarina utilizada no experimento foi coletada no Canal do Mangue Seco, na mesma região em que os propágulos foram coletados, e sua salinidade foi verificada com um refratômetro modelo Q767-3 Quimis, conforme à **Figura 3**. A água coletada foi transportada em bombonas plásticas para o Centro de Recuperação de Manguezais – CERMANGUE/UFMA.

O óleo utilizado foi o óleo diesel automotivo S10, conforme à **Figura 4**. adquirido em um posto de combustível na grande ilha Upaon-Açu. Segundo à Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico – FISPQ (2011), Gasóleos e óleos destilados são misturas complexas de petróleo, compostas primariamente de hidrocarbonetos saturados (parafínicos ou naftênicos) ou aromáticos com cadeia carbônica composta de 9 a 3 átomos de carbono e ponto de ebulição entre 150 e 471°C.

Figura 2 – *Laguncularia racemosa*, C F Gartn.



Figura 3 – Água estuarina coletada do canal do Mangue Seco, verificando a salinidade com um refratômetro modelo Q767-3 Quimis.



Figura 4 – Óleo diesel S10 utilizado na realização do procedimento experimental.



3.3 Germinabilidade

A *Laguncularia racemosa* passou pela etapa de germinação em embebição com água estuarina (500 mL), medida com auxílio de uma proveta volumétrica de 1000 ml e um funil plástico. Logo após introduzido respectivamente água estuarina e percentuais de óleo diesel S10 na cubeta conforme a **Figura 5**, posteriormente adicionando os propágulos nas cubetas de vidro conforme **Figura 6**, com tratamentos (5,0 ml, 7.5 ml, 10 ml, 15 mL, 20 ml), que foram transformados nos respectivos em percentuais de óleo diesel S10 (0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 3%, 4%) conforme à **Tabela 1**, com exceção do controle, que foi utilizado apenas água estuarina.

Ao todo foram 07 tratamentos para cada procedimento experimental, sendo eles dividido em três procedimentos; experimento 01, réplica e tréplica. O tempo de germinação para a espécie de *Laguncularia racemosa* é de 07 dias seguidos, contando a partir da introdução de propágulos em embebição de água.

Em laboratório, com o auxílio de uma pinça foi possível avaliar o desenvolvimento e extrusão do hipocótilo sobre o cotilédone conforme **Figura 7**, dando origem a raiz primaria. Conforme a germinação dos propágulos, foram realizadas anotações na ficha experimental, onde foram feitos a contagem do Número de propágulos germinados diariamente, uma vez ao dia, durante 07 dias.

Após os 07 dias, decreta-se o encerramento do experimento, chegando ao fim do período de germinação conforme **Figura 8**. Onde foram feitos uma nova contagem, e anotação na ficha experimental, dessa vez resultando no índice de mortalidade dos propágulos.

Após a contagem dos mortos, foi feita uma triagem dos propágulos do índice de mortalidade conforme **Figura 9**. foram selecionados alguns indivíduos do Controle e tratamento 4% de óleo diesel S10, para o comparativo histológico, posteriormente adicionados em potes de vidro com tampas, preenchidos com álcool etílico 70% para preservação da estrutura vegetal, e encaminhados para análise em microscópio óptico no Laboratório de Fisiologia e Anatomia Vegetal da biologia – LAFAV, fornecendo dados para as eventuais análises estatísticas.

Tabela 1 – Transformação de Volume (ml) em Percentual (%) de óleo diesel S10 utilizado na realização do procedimento experimental.

PERCENTUAL DE ÓLEO DIESEL S10 PARA 500 ML DA ÁGUA	
Volume (ml)	Percentual (%)
2,5	0,5%
5	1,0%
7,5	1,5%
10	2,0%
15	3,0%
20	4,0%

Figura 5 – Introdução de óleo diesel S10 nas cubetas, em 500 ml de água estuarina.



Figura 6 – Etapa de embebição de propágulos de *Laguncularia racemosa*.



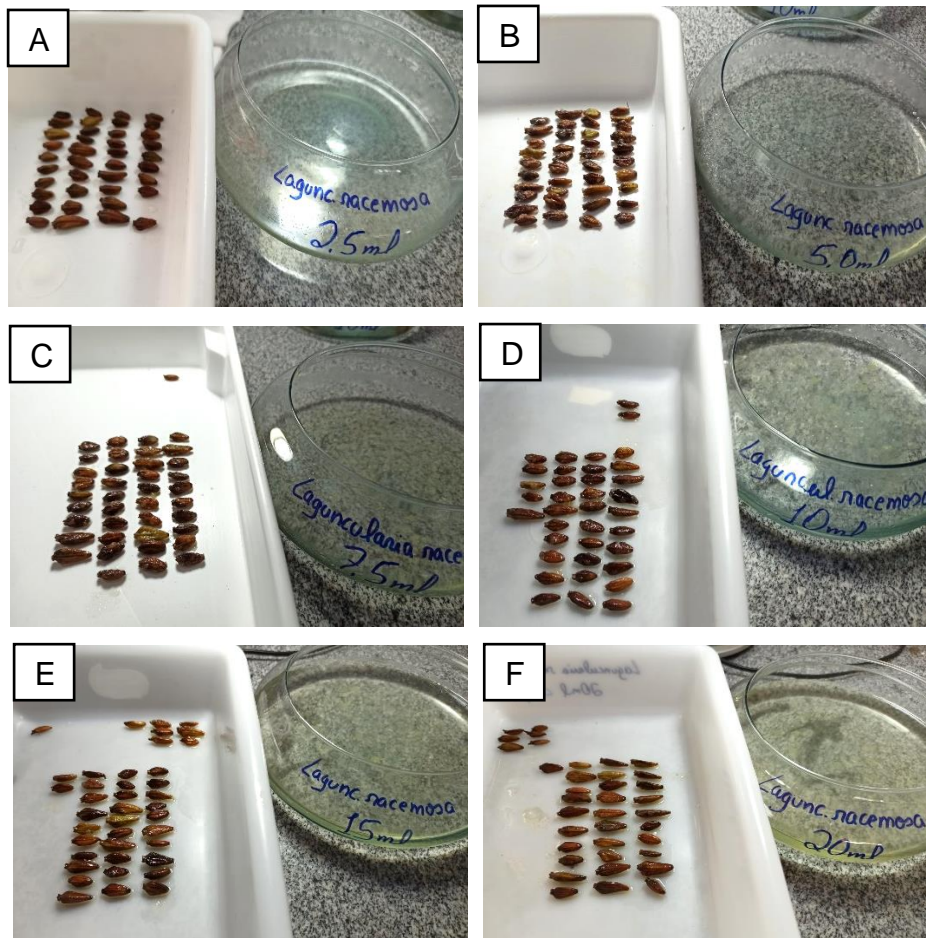
Figura 7 – Germinação de propágulo de *Laguncularia racemosa*, com extrusão do hipocótilo.



Figura 8 – Encerramento do período de germinação de *Laguncularia racemosa*.



Figura 9 – Após a finalização do procedimento experimental, foi realizado a contagem do índice de mortalidade dos propágulos não germinados em A) B) C) D) E) F)



3.4 Análise de dados

A equação responsável cálculo de germinabilidade é dada por:

- Fórmula da porcentagem de germinação (G);

$$G = \frac{\text{Número de propágulos germinados}}{\text{Número de propágulos semeados}}$$

G: Germinação

A equação responsável cálculo de mortalidade é dada por:

- Fórmula da porcentagem de mortalidade (Tm);

$$Tm = \frac{\text{Número mortalidade}}{\text{Número de propágulos semeados}}$$

Tm: Taxa de mortalidade

A equação responsável cálculo de sobrevivência é dada por:

- Fórmula da porcentagem de sobrevivência (SC%);

$$SC = \frac{N - n \times 100}{N}$$

SC: Porcentagem de sobrevivência em campo

N: Número total de propágulos

n: Número total de indivíduos mortos da espécie

3.5 Cortes histológicos

Para condução do trabalho, foram realizados cortes histológicos de propágulo de *Laguncularia racemosa* do Controle e do tratamento 4% de óleo diesel S10, do índice de mortalidade, no Laboratório de Fisiologia e Anatomia Vegetal – LAFAV.

Para análise foi realizado cortes finos e transversais, com auxílio de uma gilete. Logo após, foram adicionados em uma placa de Petri contendo água destilada (H₂O) para serem enxaguados, e colocados em uma segunda placa de Petri contendo hipoclorito de sódio (NaClO) 0,5%, com objetivo de clarear o tecido vegetal da amostra, em seguida transferidos para uma terceira placa de Petri, onde realizou-se um novo enxague com água destilada (H₂O) para remoção do excesso de hipoclorito de sódio (NaClO). Em seguida, foram adicionados em uma quarta placa de Petri contendo Azul de Toluidina 1%, onde permaneceu corando por cerca 30 segundos, a seguir transferidos para uma quinta placa de Petri, onde realizou-se um novo enxague com água destilada (H₂O) para remoção do excesso de corante. Em seguida, foram adicionados em uma sexta placa de Petri, contendo corante Safranina 1%, onde permaneceu corando por cerca 30 segundos, a seguir transferidos para uma sétima placa de Petri, onde realizou-se um novo enxague com água destilada (H₂O) para remoção do excesso de corante. Posteriormente, foram montadas em lâminas com glicerina para fixar a amostra, verificando se não há bolhas de ar e cobrindo com lamínulas, e por fim inserindo ao microscópio.

As amostras foram analisadas com microscópio óptico Nikon Eclipse E200 e fotografadas com câmera AxionCam ERc5s (ZEISS) acoplada junto ao microscópio utilizando o programa ZEN 2.3 lite.

Para observações das estruturas anatômicas internas e externas, a identificação foi feita com base em livros, revistas e artigos científicos de anatomia e morfologia vegetal.

3.6 Análise estatística

Para as análises estatísticas, foi utilizado software Past 3.14, onde as hipóteses foram testadas quanto as suas diferenças e significâncias.

Para análise de variância, foi aplicado o teste ANOVA através de Univariate, ANOVA etc. (severa samples), Several-samples tests (ANOVA, Kruskal-Wallis). Logo foi feito a representação gráfica Plot, Barchart/Boxplot.

Para análise de agrupamentos, foi aplicado o teste Clustering. Este procedimento resulta num agrupamento clustering por meio de um algoritmo de grupo emparelhado, o método de grupo de pares não ponderados com média aritmética que adotou um índice de similaridade através da distância Euclidiana com o método de ligação pela média.

Para análise de ordenação, foi aplicado PCA – Principal Component Analysis. Onde é representa a influência das diferentes variáveis com os meus tratamentos, e identifica as dimensões ao longo das quais os dados se encontram mais dispersos. Desta forma, conseguimos identificar as dimensões que melhor diferenciam o conjunto de dados em análise, ou seja, os seus componentes principais.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Visto que os tensores antrópicos são de alto impacto, e nocivos ao equilíbrio ecológico das zonas costeiras. Houve uma necessidade de se avaliar, aos malefícios ocasionados pela introdução de óleo diesel S10 em propágulos de *Laguncularia racemosa*, seus efeitos sobre a germinabilidade x mortalidade da espécie, e os respectivos efeitos histológicos nas células vegetais dessa espécie, análise laboratorial visto através de avaliação microscópica e análises estatísticas.

A ANOVA, representou-se graficamente em boxplot na **Figura 10.** e **Figura 11.** As hipóteses relacionadas a cada espécie foram testadas quanto às suas diferenças significativas ($p < 0,05$) utilizando ANOVA de medidas repetidas.

Figura 10 – Análise boxplot de mortalidade (%).

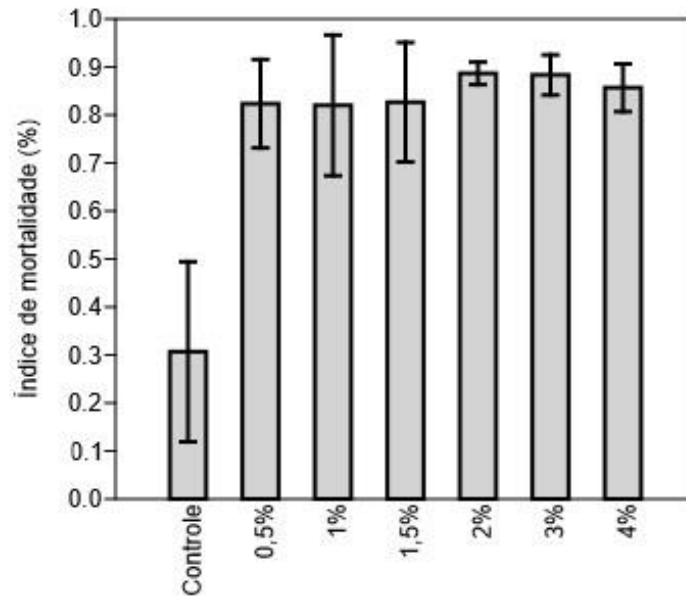
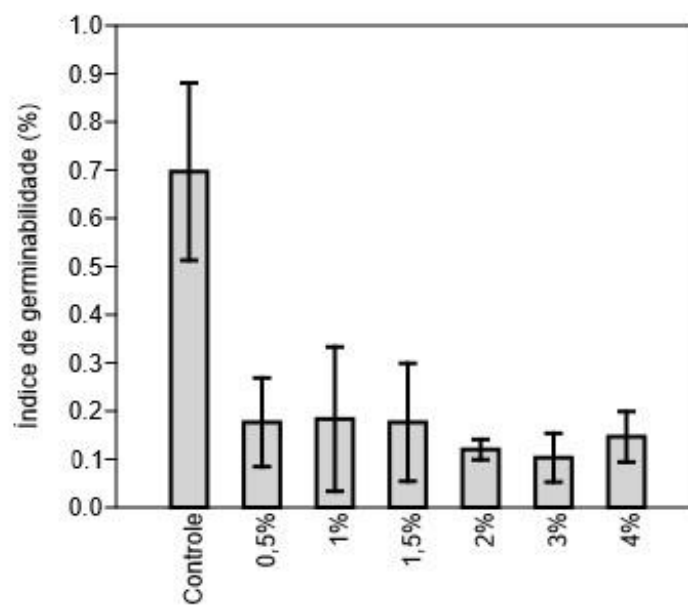
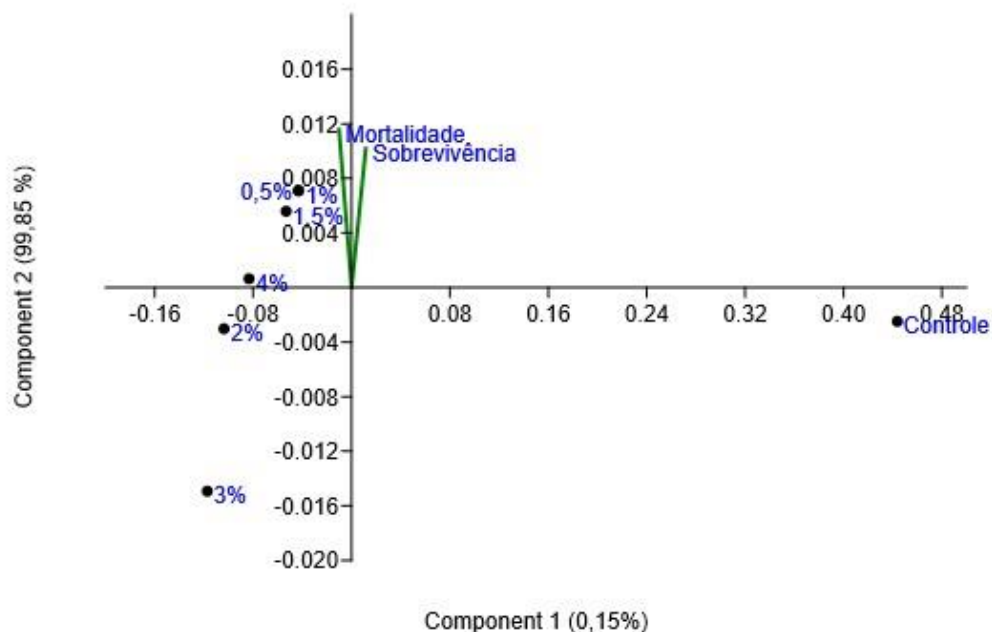


Figura 11 – Análise boxplot de germinabilidade (%).



O PCA representa a influência das diferentes variáveis com os tratamentos, aqui tem duas variáveis, Mortalidade x Sobrevivência, e 02 componentes a serem analisados pelos autovalores, onde possui como objetivo do componente principal, é sintetizar um conjunto grande de variáveis transformando em uma representação bidimensional, tentando concentrar a maior parte das variâncias em apenas 02 componentes, no plano cartesiano X e Y conforme a representação da **Figura 12**. Sendo o componente 1 = (99,85%) de variância e componente 2 = (0,15%).

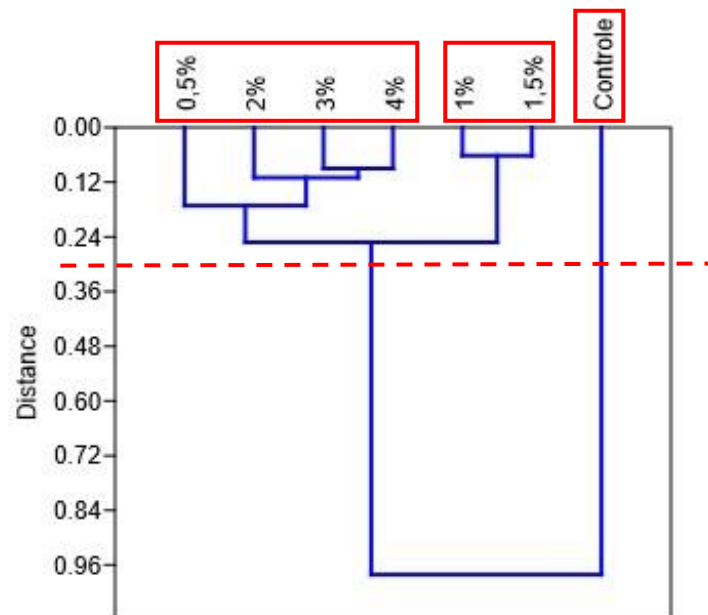
Figura 12 – Distribuição dos componentes 1 e componente 2, de acordo com a análise de PCA.



A análise de clustering, é uma técnica multivariada de agrupamento, onde visualiza-se na **Figura 13**, a formação de 03 grupos, que possui uma maior similaridade entre eles, em função da mortalidade x sobrevivência, agrupados os dados da seguinte forma; **01 – Grupo:** 0,5%, 2%, 3%, 4%; **02 – Grupo:** 1%, 1,5%; **03 – Grupo:** Controle. O que sugere uma possível evidência da influência de óleo diesel S10, sobre a germinação e desenvolvimento dos propágulos.

Foi possível analisar conforme o estudo que o Controle, que estava submetido em embebição apenas em água estuarina, houve um número de germinação maior, em comparação aos tratamentos que foram submetidos em embebição com óleo diesel S10.

Figura 13 – Análise de clustering, agrupamento conforme a similaridade dos percentual de óleo diesel S10.



A distribuição total de mortalidade x sobrevivência deu-se em função do índice de mortalidade em comparativo com a percentual de sobrevivência, de acordo com as condições ambientais que foram submetidas, conforme é representado graficamente na **Tabela 2.** e **Figura 14.** Utilizando das fórmulas da análise de dados, e processamento no Microsoft Excel, que é um programa de planilha, que é usado para registrar e analisar dados numéricos.

Para o Controle: há um acentuado percentual de sobrevivência 82%, contendo o maior índice numérico em todo o procedimento experimental. Consequentemente o menor índice de mortalidade 18%.

Para o tratamento 0,5%: índice de sobrevivência 25%, e o maior índice de mortalidade 73%.

Para o Tratamento 1%: índice de sobrevivência 29%, e o maior índice de mortalidade 71%.

Para o Tratamento 1,5%: índice de sobrevivência 74%, e o maior índice de mortalidade 26%.

Para o Tratamento 2%: índice de sobrevivência 87%, e o maior índice de mortalidade 13%.

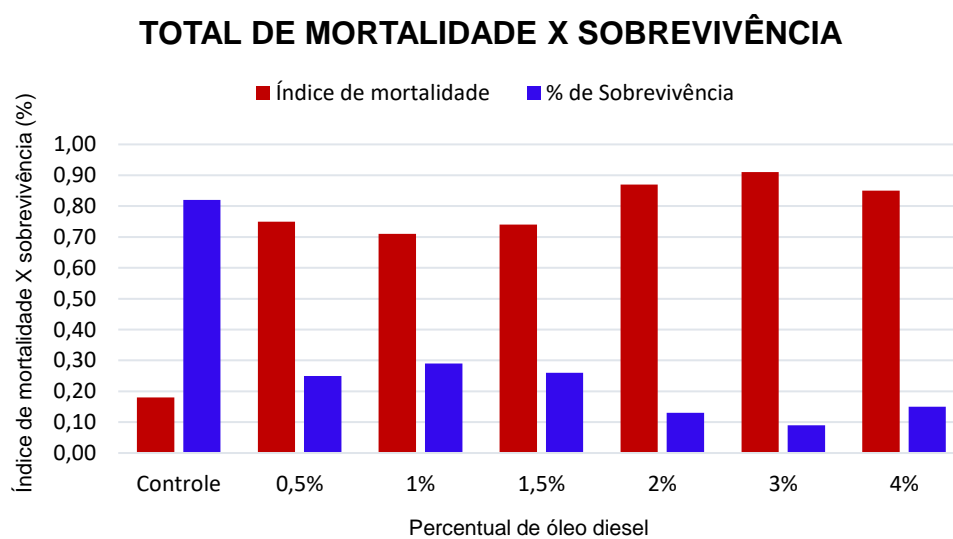
Para o Tratamento 3%: Houve o menor índice de sobrevivência 9%. Consequentemente o maior índice de mortalidade 91%.

Para o Tratamento 4%: índice de sobrevivência 15%, e o maior índice de mortalidade 85%.

Tabela 2 – Percentual de porcentagem dos índices de mortalidade e sobrevivência.

PERCENTUAL	ÍNDICE DE MORTALIDADE	% DE SOBREVIVÊNCIA
Controle	18%	82%
0,5%	75%	25%
1%	71%	29%
1,5%	74%	26%
2%	87%	13%
3%	91%	9%
4%	85%	15%

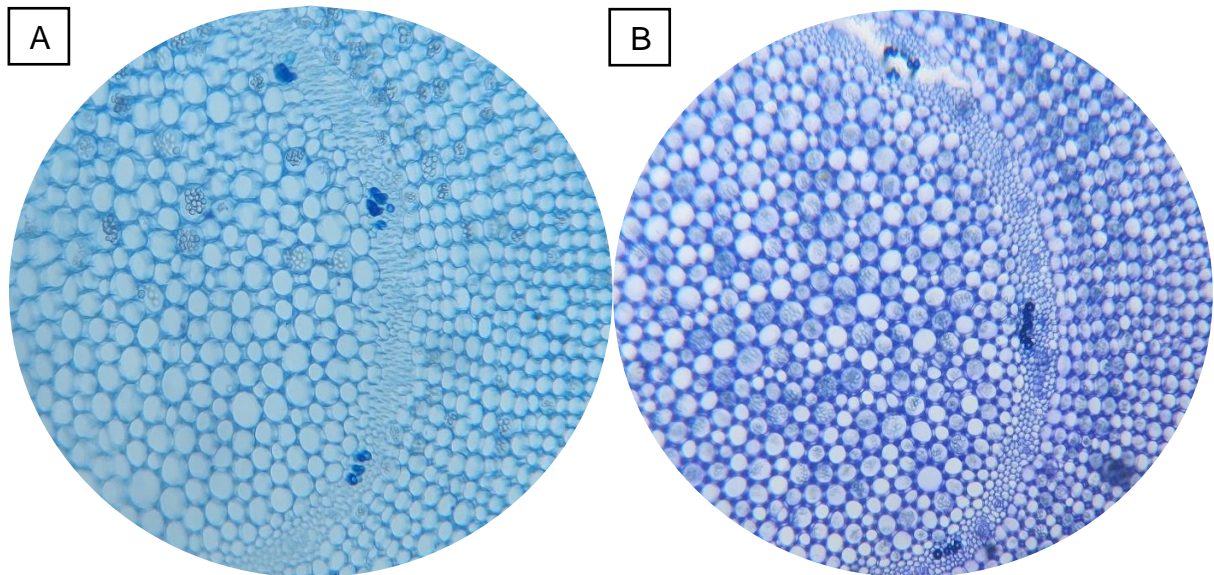
Figura 14 – Distribuição total da soma de mortalidade x sobrevivência.



Na estrutura da **Figura 15**, a relação entre o comparativo das imagens A – Controle e B – Tratamento 4% de óleo diesel S10, onde foi identificar uma possível introdução de ar, na célula vegetal do tratamento B, entre os parênquimas, que são células de preenchimento do sistema fundamental de tecidos, e possui paredes primárias delgadas e compostas principalmente de celulose, hemicelulose e as substâncias pécnicas, e são encontrados em todos os órgãos de plantas. O que não descarta a hipótese da influência do óleo diesel no desenvolvimento da germinação de *Laguncularia racemosa*.

Observa-se a maior sensibilidade desta espécie de mangue, sobre influência direta de compostos derivados e petróleo, em contato com propágulos, verificação apresentada com base nos resultados estatísticos, diante de um acentuado índice de mortalidade, provenientes principais dos tratamentos que receberam óleo diesel S10. E alterações estruturais observadas durante o período de germinação, uma vez que foi possível notar diferenças físicas, como encolhimento, forte odor, e coloração marrom entre propágulos não germinados dos tratamentos com óleo diesel S10.

Figura 15 – Cortes histológicos de propágulo de *Laguncularia racemosa*, corados com Azul de Toluidina 1% e Safranina 1% para análise em microscópio óptico. Sendo A) Controle e B) Tratamento 4% de óleo diesel S10.



5. CONCLUSÃO

O presente estudo, mostrou-se possivelmente influenciado pelos percentuais de óleo diesel S10 dispostos nos tratamentos, onde afetou germinação, desenvolvimento e tecidos vegetais da espécie de mangue *Laguncularia racemosa*, visto que de acordo com os dados estatísticos obtidos, notou-se que o controle apresentou bons índices de germinabilidade (%), em comparação aos tratamentos que receberam introdução de óleo diesel S10, onde houve maiores índices de mortalidade (%).

Vale ressaltar, que as análises morfológicas, dos cortes histológicos também apresentaram uma possível significância na estrutura vegetal, das células dos propágulos, através da possível introdução de ar na estrutura das células, devido ao evidente afastamento entre dos parênquimas.

Sugeri-se o desenvolvimento de mais pesquisas que venham a colaborar para o estudo de impacto ocasionado por óleo diesel S10 nas zonas costeiras, e os malefícios desse impacto antrópico no desenvolvimento de espécies de manguezal.

AGRADECIMENTOS

À bolsa voluntária PIBIC/FAPEMA, à oportunidade em compor a equipe de Iniciação à pesquisa científica, que me gerou dados para desenvolver meu trabalho. Ao Laboratório de Manguezais – LAMA/Centro de recuperação de Manguezais – CERMANGUE, e Laboratório de Fisiologia e Anatomia Vegetal – LAFAV – do Departamento de Biologia da UFMA, por todo suporte necessário para culminância do trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, D. S. Plano de recuperação de áreas degradadas (PRAD). In: Recuperação ambiental da Mata Atlântica .3rd ed., p. 140-158, Ilhéus, BA: Editus, 2016
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & CARMELLO-GUERREIRO, S. M. 2003. Anatomia Vegetal. Viçosa: Editora UFV. 438p.
- ARAÚJO, R. R.; RANGEL, M. E. S. Crescimento Urbano e Variações Térmicas em São Luís - MA. Revista Geonorte, Manaus. V.2, n.5, p. 308 – 318, 2012. Disponível em: <http://www.periodicos.ufam.edu.br/revista-geonorte/article/view/2497/2305>. Acesso em: 11 Jun 2019.
- Ball, M. C. 1988. Ecophysiology of mangroves. *Trees* 2: 129-142.
- Bewley, J.D. & Black, M. 1994. *Seeds – physiology of development and germination*. Plenum Press. New York, 275p.
- Brasil Cidadão. 2012. p.84 – 91
- BURGESS, R.M.; AHRENS, M.J.; HICKEY, C.W. Geochemistry of PAHs in aquatic environments: Source, persistence and distribution. In: DOUBEN, P.E.T. (Ed.). *PAHs: An ecotoxicological perspective*. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd, 2003. p. 35-45.
- CARBOGIM, J. B. P. (Org.). *Conservação da natureza e eu com isso?* Fortaleza: Fundação
- COUTINHO, L. A. Mapa de vulnerabilidade à ação antrópica em Mangue Seco e proximidades, Vitória, ES. Vitória, ES: UFES, 2004.
- DUKE, N. C.; BURNS, K. A.; SWANNELL, R. P. J.; DALHAUS, O.; RUPP, R. J. Dispersant use and a bioremediation strategy as alternate means of reducing impacts of large oil spills on mangroves: The Gladstone field trials. *Marine Pollution Bulletin*, Amsterdam, v. 41, p. 403-412, 2000.
- Ellison, A. M. & Farnsworth, E.J. 1993. Seedling survivorship, growth, and response to disturbance in Belizean mangal. *American Journal of Botany* 80:1137-1145.
- Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico – FISPQ (2011), Gasóleos e óleos destilados. Disponível em: <http://www.petroservpetroleo.com.br/wp-content/uploads/2019/04/FISPQ-Diesel-B-S10.pdf>
- FILHO, A.M.S. Planos nacionais de contingência para atendimento a derramamento de óleo: análise de países representativos das Américas para implantação no caso do Brasil. 2006. 217

f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Planejamento Ambiental) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

GABARDO, I.T. Caracterização química e toxicológica da água produzida descartada em plataformas de óleo e gás na costa brasileira e seu comportamento dispersivo no mar. 2007. 235

f. Tese (Doutorado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

Ghowail, S. I.; Abdel-Monem, A. M.; El-Ghamry, W. M. & Saber, N. E. 1993. Preliminary studies on the effect of different salinity levels on germination, growth and anatomy of mangrove (*Avicennia marina*). In: Lieth, H. & Al Masoon, A. Towards the rational use of high salinity tolerant plants. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, p. 237-244.

IMBERT, D.; ROUSTEAU, A.; SCHERRER, P. Ecology of mangrove growth and recovery in the Lesser Antilles: state of knowledge and basis for restoration projects. *Restoration Ecology*, Crawley, v. 8, n. 3, p. 230-236, 2000.

Karim, J. & Karim, A. 1993. Effect of salinity on the growth of some mangrove plants in Bangladesh. In: Lieth, H. & Al Masoon, A. Towards the rational use of high salinity tolerant plants. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, p. 187-192.

KENNISH, M.J. Ecology of estuaries: Anthropogenic effects. Londres: CRC Press, 1992. 494 p.

LATIMER, J.S.; ZHENG, J. The sources, transport, and fate of PAHs in the marine environment. In: DOUBEN, P.E.T. (Ed.). PAHs: An ecotoxicological perspective. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd, 2003. p. 9-33.

López-Portillo, Roy R. Lewis III, Peter Saenger, André Rovai, Nico Koedam, Farid Dahdouh-Guebas, Claudia Agraz-Hernández, and Victor H. Rivera-Monroy (2017). *Mangrove Ecosystems: A Global Biogeographic Perspective*. Springer International Publishing AG 2017.

McKee, K.L. 1995. Interspecific variations in growth, biomass, partitioning, and defensive characteristics of neotropical mangrove seedlings: Response to light and nutrient availability. *American Journal of Botany* 82 (3): 299-307.

McKee, K.L. 1996. Growth and physiological responses of neotropical mangrove seedlings to root zone hypoxia. *Tree Physiology* 16: 883-889.

MEIRELES, A. J. A.; QUEIROZ, L. S. Os manguezais e a carcinicultura – prato do dia: Camarão exótico à biodiversidade – uma receita indigesta. In: PALAZZO JUNIOR, J. T.; Mochel ,F.R. & Fonseca, I. L.A. Abordagem integrada para a recuperação de manguezais degradados em áreas portuárias com estudo de caso em São Luís, Maranhão In: Mochel, Flávia Rebelo. (Org.). Gerenciamento Costeiro e Gerenciamento Portuário 2. 1ed.Ponta Grossa: Atena Editora, 2019, v. 2, p. 59-71.

Mochel ,F.R. & Fonseca, I. L.A. Abordagem integrada para a recuperação de manguezais degradados em áreas portuárias com estudo de caso em São Luís, Maranhão In: Mochel, Flávia Rebelo. (Org.). Gerenciamento Costeiro e Gerenciamento Portuário 2. 1ed.Ponta Grossa: Atena Editora, 2019, v. 2, p. 59-71

Mochel FR (2016) Manguezais da Amazônia Maranhense. Conservação e Recuperação Ecológica. Pages 404-419 In: Seabra G (Ed) Terra Paisagens, Solos, Biodiversidade e os Desafios para um Bom Viver Barlavento. Ituiutaba, M.G.

MOORE, M.N. et al. An integrated biomarker-based strategy for ecotoxicological evaluation of risk in environmental management. *Mutation Research*, v. 552, p. 247-268, 2004.

NOAA – NATIONAL OCEANIC AND ATMOSPHERIC ADMINISTRATION. An introduction to coastal habitats and biological resources for oil spill responses. Seattle, Washington: U.S. Department of commerce. 2003. 75 p.

NRC – NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Oil in the sea. III: Inputs, fate and effects. Washington: The National Academies Press, 2003. 122 p.

Pezeshki, S.R.; DeLaune, R.D. & Meeder, J.F. 1997. Carbon assimilation and biomass partitioning in *Avicennia germinans* and *Rhizophora mangle* seedlings in response to soil redox conditions. *Environmental and Experimental Botany*. 37: 161-171.

SALGADO NETO, José Bello. O caos urbano e os manguezais de São Luís. In: PFLUEGER, Grete Soares; SALGADO NETO, José Bello. Aspectos urbanos de São Luís: uma abordagem multidisciplinar. São Luís: EdUEMA, 2012.

SASS, J. E. Elements of Botanical Microtechnique. Iwoa:Iwoa State College Press Read Books, 1940.

Sousa WP, Kennedy PG, Mitchell BJ. 2003. Propagule size and predispersal damage by insects affect establishment and early growth of mangrove seedlings. *Oecologia*, v.135, n.4, p.564-75. DOI:10.1007/s00442-003-1237-0.

TOUCHETTE, B. W.; STOUT, D. K.; BACA, B. J. Effects of an oil spill in a mangrove mitigation site. In: ANNUAL CONFERENCE ON WETLANDS RESTORATION AND CREATION, 19, 1992, Tampa. Proceedings... Tampa: Hillsborough Community College, Institute of Florida Studies, 1992. p. 213-227.

Wakushima, S.; Kuraishi, S. & Sakurai, N. 1994. Soil salinity and pH in Japanese mangrove forests and growth of cultivated mangrove plants in different soil conditions. *Journal of Plant Research* 107: 39-46.