UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E O POTENCIAL DE FITORREMEDIAÇÃO DA *Canavalia ensiformis* (L.) DC EM SOLO CONTAMINADO COM FERRO (Fe).

Isabella Fiorini de Carvalho

Ilha Solteira - SP
Junho/2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E O POTENCIAL DE FITORREMEDIAÇÃO DA *Canavalia ensiformis* (L.) DC EM SOLO CONTAMINADO COM FERRO (Fe).

Isabella Fiorini de Carvalho

Liliane Santos de Camargos
Nayane Cristina Pires Bomfim

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Engenharia, Câmpus de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", como parte das exigências para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Ilha Solteira - SP
Junho/2023

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

C331r

Carvalho, Isabella Fiorini de.
Respostas fisiológicas e o potencial de fitorremediação da *Canavalia ensiformis* (L.) DC. em solo contaminado com ferro (fe). / Isabella Fiorini de Carvalho . -- Ilha Solteira: [s.n.], 2023
28 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2023

Orientador: Liliane Santos de Camargos
Coorientador: Nayane Cristina Pires Bomfim
Inclui bibliografia

1. Fotossíntese. 2. Recuperação de áreas degradadas. 3. Tolerância.

Raiane da Silva Santos
Supervisora Técnica de Seção
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Bibliotecas e Documentação
CRB/8 - 9999

unesp
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Ilha Solteira

ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

"RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E A POTENCIAL DE FITORREMEDIACAO DA *CANAVALIA ENSIFORMIS* (L.) DC EM SOLO CONTAMINADO COM FERRO"

ISABELLA FIORINI DE CARVALHO

REGULAMENTO SOBRE A AVALIAÇÃO:

Artigo 25º - § 2º A apresentação pública do trabalho de TCC deverá ser de no mínimo 20 (vinte) minutos e máxima de 40 (quarenta) minutos. Após um intervalo de 5 (cinco) minutos, haverá a arguição do Trabalho pelos examinadores. O tempo de arguição, será de até 15 (quinze) minutos para cada examinador, e até 15 (quinze) minutos o tempo para a resposta do(a) aluno(a) a cada examinador ou no caso de se optar pelo diálogo o tempo conjunto entre examinador e acadêmico(a) será de no máximo 30 (trinta) minutos.

Artigo 24º - No julgamento do TCC, a banca examinadora deverá avaliar a apresentação oral, escrita e a defesa do trabalho durante a arguição. O conceito final será APROVADO(A) ou REPROVADO(A).

COMISSÃO EXAMINADORA

1ª EXAMINADORA (Orientadora-Presidente)
Nome: Profa. Dra. Liliane Santos de Camargos _____

2ª EXAMINADORA
Nome: Doutoranda Patrícia Fernanda Rosalem Patrícia F. Rosalem

3º EXAMINADOR
Nome: Doutorando Maycon Anderson Araújo Maycon A. Araujo

CONCEITO
(X) Aprovado(a)
( ) Reprovado(a)

Ilha Solteira-SP, 26 de junho de 2023.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado forças e sabedoria nessa grande jornada;

A Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", pela oportunidade de poder cursar o que sempre sonhei e por todas as oportunidades que ofereceram;

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento destinado a essa pesquisa;

A minha professora e orientadora, Liliane Santos de Camargos, pela oportunidade concedida, por todos ensinamentos, paciência, acolhimentos e por ter tornado essa trajetória acadêmica um pouco mais leve. Obrigada por todo suporte e por ser esse exemplo de força no qual eu me inspiro tanto;

A equipe do LFMV, especialmente a Nayane Cristina Pires Bomfim e a Beatriz Silvério dos Santos que foram excepcionais para meu aprendizado e evolução;

A minha coorientadora, Nayane Cristina Pires Bomfim, que me acolheu desde o início com toda paciência e carinho. Obrigada por todos os ensinamentos, oportunidades e por ser meu braço direito;

Aos membros desta banca, por terem aceitado o convite e por toda a contribuição ao meu trabalho;

A todos os funcionários da UNESP - FEIS, por toda ajuda fornecida, por toda colaboração e ensinamentos para que esse trabalho pudesse acontecer;

Aos meus pais, Paulo Eduardo de Carvalho e Roselene Fiorini de Carvalho pelo apoio e por me proporcionar todas as condições para chegar até aqui. Sou imensamente grata por todo esforço que fizeram para que eu me torne uma boa profissional. Sem vocês jamais teria chegado onde cheguei;

A minha irmã, Julia Fiorini de Carvalho e ao meu cunhado João Pedro Madrini Pereira por ter me ajudado em algumas disciplinas, principalmente na coleção de insetos e na coleção de sementes. Obrigada pelo companheirismo de sempre;

Aos meus avós, Janete Inês do Prado Fiorini e Carlos Roberto Fiorini por todo carinho, preocupação e por sempre ficarem felizes com as minhas conquistas.

Por último, gostaria de agradecer algumas pessoas que conheci ao longo dessa jornada e que agregaram demais para meu desenvolvimento e crescimento pessoal: Arla Daniela, Bruno Bonadio Cozin, Mayara Bertalha, Roberta Possas de Souza, Lucas Longhi, Gabriel David e Matheus Vieira Coqueiro Gomes. Obrigada por sempre estarem comigo e pelas boas lembranças dessa vida universitária que levarei para vida toda;

A todos que de alguma forma cruzaram o meu caminho e fizeram parte de quem eu sou hoje, minha história não seria a mesma sem vocês.

RESUMO

A contaminação dos solos por metais pesados é objeto de crescente preocupação mundial e, gradativamente tem aumentado devido as atividades humanas, como por exemplo, práticas agrícolas inadequadas, o aumento da quantidade de indústrias entre outras. Espécies tolerantes ao excesso de metais no solo são promissoras à estratégia de fitorremediação. Desta forma, o objetivo desse trabalho é caracterizar a capacidade de crescimento, parâmetros fotossintéticos, tolerância e o potencial fitorremediador de *Canavalia ensiformis* ao ferro. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com quatro tratamentos e cinco repetições em delineamento inteiramente casualizado. O solo foi contaminado com sulfato de ferro nas seguintes concentrações: 0, 150, 250 e 350 mg/dm^3 de solo. *C. ensiformis* foi cultivada em vasos de 4 dm^3 por 45 dias após a emergência. Determinou-se os parâmetros de crescimento e biomassa da raiz e parte aérea, trocas gasosas, pigmentos fotossintéticos, índices de tolerância, translocação, acúmulo e o potencial fitorremediador da espécie. Os dados foram submetidos à análise de variância, Tukey e regressão no software R, a 5% de probabilidade. A *C. ensiformis* absorveu e acumulou o ferro nos órgãos vegetais, provavelmente, nas raízes. O comprimento do caule e as trocas gasosas foram afetados, sendo uma espécie tolerante ao excesso de Fe no solo. Com base nos dados apresentados, *C. ensiformis* apresenta potencial para ser utilizada como fitorremediadora em solos contaminados com ferro, sendo importante a realização de outros estudos a campo, dependendo da concentração de ferro presente no ambiente, ou a utilização de solos de uma área contaminada para condução de experimentos em casa de vegetação.

Palavras-chave: contaminação do solo; fitoextração; fotossíntese; recuperação de áreas degradadas; tolerância.

ABSTRACT

Soil contamination by heavy metals is an object of growing worldwide concern and has gradually increased due to human activities, such as inadequate agricultural practices, the increase in the number of industries, among others. Tolerant species to excess metals in the soil are promising for the phytoremediation strategy. Thus, the objective of this work is to characterize the growth capacity, photosynthetic parameters, tolerance and phytoremediation potential of *Canavalia ensiformis* to iron. The experiment was conducted in a greenhouse, with four treatments with five replications in a completely randomized design. The soil was contaminated with iron sulfate at the following concentrations: 0, 150, 250 and 350 mg/dm^3 of soil. *C. ensiformis* was grown in 4 dm^3 pots for 45 days after emergence. It has determined the parameters of root and shoot growth and biomass, gas exchange, photosynthetic pigments, tolerance indices, translocation, accumulation and phytoremediation potential of the species. The data were submitted to analysis of variance, Tukey and regression in the R software, at 5% probability. *C. ensiformis* absorbed and accumulated iron in the plant organs, probably, in the roots. The length of the steam and gas exchange were affected, being a species tolerant to excess iron in the soil. Based on the data presented, *C. ensiformis* has the potential to be used as a phytoremediator in iron contaminated soils, being important to carry out other field studies, depending on the concentration of iron present in the environment, or to use soils from a contaminated area to conduct experiments in a greenhouse.

Keywords: soil contamination; phytoextraction; photosynthesis; recovery of degraded areas; tolerance.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 1
2. HIPÓTESES 3
3. MATERIAL E MÉTODOS 3
3.1 - Instalação do experimento 3
3.2 - Avaliações 4
3.3 - Coleta e Quantificações de compostos 4
4. RESULTADOS 5
4.1 - Parâmetros de crescimento e biomassa 5
4.2 - Parâmetros de trocas gasosas 9
4.3 – Pigmentos fotossintetizantes 11
4.4 - Índices de tolerância translocação e acúmulo 12
5. DISCUSSÃO 13
6. CONCLUSÃO 16
7. REFERÊNCIAS 16

1 - INTRODUÇÃO

Metais pesados (MPs) são elementos metálicos de alta densidade que são bioacumulados em organismos vivos, eles existem naturalmente no meio ambiente e são potencialmente tóxicos dependendo da concentração em que estão presentes nos solos (GOULDING e BLAKE, 1998). O aumento de resíduos industriais, agrícolas e a demanda humana por novas tecnologias tem ocasionado o aumento da concentração de MPs em solos. Dessa maneira, os metais pesados constituem um grupo de contaminantes importantes e de muito interesse para estudos de preservação do meio ambiente e da saúde humana (LUO *et al*., 2011).

O ferro - Fe é um micronutriente essencial na preservação existencial de qualquer ser, sendo considerado o mais abundante na crosta terrestre, aproximadamente, 6,2% em massa (CHANG *et al*., 2013). Na vegetação, ele está associado nas atividades metabólicas, atuando na formação de algumas enzimas (catalase, peroxidase, citocromo oxidase e xantina oxidase) sendo indispensável nos procedimentos como: respiração, fotossíntese, fixação de N2 e transferência de elétrons através do ciclismo entre o Fe^{2+} e Fe^{3+} (GUERINOT e YI, 1994; MARENCO e LOPES, 2009).

O excesso de Fe é citotóxico, pois medeia a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) (MARSCHNER, 1995); levando ao aumento na produção de EROs e respostas ao estresse oxidativo e distúrbios fisiológicos (CARO e PUNTARULO, 1996; PEKKER *et al*., 2002; RAVET *et al*., 2009). Assim, as plantas também regulam a expressão gênica em resposta ao excesso de Fe. Essa resposta foi caracterizada em estudos da expressão da proteína ferritina de armazenamento de Fe (BRIAT *et al*., 2009).

Em novembro de 2015, o Brasil sofreu com uma das maiores tragédias ambientais ocorrida desde então, o rompimento da barragem de Fundão, localizada no município de Mariana-MG. Essa tragédia resultou no vazamento de mais de 70 milhões de metros cúbicos de lama de rejeitos da mineração de ferro. Além de destruir vilarejos como Bento Rodrigues e Paracatu de Baixo, a lama percorreu 663 km ao longo dos rios Gualaxo do Norte, Carmo e Doce, chegando à foz, e afetando seu ecossistema aquático, interferindo na reprodução de espécies (PORTO, 2016).

Independente de quais danos às áreas contaminadas sofreram, são territórios de risco elevado, provocando sérias repercussões e toda iniciativa voltada em reverter este processo é importante e se faz necessário para uma melhor qualidade ambiental e social, por isso a relevância em remediar tais áreas, a partir de estudos como este.

A fitorremediação é uma alternativa para solucionar estes problemas. É uma técnica que utiliza plantas na remoção ou diminuição de contaminantes no solo, como ferro, que constitui quase ou nada de impacto ambiental e possui baixo custo financeiro (CHAVES *et al*., 2010). Segundo Pilon-Smits (2005), a fitorremediação pode ser classificada em: fitoestabilização (o contaminante é acumulado nos tecidos radiculares), fitoestimulação (o contaminante é degradado por microrganismos), fitovolatização (o contaminante absorvido se torna gasoso e então, é volatilizado), fitodegradação (o contaminante é degradado somente nas partes aéreas por microrganismos) e fitoextração (o contaminante absorvido é transportado para partes aéreas). A escolha e aplicação do método devem levar em conta o tipo de contaminante e o meio em que esse está presente.

O feijão de porco, *Canavalia ensiformis*, é uma leguminosa herbácea, da família Fabaceae, que domina locais com altas temperaturas e também a seca - clima tropical e subtropical (LÓPEZ, 2012). A planta apresenta um ciclo rápido, de aproximadamente 180 dias (GABOS e ABREU, 2008), tendo sido utilizada como adubo verde, além do mais, tem sido vista como uma planta altamente qualificada para remediação de contaminantes do solo proveniente de herbicidas, como o trifloxysulfuronsodium (SANTOS *et al*., 2004; PROSCÓPIO *et al*., 2005 a, b, 2006, 2007), e o sulfentrazone (MADALÃO *et al*., 2012 a, b; 2013), já tendo sido relatada a tolerância e acúmulo de arsênio, quando crescendo em solos com altas concentrações, embora tenha sido relatado o desenvolvimento de sintomas de toxidez (MELO, 2006).

A vantagem da utilização de leguminosas como agente descontaminador, é que essas plantas possuem a capacidade de aumentar significativamente o nível de nitrogênio no ecossistema do solo, devido a relação de simbiose com bactérias (GHNAYA *et al*., 2015).

Este estudo tem grande importância para a remediação de solos em decorrência de impactos ambientais, visto que é uma tecnologia sustentável e barata, quando comparada a outras técnicas, além de explorar diversas finalidades com a biomassa produzida por essas espécies, como geração de energia, produção de adubo verde e forragem, por exemplo. As culturas que são utilizadas como adubos verdes auxiliam no controle de plantas daninhas, além disso, a biomassa seca aumenta a ciclagem de nutrientes do solo, diminui o impacto das gotas da chuva e reduz a evaporação de água (SEVERINO e CHRISTOFFOLETI, 2001; OLIVEIRA *et al*., 2002; MATEUS *et al*., 2004).

Com base nessas informações, o estudo teve como objetivo caracterizar a resposta fisiológica, avaliar os parâmetros fotossintéticos, determinar a tolerância e o potencial fitorremediador de *Canavalia ensiformis* em solo contaminado por ferro.

HIPÓTESES:

(1) *Canavalia ensiformis é* tolerante a níveis tóxicos de ferro; (2) *Canavalia ensiformis* pode atuar como fitorremediadora para ferro; (3) a fotossíntese poderá ser afetada por níveis tóxicos de ferro no solo.

2 - MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 - Instalação do experimento

O solo (Latossolo Vermelho Distroférrico) foi coletado da área experimental da fazenda de ensino, pesquisa e extensão (FEPE), setor de produção vegetal, Ilha Solteira-SP. O solo foi peneirado, homogeneizado e amostrado em dez pontos para caracterização química e classificação textural. Posteriormente foi realizado a contaminação artificial (tratamentos) do solo com ferro (Fe).

As soluções foram preparadas considerando-se a concentração de Fe disponível, a partir de uma solução estoque de 800 ml de sulfato ferroso heptahidratado (39,825 g de $FeSO_4*7H_2O$), na concentração 10 g/L. As concentrações/tratamentos de Fe testados foram: 0 (controle), 150, 250 e 350 mg/dm^3 de solo. Cada tratamento foi composto por cinco repetições biológicas, totalizando 20 unidades experimentais. Os volumes 0, 30, 50 e 70 ml desta solução foram diluídos até formar um volume total de 400 ml de água e adicionado a cada unidade experimental de solo (4 dm^3), de acordo como demonstrado na Tabela 1. Para os vasos de 4 dm^3 de solo, os volumes descritos foram dobrados.

Tabela 1: Contaminação artificial de 2 dm^3 por Fe.

Tratamentos	Rep.	Solução estoque 10 g/L	Água destilada	Volume final/rep.
Controle	5	0 ml	400 ml	400 ml
150 mg/dm^3	5	30 ml	370 ml	400 ml
250 mg/dm^3	5	50 ml	350 ml	400 ml
350 mg/dm^3	5	70 ml	330 ml	400 ml
Total	**20**	**150 ml**	**1450 ml**	**1600 ml**

Após esse procedimento, o solo foi homogeneizado manualmente e permaneceu incubado por 30 dias para estabilização do metal ao solo. Após o período de incubação, as amostras de solo compostas foram enviadas para análise de disponibilidade de micronutrientes. O solo foi transferido para os vasos com capacidade para 4 dm^3 de solo. Três sementes de *C. ensiformis* (L.) DC (Fabaceae), foram semeadas, após a emergência e

desbaste, apenas uma planta foi cultivada, isto é, uma repetição biológica por unidade experimental (vaso). O experimento foi conduzido em casa de vegetação.

2.2 - Avaliações

Durante a condução do experimento, foram coletadas as medidas de crescimento: comprimento do caule (cm), número de folhas periodicamente, a cada 15 dias. Todas as medidas de crescimento vegetal foram realizadas de acordo com Benincasa (2003).

Para determinação da resposta fotossintética das plantas, foram realizadas medidas de trocas gasosas, utilizando um analisador portátil de trocas gasosas, CIRAS-3 (Portable Photosynthesis System- PP Systems), de acordo com as condições ambientais. As medidas foram realizadas em folhas completamente desenvolvidas e aparentemente saudáveis, na região da segunda ou terceira folha abaixo do meristema apical, entre as 09:00 e as 12:00 horas da manhã. As seguintes configurações para trocas gasosas foram ajustadas: dois folíolos dentro da cubeta universal da folha PLC3 (18 x 25 mm); 390 µmol/mol1 de CO_2 de referência; 60% de referência de água (umidade); fluxo da cubeta de 300 cc/min1 ; fluxo 47 do analisador de100 cc/min1; fonte de luz ambiente; sensor de radiação infravermelho (IR) para medição da temperatura da folha; área foliar de 4,50 cm^2; resistência da camada limite de 0,40 m^2 /s/mol1 ; relação estomacal de 50%; com calibração do sistema auto - zero. Os seguintes parâmetros foram analisados: taxa fotossintética (A, µmol CO_2 m^2 /s); condutância estomática (gs, mol H_2O m^2 /s) e transpiração (E, mmol H_2O m^2 /s).

2.3 - Coleta e Quantificação de compostos

No final do experimento foi realizada a coleta do material, o qual foi separado em parte aérea, raízes e nódulos. Foram lavados em água destilada e secos com papel toalha; foi mensurado comprimento (cm) de raízes e parte aérea e a massa (g) fresca de raízes, parte aérea e nódulos. O número de nódulos e folhas também foi mensurado.

Foi quantificado o teor de clorofilas totais (HISCOX e ISRAELSTAM, 1979) e carotenoides (WELLBURN, 1994) nas folhas ainda frescas. O restante do material foi seco em estufa de circulação forçada a 60 °C por 76 horas, em seguida foi moído e pesado. As amostras foram enviadas ao Laboratório de Nutrição de Plantas (UNESP/FEIS) para análise de micronutrientes nas raízes e parte aérea. Amostras de solo foram retiradas e enviadas para o Laboratório de Fertilizantes e Resíduos (IAC) para determinação da

disponibilidade de Fe, a fim de comparar com teores disponíveis de Fe antes do cultivo de *C. ensiformis.*

O acúmulo de ferro (mg/órgão) foi calculado a partir dos dados de peso seco e concentração de ferro nos respectivos órgãos: raiz, parte aérea e biomassa total. Acúmulo de ferro na raiz: RAC = (RDW * RMC)/1000; acúmulo de ferro na parte aérea: SAC = (SDW * SMC)/1000 e acúmulo de ferro na biomassa total (raiz + parte aérea): TAC = RAC + SAC em miligrama/peso do órgão seco (mg/órgão). Os cálculos foram realizados para determinar o potencial de fitorremediação: índice de tolerância (TI) e índice de translocação (TI%) de acordo com Rahman et al. (2013). Índice de tolerância: TI = tratamento TBDW/tratamento controle TBDW; índice de translocação: TI (%) = (SAC/TAC)*100. Assim como no TI (%) para a parte aérea, a porcentagem de ferro translocado para a raiz (RI%) foi calculada por: RI (%) = (RAC/TAC)*100. Onde, RDW, SDW e TBDW são massa seca da raiz, parte aérea e biomassa total (g), respectivamente; RMC e SMC são concentrações de metais disponíveis na raiz e na parte aérea (mg/dm³ de solo); RAC, SAC e TAC são o acúmulo de ferro na raiz, parte aérea e biomassa total (mg/órgão).

Por meio do R os dados foram submetidos à análise de variância, Tukey e regressão a 5% de probabilidade, a fim de avaliar as diferenças entre os tratamentos.

3 – RESULTADOS

3.1 Parâmetros de crescimento e biomassa

Quanto às medidas de crescimento e biomassa de *C. ensiformis*, observamos resultados diferentes entre parte aérea (folhas e caule) e sistema radicular.

O comprimento do caule diminuiu com o aumento dos tratamentos de ferro no solo (Fig. 1). Já em relação ao número de folhas e massa fresca da parte aérea, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1).

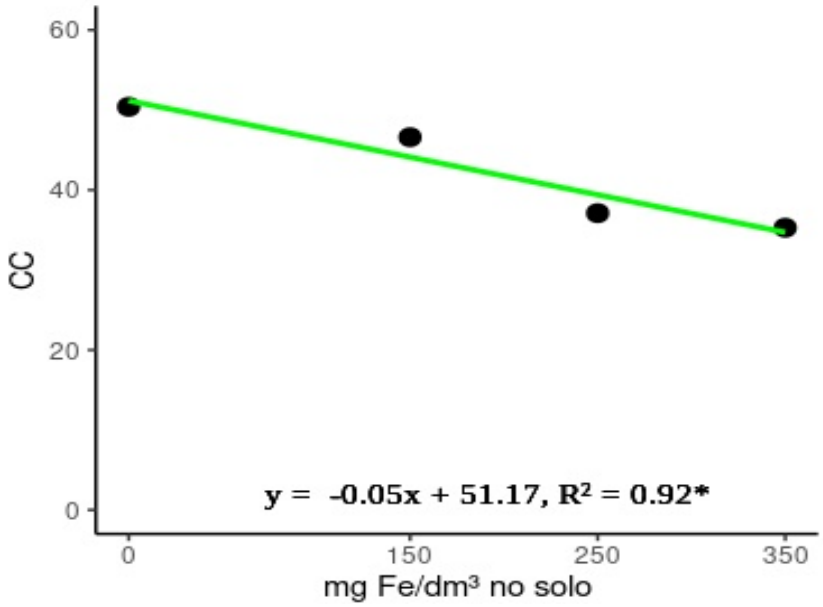


Figura 1: Comprimento do caule (cm) de *Canavalia ensiformis* cultivada em solo contaminado por ferro (mg/dm^3 de solo).

Tabela 1. Regressão para número de folhas; massa fresca da parte aérea (g); número de nódulos de *Canavalia ensiformis* cultivada em solo contaminado por ferro (mg/dm^3 de solo). Número de observações: 20.

***Canavalia ensiformis* tratada com Ferro**			
FV	**NF**	**MFPA (g)**	**NN**
Pr>Fc	0,0863^{ns}	0,03681*	0,00009*
Média	4,55±0,22	39,60±2,67	200,98±38,76
CV (%)	13,46	15,90	23,05
Fe (mg/dm^3 de solo)	**Médias**		
0	4,40 ± 0,24	36,38 ± 7,07	140,72 ± 16,20
150	5,20 ± 0,37	47,49 ± 4,10	313,60 ± 25,14
250	4,20 ± 0,20	38,31 ± 5,07	161,60 ± 14,01
350	4,40 ± 0,24	36,23 ± 8,11	188,00 ± 25,02
Regressão p valor			
Linear	-	0,4558	0,9141
Desvio da Regressão	-	1,0000	1,0000

FV: fonte de variação; CV: coeficiente de variação; ±: erro padrão; *: diferença significativa a 5%; ns: não significativo a 5% de probabilidade.

Em relação ao sistema radicular, houve aumento tanto no comprimento, quanto na massa fresca da raiz conforme as concentrações de ferro no solo aumentavam (Fig. 2 e 3).

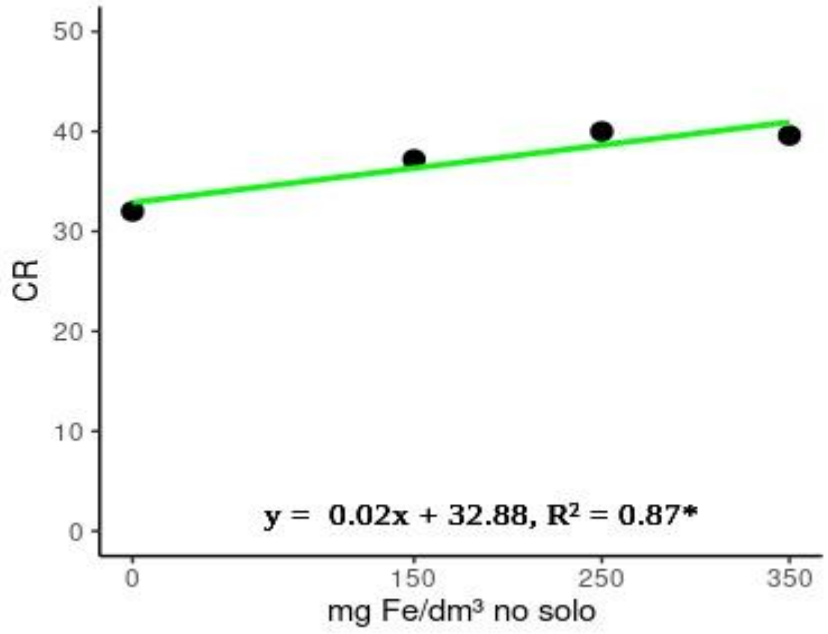


Figura 2: Comprimento da raiz (cm) de *Canavalia ensiformis* cultivada em solo contaminado por ferro (mg/dm^3 de solo).

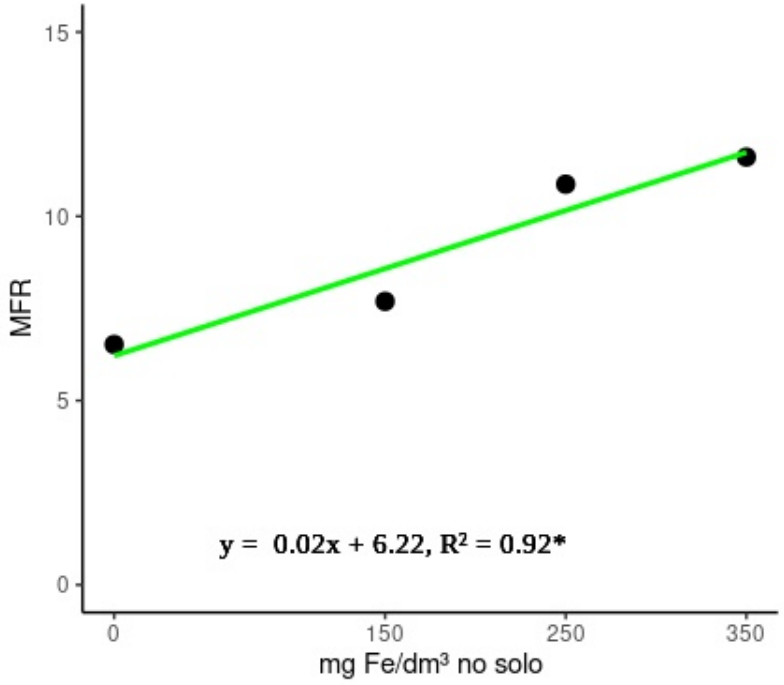


Figura 3: Massa fresca da raiz (g) de *Canavalia ensiformis* cultivada em solo contaminado por ferro (mg/dm^3 de solo).

Em relação ao número e massa fresca de nódulos, podemos observar que não houve diferença significativa para os números de nódulos (Tabela 1) porém houve um aumento na massa fresca (Fig. 4).

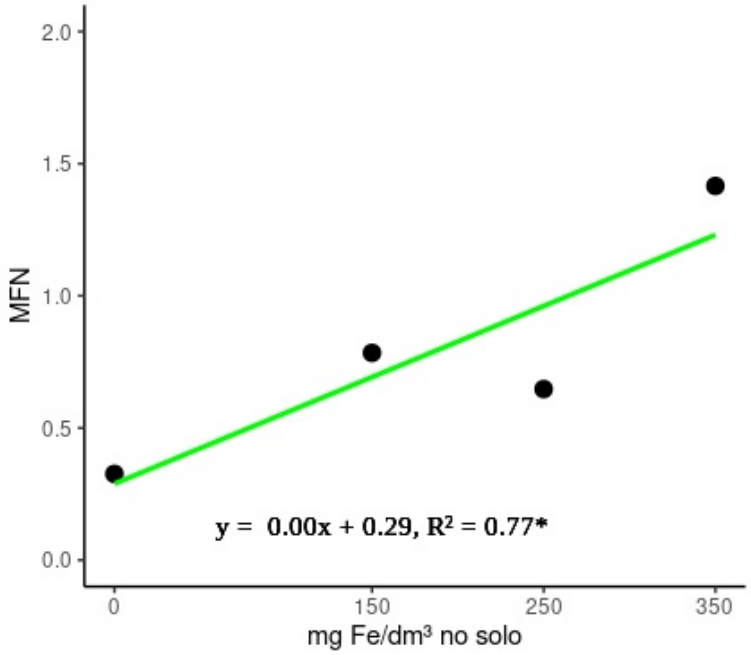


Figura 4: Massa fresca de nódulos (g) de *Canavalia ensiformis* cultivada em solo contaminado por ferro (mg/dm^3 de solo).

Quanto a massa seca (caule, folha, parte aérea, raiz e total), não houve diferença significativa entre os tratamentos de *C. ensiformis* (Tabela 2).

Tabela 2. Regressão para massa seca da folha (g); massa seca do caule (g); massa seca da parte aérea (g); massa seca da raiz (g) e massa seca total (g) de *Canavalia ensiformis* cultivada em solo contaminado por ferro (mg/dm^3 de solo). Número de observações: 20.

***Canavalia ensiformis* tratada com ferro**					
FV	**MSF (g)**	**MSC (g)**	**MSPA (g)**	**MSR (g)**	**MST (g)**
Pr>Fc	0,010814*	0,16677^{ns}	0,015705*	0,2469^{ns}	0,0602^{ns}
Média	5,83 ± 0,58	3,10 ± 0,13	39,60 ± 2,66	1,17 ± 0,05	10,18 ± 0,61
CV (%)	19,57	13,64	16,98	16,17	15,61
Fe (mg/dm^3 de solo)	**Médias**				
0	5,50 ± 0,55	3,01 ± 0,22	36,38 ± 3,16	1,16 ± 0,07	9,57 ± 073
150	7,41 ± 0,44	3,49 ± 0,14	47,48 ± 1,83	1,05 ± 0,05	11,99 ± 0,64
250	4,62 ± 0,30	2,99 ± 0,20	38,31 ± 2,27	1,18 ± 0,07	9,24 ± 0,53
350	5,79 ± 0,66	2,92 ± 0,18	36,23 ± 3,62	1,30 ± 0,11	9,95 ± 0,88
Regressão p valor					
Linear	0,4120	-	0,3176	-	-
Desvio da Regressão	1,0000	-	1,0000	-	-

FV: fonte de variação; CV: coeficiente de variação; ±: erro padrão; *: diferença significativa a 5%; ns: não significativo a 5% de probabilidade.

3.2 - Parâmetros de trocas gasosas

Observamos que à medida que as concentrações de ferro no solo aumentavam, a taxa fotossintética (A), transpiração (E) e condutância estomática (gs) de *Canavalia ensiformis* diminuíram de acordo com a Fig. 5, 6 e 7.

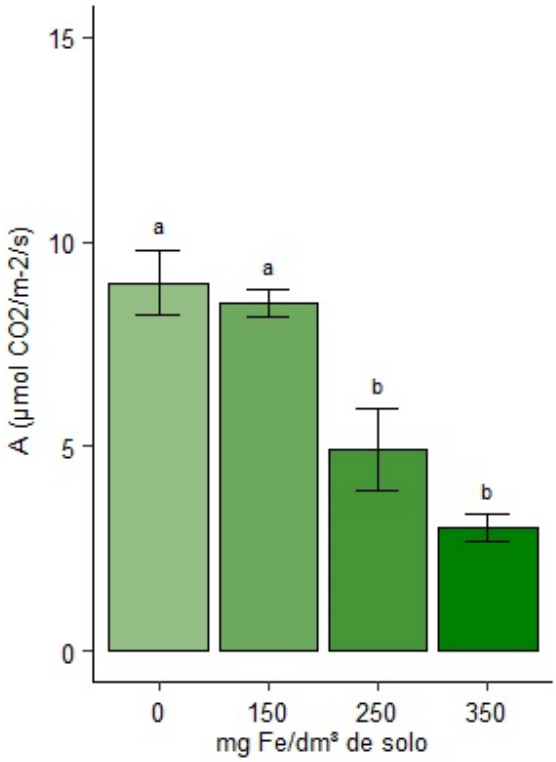


Figura 5: Taxa fotossintética (µmol CO_2 m_2/s) de *Canavalia ensiformis* cultivada em solo contaminado por ferro (mg/dm^3 de solo).

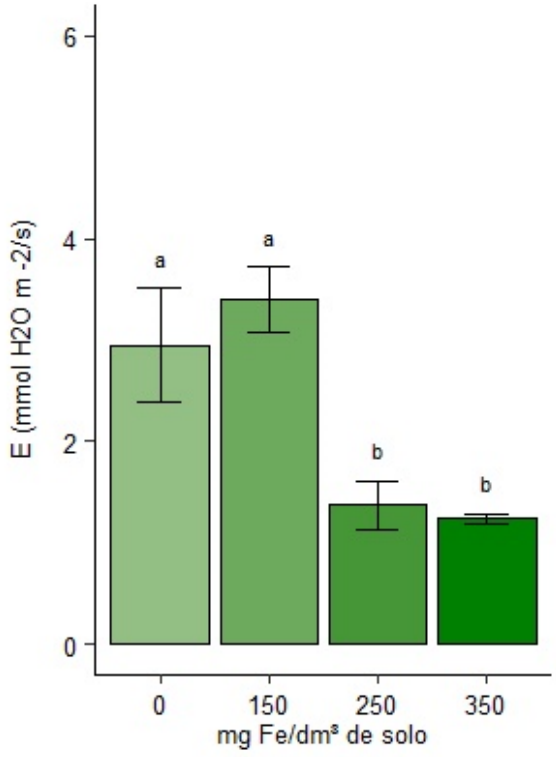


Figura 6: Transpiração (mmol H_2O m_2/s) de *Canavalia ensiformis* cultivada em solo contaminado por ferro (mg/dm^3 de solo).

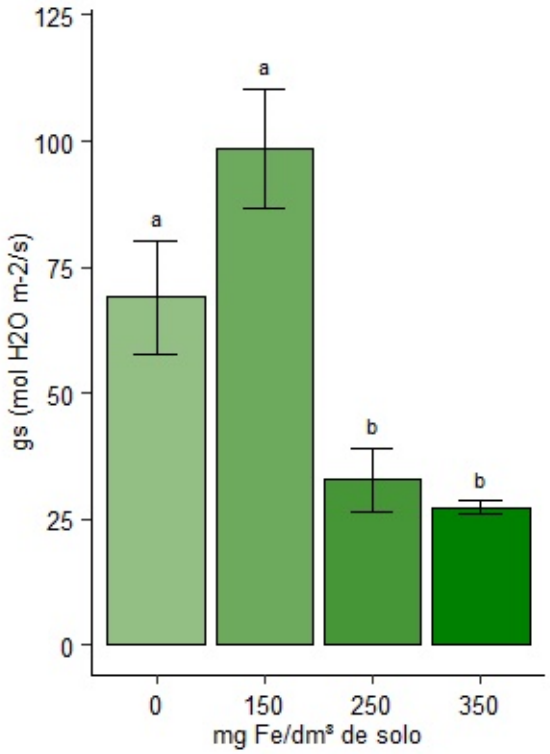


Figura 7: Condutância estomática (mol H_2O m_2/s) de *Canavalia ensiformis* cultivada em solo contaminado por ferro (mg/dm^3 de solo).

3.3 – Pigmentos fotossintetizantes

Em relação ao teor de clorofila *b*, houve uma tendencia de redução, mas isso não diferiu estatisticamente (Fig.8). Para o conteúdo de clorofila *a* e *totais* não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. O mesmo acontece em relação aos carotenoides, não havendo diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 3).

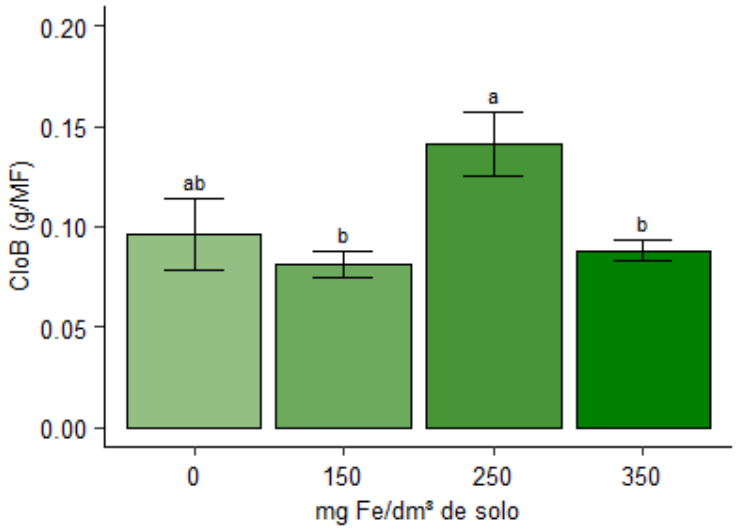


Figura 8: Conteúdo de clorofila *b* (mg/gMF) em *Canavalia ensiformis* cultivada em solo contaminado por ferro (mg/dm^3 de solo).

Tabela 3. Análise de variância e Tukey para Clorofila A (mg/gMF); Clorofila total (mg/gMF); Carotenoides (mg/gMF) de *Canavalia ensiformis* cultivada em solo contaminado por ferro (mg/dm^3 de solo). Número de observações: 20.

***Canavalia ensiformis* tratada com Ferro**			
FV	**CloA** (mg/gMF)	**CloTotais** (mg/gMF)	**Car** (mg/gMF)
Pr>Fc	0,525^{ns}	0,496^{ns}	0,849^{ns}
Media	0,83 ± 0,04	0,93 ± 0,05	0,23 ± 0,01
CV (%)	27,77	26,57	33,30
mg Fe/dm³ de solo		**Médias**	
0	0,86 ± 0,09 a	0,98 ± 0,24 a	0,23 ± 0,02 a
150	0,89 ± 0,14 a	0,98 ± 0,31 a	0,23 ± 0,04 a
250	0,87 ± 0,11 a	0,98 ± 0,27 a	0,25 ± 0,04 a
350	0,69 ± 0,03 a	0,78 ± 0,09 a	0,20 ± 0,01 a

FV: fonte de variação; CV: coeficiente de variação; ±: erro padrão; ns: não significativo a 5% de probabilidade.

3.4 - Índices de tolerância, translocação e acúmulo

A partir dos dados de massa seca, foi mensurado o índice de tolerância (IT) de *C. ensiformis* ao ferro, na qual apresentou ser tolerante a esse metal, devido ao IT>0,5 (Ci *et al*., 2011; Jia *et al*., 2017) em todos os tratamentos (Fig.9).

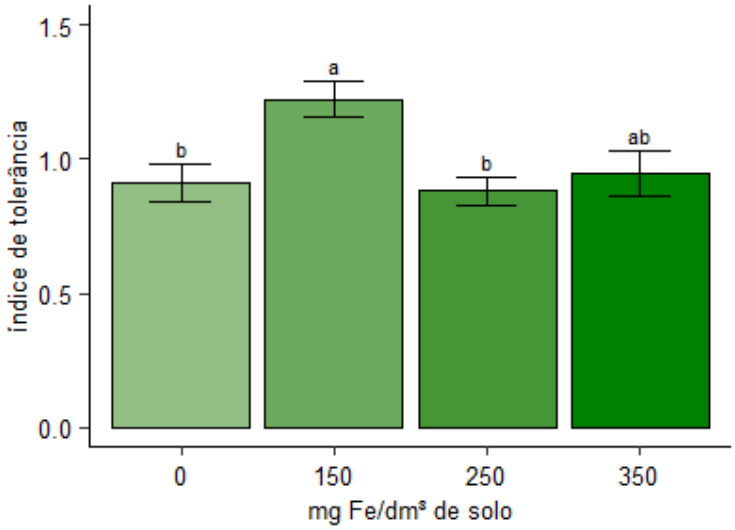


Figura 9: Índice de tolerância em *Canavalia ensiformis* cultivada em solo contaminado por ferro (mg/dm^3 de solo).

Em relação ao índice de translocação e acúmulo de Fe na planta, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 4).

Tabela 4. Análise de variância e Tukey para índice de translocação da parte aérea e raiz (%) e acúmulo da parte aérea e raiz (mg Fe/g) em *Canavalia ensiformis* cultivada em solo contaminado por ferro (mg/dm^3 de solo). Número de observações: 20.

***Canavalia ensiformis* tratada com Ferro**				
FV	**Translocação PA** (%)	**Translocação raiz** (%)	**Acúmulo PA** (mg Fe/g)	**Acúmulo raiz** (mg Fe/g)
Pr>Fc	0,113^{ns}	0,113^{ns}	0,209^{ns}	0,336^{ns}
Media	34,81 ± 2,68	65,17 ± 2,68	1,74 ± 0,17	3,33 ± 0,13
CV (%)	22,55	12,05	34,20	16,62
mg Fe/dm^3 de solo	**Médias**			
0	41,53 ± 3,90 a	69,82 ± 3,90 a	2,15 ± 0,27 a	3,38 ± 0,24 a
150	36,73 ± 2,85 a	69,16 ± 2,85 a	1,92 ± 0,24 a	2,97 ± 0,15 a
250	30,83 ± 4,12 a	63,26 ± 4,12 a	1,46 ± 0,35 a	3,35 ± 0,16 a
350	30,17 ± 2,98 a	58,46 ± 2,98 a	1,45 ± 0,14 a	3,64 ± 0,36 a

FV: fonte de variação; CV: coeficiente de variação; ±: erro padrão; ns: não significativo a 5% de probabilidade; PA: Parte Aérea.

4 - DISCUSSÃO

Podemos observar que, conforme as concentrações de ferro no solo aumentaram, não houve diferença significativa em relação a massa fresca da parte aérea, porém houve um declínio no comprimento do caule. Em contrapartida, houve um aumento no crescimento e na massa fresca das raízes. Segundo Ghazaryan *et al*. (2022), o aumento das raízes em relação a parte aérea se deve ao fato da capacidade de fitoestabilização dessas plantas, ou seja, a alta produção das raízes em comparação a parte aérea está relacionado a capacidade de acumular concentrações de metais evitando sua translocação para parte aérea e a dispersão para outros órgãos.

Plantas com alta produção de biomassa são vantajosas na fitorremediação de metais tóxicos, proporcionando maior eficiência na extração de metais devido ao seu ciclo rápido, quando comparadas às hiperacumuladoras, cujo crescimento é baixo e lento (HASSAN E AARTS, 2011; SOUZA *et al*., 2018). Podemos observar que, conforme os tratamentos aumentaram, não houve diminuição da massa fresca nem seca tanto da parte aérea quanto da raiz de *C. ensiformis*. Logo, mesmo em altas concentrações de Fe, a leguminosa manteve o seu padrão de biomassa, sendo esta uma das características de fitorremediadora. Além da produção de grandes quantidades de biomassa, as leguminosas: *Canavalia ensiformis, Calopogonium mucunoides, Stizolobium aterrimum, Canavalia gladiata, Crotalaria, junceae* (SOUZA *et al*., 2018), realizam a fixação biológica de nitrogênio, conferindo vantagem de crescimento em solos pobres em nitrogênio, como pode ser o caso de solos contaminados.

Os resultados mostraram que em todas as concentrações de Fe no solo, a *C. ensiformis* foi capaz de translocar e acumular o metal. Há uma grande possibilidade do metal ter sido translocado e acumulado nas raízes por ter apresentado uma média de translocação e acúmulo maior do que a parte aérea. Semelhante a isso, o maior acúmulo de Fe ocorreu nas raízes de *Setaria parviflora, Paspalum urvillei* e *Echinochloa crus-galli* (SIQUEIRA-SILVA *et al*., 2019). Esse acúmulo na raiz é uma estratégia para evitar danos nos tecidos foliares e consequentemente no aparato fotossintético (DE ARAUJO *et al*., 2014; SANTANA *et al*., 2014; e SIQUEIRA-SILVA *et al*., 2019).

A *C. ensiformis* apresentou ser tolerante ao Fe devido ao IT>0,5 (CI *et al*., 2011; JIA *et al*., 2017). Segundo Esringü *et al*. (2014), plantas tolerantes tendem a restringir as transferências de metais para a parte aérea, acumulando-se principalmente nas raízes. Logo, um sistema radicular com alta biomassa, característica vista em *C. ensiformis*, é uma

propriedade vantajosa na sobrevivência da planta em solo contaminado, o que as torna mais adequadas para o processo de fitorremediação (PILON-SMITS, 2005).

Por apresentar características favoráveis, a *C. ensiformis* pode atuar como uma possível fitorremediadora em solos com excesso de Fe. Essa leguminosa tem sido vista como uma planta altamente qualificada para remediação de contaminantes do solo proveniente de herbicidas, como o trifloxysulfuronsodium (SANTOS *et al*., 2004; PROSCÓPIO *et al*., 2005 a, b, 2006, 2007), e o sulfentrazone (MADALÃO *et al*., 2012 a, b; 2013), porém estudos que avaliem seu potencial fitorremediador a elementos potencialmente tóxicos é pouco estudado.

Ainda que não tenha sido observada diferença significativa em relação ao número de nódulos, foi possível notar um aumento na massa fresca e no tamanho desses nódulos durante o desenvolvimento da *C. ensiformis* indicando que, uma vez formados, os nódulos aumentaram a sua massa e, consequentemente, a eficiência da fixação de N_2. De acordo com HANSEN *et al*. (1983) não é necessário muitos nódulos, mas, nódulos grandes, capazes de promover maior eficiência relativa.

Em relação aos pigmentos fotossintéticos, não houve diferença significativa para os índices de clorofila *a,* totais e carotenoides, conforme os tratamentos de Fe no solo aumentaram, mas, em contrapartida, houve uma tendencia de redução em relação a clorofila *b*. Em estudos com palmiteiro (*Euterpe edulis*), Nakazono *et al*. (2001) verificaram que os teores de clorofila *a* e *b* foram menores quanto maior a quantidade de luz. Paulilo (2000), em estudos com a mesma espécie, verificou aumento no teor de clorofila total e clorofila *b* em plantas sob baixos níveis de radiação. Logo, a diminuição da clorofila *b* pode estar associada a um ajuste para captação de uma maior quantidade de luz disponível sobre a planta.

Em relação aos parâmetros de trocas gasosas, podemos observar que à medida que as concentrações de ferro no solo aumentavam, a taxa fotossintética (A), transpiração (E) e condutância estomática (gs) de *C. ensiformis* diminuíram. Os mesmos resultados são encontrados nas gramíneas *Paspalum densum* e *Echinochloa crus-galli* , quando cultivadas em excesso de Fe (SIQUEIRA-SILVA *et al*., 2019), sintomas típicos de intoxicação por Fe, conforme relatado para outras espécies *Ipomoea batatas* , *Eugenia uniflora , Clusia hilariana* e *Pisum sativum* (ADAMSKI *et al*., 2011; DA SILVA *et al*., 2015; XU *et al*., 2015).

A fitotoxicidade do Fe pode ocorrer de duas formas: indireta ou direta. A fitotoxicidade indireta ocorre quando há formação de placas de Fe na superfície radicular,

afetando a absorção de nutrientes (ARAÚJO *et al*., 2016; SIQUEIRA-SILVA *et al*., 2012; ZHANG *et al*., 1999). A fitotoxicidade direta ocorre quando o Fe é absorvido e acumulado nos tecidos vegetais (LOBRÉAUX *et al*., 1995; SCHMIDT, 2006) com a presença de manchas marrons nas folhas, também conhecidas como bronzeamento foliar, devido ao acúmulo de Fe nos tecidos foliares e consequentes danos aos componentes celulares (BECKER e ASCH, 2005; PINTO *et al*., 2016; SANTANA *et al*., 2014; WU *et al*., 2014). Mesmo em altas concentrações de Fe no solo, não houve bronzeamento foliar em *C. ensiformis*, nem formação de placas de Fe na superfície das raízes.

A redução na taxa fotossintética, transpiração e condutância estomática pode ser explicada devido ao fechamento dos estômatos. O fechamento estomático e a consequente redução do fluxo normal de CO_2 em direção ao sítio de carboxilação constituem um dos principais responsáveis pela redução da fotossíntese sendo a água um dos fatores fundamentais responsáveis pelo processo que regula a abertura ou fechamento dos estômatos (BOSCO *et al*., 2009). A condutância estomática é responsável pelo fluxo de entrada de CO_2 e saída de água pelo estômato; quanto menor sua abertura, maior a resistência estomática e, consequentemente, a diminuição da transpiração (TAIZ & ZEIGER, 2004). Logo, o fechamento estomático influencia na redução da fotossíntese e na redução da transpiração.

5 - CONCLUSÃO

Pode-se observar que à medida que aumentaram as concentrações de ferro no solo, a taxa fotossintéticas, transpiração e condutância estomática diminuíram, assim como o comprimento do caule. Por outro lado, houve aumento do comprimento e massa fresca do sistema radicular e massa fresca de nódulos. A espécie é tolerante as concentrações de ferro testadas, sendo o crescimento radicular uma possível estratégia dessa tolerância. De acordo com a resposta de acúmulo e translocação, a *C. ensiformis* pode apresentar potencial para fitorremediação de ferro.

6 - REFERÊNCIAS

ABHILASH, P. C. *et al*. Plant–microbe interactions: novel applications for exploitation in multipurpose remediation technologies. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 30, n. 8, p. 416-420, 2012.

ADAMSKI, J. M. *et al*. Excess ironinduced changes in the photosynthetic characteristics of sweet potato. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 168, n. 17, p. 2056-2062, 2011.

ARAÚJO, C. V. M.; CEDEÑO-MACIAS, L. A. Heavy metals in yellowfin tuna (Thunnus albacares) and common dolphinfish (Coryphaena hippurus) landed on the Ecuadorian coast. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 541, p. 149-154, 2016.

BECKER, M.; ASCH, F. Iron toxicity in rice: conditions and management concepts. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, [s. l.], v. 168, n. 4, p. 558-573, 2005.

BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas.** Jaboticabal: FUNEP, p. 41, 2003.

BRIAT, J. F. *et al*. New insights into ferritin synthesis and function highlight a link between iron homeostasis and oxidative stress in plants. **Annals of Botany**, London, v. 105, n. 5, p. 811-822, 2009.

CARO, A.; PUNTARULO, S. Effect of in vivo iron supplementation on oxygen radical production by soybean roots. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)** - General Subjects, v. 1291, n. 3, p. 245-251, 1996.

CHANG, R.; GOLDSBY, K. A. **Química,** 11. ed. AMGH, p.1000, 2013.

CHAVES, L. H. G. *et al*. **Acúmulo e distribuição de cobre e zinco em mamoneira cultivar BRS Paraguaçu e crescimento da planta**. Engenharia-Ambiental-Espirito Santo do Pinhal, v. 7, p. 263-277, 2010.

CI, D. W. *et al*. Variation in cadmium tolerance and accumulation and their relationship in wheat recom binant inbred lines at seedling stage. **Biological Trace Element Research**, v. 142, p. 807–818, 2011.

DA SILVA, L. C. *et al*. Differential responses of C3 and CAM native Brazilian plant species to a SO2- and SPMFe-contaminated Restinga. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 22, n. 18, p. 14007-14017, 2015.

DAN, T. V. **Phytoremediation of metal contaminated soils:** Metal tolerance and metal accumulation in Pelargonium SP. These (Doctored) - The University of Guelph, Ottawa, 2001.

ELBE, J.H. Von. Colorantes. In FENNEMA, O. W. (Ed). **Quimica de los alimentos**. 2 ed. Zaragoza: Wisconsin, p. 782-799, 2000.

ESRINGÜ, A. *et al*. Roles of Bacillus megaterium in Remediation of Boron, Lead, and Cadmium from Contaminated Soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, [s. l.], v. 45, n. 13, p. 1741-1759, 2014.

GABOS, M. B.; ABREU, C. A. Absorção de chumbo pelo feijão-de-porco assistido pela aplicação de EDTA no solo. In: FERTBIO, 2008, Londrina. Anais eletrônico. Londrina: CENB, 2008.

GHAZARYAN, K.A.; MOVSESYAN, H.S.; MINKINA, T.M. Fitorremediação de solo contaminado por cobre por *Artemisia absinthium*: efeito comparativo de agentes quelantes. **Environ Geochem Health**, p. 1203–1215, 2022.

GHNAYA, T. *et al.* Nodulation by Sinorhizobium meliloti originated from a mining soil alleviates Cd toxicity and increases Cd-phytoextraction in Medicago sativa L. **Frontiers in Plant Science,** v. 6, p. 1-10, 2015.

GOULDING, K. W. T.; BLAKE, L. Land use, liming and mobilization of potentially toxic metals. **Agriculture, Ecosystems and Environmental**, v. 67, p. 135-144, 1998.

GUERINOT, M. L.; YI, Y. Iron: Nutritious, Noxious, and Not Readily Available. **Plant Physiology**, 104, n. 3, p. 815-820, 1994.

HANSEN, A.P. *et al*. Respiration and nitrogen fixation of hydroponically cultured **Phaseolus vulgaris** L. cv OAC Rico and supernodulant mutant I. Growth, mineral composition and effect of sink removal. **Planta**, v.189, p. 538-545, 1983.

HASSAN, Z.; AARTS, M. Opportunities and Feasibilities for Biotechnological Improvement of Zn, Cd or Ni Tolerance and Accumulation in Plants. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 72, p. 53-63, 2011.

HISCOX, J. D.; ISRAEL-STAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 57, p. 1332-1334, 1999.

HURTADO, S.M.C. *et al*. Clorofilômetro no ajuste da adubação nitrogenada em cobertura para o milho de alta produtividade. **Ciência Rural**, v. 41, p.1011-1017, 2011.

JIA, W. *et al*. Identification for the capability of Cd-tolerance, accumulation and translocation of 96 sorghum genotypes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 145, p. 391-397, 2017.

LIMA, L.R. *et al*. Characterization of biomass sorghum for copper phytoremediation: photosynthetic response and possibility as a bioenergy feedstock from contaminated land. **Physiology and Molecular Biology of Plants** v. 25, p. 433-441, 2019.

LOBRÉAUX, S.; THOIRON, S.; BRIAT, J.F. Induction of ferritin synthesis in maize leaves by an iron-mediated oxidative stress. **The Plant Journal**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 443- 449, 1995.

LÓPEZ, R. E. S. Canavalia ensiformis (L.) DC (Fabaceae). **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, v. 7, n. 03, p. 146–154, 2012. DOI: 10.32712/2446-4775.2012.149. Disponível em: https://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/149. Acesso em: 14 maio. 2023.

LUO, C. *et al*. Heavy metal contamination in soils and vegetables near an e-waste processing site, south China. **journal of Hazardous Materials** 186, p. 481-490, 2011.

MADALÃO, J. C. *et al.* O. **Uso de leguminosas na fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone.** Pesquisa Agropecuária Tropical, v. 42, n. 4, p. 390-396, 2012a.

MADALÃO, J.C. *et al*. Fitorremediação de solos contaminados com o herbicida sulfentrazone por espécies de adubos verdes. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 55, n. 4, p. 288-296, 2012b.

MADALÃO, J.C. *et al*. Susceptibilidade de espécies de plantas com potencial de fitorremediação do herbicida sulfentrazone. **Revista Ceres**, v. 60, n. 1, p. 111-121, 2013.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: **Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato,** 1997.

MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. **Fisiologia Vegetal**: Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral. UFV, p. 267-297, 2009.

MARSCHNER, H. **Function of mineral nutrients: micronutrients.** [S. l.]: Mineral Nutrition of Higher Plants, 2. ed, p. 313-404, 1995.

MATEUS, G. P.; CRUSCIOL, C. A. C.; NEGRISOLI, E. Palhada do sorgo de guiné-gigante no estabelecimento deplantas daninhas em área de plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 6, p. 539-542, 2004.

MEJÁRE, M.; BÜLOW, L. Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 19, n. 2, p. 67-73, 2001.

MELO, E.E.C.; NASCIMENTO, C. W. A; SANTOS, A. C. Q. Solubilidade, fracionamento e fitoextração de metais pesados após aplicação de agentes quelantes. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 30, p.1051-1060, 2006.

MEMON, A. R.; SCHRÖDER, P. Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 162-175, 2009.

NAKAZONO, E. M. *et al*. Early growth of Euterpe edulis Mart. in different light enviroments. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 173-179, 2001.

OLIVEIRA, T. K.; CARVALHO, G. J.; MORAES, R. N. S. Plantas de cobertura e seus efeitos sobre o feijoeiro em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 8, p. 1079-1087, 2002.

PAULILO, M. T. S. Ecofisiologia de plântulas e plantas jovens de Euterpe edulis Mart. (Arecaceae): Comportamento em relação à variação da radiação solar. **Sellowia**, v. 49-52, p. 93-105, 2000.

PEKKER, I.; TEL-OR, E.; MITTLER, R. Reactive oxygen intermediates and glutathione regulate the expression of cytosolic ascorbate peroxidase during iron-mediated oxidative stress in bean. **Plant Molecular Biology, Dordrecht**, v. 49, n. 5, p. 429-438, 2002.

PILON-SMITS, E. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Biology**, v. 56, p. 15-39, 2005.

PINTO, S. D. S. *et al*. Oxidative damage and photosynthetic impairment in tropical rice cultivars upon exposure to excess iron. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 73, p. 217-226, 2016.

PORTO, M. F. D. S. A tragédia da mineração e do desenvolvimento no Brasil: desafios para a saúde coletiva. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, 2016. ISSN 0102-311X.

RAVET, K. *et al*. Ferritins control interaction between iron homeostasis and oxidative stress in Arabidopsis. **The Plant Journal**, [s. l.], v. 57, n. 3, p. 400-412, 2009.

SANTANA, B. V. N. *et al.* Leaf morphoanatomy of species tolerant to excess iron and evaluation of their phytoextraction potential. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 21, n. 4, p. 2550-2562, 2014.

SANTOS, J. B. *et al.* Fitorremediação do herbicida trifloxysulfuron- sodium. **Planta Daninha,** v. 22, n. 2, p. 223-330, 2004.

SCHMIDT, W. Iron Stress Responses in Roots of Strategy I Plants. In: BARTON, L. L. e ABADIA, J. (ed.). Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms. **Springer**, p. 229-250, 2006.

SEVERINO, F. J.; CRHISTOFFOLETI, P. J. Efeitos de quantidades de fitomassa de adubos verdes na supressão de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 19, n. 2, p. 223-228, 2001.

SILVA, M. L. S.; VITTI, G. C.; TREVIZAM, A. R. Concentração de metais pesados em grãos de plantas cultivadas em solo com diferentes níveis de contaminação. **Pesq. Agropec. Bras**., Brasília, v. 42, n. 4, p. 527-535, 2007.

SIQUEIRA-SILVA, A. I.; RIOS, C. O.; PEREIRA, E. G. Iron toxicity resistance strategies in tropical grasses: The role of apoplastic radicular barriers. **Journal of Environmental Sciences**, Los Angeles, v. 78, p. 257-266, 2019.

SIQUEIRA-SILVA, A. I. *et al.* Iron plaque formation and morphoanatomy of roots from species of restinga subjected to excess iron. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 78, p. 265-275, 2012.

SOUZA, L. A.; CAMARGOS, L. S.; CARVALHO, M. E. A. Toxic metal phytoremediation using high biomass non-hyperaccumulator crops: new possibilities for bioenergy resources. In: MATICHENKOV, V. et al (ed.). **Phytoremediation**: methods, management and assessment. New York: Nova Science Publishers, cap. 1, p. 1- 24, 2018.

TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, p. 693, (Trad. SANTARÉM E.R. *et al*.), 2004.

WELLBURN, A.R. The spectral determination of chlorophyll a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, v. 144, p. 307–313, 1994.

WU, L.B. *et al.* Genetic and physiological analysis of tolerance to acute iron toxicity in rice. **Rice**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 8, 2014.

XU, S. *et al.* LNG vaporizers using various refrigerants as intermediate fluid: Comparison of the required heat transfer area. **Journal of Natural Gas Science and Engineering**, [s. l.], v. 25, p. 1-9, 2015.

ZHANG, X.; ZHANG, F.; MAO, D. Effect of iron plaque outside roots on nutrient uptake by rice (Oryza sativa L.): phosphorus uptake. **Plant and Soil**, The Hague, v. 209, n. 2, p. 187-192, 1999.