

ADVÂNIO INÁCIO SIQUEIRA SILVA

**MORFOANATOMIA E COMPOSIÇÃO MINERAL DE RAÍZES DE DUAS
ESPÉCIES DE RESTINGA SUBMETIDAS AO EXCESSO DE FERRO**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Botânica, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

ADVÂNIO INÁCIO SIQUEIRA SILVA

**MORFOANATOMIA E COMPOSIÇÃO MINERAL DE RAÍZES DE DUAS
ESPÉCIES DE RESTINGA SUBMETIDAS AO EXCESSO DE FERRO**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Botânica, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

APROVADA: 23 de março de 2009.

Prof^ª. Aristéa Alves Azevedo
(Coorientadora)

Prof. Marco Antonio Oliva Cano
(Coorientador)

Prof^ª. Kacilda Naomi Kuki

Prof. Wagner Campos Otoni

Prof^ª. Luzimar Campos da Silva
(Orientadora)

A Deus e a todos
que contribuíram para
a minha conquista.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Biologia Vegetal, e à CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

À minha orientadora, Prof^a. Luzimar Campos da Silva, pelo incentivo, confiança, ensinamentos e por me ajudar a realizar esta conquista. Em 2004, no Congresso Nacional de Botânica em Viçosa, sem sua aprovação para estagiar na anatomia, eu provavelmente teria seguido outra trajetória. Esta conquista é sua também, e tenho muito orgulho em ser o seu primeiro orientado.

À minha prima Célia Regina, por ter custeado as minhas despesas, no período em que fui aluno especial da Pós-Graduação em Botânica. Sem sua ajuda, seria impossível a minha estadia aqui.

À minha avó, minha mãe e meus irmãos, pelo incentivo e apoio em todos os momentos. A realização deste sonho seria impossível sem a ajuda de vocês. Eu amo vocês.

À minha tia Helena e demais familiares, pelo apoio. Vocês são 10.

À minha namorada, pelo apoio incondicional, pelo amor e companheirismo. Josi, esta vitória é sua também, e só você sabe como foi difícil.

À Prof^a. Aristéa Alves Azevedo, por ter me orientado no primeiro ano e por todos os momentos vividos e ensinamentos transmitidos. Obrigado por todas as sugestões e críticas na dissertação.

Ao Prof. Marco Antônio Oliva, pela confiança, ensinamento e sugestões na dissertação.

À Banca examinadora, pelas valiosas sugestões.

À Prof^a. Rosane e à Maione, por permitir utilizar o shaker.

À Prof^a. Marília Ventrela e Prof^a. Renata Strozi, pela amizade, convívio e ensinamentos.

À todos os demais professores do Programa, pelos ensinamentos e vivências.

À Prof^a. Idalina Leite, pelo ensinamento e incentivo no início da minha carreira científica.

Ao Victor Coellho, pela amizade, convívio diário e ajuda durante o experimento. “Amigo é coisa para se guardar, debaixo de sete chaves, dentro do coração”.

Ao Pedro Paulo, pelas risadas, molecagem, incentivo e pela amizade. Você faz falta no convívio aqui do dia a dia. Obrigado também pela assessoria técnica.

À dupla Cristina e Marina, pela amizade e incentivo. Vocês são muito especiais para mim.

Aos amigos do curso e do Laboratório de Anatomia Vegetal: Diogo, Dudu, Flávia, Jaque Dias, Kellen Lagares, Valdinea, Lucimara, Narah, Kléber, Clébio, Tiago, Tuane, Letícia, Naiara, Guilherme, Rosi, Rafaela, Juliana Lanna, Bittencourt, Ana Cláudia, Robs, Patrícia França, Patrícia Nolasco, Eliabe, Adriana, Lourdes Iarema e a todas as meninas do BIC-Júnior.

À Joseane Bessa, pela amizade, convívio e incentivo.

Aos brothers Luiz Fernando e Vinícius Kuster, muito obrigado pela ajuda.

À Karina Lucas, Dayana e Bruno pelo incentivo e amizade.

À Dona Edite, mais que uma técnica, uma mãe para mim.

À família UCP: Kacilda, Cláudio, Eduardo, Carol, Letícias, Claudinéia, Vivi, Pitty, Laíse, Patrícias, etc.

Ao amigo Igor Assis, palavras são poucas para dizer o tanto sou grato. Torço por você até contra o vento.

Ao Rogério Gomide e ao João Bosco pela ajuda incondicional durante a montagem e condução dos experimentos.

Ao amigo Eduardo Gusmão, obrigado por todas as dicas, e pela ajuda em todos os momentos. Não há dinheiro no mundo que pague tudo o que você fez por mim. Que Deus lhe dê em dobro.

Ao amigo Clenilso Mota, sem você a estatística não teria graça. Valeu pela paciência e presteza. Pessoas como você são raras no mundo.

À Patricia Luisa, pela amizade e pela ajuda durante o experimento.

Ao Diego Ismael, pela amizade e pela ajuda no MEV.

À Alice Pita, pela amizade e incentivo.

Às estagiárias, Sarah Pasini e Lídia Valente, obrigado por toda a ajuda e incentivo.

À Vânia, pela amizade e por todos os ensinamentos.

À Dra. Cláudia Alencar e à Karla Veloso do Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV.

Ao pessoal do Solos, Márcio Pereira, Carlos, João do almoxarifado, Carlinhos do plasma, Luís e Bené do fotômetro. E ao Joel, da Anatomia da Madeira.

A todos os funcionários do Programa de Pós-graduação em Botânica e do Departamento de Biologia Vegetal da UFV, em especial, ao Ângelo, Francine, Edite e João Bosco.

À Conceição, pelo carinho e por torcer pelo meu sucesso.

À minha república: Rafael, Mateus, Rodrigo e Klaus, vocês fazem parte da minha família.
Obrigado por tudo, e por todos os momentos maravilhosos que vivemos.
À cidade de Viçosa, onde eu conheci o grande amor da minha vida, e palco da minha maior conquista em termos de conhecimento até o momento.

BIOGRAFIA

Advanio Inácio Siqueira Silva, filho de José Cândido da Silva e Joelina Maria de Siqueira Silva, nasceu em Ipatinga, MG, em 17 de dezembro de 1979.

Em setembro de 2006, graduou-se em Bacharelado e Licenciatura Plena em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Vitória - ES.

Em outubro de 2006, ingressou como estudante especial na Pós-Graduação em Botânica da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa - MG.

Em março de 2007, iniciou o curso de Mestrado na Pós-Graduação em Botânica, pelo Departamento de Biologia Vegetal da UFRV.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
INTRODUÇÃO	1
MATERIAL E MÉTODOS	5
Caracterização e obtenção do material vegetal	5
Cultivo em sistema hidropônico	6
Indução à formação da placa de ferro nas raízes	7
Extração e composição química da placa de ferro da superfície radicular	7
Quantificação de ferro e teor de nutrientes nas plantas, após 228 horas de exposição ..	8
Caracterização morfológica	9
Microscopia de luz e eletrônica de varredura	9
Histoquímica da raiz	10
Análise estatística	10
RESULTADOS	11
DISCUSSÃO	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
TABELAS	36
FIGURAS	38
CONCLUSÕES GERAIS	46

RESUMO

SILVA, Advanio Inácio Siqueira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2009. **Morfoanatomia e composição mineral de raízes de duas espécies de restinga submetidas ao excesso de ferro.** Orientadora: Luzimar Campos da Silva. Coorientadores: Aristéa Alves Azevedo e Marco Antonio Oliva Cano.

No litoral sul do Espírito Santo, Brasil, a restinga tem recebido nos últimos anos, um aporte adicional de ferro, em função da atividade de indústrias mineradoras de ferro. Objetivou-se caracterizar a estrutura das raízes das espécies nativas de restinga, *Ipomoea pes-caprae* L. (Convolvulaceae) e *Canavalia rosea* DC. (Fabaceae), com o desenvolvimento da placa de ferro; verificar a composição química da placa de ferro e o seu efeito na assimilação de nutrientes; histolocalizar os prováveis sítios de acúmulo de ferro nas raízes; e identificar os sintomas morfoanatômicos causados pelo ferro como poluente, na estrutura radicular dessas espécies. Mudanças de ambas as espécies foram cultivadas em solução nutritiva de Hoagland, em pH 5,5, com e sem excesso de íon ferroso (150 mg/L de Fe^{+2} como $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), variando-se o tempo de exposição (12; 36; 108 e 228 horas), após a aplicação do ferro. Ao término de cada exposição foram coletadas raízes laterais em ambas as espécies, e coletadas em *C. rosea*, para as análises morfoanatômicas, histoquímicas e ultraestruturais, além da quantificação do ferro na planta e teor de nutrientes nas folhas e raízes, extração e composição química da placa de ferro. As raízes laterais do tratamento controle nas espécies estudadas apresentaram coloração branco-parda, sem formação de placa de ferro. Após exposição ao excesso de ferro, verificou-se alteração na morfologia externa dessas raízes, como redução visual no crescimento e emissão de novas raízes, flacidez das raízes, ausência de ramificação, além de um aspecto mucilaginoso e coloração cinza em *I. pes-caprae* e alaranjada em *C. rosea*. Em raízes de *I. pes-caprae* houve escurecimento intenso no ápice radicular, com necrose seguida de queda do ápice. *C. rosea* foi a espécie que mais acumulou ferro na placa de ferro. Entre as espécies estudadas, quando expostas ao excesso de ferro, não houve diferença estatística no fator de translocação de ferro para a parte aérea. A raiz de ambas as espécies apresentou a maior capacidade de concentração de ferro, e o caule, a menor. *C. rosea* apresentou o maior fator de bioconcentração de ferro em todos os órgãos. No tratamento com excesso de ferro, a assimilação de Zn aumentou em *C. rosea* e o teor de N reduziu nas folhas de *I. pes-caprae*. Nos tratamentos de exposição ao excesso de ferro por 12, 36 e 108 horas, não

foram observadas alterações anatômicas nas raízes das duas espécies estudadas. Em ambas as espécies houve alteração na organização e no formato das células do periciclo e do córtex, e o metaxilema não completou sua diferenciação. Em *I. pes-caprae* houve necrose e colapso dos primórdios de raiz lateral e do cilindro vascular. As células do córtex apresentaram retração do protoplasto, formação de tecido de cicatrização e colapso celular. Em *C. rosea* houve alteração no padrão de divisão e diferenciação celular do córtex e na diferenciação celular do periciclo. Em microscopia eletrônica de varredura, as placas de ferro foram evidentes em toda a superfície da raiz, com padrão de deposição desuniforme nas duas espécies. O ferro foi histolocalizado em todos os tecidos radiculares de ambas as espécies, na exposição máxima ao ferro, corroborando com o encontrado na quantificação. O incremento diário de ferro no solo da vegetação de restinga do litoral sul do Espírito Santo, seguido de assimilação e alterações morfoanatômicas nas raízes, pode comprometer a fisiologia dessas espécies.

ABSTRACT

SILVA, Advanio Inácio Siqueira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2009. **Morphoanatomy and mineral composition of roots from two species of restinga submitted to iron excess.** Adviser: Luzimar Campos da Silva. Co-Advisers: Aristéa Alves Azevedo and Marco Antonio Oliva Cano.

In the south coast of Espírito Santo, Brazil, the restinga has received in the last years, an additional increment of iron, due to activities of iron ore industries. It was objectified to characterize the roots structure of the native restinga species, *Ipomoea pes-caprae* L. (Convolvulaceae) and *Canavalia rosea* DC. (Fabaceae), with the iron plaque development; to verify the chemical composition of iron plaque and its effect in nutrients assimilation; to histolocalize the probable sites of iron accumulation in roots; and identify the morpho-anatomical symptoms caused by iron as a pollutant, in the root structure of these species. Seedlings of both species were grown in Hoagland nutrient solution, at pH 5.5, with and without excess of ferrous ion (150 mg / L Fe⁺² as FeSO₄.7H₂O), ranging the exposure time (12, 36, 108 and 228 hours) after the application of iron. At the end of each exposure were collected lateral roots in both species, and root collar in *C. rosea*, for morpho-anatomical, histochemical and ultrastructural analysis, besides the quantification of iron in the plant and nutrient content in leaves and roots, extraction and chemical composition of the iron plaque. The lateral roots of the control treatment in the studied species presented white-brown coloration, without formation of iron plaque. After exposure to excess iron, it was verified alteration in the external morphology of these roots, as visual reduction in growth and emission of new roots, root flaccidity, absence of branching, besides a mucilaginous aspect and gray coloration in *I. pes-caprae* and orange in *C. rosea*. In *I. pes-caprae* roots there were intense browning in root apex, with necrosis followed by apex fall. *C. rosea* was the specie that accumulated more iron in the iron plaque. Among the species studied, when exposed to excess iron, there was no statistical difference in the translocation factor of iron to the aerial part. The root of both species presented the highest capacity for iron concentration, and the stem, the lowest. *C. rosea* presented the highest bioconcentration factor of iron in all organs. In the treatment with excess iron, the assimilation of Zn increased in *C. rosea* and the content of N reduced in the leaves of *I. pes-caprae*. In the treatments of exposure to excess iron for 12, 36 and 108 hours, it was not observed anatomical changes in the roots of both species. In both species there was a

change in organization and shape of pericycle and cortex cells, and metaxylem did not complete its differentiation. In *I. pes-caprae* there were necrosis and collapse of lateral root primordiums and of the vascular cylinder. The cortex cells presented shrinkage of the protoplast, formation of a cicatrization tissue and cell collapse. In *C. rosea* there was alteration in the division and differentiation pattern of cortex cell and differentiation of pericycle cell. In scanning electron microscopy, the iron plaques were evident across the surface of the root, with irregular deposition pattern in both species. The iron was histolocalized in all root tissues of both species, in maximum iron exposition, corroborating with discoveries in quantification. The daily increment of iron on the restinga vegetation soil in the south coast of Espírito Santo, followed by assimilation and morpho-anatomical changes in roots, can compromise the physiology of these species.

INTRODUÇÃO

Na costa brasileira, as restingas se destacam por constituírem um ecossistema de estreita relação com o mar, formando um mosaico de comunidades vegetais associadas à geomorfologia local e adaptadas às condições ambientais (HENRIQUES et al., 1986; ARAUJO, 1992; THOMAZ & MONTEIRO, 1992). Dentre as formações vegetais da restinga, estão as comunidades Halófitas e Psamófitas Reptantes, na qual *Ipomoea pes-caprae* L. (Convolvulaceae) e *Canavalia rosea* DC. (Fabaceae) desempenham papel fundamental na dinâmica sucessional e na preservação da vegetação de restinga, pois são responsáveis por fixar as dunas arenosas, contribuindo para a estabilização do solo e o desenvolvimento de espécies vegetais mais exigentes (PEREIRA, 1990).

Apesar de sua grande importância, a vegetação de restinga vem sofrendo grandes impactos ao longo dos anos, principalmente devido à especulação imobiliária. Mais recentemente, impactos decorrentes das atividades de mineradoras de ferro podem ser observados em áreas de restingas no litoral sul do Espírito Santo, em especial no município de Anchieta, em consequência do funcionamento de uma indústria de beneficiamento e pelletização de minério de ferro (LOPES et al., 2000; SILVA et al., 2006; SILVA & AZEVEDO, 2007; OLIVEIRA et al., 2007; KUKI et al., 2008a-c, 2009; PEREIRA et al., 2009). O material particulado de ferro constitui um dos principais poluentes gerado e emitido por esta indústria (LOPES et al., 2000; GRANTZ et al., 2003; SILVA & AZEVEDO, 2007), representando um aporte adicional de ferro para o ecossistema local e uma nova fonte de estresse para a vegetação.

O minério de ferro é a principal matéria-prima da indústria do aço, um importante setor econômico brasileiro. O Brasil se destaca por ser um dos maiores produtores e exportadores mundiais de minério de ferro (AUSTIN et al., 2007) sendo que suas principais indústrias estão, atualmente, passando por franca expansão em busca da liderança no mercado mundial, o que aumenta o risco para a vegetação local.

Em usinas de pelletização de minério de ferro, as atividades geradoras de emissões atmosféricas estão relacionadas, principalmente, com o manuseio de insumos, queima de combustíveis fósseis, armazenamento, transporte e recuperação dos produtos (LOPES et al., 2000). Uma vez depositado no solo, os metais podem ser acumulados em níveis fitotóxicos e, em associação com baixo pH, podem modificar a composição do substrato e a

disponibilidade de nutrientes para as plantas (FARMER, 1993; UHLIG & JUNTILLA, 2001).

Embora o ferro seja um micronutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento normal das plantas, participando de processos fundamentais como fotossíntese, respiração, fixação de nitrogênio e síntese de DNA (GUERINOT & YI, 1994; BRIAT et al., 1995; BRIAT & LOBRÉAUX, 1997; BECANA et al., 1998), poucos estudos tem sido direcionados para sua acumulação excessiva (AMILS et al., 2007). A absorção e acumulação de metais em altas concentrações podem ser citotóxicas para algumas espécies vegetais, afetando os mecanismos fisiológicos das plantas e causando alterações estruturais e ultraestruturais (BARCELO et al., 1988; ZHAO et al., 2000; HAN et al., 2004). Elevadas concentrações de ferro no solo podem induzir a sintomas de toxicidade como estresse oxidativo com produção de espécies reativas de oxigênio e alteração da integridade de estruturas celulares (KAMPFENKEL et al., 1995; VANSUYT et al., 1997; CONNOLLY & GUERINOT, 2002), além de bronzeamento das folhas, escurecimento do ápice radicular, flacidez e inibição do crescimento da raiz (SNOWDEN & WHEELER, 1995; SCHMIDT & FÜHNER, 1998). A longo prazo, pode haver comprometimento da população e em última instância, do ecossistema (GRANTZ et al., 2003).

Os efeitos do excesso de ferro podem ser diretos, quando há absorção e acúmulo excessivo desse elemento pelas plantas (LOBRÉAUX et al., 1995; SCHMIDT, 2006), ou indiretos, quando sob condições redutoras o ferro é precipitado sobre a superfície das raízes de algumas espécies vegetais, formando uma camada, denominada placa de ferro (TAYLOR et al., 1984; OTTE et al., 1989; LIU et al., 2007, 2008), que pode alterar a capacidade de absorção de nutrientes pelas raízes (HOWELER, 1973; CHEN et al., 1980b; DYNIA & FAGERIA, 1994; ZHANG et al., 1998), atuar como uma barreira para metais fitotóxicos (TAYLOR & CROWDER, 1983; BATTY et al., 2000; LIU et al., 2004, 2005) ou, alternativamente, como um pool que aumenta a absorção de elementos tóxicos e nutrientes (ZHANG et al., 1998, 1999; YE et al., 1997, 1998, 2001). Entretanto, pouco se sabe sobre o real papel da placa de ferro, resultando em informações conflitantes na literatura (BATTY et al., 2000). Um consenso geral é que a formação da placa de ferro é consequência da oxidação do íon ferroso a íon férrico, seguido da precipitação de óxido ou hidróxido de ferro na superfície radicular, em função da capacidade oxidativa das raízes

(CHEN et al., 1980b; TAYLOR et al., 1984), e/ou oxidação biológica por microrganismos (EMERSON et al., 1999; KÜSEL et al., 2003; WEISS et al., 2003).

A presença de estruturas minerais nos tecidos vegetais, em especial placas de ferro nas raízes das plantas, tem sido relatada em várias espécies de monocotiledôneas e dicotiledôneas (ARMSTRONG, 1967; BACHA & ROSSNER, 1977; CHEN et al., 1980a,b, 2006; MENDELSSOHN & POSTEK, 1982; TAYLOR & CROWDER, 1983; TAYLOR et al., 1984; CROWDER & MACFIE, 1986; OTTE et al., 1989; YE et al., 1997, 1998; BATTY et al., 2002; LIU et al., 2004, 2005, 2006, 2007). Além do ferro, outros elementos ocorrem em placas naturais, como o As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, S, Sr, Ti e Zn (GREIPSSON & CROWDER, 1992). A placa de ferro é composta predominantemente de hidróxido férrico, goetita e siderita (HANSEL et al., 2001), sendo que sua capacidade em acumular metais é limitada e depende de fatores como a sua extensão, a concentração do metal, o pH da solução da cultura ou da rizosfera e a idade da raiz (YE et al., 1997).

Em condição hidropônica, a placa de ferro tem sido induzida em raízes de *Typha latifolia* (Typhaceae), *Phragmites australis* (Poaceae), *Oryza sativa* (Poaceae) e *Carex rostrata* (Cyperaceae) (CROWDER & MACFIE, 1986). Embora a composição e a estrutura da placa de ferro formada possa ser diferente da condição natural, estudos devem ser conduzidos para avaliar o seu desenvolvimento nas raízes de espécies vegetais (CROWDER & ST-CYR, 1991).

A maioria dos estudos que abordam o efeito da formação da placa de ferro nas raízes das plantas estão concentrados, principalmente, em espécies ocorrentes em ambientes aquáticos naturais (ARMSTRONG, 1967; TAYLOR et al., 1984) ou poluídos (BACHA & HOSSNER, 1977; TAYLOR et al., 1984; OTTE et al., 1989; SNOWDEN & WHEELER, 1995; HANSEL et al., 2001), não enfocando as espécies de restinga expostas ao ferro como poluente, bem como a histolocalização dos minerais e as alterações estruturais nas raízes com placa de ferro.

O emprego de técnicas histoquímicas tem permitido a histolocalização do ferro, em espécies vegetais de restinga, evidenciando os principais sítios de acúmulo deste elemento nos tecidos (SILVA et al., 2006; SILVA & AZEVEDO, 2007; CARLI, 2008).

Neste trabalho, pretendeu-se testar a hipótese de que espécies vegetais de restinga quando expostas ao excesso de ferro desenvolvem placas de ferro em suas raízes. Assim, os objetivos deste estudo foram: caracterizar a estrutura das raízes de *Ipomoea pes-caprae* e

Canavalia rosea e o desenvolvimento da placa de ferro; verificar a composição química da placa de ferro e o seu efeito na assimilação de nutrientes; histolocalizar os prováveis sítios de acúmulo de ferro nas raízes; e identificar os sintomas morfoanatômicos causados pelo ferro, como poluente, na estrutura radicular de espécies nativas de restinga.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização e obtenção do material vegetal

Ipomoea pes-caprae L. (Convolvulaceae) é uma espécie herbácea, rasteira, perene, com potencial medicinal (PEREDA-MIRANDA et al., 2005; ESCOBEDO-MARTÍNEZ & PEREDA-MIRANDA, 2007; LORENZI & ABREU MATOS, 2008), que apresenta ampla distribuição ao longo das praias de áreas tropicais e subtropicais das Américas do Norte e Sul, costa central leste e oeste da África, Índia, Ásia e Austrália, e em todo litoral brasileiro (CORDAZZO et al., 2006). Possui raiz principal pouco ramificada, com cerca de 40 cm de comprimento, da qual partem raízes laterais que atingem vários metros de comprimento a 20 ou 30 cm de profundidade do solo (CORDAZZO et al., 2006).

Canavalia rosea DC. (Fabaceae) é uma espécie herbácea, rasteira, com potencial alimentar (ABBEY & IBEH, 1987; ARUN et al., 2003, SEENA & SRIDHAR, 2005, 2006; SRIDHAR & SEENA, 2006; BHAGYA et al., 2009), cosmopolita, encontrada comumente em áreas costeiras (KITAJIMA et al., 2008). Possui raiz pivotante curta, que aos 10 cm de profundidade torna-se horizontal ao solo e alcança até 3 metros de comprimento. Do coleto partem vários caules pouco ramificados, podendo atingir até 8 m de comprimento (CORDAZZO et al., 2006).

Plantas de *I. pes-caprae* foram obtidas por propagação vegetativa através de estaquia de um único indivíduo proveniente da restinga do município de Anchieta, litoral sul do Espírito Santo, situada a 6 m de altitude sob as coordenadas geográficas de 20°46'16" de latitude sul e 40°34'30" de longitude oeste, mapeado mediante utilização do sistema de posicionamento global (modelo eTrex H, Garmin Ltd., Hampshire, UK).

A técnica de estaquia foi escolhida devido a sua rapidez, qualidade e baixo custo. As estacas foram preparadas com aproximadamente 35 cm de comprimento (5 nós), e cultivadas em bandejas plásticas (dimensões 440 x 300 x 90 mm), contendo areia lavada como substrato e 12 estacas por bandeja. O cultivo das estacas foi realizado durante os meses de fevereiro a maio de 2008, utilizando-se sombrite com 35% de cobertura em casa de vegetação, na Unidade de Crescimento de Plantas (UCP) da Universidade Federal de Viçosa, localizada a 649 m de altitude, 20° 45' 20" de latitude sul e 42° 52' 40" de longitude oeste.

Plantas de *C. rosea* foram obtidas através do plantio de sementes provenientes da restinga do município de Guarapari, litoral sul do Espírito Santo, situada a 9 m de altitude sob as coordenadas geográficas de 20°36'55" de latitude sul e 40°24'72" de longitude oeste.

A semeadura foi realizada em leito de areia lavada, em vasos plásticos de 0,65 litros contendo uma semente por vaso, após escarificação mecânica com punção do tegumento por tesoura no lado oposto ao hilo da semente. O cultivo foi realizado a pleno sol em casa de vegetação na UCP, durante os meses de julho a setembro de 2008.

As estacas de *I. pes-caprae* e as mudas de *C. rosea* foram irrigadas diariamente com água e a cada 10 dias com solução nutritiva de Hoagland (HOAGLAND & ARNON, 1950), a meia força iônica.

Cultivo em sistema hidropônico

Após 12 e 8 semanas de cultivo em areia, respectivamente para *I. pes-caprae* e *C. rosea*, as mudas foram padronizadas, quanto ao vigor e estado fitossanitário (*I. pes-caprae* com ramificação na parte aérea de aproximadamente 30 cm de comprimento a partir do nó e *C. rosea* com dois trifólios e aproximadamente 20 cm de altura), e transplantadas para caixas de isopor (dimensões 195 x 105 x 140 mm), uma muda por caixa, com três litros de solução nutritiva de Hoagland, a meia força iônica, em pH 5,5, constantemente aerada. Na etapa de transplante das mudas, foi feita a lavagem das raízes com água corrente para completa remoção da areia e de possível entrelaçamento das raízes. As mudas foram aclimatadas em solução nutritiva por cinco semanas, permitindo maior desenvolvimento das raízes. A solução nutritiva foi renovada a cada 6 dias, sendo seu volume restituído com água corrente sempre que necessário e o pH ajustado a cada dois dias usando KOH ou HCl.

O cultivo em solução hidropônica até a aplicação dos tratamentos foi realizado em casa de vegetação da UCP, sob condições monitoradas de pH e nutrição.

Indução à formação da placa de ferro nas raízes

Experimentos preliminares foram conduzidos a fim de determinar a concentração ideal de íon ferroso (Fe^{+2} como $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) adicionada à solução nutritiva capaz de induzir a formação da placa de ferro nas raízes das espécies estudadas, assim como o tempo apropriado para avaliação das plantas. Para tal, mudas de ambas as espécies, aclimatadas em solução nutritiva, foram transferidas para uma nova solução nutritiva de Hoagland a meia força, aerada, variando-se as concentrações de íon ferroso (0,5; 50; 150 e 300 mg/L). O pH de todos os tratamentos foi ajustado diariamente para 5,5, utilizando-se KOH ou HCl, e as soluções renovadas a cada quatro dias. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com três repetições por tratamento e uma muda por vaso. Analisou-se visualmente a formação da placa de ferro nas raízes, para definição do tempo de exposição aos tratamentos e utilização posterior no experimento definitivo.

A partir desses dados, novo experimento foi montado. Mudas aclimatadas à solução nutritiva foram transferidas para uma nova solução nutritiva de Hoagland a meia força, acrescida da concentração de 150 mg/L de íon ferroso, sob constante aeração, variando-se o tempo de exposição (12; 36; 108 e 228 horas). Um tratamento controle, sem adição extra do íon ferroso, foi realizado em paralelo para cada tempo de exposição, utilizando solução nutritiva de Hoagland a meia força, com concentração de 0,5 mg/L de íon ferroso. O pH de todos os tratamentos foi ajustado diariamente para 5,5, utilizando KOH ou HCl. As soluções foram renovadas a cada quatro dias. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com cinco repetições por tratamento e uma muda por vaso, para cada tempo de exposição, totalizando 40 mudas.

Extração e composição química da placa de ferro da superfície radicular

A placa de ferro da superfície radicular foi extraída usando a técnica do DCB (ditionito-citrato-bicarbonato) recomendada por Taylor & Crowder (1983). Aproximadamente 7 g do material a fresco das raízes de cada repetição, coletadas aleatoriamente em cada tratamento, foi colocado em uma solução de 40 mL de 0,3 M de citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e 5 mL de 1 M de bicarbonato de sódio (NaHCO_3), à temperatura ambiente. Três gramas de ditionito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) foram adicionados e a

mistura foi agitada continuamente por 3 horas em agitador orbital. Após esse período, a solução de lavagem foi coletada, e as raízes lavadas três vezes com 15 mL de água desionizada. A solução resultante foi completada para o volume de 100 mL com água desionizada e submetida à quantificação de Fe, Mn, Zn, Cu, P, Ca e Mg em espectrofotômetro de emissão ótica em plasma indutivamente acoplado - ICP-OES (modelo Optima 3300 DV, Perkin Elmer, Norwalk, USA). Os comprimentos de onda do ICP-OES selecionados para a leitura da composição química da placa de ferro no extrato de DCB foram: 259,939; 259,372; 213,857; 327,393; 214,914; 317,933 e 285,213 nm para Fe, Mn, Zn, Cu, P, Ca e Mg, respectivamente. O teor de K foi determinado em fotômetro de chama (modelo Analyser 910 M, Comércio e Indústria Ltda, São Paulo, Brasil).

Quantificação de ferro e teor de nutrientes nas plantas, após 228 horas de exposição

Para a quantificação do teor de ferro na planta após lavagem das raízes em extrato DCB, e demais nutrientes nas folhas e raízes, amostras do material a fresco após 228 horas de exposição aos tratamentos, foram secas a temperatura de 75°C até atingirem peso constante, moídas em moinho (modelo TE048, Tecnal Marconi, Piracicaba, São Paulo) e peneiradas em dimensões menores que 1 mm. Após secas e moídas, 0,5 g do material vegetal foi digerido em 10 mL de solução nítrico-perclórica (3:1), seguindo metodologia proposta por Tedesco et al. (1995).

Os teores de Fe, Mn, Zn, Cu, P, Ca e Mg foram determinados por espectrofotometria de emissão ótica e o de K, por fotometria de chama. A quantificação de nitrogênio total foi determinada por titulação após digestão de 0,25 g do material vegetal seco em 5 mL de mistura digestora (175 mL de água destilada; 3,6 g de selenito de sódio; 21,39 g de sulfato de sódio; 4 g de sulfato de cobre pentahidratado e 200 mL de ácido sulfúrico concentrado) e destilação em microdestilador Kjeldahl, conforme metodologia proposta por Malavolta et al. (1997).

A partir da quantidade de Fe acumulado ao final de 228 horas de exposição aos tratamentos, foi calculado o fator de translocação (FT) e o fator de bioconcentração (FBC), conforme equações propostas por Bao et al. (2009). O conceito de FT usado neste estudo é definido como a razão da concentração de ferro na parte aérea da planta (mg/Kg) para a concentração de ferro nas raízes (mg/Kg), ao final de 228 horas de exposição aos tratamentos. O conceito de FBC usado neste estudo é a razão da concentração de ferro na

planta para a concentração de ferro na solução nutritiva: $FBC = (C_f - C_i)/C_s$, onde C_f = concentração de ferro no órgão ao final de 228 horas de exposição ao excesso de ferro (mg/Kg), C_i = concentração de ferro no órgão ao final de 228 horas sem exposição ao excesso de ferro (mg/Kg), e C_s = concentração de ferro na solução nutritiva (mg/L) com excesso de ferro.

Caracterização morfológica

Análises visuais da aparência da superfície radicular, como alteração na coloração, surgimento de necroses e formação da placa de ferro foram registradas e fotografadas em cada coleta.

Microscopia de luz e eletrônica de varredura

Para caracterização estrutural, em microscopia de luz, dos tratamentos nos tempos de exposição (12; 36; 108 e 228 horas), raízes laterais foram fixadas em solução de glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído (4%), em tampão cacodilato de sódio (pH 7,2), acrescido de cloreto de cálcio 5 mM (KARNOVSKY, 1965), por 48 horas, e estocadas em álcool 70%. Posteriormente, foram desidratadas em série etílica e incluídas em historresina Leica (Leica Historesin, Nussloch/Heidelberg, Germany). Cortes transversais (7 μ m) e longitudinais (9 μ m) foram obtidos em micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM2155, Leica Microsystems Inc., Deerfield, USA), sendo corados com azul de toluidina pH 4,0 e montados em Permunt. As observações e documentações fotográficas foram realizadas em fotomicroscópio (modelo AX70 TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japão) equipado com sistema U-photo, acoplado a uma câmera (modelo Spot Insightcolour 3.2.0, Diagnostic Instruments inc., New York, USA) e a um microcomputador, do Laboratório de Anatomia Vegetal da UFV.

Para a análise em microscopia eletrônica de varredura, amostras de raízes laterais, de ambas as espécies, com aproximadamente 1 cm de comprimento a partir do ápice radicular, e porções do coleto de *C. rosea* com 1 cm de comprimento, foram coletadas antes da remoção da placa de ferro, e fixadas em Karnovsky. Em seguida, foram desidratadas em série etílica, secas ao ponto crítico de CO₂ em equipamento (modelo CPD 020, Bal-Tec,

Balzers, Liechtenstein), afixadas com fita a um suporte e cobertas com ouro em metalizador (equipamento Sputter Coater, modelo FDU 010, Bal-Tec, Balzers, Liechtenstein). A documentação fotográfica foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (modelo Zeiss, LEO 1430 VP, Cambridge, Inglaterra) do Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV.

Histoquímica da raiz

Cortes transversais das raízes laterais, após 228 horas de exposição aos tratamentos foram obtidos em micrótomo de mesa (modelo LPC, Rolemberg e Bhering Comércio e Importação LTDA, Belo Horizonte, Brasil). Após lavagem em água destilada, os cortes foram colocados em solução contendo ferricianeto de potássio 4% e ácido clorídrico 4% (SILVA et al., 2006), por um período de 48 horas. Este teste evidencia a presença de ferro pela coloração azul formada, o Azul de Prússia. Um controle negativo, chamado de branco do teste, no qual os cortes não foram expostos à reação foi realizado em paralelo. Após lavagem em água destilada, os cortes foram montados em lâminas com solução de glicerina a 50% e a documentação fotográfica foi realizada em fotomicroscópio.

Análise estatística

Para a análise estatística, os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de Tukey, a 5%, através do programa estatístico SAS – Statistical Analysis System (versão 9.1 – SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA, 2004).

RESULTADOS

Em *Ipomoea pes-caprae* houve formação de raízes adventícias na base da estaca caulinar, formando um sistema radicular fasciculado (Figura 1A), diferindo de *Canavalia rosea* que apresentou uma organização típica de dicotiledônea, com sistema radicular pivotante e raiz primária desenvolvida, dando origem às raízes laterais (Figura 1H).

No tratamento controle, com o tempo, as raízes laterais de ambas as espécies apresentaram aumento visual da quantidade de raízes, coloração branco-parda, sem evidência de coloração típica da presença da placa de ferro (Figura 1A, 1F, 1H e 1M).

Após exposição ao excesso de ferro, foram observadas alterações na morfologia externa das raízes como diminuição visual no crescimento e emissão de novas raízes, flacidez das raízes, ausência de ramificação, além de um aspecto mucilaginoso e coloração cinza em *I. pes-caprae* (Figura 1B-E, 1G) e alaranjada em *C. rosea* (Figura 1J-L, 1N), em virtude da presença da placa de ferro.

Após 12 horas de exposição ao excesso de ferro, foi possível observar em *I. pes-caprae*, início de escurecimento da superfície radicular, que teve sua intensidade de coloração e distribuição aumentada com o tempo de exposição ao tratamento (Figura 1B-E, 1G). O mesmo foi observado para *C. rosea*, porém após 36 horas, e com tonalidade laranja (Figura 1J-L, 1N). Nas raízes de *I. pes-caprae* que apresentaram escurecimento no ápice radicular, houve necrose seguida de queda do ápice (Figura 1G). Nas regiões do caule onde se inserem as raízes adventícias (*I. pes-caprae*), do coleto (*C. rosea*) e nas regiões proximais das raízes laterais de ambas as espécies ocorreram as maiores intensidades de coloração em relação às regiões mais distais das raízes. Em algumas raízes de *C. rosea* do tratamento ferro por 228 horas, pôde-se notar que no ápice radicular não houve deposição da placa de ferro (Figura 1N). Nessa espécie, as raízes do tratamento ferro por 12 horas (Figura 1I), não apresentaram coloração típica de início de formação da placa de ferro, embora a extração pela solução de DCB tenha confirmado sua presença (Figura 2).

Os resultados das quantificações da composição química da placa de ferro extraída pelas soluções de DCB, mostraram aumento significativo na concentração de ferro em relação ao tempo de exposição ao tratamento com ferro, o que não foi observado no tratamento controle (Figura 2).

C. rosea acumulou maior quantidade de ferro na placa (450,12 mg/L), caracterizando mais que o dobro que *I. pes-caprae* (209,5 mg/L), a 228 horas (Figura 2). A equação de regressão foi significativa para as plantas do tratamento com ferro, em ambas as espécies (Figura 2).

Além do ferro, estavam presentes na placa, após 228 horas, outros elementos como: Mn (1,43 mg/L), Zn (0,21 mg/L), Cu (6,51 mg/L), Mg (0,40 mg/L) e K (51 mg/L) em *I. pes-caprae*; e P (4,10 mg/L), Zn (0,17 mg/L) e K (35,2 mg/L) em *C. rosea*. Em ambas as espécies, após 108 horas de exposição ao ferro, houve supressão na placa do elemento Ca, além dos elementos Mn e Mg, em *C. rosea*. O elemento Cu foi encontrado compondo somente a placa de *I. pes-caprae*, assim como o elemento P em *C. rosea*, em todos os tempos de exposição.

Para o tempo máximo de exposição aos tratamentos, o teor de ferro nas folhas foi cerca de 3 vezes e 55 vezes maior, respectivamente para *I. pes-caprae* e *C. rosea*, expostas ao excesso de ferro em comparação ao seu respectivo controle; e o das raízes, cerca de 5 vezes e 7 vezes maior, respectivamente para *I. pes-caprae* e *C. rosea* (Tabela 1). Após 228 horas de exposição aos tratamentos, o teor de ferro no caule de *I. pes-caprae* foi 7,60 e 90,30 mg/Kg, respectivamente para o tratamento controle e ferro; e em *C. rosea*, foi de 172,14 mg/Kg no tratamento com ferro, não havendo acúmulo de ferro no caule das plantas controle.

Em ambas as espécies, a assimilação dos demais nutrientes minerais pelas raízes não foi afetada, quando comparado com o tratamento controle, com exceção para o zinco, que teve sua assimilação aumentada em *C. rosea* e o teor de nitrogênio, que teve redução na folha de *I. pes-caprae* (Tabela 1).

Plantas de *C. rosea* expostas ao excesso de ferro apresentaram fator de translocação cerca de 6 vezes maior que as plantas controle, enquanto que as de *I. pes-caprae* apresentaram igual fator translocação entre os tratamentos ferro e controle (Tabela 2). Plantas controle de *I. pes-caprae* translocaram 4 vezes mais ferro que as plantas controle de *C. rosea*, não havendo diferença significativa no fator de translocação entre as plantas do tratamento ferro das espécies estudadas. (Tabela 2).

A raiz de ambas as espécies apresentou o maior fator de bioconcentração de ferro, e o caule, o menor (Tabela 2). Plantas de *C. rosea* expostas ao excesso de ferro apresentaram

fator de bioconcentração cerca de 5; 2 e 1,5 vezes maior que as plantas de *I. pes-caprae*, respectivamente para folha, caule e raiz (Tabela 2).

Nos tratamentos de exposição ao excesso de ferro por 12, 36 e 108 horas não foram observadas alterações anatômicas nas raízes de ambas as espécies estudadas. Em secção longitudinal, na região de ramificação das raízes do tratamento controle de *I. pes-caprae* (Figura 3A-C) e de *C. rosea* (Figura 3G e 3H), observou-se tecidos totalmente íntegros e emissão de raízes laterais em dois estádios de desenvolvimento: um primórdio de raiz bem jovem originado por divisões do periciclo, confirmando a sua origem endógena (Figura 3B e 3G) e outro quase completando a sua emergência através do córtex (Figura 3C e 3H).

Após exposição ao ferro por 228 horas, foi possível observar necrose e colapso de primórdios de raiz lateral de *I. pes-caprae* (Figura 3D-F), o que não foi observado em *C. rosea* (Figura 3I). Em sucessivos estádios de desenvolvimento do primórdio de raiz lateral de *I. pes-caprae*, o periciclo apresentou conteúdo escuro, alteração no padrão de divisão celular, menor conteúdo celular e necrose seguida de colapso integral de suas células (Figura 3D-F). A endoderme, por sua vez, apresentou alteração no formato de suas células que acabaram se colapsando (Figura 3D-F).

Em secção longitudinal, na região do meristema apical das raízes do tratamento controle de *C. rosea*, podem ser visualizados a coifa plurisseriada, o promeristema, a protoderme, o procâmbio e o meristema fundamental (Figura 4A e 4B). O promeristema apresenta uma organização apical do tipo aberto, com todas as regiões das raízes originando de um grupo de iniciais comuns (Figura 4A e 4B).

Após exposição ao excesso de ferro por 228 horas, houve alteração no padrão de divisão celular do meristema apical das raízes de *C. rosea* (Figura 4C e 4D). A coifa e o promeristema apresentaram conteúdo esverdeado intensamente corado por azul de toluidina (Figura 4C e 4D).

No estágio de crescimento primário (Figura 5A, 5B, 5E e 5F) e início de crescimento secundário (Figura 5C, 5D, 5G e 5H) das raízes de *I. pes-caprae* e *C. rosea* podem ser distinguidos em corte transversal ao microscópio de luz três sistemas de tecidos: o dérmico composto pela epiderme; o vascular pelo xilema e floema e o fundamental pelo parênquima cortical. A epiderme apresenta uma camada unisseriada de células tabulares, com paredes delgadas (Figura 5A, 5C-E) e de volume menor que as células da exoderme (Figura 5A). O córtex ocupa a maior parte da área do corpo primário das raízes (Figura 5A,

5C-E), e apresenta espaços intercelulares, com formação de aerênquima em *I. pes-caprae* (Figura 5C e 5D). Sua camada mais interna, a endoderme, é unisseriada e formada por células compactamente arranjadas (Figura 5A-H), podendo ser visualizadas estrias de Caspary em suas paredes anticlinais (Figura 5B). Em *C. rosea*, externamente à endoderme, há uma camada de células corticais contendo uma unidade de cristal prismático por célula (Figura 5G e 5H). Em *I. pes-caprae*, a camada mais externa do córtex, a exoderme, é unisseriada, compactadamente arranjada e apresenta espessamento em sua parede periclinal externa e parte da anticlinal (Figura 5A). O cilindro vascular possui como camada mais externa um periciclo unisseriado (Figura 5A-G). Os elementos do xilema diferenciam-se centripetamente, ocupando toda a região central do cilindro vascular (Figura 5A-H), juntamente com o floema que ocorre alternado com os pólos de protoxilema. No estágio inicial de desenvolvimento secundário da raiz, há instalação do câmbio vascular e o cilindro vascular forma um cilindro sólido (Figura 5C, 5D, 5G e 5H).

Após exposição ao excesso de ferro por 228 horas, observou-se alterações no córtex e no cilindro vascular (Figura 6A-H) das raízes de *I. pes-caprae* e *C. rosea*.

Em *I. pes-caprae*, as células do córtex apresentaram retração do protoplasto (Figura 6A, 6B e 6D), incluindo as células da endoderme (Figura 6A e 6B) e formação de tecido de cicatrização (Figura 6C). Em *C. rosea* ocorreram alteração no padrão de diferenciação e divisão celular, alteração na organização e no formato das células (Figura 6F-H). Em ambas as espécies ocorreram células com conteúdo corado com o azul de toluidina (Figura 6A-H). Em *I. pes-caprae*, verificou-se colapso das células do córtex (Figura 6E), e em *C. rosea* houve menor distinção das células da endoderme (Figura 6F-H).

No cilindro vascular, houve alteração na organização e formato das células do periciclo das duas espécies (Figura 6A, 6B, 6D, 6F-H) e do protoxilema em *I. pes-caprae* (Figura 6A, 6B e 6D), bem como na diferenciação celular do periciclo em *C. rosea* (Figura 6F-H). O metaxilema não completou sua diferenciação nas duas espécies (Figura 6A, 6D, 6F-H). Em um grau mais severo, o cilindro vascular apresentou-se necrosado com colapso integral de suas células em *I. pes-caprae* (Figura 6E). O limite celular entre o córtex e o periciclo não se apresentou nítido em *C. rosea* (6F-H).

Comparando-se as raízes do tratamento controle (Figura 7A, 7E e 7G) com as raízes expostas ao excesso de ferro (Figura 7B-D, 7F e 7H) em microscopia eletrônica de varredura, verificou-se a presença de placas de ferro de diferentes tamanhos sobre a

superfície radicular das duas espécies estudadas e sobre o coleto de *C. rosea*. Nas plantas do tratamento controle, a superfície radicular de ambas as espécies e o coleto de *C. rosea* apresentaram-se praticamente livres de deposição externa, podendo ser visualizados os limites de cada célula epidérmica, sem evidência de danos (Figura 7A, 7E e 7G).

Com o aumento no tempo de exposição ao ferro, houve intensificação da deposição da placa de ferro em toda a superfície radicular, de modo desuniforme, não sendo possível visualizar os limites das células epidérmicas nos locais de maior formação da placa (Figura 7B-D, 7F e 7H). Visualizou-se também hifas fúngicas sobre a superfície radicular (Figura 7B e 7D) e coleto (Figura 7F).

O ferro foi histolocalizado nas raízes laterais de *I. pes-caprae* e *C. rosea*. Nas plantas do tratamento controle, a reação foi fraca (baixa intensidade de coloração azul) em todos os tecidos da raiz (Figura 8A e 8F). Nas plantas expostas ao excesso de ferro, houve reação positiva (alta intensidade de coloração azul) em todos os tecidos radiculares, a saber: epiderme (Figura 8B e 8G), incluindo pêlos radiculares (Figura 8C), córtex (Figura 8B, 8D, 8E, 8G-I) incluindo a exoderme (Figura 8B) e endoderme (Figura 8B, 8D, 8E, 8G), periciclo, xilema e floema (Figura 8B, 8D, 8E e 8G).

Após 228 horas de exposição ao excesso de ferro, foi observada clorose em toda lâmina foliar do trifólio mais basal e das folhas cotiledonares de *C. rosea*. Para este mesmo tempo e tratamento, nas folhas de *I. pes-caprae* foi observado início de clorose venal.

DISCUSSÃO

As alterações morfológicas nas raízes de *Ipomoea pes-caprae* e *Canavalia rosea* verificadas neste estudo, como retardamento no crescimento, flacidez e menor ramificação em função da exposição ao excesso de ferro, foram também observadas em *Lychnis flos-cuculi* (Caryophyllaceae), *Carex appropinquata* (Cyperaceae) e *Caltha palustris* (Ranunculaceae) (SNOWDEN & WHEELER, 1995); em espécies do gênero *Plantago* (SCHMIDT & FÜHNER, 1998); e em *Phragmites australis* (BATTY & YOUNGER, 2003). O menor lançamento de raízes nessas plantas pode ser consequência do efeito fitotóxico do ferro, visualizado no presente trabalho pelas necroses e colapsos nos primórdios e no ápice das raízes laterais de *I. pes-caprae*, e pelas alterações na morfologia e no padrão de diferenciação celular das raízes de ambas as espécies estudadas. As necroses causadas pelo excesso de ferro, como observadas neste estudo, foram também relatadas para outras espécies (SNOWDEN & WHEELER, 1995; SCHMIDT & FÜHNER, 1998; NGUYEN et al., 2005; SILVA et al., 2006).

A intensificação da formação da placa de ferro e da tonalidade do precipitado nas raízes, ao longo do tempo, como ocorrido nas espécies do presente estudo quando expostas ao excesso de ferro, já havia sido relatado em raízes de outras espécies ocorrentes em área alagada (SNOWDEN & WHEELER, 1995). Estes autores relataram que sintomas como flacidez e escurecimento da raiz (especialmente do ápice), foram comuns nas espécies mais sensíveis ao ferro. A ausência de deposição de placa de ferro na extremidade da raiz, como em *C. rosea*, foi também constatada em outros estudos (ARMSTRONG, 1967; CHEN et al., 1980a; BATTY et al., 2000, 2002). Segundo Armstrong (1967), esse fato se deve a maior atividade oxidativa da região apical da raiz, que causa a oxidação do ferro a algumas distâncias dessas regiões. Ou talvez, pela presença da bainha de mucigel no ápice da raiz dessa espécie, que protege essa região da deposição de metais fitotóxicos.

Embora a formação da placa de ferro nas raízes possa reduzir a quantidade de ferro disponível para as plantas, funcionando como um mecanismo de evitação da toxicidade do ferro (GREEN & ETHERINGTON, 1977; CHEN et al., 1980a,b; BATTY & YOUNGER, 2003), nas espécies estudadas, houve grande concentração de ferro nos tecidos, o que pode ter contribuído para os efeitos fitotóxicos deste elemento.

Em cultivo com excesso de ferro, ambas as espécies estudadas apresentaram estratégias semelhantes de mobilidade de ferro, visto que não houve variação do fator de translocação entre as espécies. Entretanto, em condições de cultivo sem excesso de ferro, *I. pes-caprae* apresentou maior requerimento e efetividade na mobilidade do ferro para a parte aérea da planta. Como constatado nesse estudo, a raiz exibiu a maior capacidade de concentrar o excesso de ferro, e o caule, a menor (KRÁL'OVÁ et al., 2007).

Após exposição ao excesso de ferro, os níveis de ferro na matéria seca das folhas e raízes de *C. rosea*, e das raízes de *I. pes-caprae* ficaram acima do nível crítico de toxicidade (500 mgFe Kg^{-1} de matéria seca) para plantas (MARSCHNER, 1995; LEVY et al., 1999; DOBERMANN & FAIRHURST, 2000; PUGH et al., 2002). Entretanto, os níveis de ferro na matéria seca das folhas de *I. pes-caprae* ficaram abaixo dos valores mínimos considerados como fitotóxicos, corroborando os resultados obtidos por Kuki et al. (2008a). Em estudos de campo, a diferentes distâncias de uma indústria de minério de ferro, esses autores relataram que o conteúdo de ferro nas folhas de *I. pes-caprae* e *C. rosea* nunca alcançaram os valores considerados fitotóxicos, inferindo que essas espécies provavelmente possuem mecanismos de evitação da acumulação excessiva de ferro ou que o tempo de exposição a este elemento foi curto. Como constatado nesse estudo, o conteúdo de ferro pode ser aumentado especialmente em raízes e folhas sob alto nível de exposição ao ferro (TANAKA et al., 1966).

Em estudos de cultivo de *I. pes-caprae* em solução hidropônica com excesso de ferro (acima de $2 \mu\text{M}$ de Fe-EDTA), Carli (2008), verificou maior acúmulo de ferro nas raízes e folhas, como constatado no presente estudo. Carli (2008) sugeriu que com a saturação do ferro na raiz, há limitação da sua absorção e transporte até as folhas.

O excesso de ferro pode causar severas desordens nutricionais para as plantas, podendo comprometer a sua fisiologia (BRIAT & LOBRÉAUX, 1997). O aumento da absorção de zinco pelas raízes de *C. rosea*, na presença da placa de ferro, corroborou com os resultados obtidos por OTTE et al. (1989) e ZHANG et al. (1998). Segundo esses autores, a placa de ferro interfere na assimilação de zinco, e quanto maior a sua extensão, maior é a liberação do zinco adsorvido na placa para a assimilação pela raiz. A redução na concentração de nitrogênio nas folhas, como verificado em *I. pes-caprae* quando exposta ao excesso de ferro, também foi observada em outros estudos (TANAKA et al., 1966;

SNOWDEN & WHEELER, 1995), indicando que os mecanismos de translocação desse elemento podem ter sido afetados.

As cloroses foliares, como verificadas em *C. rosea* e *I. pes-caprae*, foram relatadas anteriormente como sintoma associado à toxicidade por ferro (SNOWDEN & WHEELER, 1995; SCHMIDT & FÜHNER, 1998; MONTÁS RAMÍREZ et al., 2002). O ferro é um elemento essencial para a biossíntese de clorofila (MARSCHNER, 1995; MARTINEZ, 2006), e o seu excesso pode ter causado desordens fisiológicas nas espécies estudadas e, conseqüentemente, diminuído o conteúdo de clorofila dessas folhas.

Como observado nesse estudo, a composição da placa de ferro não é somente por ferro, tendo outros nutrientes nela adsorvidos (OTTE et al., 1989; GREIPSSON & CROWDER, 1992; BATTY et al., 2000). A baixa capacidade da placa de ferro em imobilizar o Cu na rizosfera (BATTY et al., 2002), pode justificar a ausência desse elemento na placa de *C. rosea*. A ausência do elemento P na placa de ferro de *I. pes-caprae*, pode ser devido ao aumento da assimilação desse elemento pela planta, como sugerido por Zhang et al. (1999), tornando-o indisponível para a placa. A supressão do elemento Ca na placa em ambas as espécies, e dos elementos Mn e Mg em *C. rosea*, pode ser devido ao requerimento maior destes elementos para as reações metabólicas nessas espécies, não sobrando para a acumulação na placa.

A capacidade oxidativa das raízes é um fator essencial para o processo de formação da placa de ferro (ARMSTRONG, 1967; CHEN et al., 1980b; TAYLOR & CROWDER, 1983; TAYLOR et al., 1984; BATTY et al., 2000). A presença de aerênquima, como encontrado em *I. pes-caprae*, pode ter contribuído na oxidação do íon ferroso a íon férrico e precipitação do oxi-hidróxido de ferro na superfície radicular (BACHA & HOSSNER, 1977; CHEN et al., 1980a). Através deste tecido, o oxigênio proveniente da fotossíntese ou da atmosfera é transportado para o ápice radicular e para a rizosfera, desenvolvendo uma zona oxidativa na rizosfera (EVANS, 2003), favorecendo a formação da placa de ferro nessa espécie.

A formação de tecido de cicatrização no córtex das raízes de *I. pes-caprae* nesse estudo, foi observada em algumas espécies como resposta a poluentes (SILVA et al., 2005a,b; SANT'ANNA-SANTOS et al., 2006a). Assim, funciona como uma barreira que previne o progresso da necrose para os tecidos saudáveis.

As alterações anatômicas causadas pelo ferro nas espécies aqui estudadas, como retração do protoplasto, necrose dos tecidos, colapso celular, desorganização do cilindro vascular, alteração no padrão de diferenciação celular, no formato e conteúdo das células, foram similares às causadas por outros poluentes em outras espécies vegetais (SILVA et al., 2000, 2005a,b; MORAES-DALAQUA et al., 2000; CHAVES et al., 2002; VITÓRIA et al., 2003/2004; SANT'ANNA-SANTOS et al., 2006a,b, 2007).

O excesso de ferro pode induzir a peroxidação de lipídios, alterando a estrutura e a permeabilidade da membrana plasmática (SINHA et al., 1997; SOUZA-SANTOS et al., 2001), o que pode ter contribuído para as alterações morfoanatômicas encontradas nas raízes das espécies desse estudo. As alterações morfoanatômicas podem também ser reflexo de uma possível interferência do excesso de ferro na atividade do cálcio, visto que este elemento atua na composição estrutural das paredes celulares e na regulação da permeabilidade da membrana plasmática, bem como na resistência e estabilização das paredes celulares, na estabilização de membranas, na divisão e expansão das células, e na modulação de enzimas (MARTINEZ, 2006).

A presença de barreiras apoplásticas, exoderme e endoderme, pode ser de grande importância para a proteção dos tecidos radiculares contra os efeitos tóxicos dos metais (LUX et al., 2004). Entretanto, estas barreiras não foram efetivas contra a fitotoxicidade do ferro em *I. pes-caprae*, resultando em toxicidade no estelo e queda na sobrevivência do ápice radicular, vital para a raiz como um todo. A retração do protoplasto no córtex e endoderme dessa espécie, pode ter contribuído para a perda da seletividade de membranas a íons tóxicos, como o ferro.

A histolocalização do ferro em *I. pes-caprae* encontrada no presente trabalho está de acordo com os dados obtidos por Carli (2008), com plantas expostas ao excesso de ferro (acima de 2 μM de Fe-EDTA) em solução nutritiva. Entretanto, tais dados contrastam com os resultados obtidos por outros autores em outras espécies vegetais. Segundo Batty et al. (2000, 2002) o ferro não penetrou no interior das células epidérmicas de *Phragmites australis* (Poaceae). O ferro não atravessou a endoderme de *Typha latifolia*, ficando restrito a três camadas de células no córtex (TAYLOR et al., 1984). Mendelssohn & Postek (1982) observaram que o ferro ficou restrito à superfície das células epidérmicas de *Spartina alterniflora* (Poaceae), enquanto que em *Oryza sativa*, ele se estendeu para o interior do córtex, estando ausente no estelo (GREEN & ETHERINGTON, 1977). Em outras espécies

vegetais de restinga, *Byrsonima sericea* DC. (Malpighiaceae), *Cordia verbenaceae* DC. (Boraginaceae), *Psidium guineense* SW. (Myrtaceae), foram relatados que os sítios de acúmulo de ferro nos tecidos foram: epiderme, parênquima, tricomas, xilema, floema, periciclo e endoderme (SILVA et al., 2006; SILVA & AZEVEDO, 2007).

A presença de hifas fúngicas, comum nas raízes de *I. pes-caprae* e *C. rosea* (CORKIDI & RINCÓN, 1997; BEENA et al., 2001), pode também ter contribuído para a redução da toxicidade do ferro, através de mecanismos de absorção e de evitação, a serem elucidados (LIU et al., 2000; NOGUEIRA et al., 2007). Provavelmente, com a presença das hifas fúngicas, há diminuição da superfície de contato das raízes com a solução saturada de ferro.

Os resultados de microscopia eletrônica de varredura obtidos nesse estudo, dão suporte para o hipotético modelo de formação da placa de ferro proposto por Chen et al. (1980a), no qual o ferro é oxidado sob a superfície externa da parede celular das células epidérmicas intactas. Além do revestimento denso e maciço dos depósitos da placa de ferro sobre as raízes, houve a fusão dessa com a superfície das células epidérmicas, formando moldes, também relatados por Chen et al. (1980a), em *Oryza sativa* (Poaceae), e Taylor et al. (1984), em *Typha latifolia* (Typhaceae).

As plantas, em geral, utilizam uma série de mecanismos que evitam a concentração de excesso de metais no citosol, e então previnem o início de sintomas de toxicidade (HALL, 2002). Estes mecanismos incluem a compartimentalização vacuolar; a quelação do metal no citosol por aminoácidos, ácidos orgânicos e peptídeos; o papel de micorrizas e da parede celular; o efluxo de íons pela membrana plasmática e a utilização de proteínas de choque térmico. Acredita-se que em algumas espécies vegetais, mecanismos específicos devem ocorrer, fazendo-se necessário estudos a fim de elucidar a utilização destes mecanismos por espécies vegetais de restinga, quando expostas ao excesso de ferro.

A absorção, a distribuição e a estocagem de ferro nas plantas são reguladas em função das necessidades celulares e da disponibilidade de ferro em nível espacial e temporal (HELL & STEPHAN, 2003; SCHMIDT, 2006). Depois de assimilado, o excesso de ferro tem que ser complexado ou seqüestrado dentro da célula para evitar a toxicidade, sendo que a homeostase do ferro nas plantas é dependente da poliamina nicotianamina (HELL & STEPHAN, 2003; SCHMIDT, 2006; BRIAT et al., 2007; KOVÁCS et al., 2009). Nas plantas, a maioria do excesso de ferro livre nas células é estocado na ferritina,

uma proteína que protege as células do estresse oxidativo ao mesmo tempo que armazena o ferro em uma forma biodisponível para funções vitais da célula (GUERINOT & YI, 1994; BECANA et al., 1998; CONNOLLY & GUERINOT, 2002; HELL & STEPHAN, 2003). Estudos futuros são necessários para identificar a presença e o papel da nicotianamina e da ferritina na homeostase do ferro em *I. pes-caprae* e *C. rosea*.

Os problemas na diferenciação e divisão celular das raízes, como ocorrido neste estudo, podem ser consequência de alterações na atividade da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), em função do excesso de ferro e da perda da região apical de algumas raízes. A proteína MAPK é essencial para as funções fisiológicas, incluindo diferenciação, divisão celular e resposta ao estresse, e sua atividade é induzida pelo excesso de ferro, se mostrando maior na região apical das raízes de arroz (TSAI & HUANG, 2006). Entretanto, os estudos do efeito do ferro na ativação da MAPK estão concentrados em *Oryza sativa*, sendo necessário estudos com outras plantas, incluindo as espécies vegetais de restinga, para confirmar se essas espécies apresentam respostas semelhantes.

Os danos causados pelo excesso de ferro em *I. pes-caprae*, podem estar ligados à morte celular programada (MCP), visto que este processo tem relação direta com a formação de aerênquima (EVANS, 2003; GUNAWARDENA, 2008), e em raízes de arroz, houve aumento da MCP em altas concentrações de ferro (TSAI & HUANG, 2006). Portanto, faz-se necessário estudos que avaliem a morte celular em espécies vegetais de restinga, quando expostas ao excesso de ferro.

A emissão de material particulado de ferro, por uma indústria de minério de ferro localizada próxima a fragmentos de restinga no litoral sul do Espírito Santo, representa um incremento diário de ferro no solo, que, sob condições favoráveis, pode contribuir para a formação *in situ* da placa de ferro nas raízes de *I. pes-caprae* e *C. rosea*. Estudos em campo são necessários para confirmar os resultados obtidos em laboratório. A excessiva assimilação de ferro em raízes com placa de ferro, e conseqüente alteração na sua estrutura, na assimilação de nutrientes e na precocidade na morte das raízes, podem, a longo prazo, eliminar essas espécies de ambientes poluídos por ferro, bem como comprometer a dinâmica sucessional e a preservação da vegetação de restinga do litoral sul do Espírito Santo.

A presença da placa de ferro nas raízes das espécies estudadas não impediu a assimilação de ferro pelas raízes, que atingiu concentrações acima dos valores mínimos

considerados como fitotóxicos. As alterações morfoanatômicas encontradas nas espécies desse estudo, confirmam o efeito da placa de ferro nestas plantas, que pode comprometer a fisiologia dessas espécies, quando em ambientes com excesso de ferro.

Futuras pesquisas, particularmente utilizando técnicas *in situ*, são necessárias para confirmar os dados obtidos no presente trabalho em condições hidropônicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBEY, B. W.; IBEH, G. O. Functional properties of raw and heat processed brown bean (*Canavalia rosea* DC.) flour. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 2, 1987.
- AMILS, R.; FUENTE, V.; RODRÍGUEZ, N.; ZULUAGA, J.; MENÉNDEZ, N.; TORNERO, J. Composition, speciation and distribution of iron minerals in *Imperata cylindrica*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 45, n. 5, p. 335-340, 2007.
- ARAÚJO, D. S. D. Vegetation types of sandy coastal plains of tropical Brazil: a first approximation. In: SEELIGER, U. (Ed.). **Coastal Plant Communities of Latin America**. New York: Academic Press, v. 1, n. 1, p. 337-347, 1992.
- ARMSTRONG, W. The oxidising activity of roots in waterlogged soils. **Physiologia Plantarum**, v. 20, n. 1, p. 920-926, 1967.
- ARUN, A. B.; SRIDHAR, K. R.; RAVIRAJA, N. S.; SCHMIDT, E.; JUNG, K. Nutritional and antinutritional components of *Canavalia* spp. seeds from the west coast sand dunes of India. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 58, n. 3, p. 1-13, 2003.
- AUSTIN, L. G.; JULIANELLI, K.; SOUZA, A. S.; SCHNEIDER, C. L. Simulation of wet ball milling of iron ore at Carajas, Brazil. **International Journal of Mineral Processing**, v. 84, n. 1-4, p. 157-171, 2007.
- BACHA, R. E.; HOSSNER, L. R. Characteristics of coating formed on rice roots as affected by iron and manganese additions. **Soil Science Society of American Journal**, v. 41, n. 1, p. 931-935, 1977.
- BAO, T.; SUN, L.; SUN, T.; ZHANG, P.; NIU, Z. Iron-deficiency induces cadmium uptake and accumulation in *Solanum nigrum* L. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 82, n. 3, p. 338-342, 2009.
- BARCELO, J.; VAZQUEZ, M. D.; POSCHENRIEDER, C. Cadmium induced structural and ultrastructural changes in the vascular system of bush bean stems. **Botanica Acta**, v. 101, n. 3, p. 254-261, 1988.

BATTY, L. C.; BAKER, A. J. M.; WHEELER, B. D.; CURTIS, C. D. The effect of pH and plaque on the uptake of Cu and Mn in *Phragmites australis* (Cav.) Trin ex. Steudel. **Annals of Botany**, v. 86, n. 3, p. 647-653, 2000.

BATTY, L. C.; BAKER, A. J. M.; WHEELER, B. D. Aluminium and phosphate uptake by *Phragmites australis*: the role of Fe, Mn and Al root plaques. **Annals of Botany**, v. 89, n. 4, p. 443-449, 2002.

BATTY, L. C.; YOUNGER, P. L. Effects of external iron concentration upon seedling growth and uptake of Fe and phosphate by the common reed, *Phragmites australis* (Cav.) Trin ex. Steudel. **Annals of Botany**, v. 92, n. 6, p. 801-806, 2003.

BECANA, M.; MORAN, J. F.; ITURBE-ORMAETXE, I. Iron-dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. **Plant and Soil**, v. 201, n. 1, p. 137-147, 1998.

BEENA, K. R.; ARUN, A. B.; RAVIRAJA, N. S.; SRIDHAR, K. R. Association of arbuscular mycorrhizal fungi with plants of coastal sand dunes of west coast of India. **Tropical Ecology**, v. 42, n. 2, p. 213-222, 2001.

BHAGYA, B.; SRIDHAR, K. R.; RAVIRAJA, N. S.; YOUNG, C. -C.; ARUN, A. B. Nutritional and biological qualities of the ripened beans of *Canavalia maritima* from the coastal sand dunes of India. **Comptes Rendus - Biologies**, v. 332, n. 1, p. 25-33, 2009.

BRIAT, J. -F.; FOBIS-LOISY, I.; GRIGNON, N.; LOBRÉAUX, S.; PASCAL, N.; SAVINO, G.; THOIRON, S.; VON-WIRÉN, N.; VAN WUYTSWINKEL, O. Cellular and molecular aspects of iron metabolism in plants. **Biology of the Cell**, v. 84, n. 1-2, p. 69-81, 1995.

BRIAT, J. -F.; LOBRÉAUX, S. Iron transport and storage in plants. **Trends in Plant Science**, v. 2, n. 5, p. 187-193, 1997.

BRIAT, J. -F.; CURIE, C.; GAYMARD, F. Iron utilization and metabolism in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, n. 3, p. 276-282, 2007.

- CARLI, V. G. **Avaliações fisiológicas, bioquímicas e hitoquímica de *Ipomoea pes-caprae* cultivadas em diferentes concentrações de ferro.** Viçosa, MG: UFV, 2008. 46 p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal de Viçosa, 2008.
- CHAVES, A. L. F.; SILVA, E. A. M.; AZEVEDO, A. A.; CANO, M. A. O.; MATSUOKA, K. Ação do flúor dissolvido em chuva simulada sobre a estrutura foliar de *Panicum maximum* Jacq. (colonião) e *Chloris gayana* Kunth. (capim-rhodes) Poaceae. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, n. 4, p. 395-406, 2002.
- CHEN, C. C; DIXON, J. B.; TURNER, F. T. Iron coatings on rice roots: morphology and models of development. **Soil Science Society of America Journal**, v. 44, n. 1, p. 1113-1119, 1980a.
- CHEN, C. C; DIXON, J. B.; TURNER, F. T. Iron coatings on roots: mineralogy and quantity influencing factors. **Soil Science Society of America**, v. 44, n. 1, p. 635-639, 1980b.
- CHEN, R. F.; SHEN, R. F.; GU, P.; DONG, X. Y.; DU, C. W.; MA, J. F. Response of rice (*Oryza sativa*) with root surface iron plaque under aluminium stress. **Annals of Botany**, v. 98, n. 2, p. 389-395, 2006.
- CONNOLLY, E. L.; GUERINOT, M. L. Iron stress in plants. **Genome Biology**, v. 3, n. 8, art. no. 1024, p. 1024.1-1024.4, 2002.
- CORDAZZO, C. V.; PAIVA, J. B.; SEELIGER, U. **Guia ilustrado - Plantas das dunas da costa sudoeste atlântica.** Pelotas: USEB, 2006. 107 p.
- CORKIDI, L.; RINCÓN, E. Arbuscular mycorrhizae in a tropical sand dune ecosystem on the Gulf of Mexico. I. Mycorrhizal status and mycorrhizal inoculum potential along a successional gradient. **Mycorrhiza**, v. 7, n. 1, p. 9-15, 1997.
- CROWDER, A. A.; MACFIE, S. M. Seasonal deposition of ferric hydroxide plaque on roots of wetland plants. **Canadian Journal of Botany**, v. 64, n. 9, p. 2120-2124, 1986.
- CROWDER, A. A.; ST-CYR, L. Iron oxide plaque on wetland roots. **Trends in Soil Science**, v. 1, n. 1, p. 315-329, 1991.

- DOBERMANN, A.; FAIRHURST, T. Toxicidad de hierro en arroz. In: DOBERMANN, A.; FAIRHURST, T. (Eds.), **Rice: nutrient disorders & nutrient management**. Potash and Phosphate Institute and International Rice Research Institute, p. 1-4, 2000.
- DYNIA, J. F.; FAGERIA, N. K. Ferro. In: BARBOSA FILHO, M. P.; DYNIA, J. F.; FAGERIA, N. K. (Org.). **Zinco e ferro na cultura do arroz**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p. 47-71.
- EMERSON, D.; WEISS, J. V.; MEGONIGAL, J. P. Iron-oxidizing bacteria are associated with ferric hydroxide precipitates (Fe-plaque) on the roots of wetland plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 6, p. 2758-2761, 1999.
- ESCOBEDO-MARTÍNEZ, C.; PEREDA-MIRANDA, R. Resin glycosides from *Ipomoea pes-caprae*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 6, p. 974-978, 2007.
- EVANS, D. E. Aerenchyma formation. **New Phytologist**, v. 161, n. 1, p. 35-49, 2003.
- FARMER, A. The effects of dust on vegetation: a review. **Environmental Pollution**, v. 79, n. 1, p. 63-75, 1993.
- GRANTZ, D. A., GARNER, J. H. B., JOHNSON, D. W. Ecological effects of particulate matter. **Environment International**, v. 29, n. 2-3, p. 213-239, 2003.
- GREEN, M. S.; ETHERINGTON, J. R. Oxidation of ferrous iron by rice (*Oryza sativa* L.) roots: a mechanism for waterlogging tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 28, n. 3, p. 678-690, 1977.
- GREIPSSON, S; CROWDER, A. A. Amelioration of copper and nickel toxicity by iron plaque on roots of rice (*Oryza sativa*). **Canadian Journal of Botany**, v. 70, n. 4, p. 824-830, 1992.
- GUERINOT, M. L.; YI, Y. Iron: Nutritions, noxious, and not readily available. **Plant Physiology**, v. 104, n. 1, p. 815-820, 1994.
- GUNAWARDENA, A. H. L. A. N. Programmed cell death and tissue remodeling in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 3, p. 445-451, 2008.

- HALL, J. L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 366, p. 1-11, 2002.
- HAN, F. X.; MARUTHI SRIDHAR, B. B.; MONTS, D. L., SU, Y. Phytoavailability and toxicity of trivalent and hexavalent chromium to *Brassica juncea* L. Czern. **New Phytologist**, v. 162, n. 2, p. 489-499, 2004.
- HANSEL, C. M.; FENDORF, S.; SUTTON, S.; NEWVILLE, M. Characterization of Fe plaque and associated metals on the roots of mine-waste impact aquatic plants. **Environmental Science and Technology**, v. 35, n. 19, p. 3863-3868, 2001.
- HELL, R.; STEPHAN, U. W. Iron uptake, trafficking and homeostasis in plants. **Planta**, v. 216, n. 4, p. 541-551, 2003.
- HENRIQUES, R. P. B.; ARAUJO, D. S. D.; HAY, J. D. Descrição e classificação dos tipos de vegetação da restinga de Carapebus, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 9, n. 2, p. 173-189, 1986.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The waterculture method for growing plants without soil**. Berkeley: California Agricultural Experiment Station, 1950. 32 p.
- HOWELER, R. H. Iron-induced orangine disease of rice in relation to physico-chemical changes in a flooded oxisol. **Soil Science Society of America Proceedings**, v. 37, n. 5, p. 898-903, 1973.
- KAMPFENKEL, K.; MONTAGU, M. V.; INZÉ, D. Effects of iron excess on *Nicotiana plumbaginifolia* plants - Implications to oxidative stress. **Plant Physiology**, v. 107, n. 3, p. 725-735, 1995.
- KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v. 27, n. 1, p. 137-138, 1965.
- KITAJIMA, E. W.; Dê ALCÂNTARA, B. K.; MADUREIRA, P. M.; ALFENAS-ZERBINI, P.; REZENDE, J. A. M.; ZERBINI, F. M. A mosaic of beach bean (*Canavalia rosea*) caused by an isolate of Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) in Brazil. **Archives of Virology**, v. 153, n. 4, p. 743-747, 2008.

KOVÁCS, K.; KUZMANN, E.; TATÁR, E.; VÉRTES, A.; FODOR, F. Investigation of iron pools in cucumber roots by Mössbauer spectroscopy: Direct evidence for the Strategy I iron uptake mechanism. **Planta**, v. 229, n. 2, p. 271-278, 2009.

KRÁL'OVÁ, K.; MASAROVICOVÁ, E.; SERSEN, F.; ONDREJKOVICOVÁ, I. Iron accumulation in maize treated with different Fe(III)compounds. In: MELNÍK, M.; ŠIMA, J.; TATARKO, M. (Org.). **Achievements in Coordination, Bioinorganic and Applied Inorganic Chemistry**. Bratislava: Slovak Technical University Press, 2007, p. 160-166.

KUKI, K. N.; OLIVA, M. A.; PEREIRA, E. G. Iron ore industry emissions as a potencial ecological risk factor for tropical coastal vegetation. **Environmental Management**, v. 42, n. 1, p. 111-121, 2008a.

KUKI, K. N.; OLIVA, M. A.; PEREIRA, E. G.; COSTA, A. C.; CAMBRAIA, J. Effects of simulated deposition of acid mist and iron ore particulate matter on photosynthesis and the generation of oxidative stress in *Schinus terebinthifolius* Radii and *Sophora tomentosa* L. **Science of the Total Environment**, v. 403, n. 1-3, p. 207-214, 2008b.

KUKI, K. N.; OLIVA, M. A.; COSTA, A. C. Metodologia não invasiva para detecção de impacto causado pelo ferro em espécies tropicais de restinga (Brasil). In: SETAC- Latin America. (Org.). **Química y Toxicología Ambiental en América Latina. Desafios, perspectivas y nuevos enfoques**, 2008c (in press).

KUKI, K. N.; OLIVA, M. A.; COSTA, A. C. The simulated effects of iron dust and acidity during the early stages of establishment of two coastal plant species. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 196, n. 1-4, p. 287-295, 2009.

KÜSEL, K.; CHABBI, A.; TRINKWALTER, T. Microbial processes associated with roots of bulbous rush coated with iron plaques. **Microbial Ecology**, v. 46, n. 3, p. 302-311, 2003.

LEVY, D. B.; REDENTE, E. F.; UPHOFF, G. D. Evaluating the phytotoxicity of Pb-Zn tailings to big bluestem (*Andropogon gerardii* Vitman) and switchgrass (*Panicum virgatum* L.). **Soil Science**, v. 164, n. 6, p. 363-375, 1999.

LIU, A.; HAMEL, C.; HAMILTON, R. I.; MA, B. L. Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. **Mycorrhiza**, v. 9, n. 6, p. 331-336, 2000.

LIU, W. -J.; ZHU, Y. -G.; SMITH, F. A.; SMITH, S. E. Do iron plaque and genotypes affect arsenate uptake and translocation by rice seedlings (*Oryza sativa* L.) grown in solution culture? **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 403, p. 1707-1713, 2004.

LIU, W. J.; ZHU, Y. G.; SMITH, F. A. Effects of iron and manganese plaques on arsenic uptake by rice seedlings (*Oryza sativa* L.) grown in solution culture supplied with arsenate and arsenite. **Plant and Soil**, v. 277, n. 1-2, p. 127-138, 2005.

LIU, W. J.; ZHU, Y. G.; HU, Y.; WILLIAMS, P. N.; GAULT, A. G.; MEHARG, A. A.; CHARNOCK, J. M., SMITH, F. A. Arsenic sequestration in iron plaque, its accumulation and speciation in mature rice plants (*Oryza Sativa* L.). **Environmental Science and Technology**, v. 40, n.18, p. 5730-5736, 2006.

LIU, H. J.; ZHANG, J. L.; ZHANG, F. S. Role of iron plaque in Cd uptake by and translocation within rice (*Oryza sativa* L.) seedlings grown in solution culture. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, n. 3, p. 314-320, 2007.

LIU, H.; ZHANG, J.; CHRISTIE, P.; ZHANG, F. Influence of iron plaque on uptake and accumulation of Cd by rice (*Oryza sativa* L.) seedlings grown in soil. **Science of the Total Environment**, v. 394, n. 2-3, p. 361-368, 2008.

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

LOPES, S. A.; OLIVA, M. A.; MARTINEZ, C. A. Impacto das imissões de dióxido de enxofre e deposição de material particulado de ferro em espécies vegetais de restinga: avaliação ecofisiológica. In: ESPÍNDOLA, E. L. G.; PASCHOAL, C. M. R. B.; ROCHA, O.; BOHRER, M. B. C.; OLIVEIRA NETO, A. L. (Org.). **Ecotoxicologia: perspectivas para o Século XXI**. São Carlos, SP: RiMa Artes e Textos, 2000. v. 1, p. 53-71.

LORENZI, H.; ABREU MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.

LUX, A.; SOTTNIKOVA, A.; OPATRŇÁ, J.; GREGER, M. Differences in structure of adventitious roots in *Salix* clones with contrasting characteristics of cadmium accumulation and sensitivity. **Physiologia Plantarum**, v. 120, n. 4, p. 537-545, 2004.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2 ed. Piracicaba, SP: Potafos, 1997. 319 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2 ed. Academic Press, London, 1995. 889 p.

MARTINEZ, H. E. P. **Manual prático de hidroponia**. 1 ed. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2006. 271 p.

MENDELSSOHN, I. A.; POSTEK, M. T. Elemental analysis of deposits on the roots of *Spartina alterniflora* Loisel. **American Journal of Botany**, v. 69, n. 6, p. 904-912, 1982.

MONTÁS RAMÍREZ, L.; CLAASSEN, N.; AMÍLCAR UBIERA, A.; WERNER, H.; MOAWAD, A. M. Effect of phosphorus, potassium and zinc fertilizers on iron toxicity in wetland rice (*Oryza sativa* L.). **Plant and Soil**, v. 239, n. 2, p. 197-206, 2002.

MORAES-DALAQUA, M. A.; BELTRATI, C. M.; RODRIGUES, J. D. Anatomia dos ápices radiculares de feijão cv. carioca submetidos a níveis de boro em solução nutritiva. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 3, p. 425-430, 2000.

NGUYEN, N. T.; HIEP, N. D.; FUJITA, K. Iron enhances aluminum-induced leaf necrosis and plant growth inhibition in *Eucalyptus camaldulensis*. **Plant and Soil**, v. 277, n. 1-2, p.139-152, 2005.

NOGUEIRA, M. A.; NEHLS, U.; HAMPP, R.; PORALLA, K.; CARDOSO, E. J. B. N. Mycorrhiza and soil bacteria influence extractable iron and manganese in soil and uptake by soybean. **Plant Soil**, v. 298, n. (1-2), p. 273-284, 2007.

OLIVEIRA, C. R. M.; OLIVA, M. A.; PEREIRA, E. G. Efeito do material particulado de ferro no teor de pigmentos de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 681-683, 2007.

OTTE, M. L.; ROZEMA, J.; KOSTER, L.; HAARSMA, M. S.; BROEKMAN, R. A. Iron plaque on roots of *Aster tripolium* L.: interaction with zinc uptake. **New Phytologist**, v. 111, n. 2, p. 309-317, 1989.

PEREDA-MIRANDA, R.; ESCALANTE-SÁNCHEZ, E.; ESCOBEDO-MARTINEZ, C. Characterization of lipophilic pentasaccharides from beach morning glory (*Ipomoea pes-caprae*). **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 2, p. 226-230, 2005.

PEREIRA, O. J. Caracterização fitofisionômica da restinga de Setiba - Guarapari/ES. In: WATANABE, S. (Org.). **Anais do II Simpósio de Ecossistemas da Costa Sul e Sudeste Brasileira**. São Paulo: Aciesp, 1990, v. 3, n. 71, p. 207-219.

PEREIRA, E.; OLIVA, M. A.; KUKI, K. N.; CAMBRAIA, J. Photosynthetic changes and oxidative stress caused by iron ore dust deposition in the tropical CAM tree *Clusia hilariana*. **Trees – Structure and Function**, v. 23, n. 2, p. 277-285, 2009.

PUGH, R. E.; DICK D.G.; FREDEEN A. L. Heavy metal (Pb, Zn, Cd, Fe and Cu) contents of plant foliage near the Anvil Range lead/zinc mine, Faro, Yukon territory. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 52, n. 3, p. 273-279, 2002.

SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; SILVA, L. C.; AZEVEDO, A. A.; AGUIAR, R. Effects of simulated acid rain on leaf anatomy and micromorphology of *Genipa americana* L. (Rubiaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 2, p. 313-321, 2006a.

SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; SILVA, L. C.; AZEVEDO, A. A.; ARAÚJO, J. M.; ALVES, E. F.; SILVA, E. A. M.; AGUIAR, R. Effects of simulated acid rain on the foliar micromorphology and anatomy of tree tropical species. **Environmental and Experimental Botany**, v. 58, n. 1-3, p. 158-168, 2006b.

SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; DUQUE-BRASIL, R.; AZEVEDO, A. A.; SILVEIRA, A. S.; ARAÚJO, J. M.; AGUIAR, R. Utilização de parâmetros morfoanatômicos na análise da

fitotoxidez do flúor em folhas de *Magnolia ovata* (A. St.-Hil.) SPRENG. (Magnoliaceae). **Revista Árvore**, v. 31, n. 4, p. 761-771, 2007.

SCHMIDT, W. Iron stress responses in roots of strategy I plants. In: BARTON, L. L.; ABADÍA, J. (Eds.). **Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms**. Springer, Netherlands, 2006. p. 229-250.

SCHMIDT, W.; FÜHNER, C. Sensitivity to and requirement for iron in *Plantago* species. **New Phytologist**, v. 138, n. 4, p. 639-651, 1998.

SEENA, S.; SRIDHAR, K. R. Physicochemical, functional and cooking properties of under explored legumes, *Canavalia* of the southwest coast of India. **Food Research International**, v. 38, n. 7, p. 803-814, 2005.

SEENA, S.; SRIDHAR, K. R. Nutritional and microbiological features of little known legumes, *Canavalia cathartica* Thouars and *C. maritima* Thouars of the southwest coast of India. **Current Science**, v. 90, n. 12, p. 1638-1650, 2006.

SILVA, L. C.; AZEVEDO, A. A.; SILVA, E. A. M.; OLIVA, M. A. Flúor em chuva simulada: sintomatologia e efeitos sobre a estrutura foliar e o crescimento de plantas arbóreas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, n. 4, p. 385-393, 2000.

SILVA, L. C.; AZEVEDO, A. A.; SILVA, E. A. M.; OLIVA, M. A. Effects of simulated acid rain on the growth of five brazilian tree species and anatomy of the most sensitive species (*Joannesia princeps*). **Australian Journal of Botany**, v. 53, n. 8, p. 789-796, 2005a.

SILVA, L. C.; OLIVA, M. A.; AZEVEDO, A. A.; ARAÚJO, J. M.; AGUIAR, R. M. Micromorphological and anatomical alterations caused by simulated acid rain in restinga plants: *Eugenia uniflora* and *Clusia hilariana*. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 168, n. 1-4, p. 129-143, 2005b.

SILVA, L. C.; OLIVA, M. A.; AZEVEDO, A. A.; ARAÚJO, J. M. Responses of restinga plant species to pollution from an iron pelletization factory. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 175, n. 1-4, p. 241-256, 2006.

SILVA, L. C.; AZEVEDO, A. A. Anatomia de plantas de restinga e sua aplicação como ferramenta para a bioindicação. In: L. F. T. MENEZES; F. R. PIRES; O. J. PEREIRA (Org.). **Ecossistemas costeiros do Espírito Santo - conservação e preservação**. Vitória: EDUFES, 2007. p. 213-233.

SINHA, S.; GUPTA, M.; CHANDRA, P. Oxidative stress induced by iron in *Hydrilla verticillata* (L.f.) royle: response of antioxidants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 38, n. 3, p. 286-291, 1997.

SNOWDEN, R. E.; WHEELER, B. D. Chemical changes in selected wetland plant species with increasing Fe supply, with specific reference to root precipitates and Fe tolerance. **New Phytologist**, v. 131, n. 4, p. 503-520, 1995.

SOUZA-SANTOS, P.; RAMOS, R. S.; FERREIRA, S. T.; CARVALHO-ALVES, P. C. Iron-induced oxidative damage of corn root plasma membrane H⁺-ATPase. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1512, n. 2, p. 357-366, 2001.

SRIDHAR, K. R.; SEENA, S. Nutritional and antinutritional significance of four unconventional legumes of the genus *Canavalia* - A comparative study. **Food Chemistry**, v. 99, n. 2, p. 267-288, 2006.

TANAKA, A.; LOE, R.; NAVASERO, S. A. Some mechanisms involved in the development of iron toxicity symptoms in the rice plant. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 12, n. 4, p. 32-38, 1966.

TAYLOR, G. J.; CROWDER, A. A. Use of the DCB technique for extraction of hydrous iron oxides from roots of wetland plants. **American Journal of Botany**, v. 70, n. 8, p. 1254-1257, 1983.

TAYLOR, G. J.; CROWDER, A. A.; RODDEN, R. Formation and morphology of an iron plaque on the roots of *Typha latifolia* L. grown in solution culture. **American Journal of Botany**, v. 71, n. 5, p. 666-675, 1984.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre : UFRGS, 1995. 174 p.

THOMAZ, L. D.; MONTEIRO, R. Uma revisão da comunidade halófila-psamófila do litoral brasileiro. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão (Nova Série)**, v. 1, n. 1, p. 103-114, 1992.

TSAL, T-M.; HUANG, H-J. Effects of iron excess on cell viability and mitogen-activated protein kinase activation in rice roots. **Physiologia Plantarum**, v. 127, n. 4, p. 583-592, 2006.

UHLIG, C.; JUNTILLA, O. Airborne heavy metal pollution and its effects on foliar elemental composition of *Empetrum hermaphroditum* and *Vaccinium myrtillus* in Sor-Varanger, northern Norway. **Environmental Pollution**, v. 114, n. 3, p. 461-469, 2001.

VANSUYT, G.; LOPEZ, F.; INZÉ, D.; BRIAT, J. -F.; FOURCROY, P. Iron triggers a rapid induction of ascorbate peroxidase gene expression in *Brassica napus*. **FEBS Letters**, v. 410, n. 2-3, p. 195-200, 1997.

VITÓRIA, A. P.; RODRIGUEZ, A. P. M.; CUNHA, M.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Structural changes in radish seedlings exposed to cadmium. **Biologia Plantarum**, v. 47, n. 4, p. 561-568, 2003/2004.

WEISS, J. V.; EMERSON, D.; BACKER, S. M.; MEGONIGAL, J. P. Enumeration of Fe(II)-oxidizing and Fe(III)-reducing bacteria in the root zone of wetland plants: implications for a rhizosphere iron cycle. **Biogeochemistry**, v. 64, n. 1, p. 77-96, 2003.

YE, Z. H.; BAKER, A. J. M.; WONG, M. H.; WILLIS, A. J. Copper and nickel uptake, accumulation and tolerance in *Typha latifolia* with and without iron plaque on the root surface. **New Phytologist**, v. 136, n. 3, p. 481-488, 1997.

YE, Z. H.; BAKER, A. J. M.; WONG, M. H.; WILLIS, A. J. Zinc, lead and cadmium accumulation and tolerance in *Typha latifolia* as affected by iron plaque on the root surface. **Aquatic Botany**, v. 61, n. 1, p. 55-67, 1998.

YE, Z. H.; CHEUNG K. C.; WONG M. H. Copper uptake in *Typha latifolia* as affected by iron and manganese plaque on the root surface. **Canadian Journal of Botany**, v. 79, n. 3, p. 314-320, 2001.

ZHANG, X.; ZHANG, F.; MAO, D. Effect of iron plaque outside roots on nutrient uptake by rice (*Oryza sativa* L.). zinc uptake by Fe-deficient rice. **Plant and Soil**, v. 202, n. 1, v. 33-39, p. 33-39, 1998.

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**, v. 209, n. 2, p.187-192, 1999.

ZHAO, F. J.; LOMBI, E.; BREEDON, T.; McGRANTH, S. P. Zinc hyperaccumulation and cellular distribution in *Arabidopsis halleri*. **Plant Cell & Environment**, v. 23, n. 5, p. 507-514, 2000.

Tabela 1. Nutrientes minerais presentes na matéria seca das folhas e raízes de *Ipomoea pes-caprae* e *Canavalia rosea* após 228 horas de exposição aos tratamentos com e sem excesso de ferro (150 mg/L) em solução nutritiva.

<i>Ipomoea pes-caprae</i>										
Órgão	Tratamento	Nutriente [mg/Kg]				Nutriente [g/Kg]				
		Fe	Mn	Zn	Cu	P	Ca	Mg	K	N
Folha	Controle	111,98±16,31 B	186,18±20,58 A	26,27±1,84 A	< LD	6,49±0,55 A	13,71±1,19 A	2,62±0,11 A	35,64±2,70 A	32,00±1,04 A
	Ferro	315,20±13,63 A	168,64±15,11 A	22,64±1,65 A	< LD	6,52±0,31 A	15,24±1,12 A	2,97±0,14 A	29,48±2,58 A	26,67±1,15 B
Raiz	Controle	413,06±53,58 b	49,04±8,80 a	72,22±6,15 a	35,88±4,02 a	4,06±0,20 a	1,91±0,12 a	1,05±0,08 a	16,06±1,41 a	29,12±0,18 a
	Ferro	2082,11±210,81 a	44,02±6,50 a	75,90±9,97 a	26,75±4,68 a	3,35±0,28 a	2,77±0,39 a	1,39±0,12 a	16,28±0,80 a	26,80±1,21 a
<i>Canavalia rosea</i>										
Órgão	Tratamento	Nutriente [mg/Kg]				Nutriente [g/Kg]				
		Fe	Mn	Zn	Cu	P	Ca	Mg	K	N
Folha	Controle	18,82±3,27 B	66,56±8,41 A	21,22±1,81 A	< LD	2,91±0,41 A	10,24±0,89 A	1,67±0,15 A	19,14±1,45 A	25,75±2,33 A
	Ferro	1027,03±102,31 A	70,90±7,87 A	20,68±1,16 A	< LD	2,51±0,36 A	7,83±0,59 A	1,65±0,15 A	18,26±1,41 A	26,20±1,18 A
Raiz	Controle	418,02±154,82 b	56,59±11,99 a	99,02±8,79 b	19,49±2,23 a	5,14±0,37 a	2,32±0,09 a	0,26±0,01 a	5,72±0,64 a	34,83±0,63 a
	Ferro	2996,58±270,93 a	37,63±3,66 a	149,14±13,53 a	36,65±4,63 a	4,90±0,52 a	2,07±0,43 a	0,28±0,06 a	3,30±0,77 a	36,55±1,25 a

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula para folha e minúscula para raiz, na coluna para uma mesma espécie, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Média ± erro padrão (n=5). LD: Limite detectável do ICP-OES.

Tabela 2. Fator de translocação (FT) e fator de bioconcentração (FBC) em *Ipomoea pes-caprae* e *Canavalia rosea* após 228 horas de exposição aos tratamentos com e sem excesso de ferro (150 mg/L) em solução nutritiva.

Espécie	Tratamento	FT	FBC (L. Kg ⁻¹)		
			Folha	Caule	Raiz
<i>I. pes-caprae</i>	Controle	0,29±0,007 Aa	1,35±0,042 b	0,55±0,230 a	11,13±1,049 b
	Ferro	0,20±0,030 Aa			
<i>C. rosea</i>	Controle	0,07±0,040 Bb	6,72±0,660 a	1,15±0,267 a	17,19±1,433 a
	Ferro	0,41±0,063 Aa			

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre tratamentos dentro da mesma espécie e minúscula entre espécies dentro do mesmo tratamento, na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Média ± erro padrão (n=5).

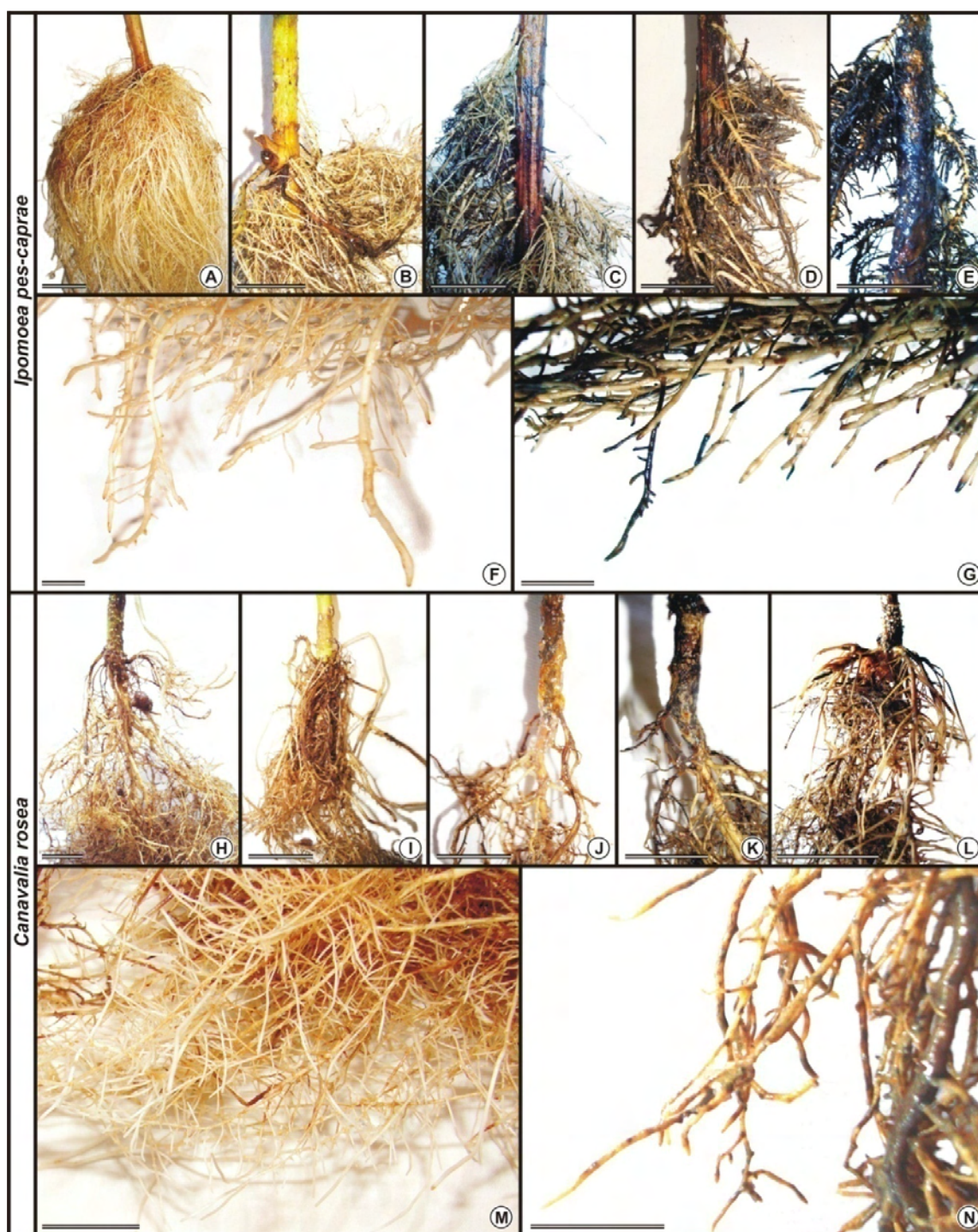


Figura 1. Raízes de *Ipomoea pes-caprae* (A-G) e *Canavalia rosea* (H-N), após 12 (B e I), 36 (C e J), 108 (D e K) e 228 (A, E-H, L-N) horas de cultivo em solução nutritiva com ou sem adição extra de ferro. Controle (A e F, H e M) e 150 mg/L de ferro (B-E, G, I-L, N). Barras: 30 mm (A-E); 20 mm (H-M); 10 mm (F e G, N).

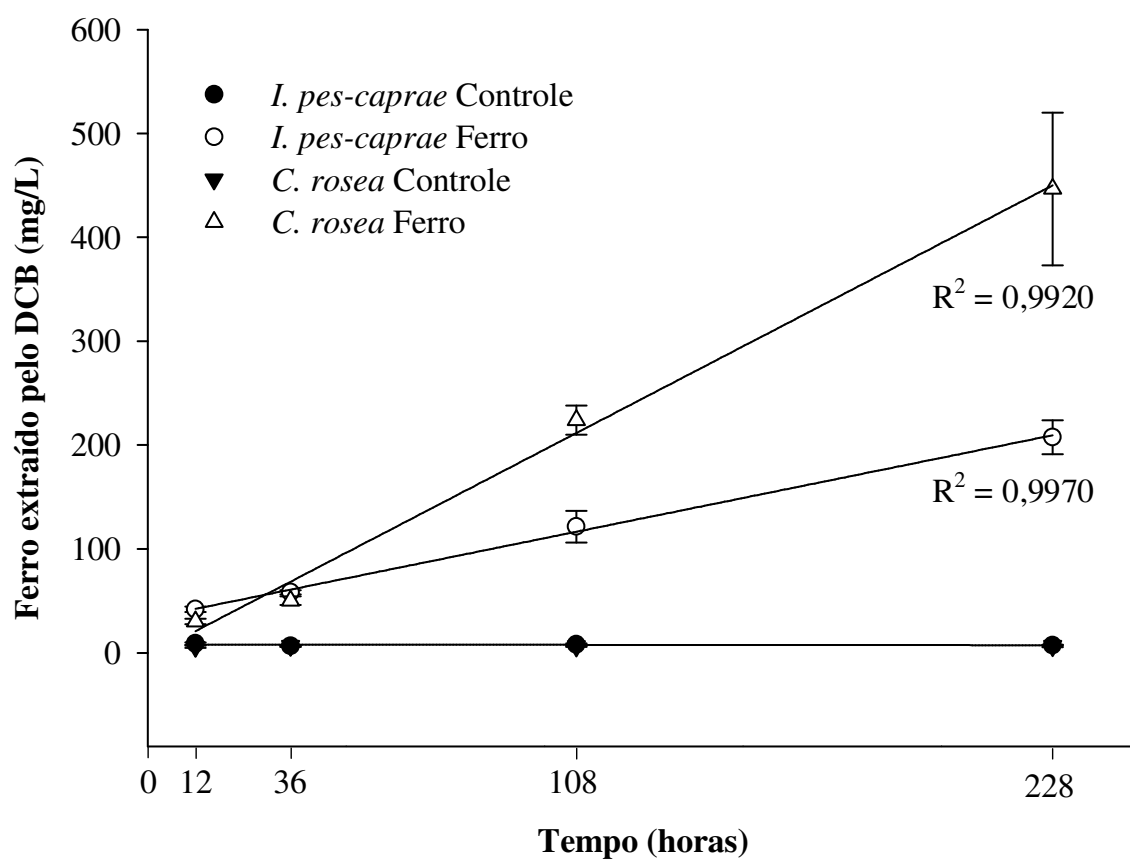


Figura 2. Relação entre o ferro extraído pelo extrato de DCB nas raízes de *Ipomoea pes-caprae* e *Canavalia rosea* e o tempo de exposição aos tratamentos. As equações de regressão das plantas do tratamento com excesso de ferro indicam significativas correlações a 5% de probabilidade (*Ipomoea pes-caprae* ferro: $y = 0,7737x + 33,0733$ e *Canavalia rosea* ferro: $y = 1,9873x - 2,9834$).

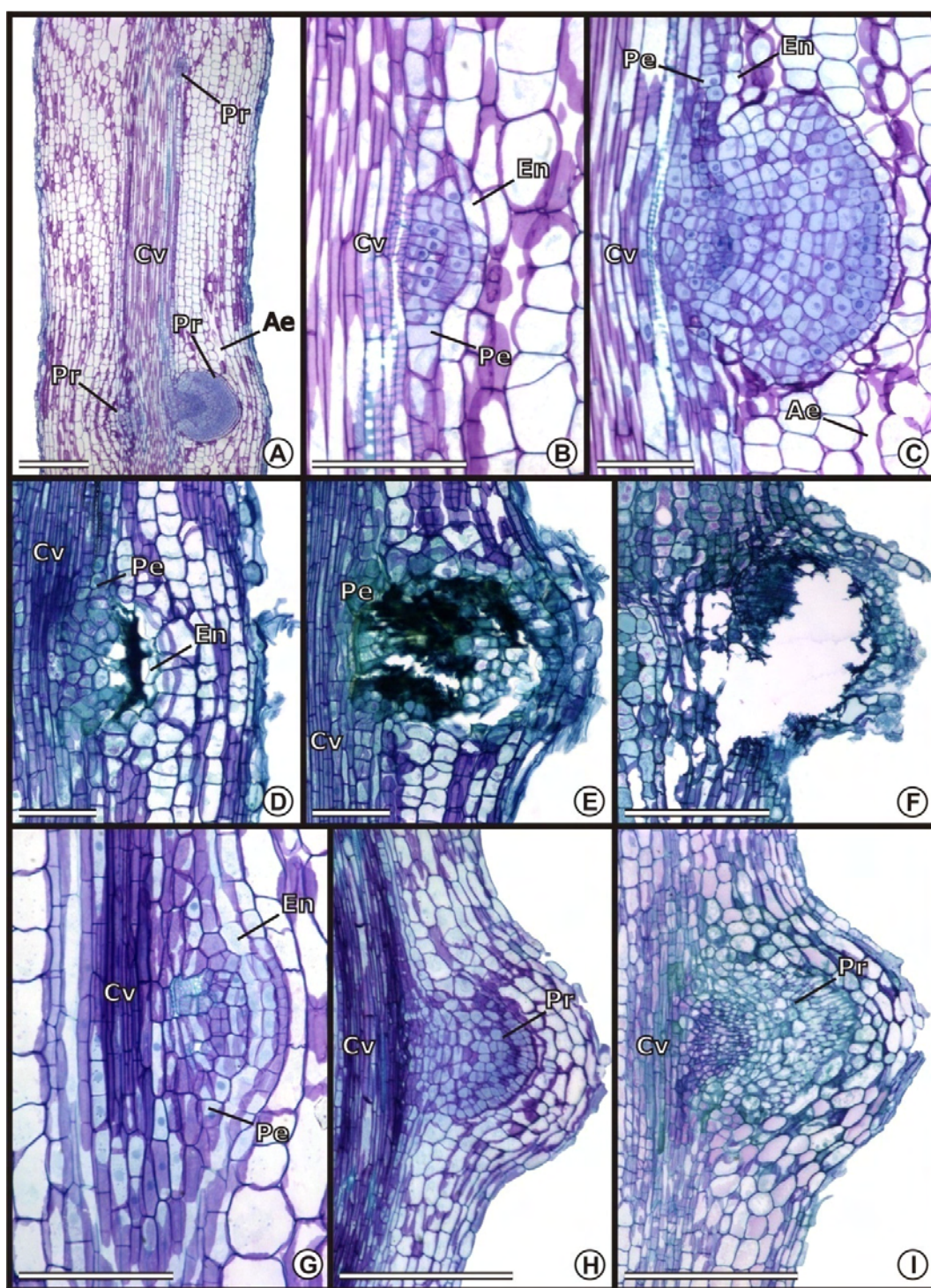


Figura 3. Raiz de *Ipomoea pes-caprae* (A-F) e *Canavalia rosea* (G-I) do tratamento controle (A-C, G e H) e após 228 horas (D-F, I) de exposição a 150 mg/L de ferro (secções longitudinais). A-C: Região de ramificação com primórdios de raízes laterais originados a partir do periciclo. D-F: Necrose e colapso do primórdio de raiz lateral. G-I: Região de ramificação com primórdios de raízes laterais originados a partir do periciclo. Legenda: (Pr) primórdio da raiz lateral, (Cv) cilindro vascular, (Ae) aerênquima, (Pe) periciclo, (En) endoderme. Barras: 100 μ m (B-E, G); 300 μ m (A, F, H e I).

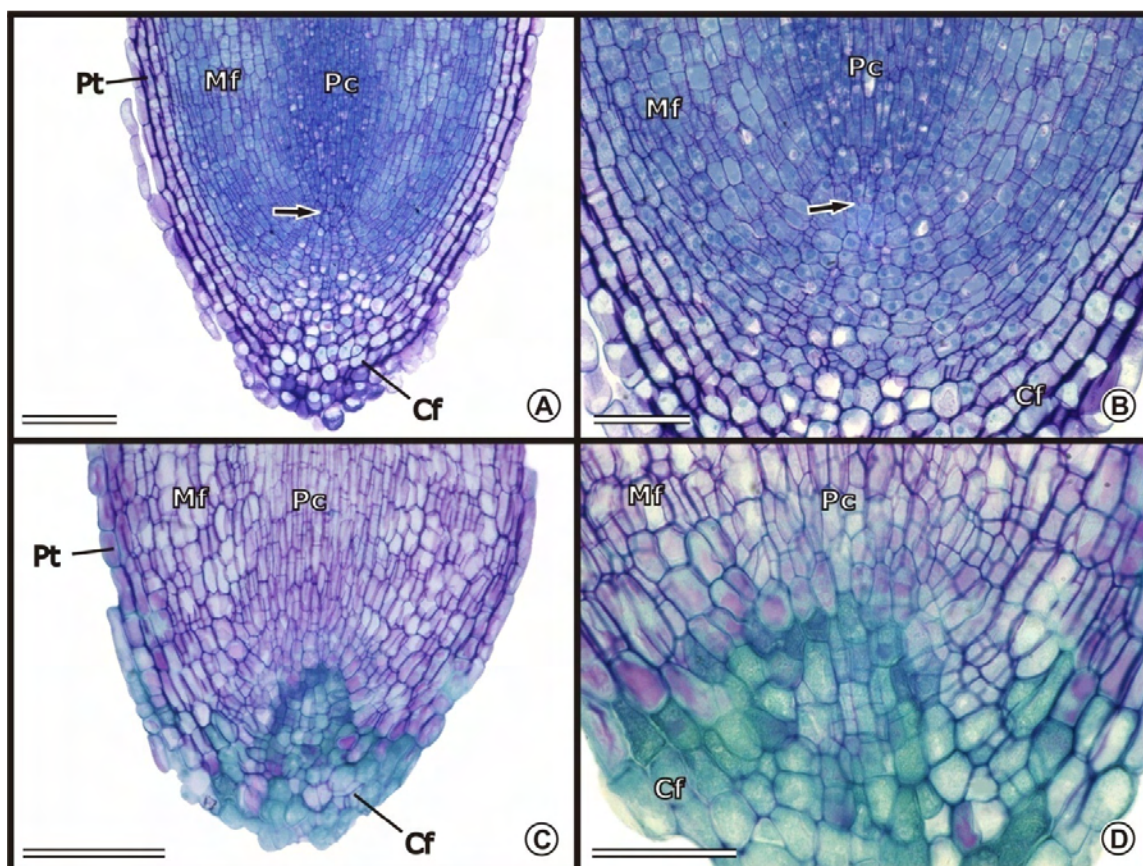


Figura 4. Raiz de *Canavalia rosea* do tratamento controle (A e B) e após exposição a 150 mg/L de ferro (C e D), em secções longitudinais. A e B: Região do meristema apical do tratamento controle. C e D: Região do meristema apical com alteração no padrão de divisão celular após exposição ao excesso de ferro por 228 horas. Legenda: (Cf) coifa, (→) promeristema, (Pt) protoderme, (Mf) meristema fundamental, (Pc) procâmbio. Barras: 100 μ m (A, C); 50 μ m (B, D).

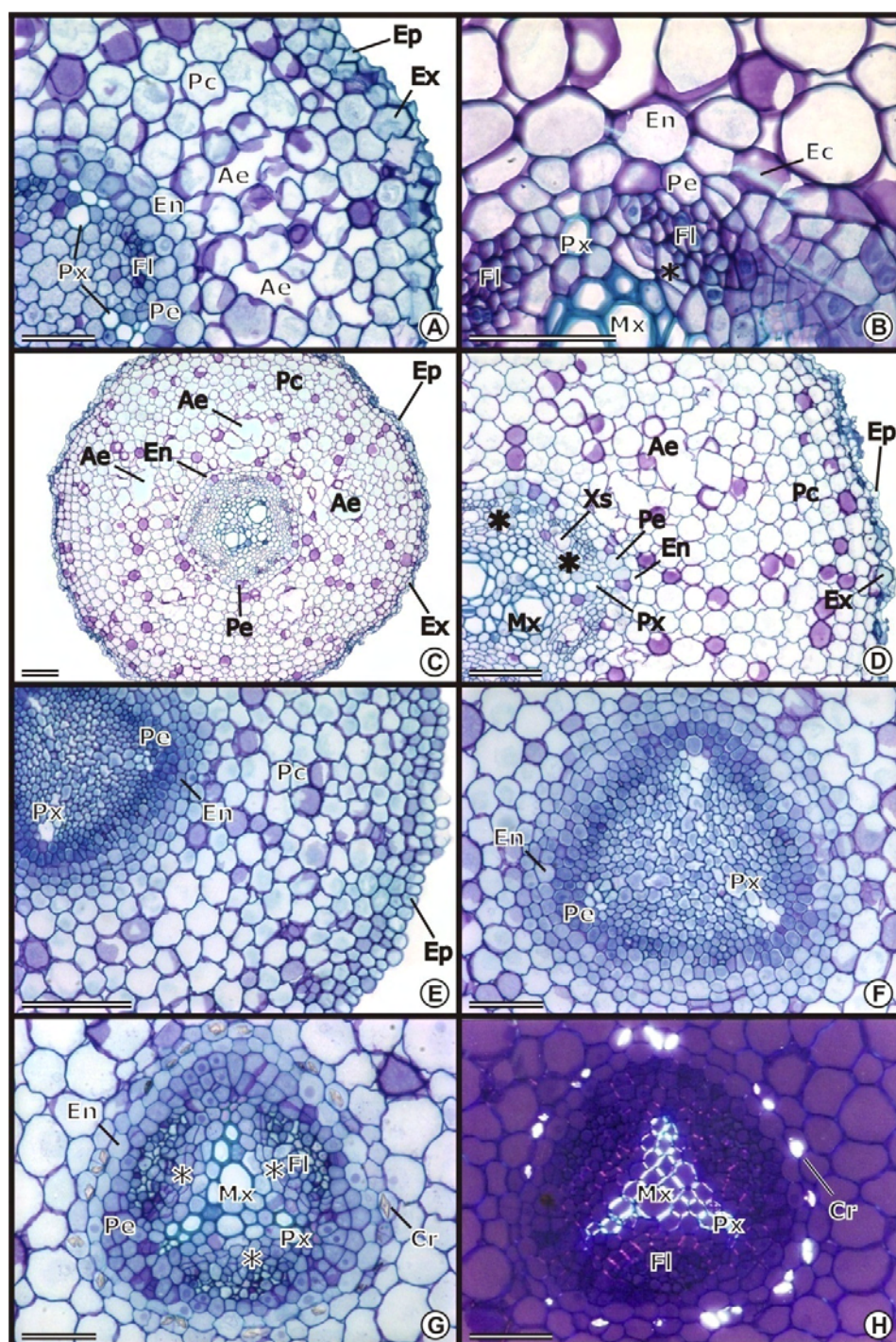


Figura 5. Raiz de *Ipomoea pes-caprae* (A-D) e *Canavalia rosea* (E-H) do tratamento controle (secções transversais). A: Fase inicial de maturação do xilema primário. B: Detalhe da estria de caspary. C e D: Raiz madura. E e F: Fase inicial de maturação do xilema primário. G: Detalhe do cilindro vascular maduro. H: Detalhe de G sob luz polarizada. Legenda: (Ep) epiderme, (Ex) exoderme, (Pc) parênquima cortical, (Ae) aerênquima, (En) endoderme, (Pe) periciclo, (Fl) floema, (Px) protoxilema, (Ec) estria de caspary, (Mx) metaxilema, (*) câmbio vascular em diferenciação, (Xs) xilema secundário. Barras: 50 µm (A e B, F-H); 100 µm (C-E).

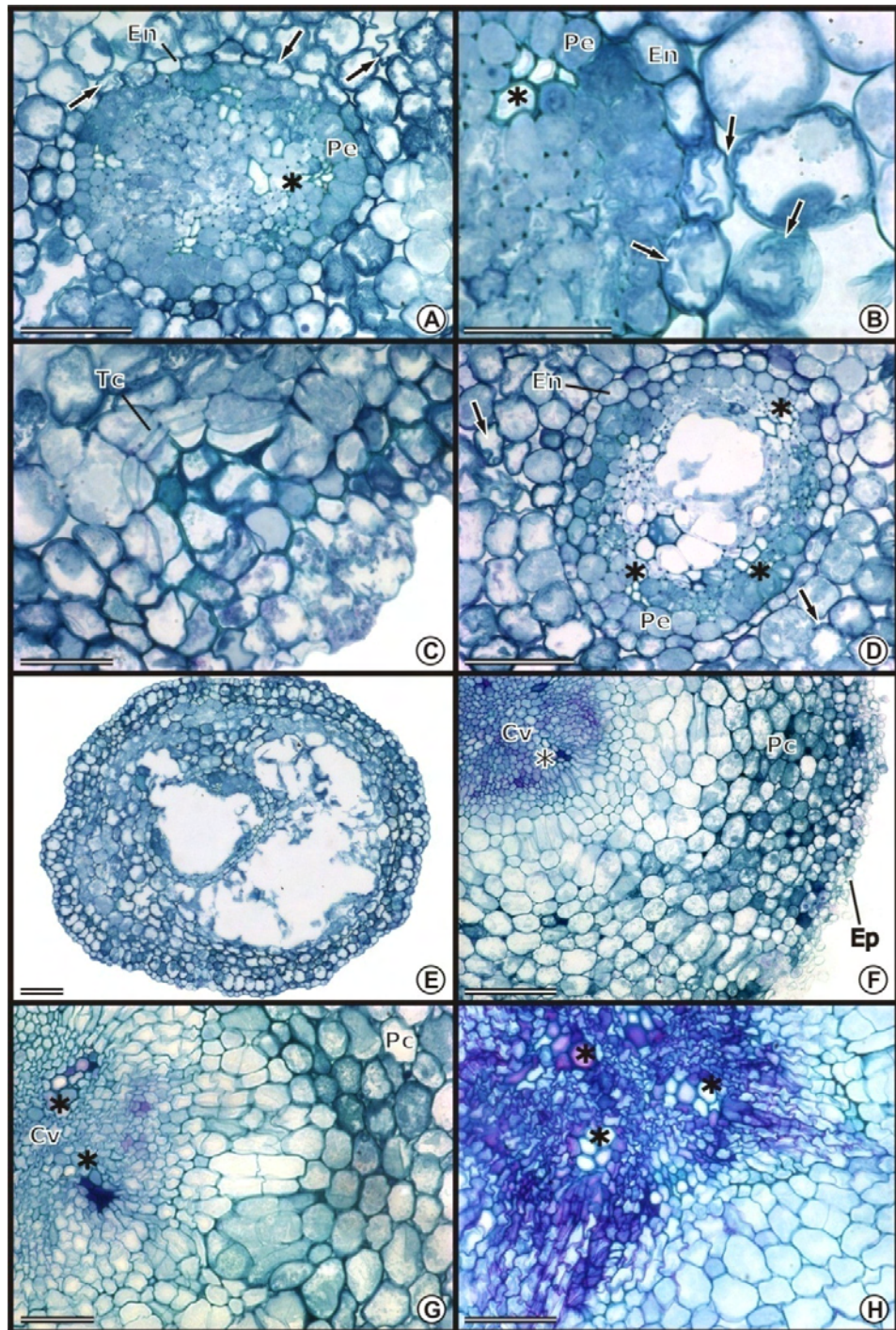


Figura 6. Raiz de *Ipomoea pes-caprae* (A-E) e *Canavalia rosea* (F-H) coletada após 228 horas de exposição a 150 mg/L de ferro (secções transversais). A: Cilindro vascular. B: Detalhe do córtex e da endoderme. C: Detalhe do tecido de cicatrização no córtex. D: Cilindro vascular. E: Colapso integral das células do cilindro vascular e parcial das células do córtex. F-G: Detalhe da alteração na organização e no padrão de diferenciação do cilindro vascular e córtex. Legenda: (→) retração do protoplasto, (En) endoderme, (Pe) periciclo, (*) protoxilema, (Tc) tecido de cicatrização, (Cv) cilindro vascular, (Ep) epiderme, (Pc) parênquima cortical. Barras: 100 µm (A, D-F), 50 µm (B e C, G e H).

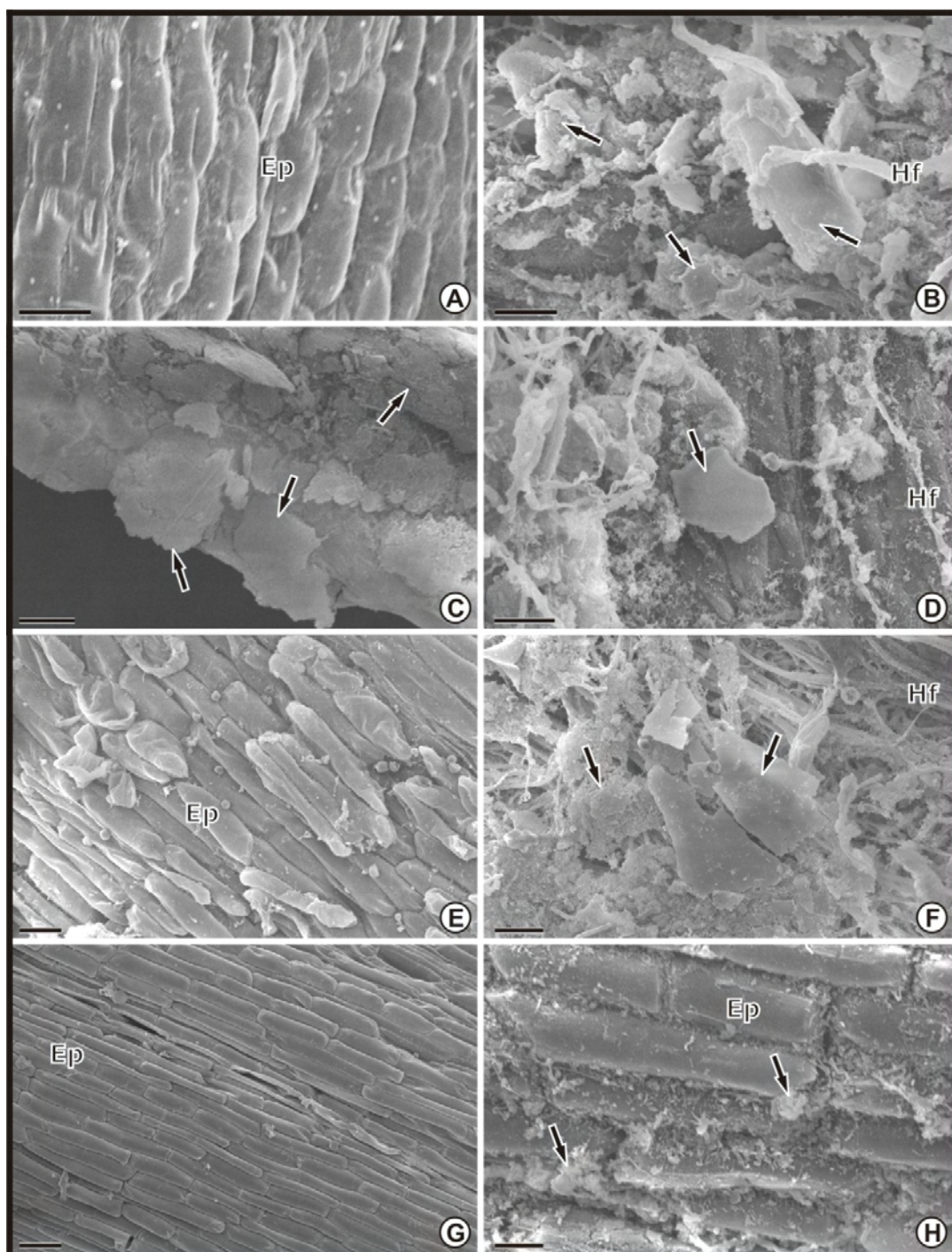


Figura 7. Superfície radicular de *Ipomoea pes-caprae* (A-D) e coleto e superfície radicular de *Canavalia rosea* (E-H) em microscopia eletrônica de varredura. Tratamento controle (A, E e G) e com placa de ferro (B-D, F e H). A: Controle, sem depósito externo. B: Placa de ferro após 36 horas. C: Placa de ferro após 108 horas. D: Placa de ferro após 228 horas. E: Coleto sem depósito externo. F: Coleto com deposição de placa de ferro após 36 horas. G: Superfície radicular sem depósito externo. H: Superfície radicular com placa de ferro após 228 horas. Legenda: (Ep) epiderme, (Hf) hifa fúngica, (→) placa de ferro. Barras: 20 μm (A, C-G); 10 μm (B e H).

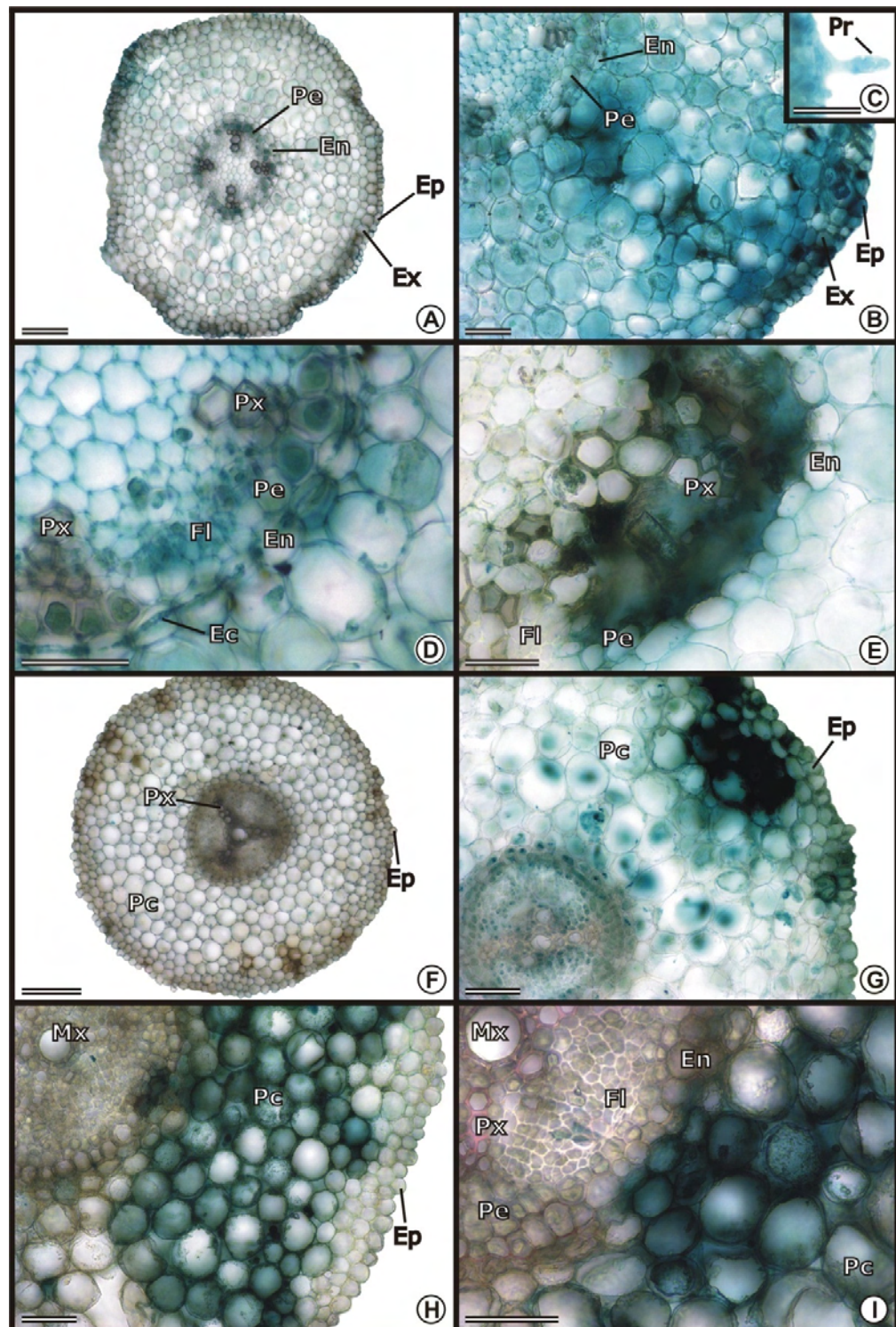


Figura 8. Detecção histoquímica de ferro em raiz de *Ipomoea pes-caprae* (A-E) e *Canavalia rosea* (F-I), secções transversais. Tratamento controle (A e F) e após 228 horas de exposição a 150 mg/L de ferro (B-E, G-I). A e F: Controle com reação. B-E, G-I: Reação positiva para ferro. Legenda: (Pe) periciclo, (En) endoderme, (Ep) epiderme, (Ex) exoderme, (Pr) pêlo radicular, (Px) protoxilema, (Ec) estria de caspary, (Fl) floema, (Pc) parênquima cortical, (Mx) metaxilema. Barras: 100 μ m (A, F); 50 μ m (B-E, G-I).

CONCLUSÕES GERAIS

Nesse trabalho constatou-se a presença da placa de ferro nas raízes de *Ipomoea pes-caprae* e *Canavalia rosea*. A absorção e acúmulo excessivo de ferro causou mudanças estruturais e ultraestruturais que afetaram o crescimento das raízes, em ambas as espécies. Na presença da placa de ferro, a assimilação de zinco em *C. rosea*, e a translocação de N em *I. pes-caprae*, também foi comprometida. A composição química da placa de ferro nas duas espécies variou, mas o ferro foi o elemento com maior proporção na placa. Nas condições de cultivo com excesso de ferro, as espécies estudadas apresentaram semelhantes estratégias de translocação e bioconcentração de ferro. Entretanto, *C. rosea* foi a espécie que mais concentrou ferro em seus tecidos. Em ambas as espécies houve alteração na organização e no formato das células do periciclo e do córtex, e o metaxilema não completou sua diferenciação. Em *I. pes-caprae* houve necrose e colapso dos primórdios de raiz lateral e do cilindro vascular. As células do córtex apresentaram retração do protoplasto, formação de tecido de cicatrização e colapso celular. Em *C. rosea* houve alteração no padrão de divisão e diferenciação celular do córtex e na diferenciação celular do periciclo. O ferro foi histolocalizado em todos os tecidos das raízes, quando expostas ao excesso de ferro, indicando que o ferro é realmente assimilado, o que foi confirmado nas quantificações da matéria seca. Os níveis de ferro na matéria seca das folhas e raízes de *C. rosea*, e das raízes de *I. pes-caprae* ficaram acima do nível crítico de toxicidade para plantas, indicando que a regulação na homeostase do ferro possa estar comprometida.