

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE ECOSISTEMAS

**CRESCIMENTO, NUTRIÇÃO E ECOFISIOLOGIA DE PLANTAS DE
CAFÉ ARÁBICA (*Coffea arabica* L.) E CAFÉ CONILON (*Coffea
canephora* L.) SOB CONDIÇÕES DE TOXIDEZ POR FERRO**

CESAR ABEL KROHLING

**VILA VELHA
NOVEMBRO / 2014**

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE ECOSISTEMAS

**CRESCIMENTO, NUTRIÇÃO E ECOFISIOLOGIA DE PLANTAS DE
CAFÉ ARÁBICA (*Coffea arabica* L.) E CAFÉ CONILON (*Coffea
canephora* L.) SOB CONDIÇÕES DE TOXIDEZ POR FERRO**

Tese apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ecossistemas, para a obtenção do título de Doutor em Ecologia.

CESAR ABEL KROHLING

VILA VELHA
NOVEMBRO / 2014

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

K93c Krohling, Cesar Abel.

Crescimento, nutrição e ecofisiologia de plantas de café arábica (*Coffea arabica* L.) e café conilon (*Coffea canephora* L.) sob condições de toxidez por ferro / Cesar Abel Krohling. – 2014.

94 f.: il.

Orientador: Alessandro Coutinho Ramos.

Tese (doutorado em Ecologia de Ecossistemas) - Universidade Vila Velha, 2014.

Inclui bibliografias.

1. Café - Produção. 2. Metais – Toxidade. 3. Hidromorfismo. I. Ramos, Alessandro Coutinho. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 338.17373

CESAR ABEL KROHLING

**CRESCIMENTO, NUTRIÇÃO E ECOFISIOLOGIA DE PLANTAS DE
CAFÉ ARÁBICA (*Coffea arabica* L.) E CAFÉ CONILON (*Coffea
canephora* L.) SOB CONDIÇÕES DE TOXIDEX POR FERRO**

Tese apresentada à Universidade
Vila Velha, como pré-requisito do
Programa de Pós-graduação em
Ecologia de Ecossistemas, para a
obtenção do título de Doutor em
Ecologia.

Aprovada em 24 de novembro de 2014,

Bançã Examinadora:



Dr. Eliemar Campostrini – UENF



Dra. Inga Gonçalves de Azevedo – UENF



Dr. Leonardo Barros Dobbss – UVV



Dr. Alessandro Coutinho Ramos – UENF

Orientador

Dedico este trabalho aos meus queridos pais, Sebastião Krohling Segundo (in memoriam) e Tereza V. Luduvico Krohling, irmãos e aos amados filhos Caio Cesar Klippel Krohling e Camila Klippel Krohling, minha querida Dalva Uliana Krohling e minha enteada Niely Krohling.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela proteção do dia a dia.

A Universidade Vila Velha – UVV, pela possibilidade de realização dos trabalhos de doutorado.

Aos meus familiares pelo apoio e incentivo nesta jornada, em especial aos meus dois queridos filhos, Caio e Camila, minha querida Dalva e minha enteada Niely pela compreensão, apoio e ajuda.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Marco Antônio Oliva Cano e Dr Alessandro Coutinho Ramos pela orientação, ajuda, incentivo, dedicação, compreensão.

Aos professores do Doutorado em Ecologia de Ecossistemas pelo aprendizado e dedicação.

Ao Prof. Dr Eliemar Campostrini da UENF, pelo suporte, ajuda e disponibilidade dos aparelhos para a execução dos parâmetros fisiológicos.

Aos Doutores em Produção Vegetal da UENF, Fábio Afonso Mazzei Moura de Assis Figueiredo e Thiago Massi Ferraz pela ajuda direta na execução dos trabalhos da hidroponia.

Ao colega de Doutorado Frederico Jacob Eutrópio pelo incentivo e ajuda durante o curso.

Aos demais colegas do Doutorado Prof. Romildo, Juliana, Prof. Marcelo, Wallace e Maria Araci pela convivência e amizade.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia (LMAB) pela amizade.

Aos proprietários rurais Sr. Leandro Belmoque (Anchieta); Sr. Emerson Almeida Marchiori (Iconha) e Gustavo Mozer Lourencini (Rio Novo do Sul) por cederem as áreas de café conilon para o estudo de campo.

“A terra é um bem que apenas tomamos
emprestado daqueles que nos sucederão”

Provérbio indígena

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REFERÊNCIAS.....	18
CAPÍTULO I.....	23
1. INTRODUÇÃO.....	24
2. ESTRATÉGIAS DE ABSORÇÃO DE FERRO PELAS PLANTAS.....	25
3. FISIOLOGIA DA DEFICIÊNCIA DE FERRO	32
4. RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS A DISPONIBILIDADE DE FERRO.....	33
5. EFEITO DA TOXIDEZ POR FERRO NO PROCESSO FOTOSSINTÉTICO...	36
6. COMPARATIVO ENTRE AS RESPOSTAS AO FERRO POR PLANTAS E MICROORGANISMOS.....	38
7. CONCLUSÃO.....	39
8. REFERÊNCIAS.....	41
CAPÍTULO II.....	52
1. INTRODUÇÃO.....	53
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	54
3. RESULTADOS.....	57
4. DISCUSSÃO.....	65
5. CONCLUSÕES.....	71
6. REFERÊNCIAS.....	72
CAPÍTULO III.....	76
1. INTRODUÇÃO.....	77
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	78
3. RESULTADOS.....	82
4. DISCUSSÃO.....	89
5. CONCLUSÕES.....	91
6. REFERÊNCIAS.....	92

KROHLING, Cesar Abel. Universidade Vila Velha - ES, novembro de 2014. **Crescimento, nutrição e ecofisiologia de plantas de café arábica (*Coffea arabica* L.) e café conilon (*Coffea canephora* L.) sob condições de toxidez por ferro.** Orientador: Dr. Alessandro Coutinho Ramos.

RESUMO

O Ferro (Fe) é essencial na manutenção de processos como a respiração e fotossíntese, participando da cadeia transportadora de elétrons e das conversões entre Fe^{2+} e Fe^{3+} . Também é elemento chave para a fixação de CO_2 e, portanto, importante para a produção vegetal das espécies cultivadas ou naturais. Os vegetais desenvolveram duas diferentes estratégias para absorção, transporte e armazenamento do Fe pelas plantas superiores, sendo que tanto a deficiência como a toxidez podem ocorrer nas lavouras, sendo dependentes das condições locais do solo e do manejo, como pode ocorrer nos solos dos Tabuleiros Costeiros do Estado do Espírito Santo. Nesses ambientes, reações de oxi-redução, transformam Fe^{3+} em formas reduzidas (Fe^{2+}), que são mais solúveis e que podem causar efeitos diretos e indiretos no crescimento, desenvolvimento e produtividade. O estudo objetivou avaliar os efeitos da toxidez do ferro sobre os parâmetros de crescimento, nutrição mineral e ecofisiologia de *C. arabica* e *C. canephora* e entender os mecanismos de tolerância; assim como avaliar os impactos da concentração de ferro nos tecidos vegetais (raízes, caules, folhas, grãos e cascas), na floração e avaliar a produtividade de lavouras de *C. canephora* cultivadas na Região dos Tabuleiros Costeiros do Estado do Espírito Santo em ambientes de baixada e encosta. O primeiro estudo foi conduzido em casa de vegetação em hidroponia com plantas *C. arabica* (Catuaí V. IAC-44) e *C. canephora* (variedade Vitória clone 02). A nutrição foi realizada utilizando solução Hoagland a pH 5,0 por 30 dias de exposição a cinco concentrações de Fe-EDTA (0; 0,12; 0,95; 1,90 e 3,80 mM) com seis repetições, nas quais avaliou-se os parâmetros de crescimento, as trocas gasosas, a fluorescência da clorofila *a*, o conteúdo de clorofila e o conteúdo de nutrientes em raízes, caules e folhas de ambas espécies. O segundo estudo foi conduzido em três propriedades produtoras de *C. canephora* variedade G35, localizadas no Sul do estado do Espírito Santo, sendo 03 lavouras de ambientes de baixada e 03 de encosta. O espaçamento das 06 lavouras é de 2,5x1,5 m e o delineamento experimental foi de 4 blocos ao acaso com 4 repetições de 10 plantas/parcela e os tratos culturais foram os recomendados para a cultura. As avaliações foram a determinação dos atributos físico-químico dos solos; a composição mineral nas raízes, caules, folhas, grãos e cascas, a fenologia e a produtividade nas safras de 2013 e 2014. Os resultados do primeiro estudo mostraram que altas concentrações de Fe-EDTA resultaram em elevados níveis de Fe nas raízes e parte aérea de plantas de *C. arabica* e *C. canephora*. O excesso de Fe nas plantas afetou os parâmetros de crescimento, nutrição e fisiologia das duas espécies de café a partir da concentração de 1,9 mM de Fe-EDTA. Para a nutrição e os parâmetros ecofisiológicos, as espécies de *C. arabica* e *C. canephora* apresentam comportamento diferente quando expostas a elevadas concentrações de Fe. O segundo estudo mostrou que as altas concentrações de ferro em raízes, caules e folhas influenciou negativamente na produtividade das lavouras de *C. canephora*, variedade G35 implantadas nos solos dos Tabuleiros Costeiros do Estado do Espírito Santo. Conclui-se que plantas de *C.*

arabica e *C. canephora* são afetadas significativamente e similarmente quando expostas a elevadas concentrações de ferro em hidroponia e que lavouras já implantadas em solos dos Tabuleiros Costeiros do Estado do Espírito Santo e que sofrem pelo menos temporariamente efeitos de encharcamento (hipoxia) acumulam excesso de ferro nas raízes, o que pode estar prejudicando a produtividade. Estudos são necessários para (i) avaliar as bases moleculares e a sinalização por íons Fe em plantas de café crescendo em ambientes com elevadas concentrações de Fe disponível; (ii) implantação de alguma cultura agrícola nestes ambientes em que ocorrem processos de oxi-redução para evitar prejuízos significativos na produtividade; (iii) nas culturas já instaladas por meio de medidas no manejo das propriedades físico-químicas do solo devem ser adotadas para a sustentabilidade nestes ecossistemas.

Palavras-chave: toxidez de ferro, produtividade, crescimento vegetal, hidromorfismo, tabuleiros costeiros

KROHLING, Cesar Abel. Universidade Vila Velha - ES, novembro de 2014. Growth, nutrition and ecophysiology of arabica coffee plants (*Coffea arabica* L.) and robusta coffee (*Coffea canephora* L.) under toxicity iron conditions. Orientador: Dr. Alessandro Coutinho Ramos.

ABSTRACT

Iron (Fe) is essential in the maintenance processes such as respiration and photosynthesis, participating in the carrier electron chain and conversions between Fe^{2+} and Fe^{3+} . It is also key to CO_2 fixation and therefore important for plant production of cultivated or natural species. The plants have developed two different strategies for absorption, transport and storage of Fe by higher plants, where both disability as the toxicity may occur in crops, being dependent on local soil conditions and management, as may occur in soils of the coastal the state of Espírito Santo. In such environments redox reactions, transformed Fe^{3+} in reduced form (Fe^{2+}), which are more soluble and can cause direct and indirect effects on the growth, development and productivity. The study aimed to evaluate the effects of iron toxicity on growth parameters, mineral nutrition and physiological ecology of *C. arabica* and *C. canephora* and understand the mechanisms of tolerance; as well as to evaluate the iron concentration of the impacts on plant tissues (roots, stems, leaves, grains and husks), flowering and evaluate the productivity of *C. canephora* crops grown in the region of the coastal State of the Espírito Santo in environments downloaded and slope. The first study was conducted in a greenhouse in hydroponics with *C. arabica* plants (Catuaí V. IAC-44) and *C. canephora* (variety Vitória clone 02). Nutrition was performed using Hoagland solution at pH 5.0 for 30 days at five concentrations of Fe EDTA (0, 0.12, 0.95, 1.90 and 3.80 mM) with six replicates, in which growth parameters were growth evaluated, gas exchange, the chlorophyll *a* fluorescence, chlorophyll content and the content of nutrients in roots, stems and leaves of both species. The second study was conducted in three producing properties of *C. canephora* variety G35, located in the southern state of Espírito Santo, and 03 crops of lowland environments and 03 slope. The spacing of 06 crops is 2,5x1,5 m experimental design was 4 blocks with 4 replications of 10 plants / plot and cultural practices were recommended for the crop. The evaluations were to determine the physical and chemical attributes of the soil; the mineral composition in the roots, stems, leaves, grains and husks, phenology and productivity in 2013 and 2014 crops. The results of the first study showed that high Fe-EDTA concentrations resulted in high levels of Fe in roots and shoots plants of *C. arabica* and *C. canephora*. Excess Fe in plants affected the growth parameters, nutrition and physiology of the two coffee species at concentrations of 1.9 mM Fe-EDTA. For nutrition and ecophysiological parameters, the species *C. arabica* and *C. canephora* behave differently when exposed to high concentrations of Fe. The second study showed that high concentrations of iron in roots, stems and leaves had a negative influence crop yields of *C. canephora*, variety G35 deployed in soils of the coastal State of the Espírito Santo. We conclude that plants of *C. arabica* and *C. canephora* are affected significantly and similarly when exposed to high concentrations of iron in hydroponics and crops already planted in soil Coastal Tablelands of Espírito Santo and suffering at least temporarily effects waterlogging (hypoxia) accumulate excess iron in the roots, which may be hindering productivity. Studies are needed to (i) assess the molecular basis and the signaling Fe ions in coffee plants growing in environments with high concentrations of Fe available; (ii) implementation of any crop in these environments in which they occur redox processes to prevent significant yield losses; (iii) in the cultures already installed through measures in the management of physical

and chemical properties of the soil must be taken to sustainability in these ecosystems.

Key-words: iron toxicity, productivity, plant growth, hydromorphism, coastal plains

1. INTRODUÇÃO

O Espírito Santo é o maior produtor de café conilon (*C. canephora* Pierre ex Froehner) do Brasil com uma produção estimada de 9,35 milhões de sacas na safra de 2014 (CONAB, 2014). O modelo de exploração é o de economia de base familiar, fundamental para a cafeicultura, fazendo dessa atividade uma das mais importantes para a economia do estado do Espírito Santo com cerca de 40 mil propriedades rurais onde o café conilon está inserido (De MUNER et al., 2003; FASSIO & SILVA, 2007).

As condições climáticas favoráveis como as existentes nas regiões dos solos dos Tabuleiros Costeiros que vão de Norte a Sul do Bioma Mata Atlântica do estado do Espírito Santo (LANI et al., 2008) favorecem o plantio. Estes solos ocorrem em planícies fluviais e em altitudes baixas, próximo ao litoral e são do tipo Latossolos Amarelos e/ou Argissolos (SOBRAL et al., 2009), pobres em nutrientes e com presença de muito material orgânico oriundo de altitudes mais elevadas (EMBRAPA, 2013).

Várias tecnologias foram lançadas para o cultivo de *C. canephora* no estado do Espírito Santo, dentre elas as variedades melhoradas, a poda programada de ciclo, a irrigação e uma adequada nutrição mineral, o que proporcionou aumento significativo da produtividade e qualidade. A resposta à aplicação de nutrientes é em razão do alto potencial produtivo e exigência nutricional associada às condições climáticas favoráveis.

Dentre os nutrientes exigidos pelo cafeeiro, o ferro é um elemento químico limitante para a produtividade das plantas e a produção de biomassa (BRIAT et al., 2010). De acordo com a classificação dos nutrientes minerais das plantas com a função bioquímica, o Fe está no Grupo 4, ou seja, faz parte dos nutrientes que estão envolvidos em reações redox, com a função de constituinte de citocromos e ferro

proteínas não-heme envolvidas na fotossíntese, fixação de N₂ e respiração (EVANS & SORGER, 1966; MENGEL & KIRBLY, 1987).

Mesmo existindo grande número de espécies de café, somente *C. arabica* L. (café arábica) e *C. canephora* Pierre ex Froehner (café conilon) apresentam importância econômica no mercado mundial (FAZUOLI, 1986), sendo que as duas espécies exibem baixa eficiência fotossintética em relação à da maioria das plantas lenhosas (CANNELL, 1985), o que interfere diretamente no crescimento vegetativo das espécies. Porém, a fotossíntese potencial obtida sob luz e CO₂ saturantes e à temperatura ótima pode alcançar valores da ordem de 30 a 35 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (CAMPOSTRINI & MAESTRI, 1998; DA MATTA et al., 2001), sendo que em condições normais de campo, *C. canephora* atinge valores máximos de 11 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (PINHEIRO et al., 2004). Como 90-95% da massa seca das plantas são derivadas da fotossíntese, a produção depende direta ou indiretamente das taxas fotossintéticas obtidas (KHANNA-CHOPRA, 2000), e alterações no crescimento podem modificar a partição de assimilados entre os órgãos vegetais e reprodutivos, o que pode implicar na produtividade da colheita (DA MATTA & RENA, 2002).

Nas plantas, o Fe é necessário na manutenção de processos essenciais à vida como a respiração e a fotossíntese, no qual participa de transferência de elétrons através de reações redox reversíveis e nas conversões entre Fe²⁺ e Fe³⁺ (KIM & GUERINOT, 2007). Em condições aeróbicas no solo, o Fe está presente na forma de óxidos e hidróxidos ou na forma de quelatos orgânicos como íon férrico (Fe³⁺), que são insolúveis. Portanto, a concentração de Fe na solução do solo é muito baixa na maioria dos solos, e, conseqüentemente, as plantas desenvolveram mecanismos para mobilizá-lo e permitir a absorção pelas raízes (EPSTEIN & BLOOM, 2006).

A homeostase do ferro é extremamente importante e depende da espécie ou do genótipo vegetal, do local (tipo de solo), da época do ano, da idade do vegetal e ainda conforme o órgão ou tecido da planta (BUCHANAN, 2000). Por isso, o equilíbrio do Fe deve ser rigorosamente controlado, pois tanto a deficiência como a toxicidade afetam o processo fisiológico das plantas (PEREIRA, 2013) e, assim, o desenvolvimento e o crescimento (KUKI et al., 2008a; KUKI, et al., 2008b; BRIAT et al., 2010), sendo que nos ecossistemas, o excesso de Fe pode alterar a ciclagem de nutrientes, redução do crescimento, floração e frutificação (GRANTZ et al., 2003).

Os danos causados pela toxicidade do Fe podem ser diretos, por meio da absorção e acúmulo excessivo do elemento, ou indiretos, quando altos teores de Fe na solução do solo resultam na precipitação deste nutriente sobre as raízes, formando uma crosta de óxido férrico, que altera a absorção de outros nutrientes como P, K e Zn (HANSEL et al., 2001). Em situações de acúmulo excessivo de Fe nos tecidos, ocorre a potencialização da geração de radicais hidroxila (OH[•]), por meio da reação de Fenton (HENDRY & BROCKLEBANK, 1985; BECANA et al., 1998).

As plantas possuem mecanismos de controle da absorção de Fe (PEREIRA, 2006; KUKI et al., 2008a), dado que tanto a deficiência como a toxidez afetam processos importantes nas plantas como a fotossíntese (DONNINI, et al., 2013), a respiração (KIM & GUERINOT, 2007), a produtividade e a produção de biomassa (BRIAT et al., 2010). Porém, em solos sob condições de hidromorfismo (hipoxia), a falta de oxigênio diminui a decomposição da matéria orgânica, o que provoca acúmulo desta no solo, além de promover um ambiente de oxi-redução, que transforma Fe⁺³ na sua forma reduzida (Fe²⁺), que são mais solúveis, principalmente com a diminuição do pH do solo (BECKER & ASCH, 2005; BOU-ABDALLAH, 2010).

A toxidez de Fe nas folhas provoca manchas necróticas, escurecimento das raízes e inibição do crescimento da planta (DOBERMANN & FAIRHURST, 2000), desbalanço catiônico, o que provoca desequilíbrios nutricionais (SNOWDEN & WHEELER, 1995). Por exemplo, na cultura do arroz irrigado, o excesso de Fe têm provocado diminuição na absorção de P, K, Ca e Mg (SILVEIRA et al., 2007).

É importante lembrar também que o plantio de *C. canephora* tem alcançado áreas secas do estado do Espírito Santo (Ronchi & DaMatta, 2007), onde a irrigação é de suma importância para sobrevivência da atividade e obtenção de alta produtividade (Silva & Reis, 2007). Como grande parte da água utilizada é de origem superficial, é comum apresentar altas concentrações de ferro, o que pode provocar estresse às culturas (Rowe & Abdel, 1995). Segundo Becker e Asch (2005) e Dorlodot et al. (2005), plantas sob excesso de Fe apresentam raízes com crescimento atrofiado e, conseqüentemente, produção limitada.

Os estudos recentes da sustentabilidade dos ecossistemas tem alcançado importância na atividade agropecuária. Para tanto, tecnologias de manejo devem ser adotadas nas culturas de interesse dos agricultores, como a disponibilidade e equilíbrio no fluxo de nutrientes, proteção e conservação do solo, preservação e integridade da biodiversidade e exploração dos recursos genéticos vegetais e animais (MACHADO & VIDAL, 2006).

Não existem estudos dos efeitos da disponibilidade do Fe em plantas de café cultivadas em solos sob condições de hidromorfismo, onde predomina uma elevada disponibilidade de Fe^{2+} o qual pode afetar processos metabólicos, resultando numa menor produtividade, vigor e crescimento (THOMPSON & MEDVE, 1984). Por isso, os objetivos do presente estudo foram: (i) avaliar os efeitos da toxidez do ferro sobre as características de crescimento e nutrição mineral de *C. arabica* e *C. canephora*; (ii) entender os mecanismos de tolerância envolvidos nas duas espécies em estudo;

(iii) avaliar os efeitos do ferro sobre processos fotoquímicos e carboxilativos nas espécies de café *C.arabica* e *C.canephora* em hidroponia; (iv) avaliar os atributos físico-químicos dos solos de lavouras de produção de *C.canephora* em ambientes de baixada e encosta; (v) determinar a produtividade e a concentração de nutrientes em raízes, caules e folhas, grãos e cascas de lavouras de produção de *C.canephora* em ambientes de baixada e encosta.

1.1 REFERÊNCIAS

- BECANA, M., MORAN, J.F., ORMAETXE, I.I. Iron-dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. *Plant and Soil*, 201: 137-147. 1998.
- BECKER, M.; ASCH, F. Iron toxicity in rice—conditions and management concepts. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168(4), 558–573. 2005.
- BRIAT, JF; DUC, C; RAVET, K; GAYMARD, F. Ferritins and iron storage in plants. *Biochimica et Biophysica Acta*. V. 1800, 806-814. 2010.
- BOU-ABDALLAH, F. The iron redox and hydrolysis chemistry of the ferritins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1800, p.719-731. 2010.
- BUCHANAN, B.B.; GRUISSSEN, W.; JONES, R.L. *Biochemistry and molecular biology of plants*. Rockville, Maryland: American Society of Plant Physiologists. 1367 p. 2000.
- CANNELL, M.G.R. Physiology of coffee crop. In: Clifford, M.N., Willson, K.C. (Eds.), *Coffee, Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage*. Croom Helm, London, pp. 108–134. 1985.
- CAMPOSTRINI, E., MAESTRI, M. Photosynthetic potential of five genotypes of *C. canephora* Pierre. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 10:13-18. 1998.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Safra 2014. Primeira estimativa. Jan/2014. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em janeiro de 2014.
- DAMATTA, F.M.; LOOS, R.A.; RODRIGUES, R.; BARROS, R.S. Actual and potential photosynthetic rates of tropical crop species. *Braz. J. Plant Physiol.* 13:24-32. 2001.

- DAMATTA, F.M., RENA, A.B. Ecofisiologia de cafezais sombreados e a pleno sol. In: Zambolim, L. (Ed.), O Estado da Arte de Tecnologias na Produção de Café. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, pp. 93–135. 2002.
- DE MUNER, L.H.; TEIXEIRA, M.M.; FORNAZIER, M.J.; FAVORETO, O.S.; SALFAGO, J.S. Cafeicultura sustentável. In: Plano estratégico de desenvolvimento da agricultura capixaba. Vitória, ES: INCAPER. 61p. 2003.
- DOBERMANN, A.; FAIRHURST, T. Rice: Nutrient Disorders & Nutrient Management, Potash and Phosphate Institute, Potash and Phosphate Institute of Canada, and International Rice Research Institute, Singapore. 2000.
- DONNINI, S.; GUIDI, L.; DEGL'INNOCENTI, E.; ZOCCHI, G. Image changes in chlorophyll fluorescence of cucumber leaves in response to iron deficiency and resupply. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 2013.
- DORLODOT, S., LUTTS, S., BERTIN P. Effects of ferrous iron toxicity on the growth and mineral composition of an interspecific rice. *Journal of Plant Nutrition* v.28, p. 1–20. 2005.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 3ª Ed., Brasília, DF, 2013. 353p.
- EPSTEIN, E. & BLOOM, A.J. Nutrição mineral de plantas: Princípios e perspectivas. 2.ed. Londrina, Planta, 2006. 403p.
- EVANS, H. J. & SORGER, G. J. Role of mineral elements with emphasis on univalent cations. *Annual Review of Plant Physiology*, 17 47-76. 1966.
- FASSIO, L.H; SILVA, A.E.S.D. Importância econômica e social do café conilon. pp.35-49 In: Ferrão, R.G.; Fonseca, A.F.A.; Bragança, S.M.; Ferrão, M.A.G.; Muner, L.H. (Eds.). Café Conilon. Vitória-ES: INCAPER. 2007.
- FAZUOLI, L. C. Genética e melhoramento do cafeeiro. In: Rena, A. B.; Malavolta, E.; Rocha, M.; Yamada, T. (Eds.). Cultura do cafeeiro: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: POTAFOS, 1986, p.87-114.

- GRANTZ, D. A.; GARNER, J. H. B.; JOHNSON, D. W. Ecological effects of particulate matter. *Environment International*, v. 29, n.1, p.213-239, 2003.
- 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*, 35, 3863-3868, 2001.
- HENDRY, G. A. F., BROCKLEBANK, K. J. Iron-induced oxygen radical metabolism in waterlogged plants. *New Phytology*, 101: 199-206. 1985.
- KHANNA-CHOPRA, R. Photosynthesis in relation to crop productivity. In: YUNUS, M., PATHRE, U., MOHANTY, P. (eds), *Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation*, pp.263-280. Taylor & Francis, London. 2000.
- KIM, S.A.; GUERINOT, M.L. Mining iron: iron uptake and transport in plants. *FEBS Letters*, 581(12), 2273–80. 2007.
- KUKI, K. N.; CANO, M. A. O.; PEREIRA, E G.; COSTA, A. C.; CAMBRAIA, J. Iron or industry emissions as a potential ecological risk factor for tropical coastal vegetation. *Environ Manage.* 42: 111-121. 2008a .
- KUKI, K. N.; CANO, M. A. O.; 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* Raddi and *Sophora tomentosa* L. *Science of Total Environment*. 403: 207-214, 2008b.
- LANI, J.L.; RESENDE, M.; REZENDE, S.B.; FEITOZA, L.R. *Atlas de Ecossistemas do Espírito Santo*. Vitória, ES: SEMA; Viçosa, MG: UFV. 2008. 504p.
- MACHADO, C.T.T.; VIDAL, M.C. *Avaliação participativa do manejo de agroecossistemas e capacitação em agroecologia utilizando indicadores de sustentabilidade de determinação rápida e fácil*. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2006. 32 p. (Embrapa Cerrados. Documentos).

- MENGEL K., KIRKBY, E.A. Principles of plant nutrition. Bern: 451. International Potash Institute, 1987. (687 pp).
- PEREIRA, E. G.; OLIVA, M. A.; ROSADO-SOUZA, L.; MENDES, G. C.; COLARES, D. S.; STOPATO, C. H.; ALMEIDA, A. M. Iron excess affects Rice photosynthesis through stomatal and non-stomatal limitations. *Plant Science*. 201-202, 81-92, 2013.
- PINHEIRO, H.A., DAMATTA, F.M., CHAVES, A.R.M., FONTES E.P.B., LOUREIRO, M.E. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *C. canephora* subjected to long-term drought. *Plant Science*, 167:1307–14 p. 2004.
- RONCHI, C.P; DAMATTA, F.M. Importância econômica social e econômica do café conilon. In: FERRÃO RG, FONSECA AFA, BRAGANÇA SM, FERRÃO MAG, DE MUNER LH (Eds.), *Café Conilon*, Seag/Incaper, Vitória, p. 95-119. 2007.
- ROWE, D.R.; ABDEL-MAGID, I.M.. Handbook of Wastewater Reclamation and Reuse. CRC Press, Inc. p.550. 1995.
- SILVA, J.G.F.; REIS, E.F. Importância econômica social e econômica do café conilon. In: FERRÃO RG, FONSECA AFA, BRAGANÇA SM, FERRÃO MAG, DE MUNER LH (Eds.), *Café Conilon*, Seag/Incaper, Vitória, p. 347-373. 2007.
- SILVEIRA, V. C.; OLIVEIRA, A. P.; SPEROTTO, R. A.; AMARAL, L.; DIAS, J. F.; CUNHA, J. B.; FETT, J. P. Influence of iron on mineral status of two Rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 19: 127-139 p. 2007.
- SNOWDEN, R.; 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*, 131: 503-520p. 1995.
- SOBRAL, L.F.; CINTRA, F.L.D.; SMYTH, J.T. Lime and gypsum to improve root depth of orange crop in an Ultisol of the Coastal Tablelands. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.13, p.836-839. 2009.

THOMPSON, G.W.; MEDVE, R.J. Effects of Aluminum and Manganese on the Growth of Ectomycorrhizal Fungi Effects of Aluminum and Manganese on the Growth of Ectomycorrhizal Fungi, 48(3).1984.

CAPÍTULO I

Ecofisiologia da homeostase de ferro em plantas

KROHLING, Cesar Abel. Universidade Vila Velha - ES, novembro de 2014. **Ecofisiologia da homeostase de ferro em plantas**. Orientador: Dr. Alessandro Coutinho Ramos.

RESUMO

O Ferro (Fe) na natureza ocorre em abundância e ocupa a quarta posição entre todos os elementos sobre a superfície da terra. Porém, a disponibilidade para as plantas é reduzida por estar na forma de óxidos hidratados, o que pode limitar a produtividade das plantas e a produção de biomassa. Quando em elevadas concentrações, por outro lado, pode se tornar um contaminante ambiental nos ecossistemas sob algumas condições e atuar como agente tóxico para as plantas. Após ser absorvido pelas raízes, o Fe é transportado no xilema e pelo fluxo transpiratório e atinge a parte aérea das plantas sob a forma oxidada, complexado com ácidos orgânicos, como o citrato. O Fe é necessário na manutenção de processos essenciais como na respiração e fotossíntese, participando da cadeia transportadora de elétrons e nas conversões entre Fe^{2+} e Fe^{3+} . Nas folhas, exerce funções na fotossíntese, sendo então elemento chave para a fixação de CO_2 e, portanto, importante para a produção vegetal das espécies cultivadas ou naturais. O equilíbrio do Fe deve ser rigorosamente controlado, pois tanto a deficiência como a toxicidade afetam o processo fisiológico das plantas. Em solos aerados, o Fe está presente na forma oxidada Fe^{3+} , que é pouco disponível para as plantas. Assim, os vegetais desenvolveram diferentes estratégias para absorção, transporte e armazenamento do Fe pelas plantas superiores. A deficiência, bem como o excesso de Fe se correlaciona com as condições locais de solo e dos cuidados adotados na nutrição durante as fases fenológicas e/ou no decorrer do cultivo, sendo que em situações de acúmulo excessivo de Fe nos tecidos, ocorre a potencialização da geração de radicais hidroxila (OH^{\cdot}), por meio da reação de Fenton. Neste capítulo, os aspectos nutricionais, ecofisiológicos e genéticos da absorção, translocação e acumulação de íons Fe em plantas crescendo sob condições de deficiência ou toxidez foram revisados e discutidos.

Palavras-chave: toxidez, deficiência, ATPase, fotossíntese, respiração

1. INTRODUÇÃO

O Ferro (Fe) é um nutriente essencial para as plantas sendo requerido em processos vitais, como a respiração e a fotossíntese, desempenhando papel fundamental na transferência de elétrons e nas reações redox reversíveis (KIM & GUERINOT, 2007).

Embora o Fe seja constituinte de aproximadamente 5% da crosta terrestre (MENGEL & KIRKBY, 1987), grande parte não está prontamente disponível para as plantas podendo surgir sintomas de deficiência de Fe como a clorose internerval e a redução da produtividade das plantas (KIM & GUERINOT, 2007). Além disso, a sua absorção depende da espécie, genótipo, ambiente, época do ano e idade da planta (BUCHANAN, 2000; BRIAT et al., 2010). Nos ecossistemas, o excesso de Fe também pode alterar o metabolismo vegetal e a ciclagem de nutrientes implicando em significativa redução no crescimento, floração e frutificação (GRANTZ et al. 2003).

No solo, o Fe encontra-se na forma de Fe^{3+} (férica) e de Fe^{2+} (ferrosa), sendo altamente dependente do estado de oxi-redução do sistema. Entretanto, quimicamente os organismos desenvolveram mecanismos específicos para aquisição de Fe dos óxidos de Fe (III): (i) por protonação, (ii) quelação e (iii) redução (GUERINOT & YI, 1994). O Fe não-trocável está presente em vários minerais primários, como a biotita, hornblenda, augita e olivina. Os óxidos de Fe primários presentes em vários solos, contém a hematita, ilmenita e magnetita; em rochas sedimentares, existem as formas primárias óxidos e siderita. Nos minerais secundários, está presente em vários minerais de argila e também está ligado a complexos orgânicos (OADES, 1963; HANSEL et al., 2001).

De acordo com a classificação dos nutrientes minerais das plantas com a função bioquímica, o Fe está no Grupo 4, ou seja, faz parte dos nutrientes que estão

envolvidos em reações redox, com a função de constituinte de citocromos e ferro proteínas não-heme envolvidas na fotossíntese, fixação de N₂ e respiração (RODRÍGUEZ MARTÍN et al. 2006; RAVET et al., 2009).

O equilíbrio do Fe deve ser rigorosamente controlado, pois tanto a deficiência como a toxicidade afetam processos fisiológicos das plantas (WALKER & CONNOLLY, 2008; PEREIRA et al., 2013) com implicações no desenvolvimento e crescimento (Kuki et al. 2008a; Kuki et al. 2008b; Briat et al. 2010). Trata-se de um elemento químico essencial para todas as células vivas dado que está relacionado a constituições de macromoléculas importantes como aquelas envolvidas na respiração, fotossíntese e metabolismo nas plantas de uma maneira geral. Porém, o excesso de Fe livre é prejudicial para as células vivas devido à possibilidade de reação com o oxigênio, gerando radicais livres prejudiciais (Ravet et al. 2009).

Nos solos cultivados, o pH influencia muito a solubilidade dos compostos de Fe, sendo que uma unidade de pH pode proporcionar decréscimo em 99% na disponibilidade da necessidade das plantas por Fe. Para o suprimento da necessidade de Fe, as raízes podem utilizar de mecanismos/estratégias diferentes como pela formação de complexos solúveis de quelatos (Zhao et al., 2011; Kobayashi & Nishizawa, 2012; Wang et al., 2014).

2. ESTRATÉGIAS DE ABSORÇÃO DE FERRO PELAS PLANTAS

O Fe tem importância nas proteínas ferro-enxofre e atua como catalisador nas reações redox catalizadas por enzimas, como ocorre no metabolismo do nitrogênio (N). As plantas absorvem o Fe do solo que está na forma de minerais primários como o Fe férrico (Fe³⁺) e os óxidos: Fe(OH)²⁺, Fe(OH)₃ e Fe(OH)₄⁻. Em pH=7, o Fe férrico é praticamente insolúvel e para que as plantas o absorvam, as raízes

desenvolveram mecanismos para aumentar a solubilidade e por consequência a disponibilidade deste nutriente mineral (Guerinot & Yi, 1994).

A disponibilidade das fontes de Fe são afetadas pelo pH do meio, sendo que em pH ácidos predominam as formas solúveis de Fe e em pH alcalinos as insolúveis (Figura 1).

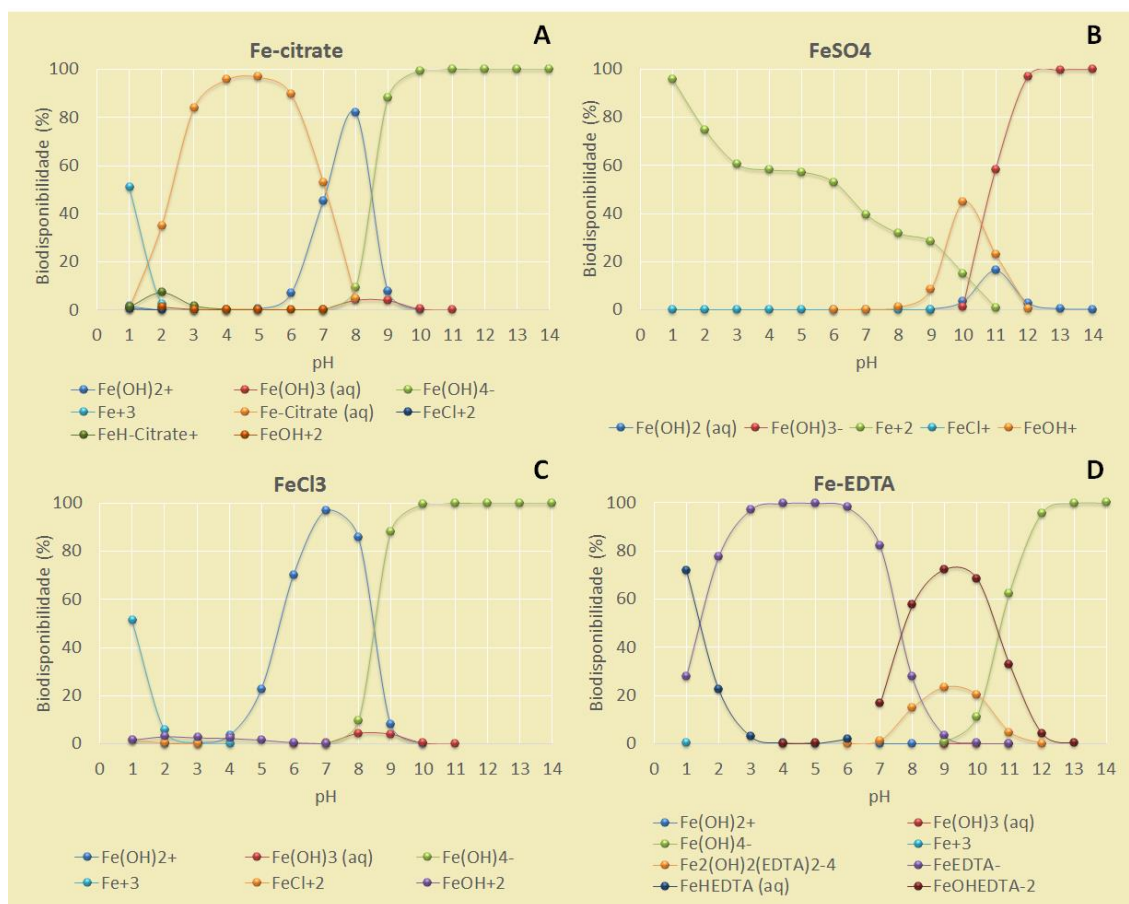


Figura 1. Modelagem das isotermas de pH x fontes de Fe (Fe-citrato, FeSO₄, FeCl₃ e Fe-EDTA) calculadas pelo Programa de especiação Visual Minteq v. 1.4.

O Fe pode ser absorvido como Fe²⁺, Fe³⁺ e como Fe-quelato, sendo que a absorção é controlada metabolicamente pelas plantas. Pelo menos dois processos ou estratégias estão envolvidos, sendo que em plantas de arroz existe a combinação destes mecanismos. Em deficiência por Fe, a estratégia I está presente nas eudicotiledôneas e monocotiledôneas não gramíneas. Nesta estratégia de aquisição

de Fe, prótons são bombeados para o meio extraradicular, na rizosfera, pela ativação das H⁺-ATPases de membrana plasmática (P-ATPases), a qual promove uma acidificação da solução do solo, e conseqüentemente, aumentando a solubilidade do Fe³⁺ (Figura 1, 2). As H⁺-ATPases de membrana plasmáticas (P-ATPase) são sistemas primários de transporte de prótons encontradas somente em células fúngicas e vegetais (PALMGREN, 2001; YAN et al., 2002; HALL & WILLIAMS, 2003; COLANGELO & GUERINOT, 2006; REVATHI & VENUGOPAL, 2013). Essas enzimas são consideradas bombas eletrogênicas, pois transportam carga elétrica positiva em forma de H⁺ gerando uma diferença de cargas entre a membrana, chamada de potencial de membrana (EM) e, simultaneamente, uma diferença nos potenciais químicos de H⁺ ou gradiente de concentração de prótons ($\Delta\mu$) (YAN et al., 2002). A diferença eletroquímica produzida pela enzima é utilizada como força motriz em processos celulares fundamentais, como a ativação de transportadores secundários, sinalização celular, obtenção de nutrientes e extrusão de prótons (PALMGREN, 2001). A alteração de uma unidade do pH rizosférico promovida pela ativação da P-ATPase pode alterar a solubilidade do Fe³⁺ e estima-se que a pH 3 esteja 1000 vezes mais solúvel. Nessas condições de maior ou menor disponibilidade de Fe a enzima redutase férrica, codificada pelo gene *FRO*, reduz Fe³⁺ em Fe²⁺ é ativada na superfície da membrana plasmática das células das raízes.

As proteínas *FRO* estão localizadas nas células epidérmicas e tem o gene *FRO* expresso sob condições de deficiência de Fe. Após sua redução, o ferro reduzido é então transportado para o citoplasma através de um conjunto de transportadores de metais da família *ZIP* tal como os *IRTs* (Figura 2). Os dois genes são regulados pela deficiência de Fe e ativados por bHLH específicos e fatores de

transcrição, que também são regulados pela deficiência de Fe (AZNAR et al., 2014; WALKER & CONNOLLY, 2008).

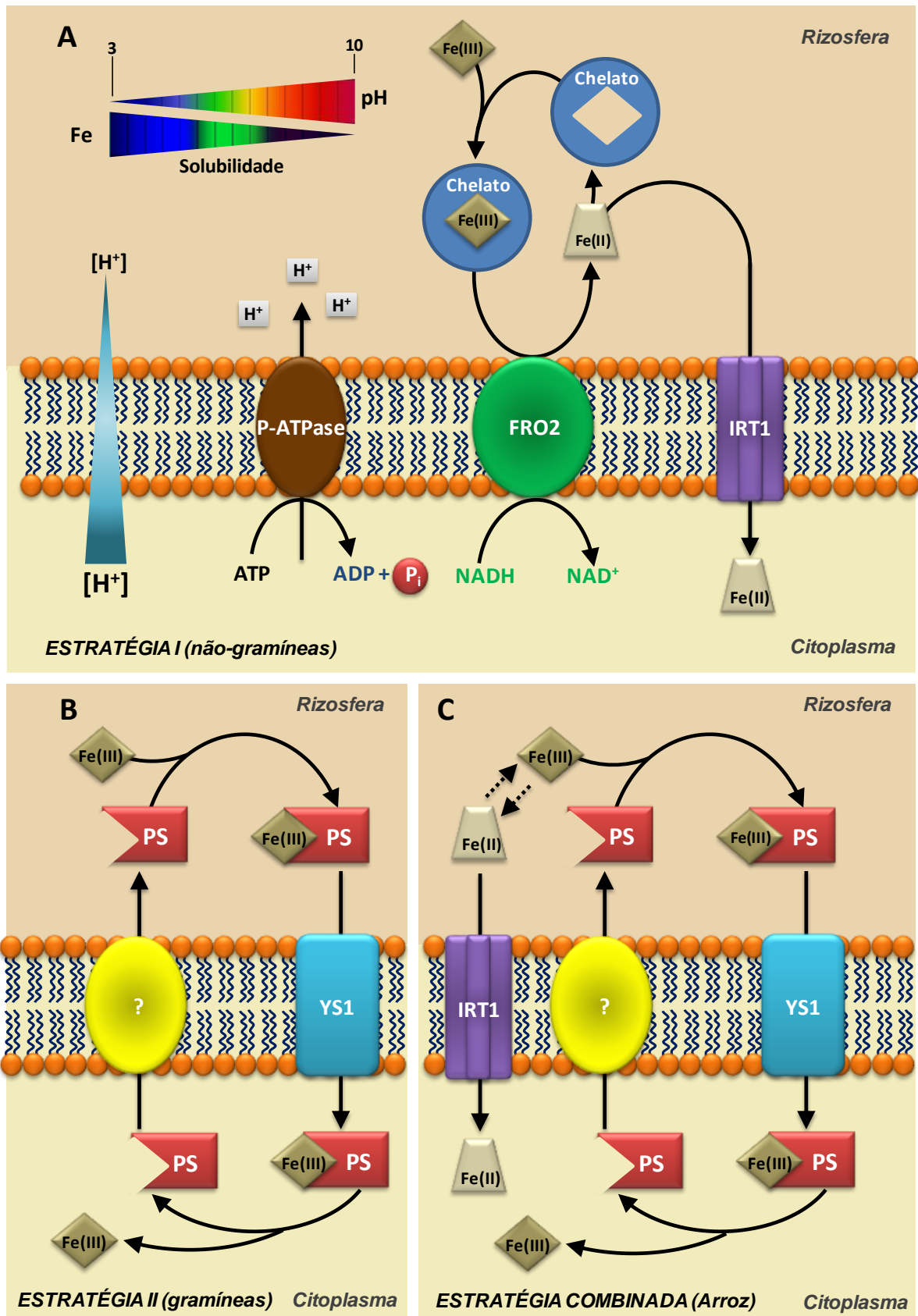


Figura 2. Estratégias para absorção de ferro no solo.

Para muitas plantas, a capacidade das raízes reduzirem Fe^{3+} a Fe^{2+} é fundamental na absorção deste cátion, já que é necessário a redução deste nutriente antes da absorção (CHANEY et al., 1972; BRUN et al., 2003). Duas isoformas de P-ATPases (*CsHA1* e *CsHA2*) foram isoladas do pepino e as expressões analisadas em função do estado nutricional de Fe (SANTI et al., 2005). Os autores mostraram que em raízes de deficientes em Fe ocorreu uma maior expressão do gene *CsHA1*, que não foi detectável nas folhas, e concluíram que o fornecimento de Fe para as plantas deficientes causou uma diminuição no nível de transcrição de *CsHA1*. Em contraste, a expressão de *CsHA2* foi regulada negativamente em raízes e folhas pela disponibilidade de Fe (SANTI et al., 2005).

Sob certas condições ambientais, as raízes das plantas podem aumentar a liberação de exsudatos radiculares que aumentam a mobilização de elementos minerais essenciais na rizosfera ou inibem a absorção de metais tóxicos na solução do solo (MARSCHNER et al., 2011). Adicionalmente às P-ATPases, as raízes das plantas podem utilizar, por exemplo, citrato e outros dicarboxilatos, durante a deficiência de fósforo (P) e de ferro (Fe), fazendo com que estes elementos sejam mobilizados na forma de fosfato de cálcio, alumínio ou de ferro, que são originalmente pouco solúveis (NEUMANN & RÖMHELD, 1999).

Na estratégia II, característica de plantas da família Poaceae, como as gramíneas (cevada, milho e aveia), ocorre em deficiência de Fe, onde as raízes liberam compostos chamados fitosideróforos (Figura 2). Estes são compostos de aminoácidos, não encontrados nas proteínas, representantes da família dos ácidos muginéicos (MA) que inclui: ácido 2-desoximugineico (DMA), 3-epihidroximugineico (epi-HMA), e o ácido 3-epihidroxi-2-desoximugineico (epi-HDMA). O 2-ácido desoximuginéico (DMA) que formam compostos estáveis com o Fe^{3+} no solo (Figura 2). Os estudos revelam que a tolerância à deficiência de Fe está

correlacionada com as quantidades e os tipos de fitosideróforos segregados (MARSCHNER et al., 2011). Por exemplo, arroz, trigo e milho secretam DMA apenas em quantidades relativamente baixas e, portanto, são sensíveis à baixa disponibilidade de Fe. Em contraste, a cevada secreta grande quantidade de muitos tipos de fitosideróforos, incluindo MA, HMA, e epi-HMA e, por conseguinte, é mais tolerante à baixa disponibilidade de Fe (BASHIR et al., 2006; NEGISHI et al., 2002). A absorção de Fe^{3+} quelato por fitosideróforo é realizado por um sistema de transporte de alta afinidade e bem específico para complexos de Fe- fitosideróforo localizado nas células epidérmicas de raízes sob deficiência de Fe. Mutantes de milho defectivos no transportador Yellow Stripe 1 (YS1) apresentaram um defeito na absorção de complexos Fe-fitosideróforos e resultou em Fe- deficiência com as plantas desenvolvendo clorose (CURIE et al., 2001).

Na verdade, os fitosideróforos têm alta afinidade para o Fe^{3+} e se ligam de forma eficiente ao Fe^{3+} na rizosfera. Após a liberação desses sideróforos, ocorre a formação de complexos com o Fe^{3+} , os quais são especificamente transportados para o interior das células das raízes, não ocorrendo nesse segundo processo a redução para Fe^{2+} (GUERINOT & YI, 1994) EPSTEIN & BLOOM, 2005). Esta estratégia de quelação é mais eficiente do que a estratégia de redução e, assim, permite às gramíneas sobreviver em condições mais severas de deficiência de Fe.

Plantas de arroz possuem uma combinação das estratégias I e II, ou seja, além de ter a capacidade de transportar o complexo Fe-Fitosideróforo, é capaz de transportar a Fe^{2+} por meio do transportador *OsIRT1* (ISHIMARU ET AL., 2006). Como o *IRT1* de *Arabidopsis*, os genes *OsIRT1* e *OsIRT2* são expressos predominantemente nas raízes e são induzidos em resposta à deficiência de Fe. No entanto, não há aumento da expressão do gene *FRO* ou da atividade da reductase férrica em plantas de arroz. Isto passa a ser plausível, pois a adoção de uma

estratégia de aquisição de Fe^{2+} pode ser especialmente vantajosa para o arroz, uma vez que as plantas de arroz não são muito eficientes absorver em Fe^{3+} via estratégia II, apenas.

Após ser absorvido pelas raízes por meio das diferentes estratégias descritas, o Fe é carregado no xilema e translocado pelo fluxo transpiratório até a parte aérea. Nos vasos do xilema, o Fe está na forma oxidada, e é transportado na forma de complexos com ácidos orgânicos, como o citrato, considerado o principal quelante de metais no xilema (CURIE & BRIAT, 2003). Para a absorção do Fe pelas células do mesófilo, também ocorre a redução, que se dá após a liberação do íon férrico pela molécula de citrato, o que indica que existe um transportador específico de Fe^{2+} localizado na plasmalema das células foliares. Na redução do Fe, o doador de elétrons é o NADPH, sendo este processo induzido pelo aumento na relação de $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$, como resultado da etapa fotoquímica da fotossíntese (BRUGGEMANN et al., 1993). Após a redução no mesófilo, o Fe é armazenado nos vacúolos ou imobilizado pela proteína ferritina (BRIAT et al., 1995; BRIAT et al., 2010), que ocorre principalmente nos plastídeos (ZANCANI et al., 2004).

Com a absorção do Fe ou do Fe-quelato pelas raízes, ocorre a oxidação para a forma férrica e após são translocados para as folhas na forma de complexos eletrostáticos com o citrato. Nas folhas ocorre uma reação de assimilação do Fe, catalisada pela enzima ferro-quelatase que então é inserido na porfirina, que é precursora do grupo heme, presentes nos citocromos e localizados nos cloroplastos e mitocôndrias sendo que nos vegetais a maior parte do Fe é encontrado nos grupos heme. As proteínas ferro-enxofre presentes na cadeia transportadora de elétrons contêm ferro não-heme que está covalentemente ligado aos átomos de enxofre da cisteína na apoproteína. Podemos encontrar também o Fe nos centros $\text{Fe}_2 \text{S}_2$, composto de dois ferros e dois sulfetos inorgânicos (JONES, 1983).

3. FISILOGIA DA DEFICIÊNCIA DE FERRO

A deficiência de ferro nas plantas provoca clorose, que é um distúrbio nutricional, característico pela diminuição significativa da clorofila nas folhas em plantas cultivadas em condições alcalinas e em solos calcários. A deficiência diminui o rendimento das culturas tanto quantitativa como qualitativamente, resultando em perdas econômicas (SCHENKEVELD et al., 2008). Fatores do solo, incluindo alto teor de umidade, má aeração, altas temperaturas e elevado teor de fosfato podem induzir ou aumentar a clorose nas folhas por falta de ferro (WALLACE & LUNT, 1960).

Já fatores como pH elevado e concentrações elevadas de bicarbonato são geralmente considerados críticos para a deficiência de Fe (BOXMA, 1972; MENGEL et al., 1984; SHI et al., 1993). A baixa solubilidade de óxidos e hidróxidos de Fe em pH nos solos e a baixa biodisponibilidade de Fe na solução do solo em pH elevado (LINDSAY, 1979) prejudica a absorção de Fe (MARSCHNER et al., 2011) ou inativa o Fe no apoplasto das folhas (MENGEL, 1984). Para corrigir essa deficiência de Fe nas folhas podem ser aplicados quelatos de Fe sintéticos; pois eles aumentam a solubilidade de Fe e funcionam como um transportador através de uma solução dentro da planta; como o Fe-EDDHA (Ethylene diamine di-[o-hydroxyphenylacetic] acid) (LUCENA et al., 1992).

Entretanto, é de conhecimento que folhas com deficiência de ferro podem ter concentrações de ferro semelhantes ou até mesmo maior do que folhas com suficiência de ferro, que tem sido denominado de “paradoxo clorose de Fe” (MORALES, et al., 1998; RÖMHELD, 2000).

A deficiência de Fe nos vegetais estimula as raízes à exsudação de prótons que acidifica o solo ao redor. Pela exsudação de prótons no processo de absorção de cátions; principalmente amônio; ocorre a liberação de compostos orgânicos,

como os ácidos málico e cítrico, e assim diminui o pH da solução na região da rizosfera aumentando a disponibilidade do Fe e do fosfato. Neste processo as membranas plasmáticas das raízes possuem uma enzima, a redutase ferroquelante, que reduz o Ferro férrico (Fe^{3+}) à forma Ferro ferrosa (Fe^{2+}); sendo que o NADH ou o NADPH doam elétrons no processo. Assim, vários compostos secretados pelas raízes formam quelatos de Fe estáveis, como o ácido málico, o ácido cítrico, os fenólicos e o ácido piscídico (GUERINOT & YI, 1994; EPSTEIN & BLOOM, 2005).

4. RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS À DISPONIBILIDADE DE FERRO

As duas mais importantes funções do Fe nas células estão relacionadas à fotossíntese e a respiração, nas quais o Fe desempenha uma função importante no interior subcelular das organelas do cloroplasto e da mitocôndria. Porém, os mecanismos do Fe e os objetivos finais nestas células, bem como os processos de equilíbrio do Fe, não são bem entendidos como aqueles de outros metais como o Cobre (Cu) (PUIG & PEÑARRUBIA, 2009). No cloroplasto, existe indicação de que a redução do Fe^{3+} via família das FRO (Ferric Reductase Oxidase) podem ocorrer e, que, de fato, FRO7 é necessária para a incorporação nos cloroplastos (JEONG et al., 2008). Apesar da maior parte do Fe estar localizada no cloroplasto, o vacúolo é importante para a redistribuição do Fe em estágios iniciais de desenvolvimento das plantas. O Ferro é importado para dentro do vacúolo por VIT1 (Vacuolar Iron Transporter 1) (KIM et al., 2006) e IREG2 (Iron Regulated Transporter Protein-2) (SCHAAF et al., 2006), e exportado para o citoplasma por NRAMP3 E NRAMP4 (Natural Resistance-Associated Macrófagos Protein) (LANQUAR et al., 2005).

Íons de Fe também atuam como co-fatores em muitas reações enzimáticas e são importantes para muitas atividades celulares indo da respiração à fotossíntese (BRIAT et al., 1995). O aparato fotossintético das plantas é muito rico em átomos de Fe (21 ou 22) do sistema celular das plantas (BEHRENFELD et al., 1996; SPILLER & TERRY, 1980), contendo 2 ou 3 átomos de Fe por Fotossistema II (PSII); 12 átomos de Fe por Fotossistema I (PSI), 5 por citocromo b_6-f complexo (cyt b_6-f) e, 2 por molécula de ferredoxina. Ainda, o Fe é importante como co-fator em enzimas dos tilacóides que eliminam espécies reativas de oxigênio. Assim sendo, os organismos fotossintéticos são altamente sensíveis a mudanças na disponibilidade de Fe e se manifestam com uma acentuada diminuição na atividade fotossintética quando exposto à limitação de Fe (TERRY, 1980).

Nas folhas, podem ocorrer mecanismos de fotoinibição do PSI, pois os elétrons que são fornecidos a partir do PSII reduzem moléculas de oxigênio no receptor do PSI, o que resulta na formação de radicais ânions superóxido (O_2^-), e também ocorre a redução de centros de Fe-Enxofre (S), que servem para aceptores de elétrons do PSI. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) produzido pela dismutação de radicais ânions superóxidos, reage com o Fe reduzido nos centros Fe-S para formar radicais hidroxilas ($\bullet OH^-$) (SONOIKE et al., 1997) e destroem os centros de Fe-S (SONOIKE et al., 1995b), o que evidencia a importância do fluxo de elétrons na fotoinibição do PSI dos organismos vivos que fazem fotossíntese.

O Fe é um elemento químico essencial para todos os organismos vivos e está presente em dois diferentes estados na forma férrica (Fe^{3+}) e ferrosa (Fe^{2+}) e, assim participa de uma grande variedade de processos bioquímicos, tais como a respiração, a fotossíntese, síntese de DNA, a fixação de Nitrogênio e produções hormonais (CURIE & BRIAT, 2003; BRIAT et al., 2007). O Fe participa também do processo de desintoxicação das Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) como um

constituente da porção heme das enzimas antioxidantes como a Catalase (CAT), Peroxidases inespecíficas (POD), Ascorbato Peroxidase (APX) e, como co-fator do metal Fe-Superóxido Dismutase (BRIAT & LOBREAUX, 1997).

Porém, a baixa mobilidade do ferro no floema deve-se, provavelmente, à precipitação deste nutriente nas folhas mais velhas na forma de óxidos ou fosfatos insolúveis ou à formação de complexos com a fitoferritina, uma proteína de ligação de ferro encontrada na folha e em outras partes da planta (OH et al., 1996).

Em casos de deficiência de Fe, o efeito mais evidente nas folhas é uma clorose generalizada que é causada pela diminuição da concentração de clorofila (ABADIA et al., 1989); o que pode causar uma diminuição na taxa de assimilação de CO₂. Também em condições de deficiência de Fe, carotenóides, como β -caroteno e neoxantina sofrem reduções na disponibilidade deste nutriente. Já a luteína e as três xantofilas (violaxantina, anteraxantina e zeaxantina) que fazem parte do ciclo da xantofila são menos afetadas (DONNINI et al., 2003, 2009). A diminuição na atividade fotossintética induzida pela deficiência de Fe está associada com a diminuição do complexo de captação de luz (LHCs) e no transporte de elétrons (ABADÍA et al., 1989; PÉREZ et al., 1995; DONNINI et al., 2009).

Em folhas cloróticas ocorre uma diminuição do teor da proteína do tilacóide e como resultado o fotossistema I (PSI) é mais afetado do que o citocromo b_6-f , que por sua vez é mais sensível que o fotossistema II (PSII) (SOLDATINI et al., 2000). Em contrapartida, uma diminuição da concentração de clorofila diminui o número de unidades fotossintéticas por unidade de área foliar (SPILLER & TERRY 1980). Há de se relatar que ocorre uma gradual recuperação de plantas deficientes em Fe quando este é adicionado no meio, e assim tanto os pigmentos fotossintéticos e os componentes dos fotossistemas são gradualmente ressintetizados (HECHT-BUCHHOLZ & ORTMANN, 1986; PUSHNIK & MILLER, 1989).

A determinação da fluorescência da clorofila tem sido muito utilizada para examinar o desempenho fotossintético em diferentes espécies de plantas deficientes de ferro, tais como a beterraba açucareira (BELKHODJA et al., 1998), pêssego (MOLASSIOTIS et al., 2006), pereira (MORALES et al., 2000). Análise da fluorescência da clorofila em pêra (MORALES et al., 2000), tomateiro (DONNINI et al., 2003), pessegueiro (MOLASSIOTIS et al., 2006), mostrou um aumento geral no *quenching* não fotoquímico (q_{NP}) em folhas deficientes de Fe, o que indica que ocorre a ativação de mecanismos fotoprotetores que, porém, não são suficientes para evitar o processo de fotoinibição, indicado por uma redução significativa na rendimento fotoquímico máximo do PSII (F_v/F_m) e *quenching* fotoquímico (q_P). O rendimento quântico do PSII (Φ_{PSII}) e a eficiência intrínseca do PSII (Φ_{exc}) mostrou comportamento idêntico nas taxas de q_P e F_v/F_m . Folhas com extrema deficiência de Fe mostram uma diminuição na eficiência do PSII após a adaptação ao escuro, enquanto folhas com clorose moderada mostram-se pouco afetadas (MORALES et al., 2000).

5. EFEITO DA TOXIDAZ POR FERRO NO PROCESSO FOTOSSINTÉTICO

Vários mecanismos enzimáticos e não-enzimáticos podem ser apresentados pelas plantas para se protegerem contra o estresse oxidativo gerado pelo excesso de Fe (SINHA et al., 1997; VANSUYT et al., 1997). Os sistemas enzimáticos são representados pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalases (CAT) e peroxidases (PO). Os sistemas não enzimáticos consistem de moléculas orgânicas como a glutatona, os carotenóides, o ascorbato, o tocoferol, o ubiquinol, o ácido úrico e lipóico, que podem reagir diretamente com os intermediários de oxigênio reativos (IORs), neutralizando-os (MITTLER, 2002).

Muitas etapas do metabolismo dos pigmentos fotossintéticos dependem do metal Fe (BRIAT *et al.*, 2007), porém, toda vez que este metal é absorvido em excesso promove alterações nos mecanismos fotossintéticos (SOUZA-SANTOS *et al.*, 2001; BRIAT *et al.*, 2007), o que pode afetar a produção das culturas, como ocorre principalmente com o arroz cultivado sob inundação (FAGERIA *et al.*, 2008).

Quando o Fe se encontra livre pode ligar-se como o oxigênio para formar ânions superóxidos (O_2^-), que são prejudiciais, pois podem danificar as membranas pela degradação dos componentes lipídicos insaturados. Porém, as células dos vegetais podem diminuir os danos fazendo o armazenamento do Fe excedente em complexos de Fe chamados de fitoferritina (BIENFAIT & VAN DE MARK, 1983). Esta é composta de uma estrutura protéica com 24 subunidades semelhantes que forma uma esfera oca e, possui massa molecular de cerca de 480 quilodalton (kDa), sendo que no interior da esfera, existe um núcleo com 5.400 a 6.200 átomos de Fe presentes como um complexo fosfato-óxido férrico.

Nas plantas, o excesso de Fe provoca manchas necróticas nas folhas, escurecimento das raízes, inibição do crescimento da planta (DOBERMANN & FAIRHURST, 2000) e desbalanço catiônico o que acarreta desequilíbrios nutricionais (SNOWDEN & WHEELER, 1995), como evidenciado na cultura do arroz, em que o excesso de Fe têm provocado diminuição na absorção de P, K, Ca e Mg (SILVEIRA *et al.*, 2007).

Em feijão (*Beta vulgaris* L.) sob efeito de toxidez de Fe foram observadas alterações na estrutura do cloroplasto, o que reduziu o número de grana e lamela estromal por cloroplasto e de tilacóides por grana e também no número de moléculas de P_{700} e citocromo *f* por unidade de área (SPILLER & TERRY, 1980). Essa desestruturação de pigmentos dos complexos fotossintéticos promove como consequência, alteração no transporte de elétrons, o que ocasiona redução na taxa

de assimilação líquida de CO₂ e, assim, diminuição na fixação de carbono nos cloroplastos (TERRY, 1980; MISHRA & DUBEY, 2005).

O cultivo do arroz (*Oryza sativa* L.) é realizado principalmente em várzea, em solos úmidos e mal drenados, o que permite o contato direto do sistema radicular com a zona úmida do solo. Nessas condições de cultivo, a toxidez de ferro é um dos estresses abióticos mais importantes que limitam a produção (DOBERMANN & FAIRHURST, 2000). Durante esse período de alagamento do solo, a difusão do oxigênio atmosférico para o solo é limitada, ocorrendo um ambiente de hipoxia. Nestes casos, o oxigênio molecular dissolvido na água é consumido pelos microorganismos aeróbicos que, com o passar do tempo são substituídos pelos anaeróbicos, o que resulta num ambiente de excesso de CO₂ (GROTZ & GUERINOT, 2006). Assim, estes fatores favorecem a diminuição do pH da solução do solo, o que favorece a redução de metais oxidados, como o ferro de Fe³⁺ para Fe²⁺, tornando-o disponível em altas concentrações para as plantas, ou seja, numa condição de toxicidade potencial (PONNAMPERUMA, 1972; AUDEBERT & FOFANA, 2009).

6. COMPARATIVO ENTRE AS RESPOSTAS AO FERRO POR PLANTAS E MICRORGANISMOS

Diferente das plantas que apresentam somente uma estratégia para absorver o ferro (estratégia I ou estratégia II), exceto no caso do arroz, os fungos desenvolveram três mecanismos distintos para solubilização e captação de ferro, (I) acidificação do meio, (II) redução de ferro (Fe³⁺ para Fe²⁺), e (III) a secreção de moléculas ferro-quelantes solúveis. Cada espécie fungica emprega estas estratégias em graus diferentes e de formas distintas (Adeleke, et al., 2012; Arantes & Milagres, 2007; Kornitzer, 2009; Kosman, 2003; Machuca, et al., 2007; Yun, et al., 2000). Os

estudos em *Saccharomyces cerevisiae* demonstram que os fungos expressam dois sistemas genéticos para a absorção de ferro, denominados de sistema redutor e sistema não-redutor (Haas, 2004). A absorção do Fe^{+3} pela membrana plasmática da levedura é iniciada pela redução do ferro ($\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$), catalisada pela enzima Fre1p. O Fe^{+2} formado é substrato para a Fet3p, a qual é parte do complexo de absorção de ferro de alta afinidade. O Fe^{+3} gerado pela Fet3p é transportado pela Fe-permease, Ftr1p para o interior da célula. Já o sistema não-redutor reconhece exclusivamente sideróforos (De Luca & Wood, 2000; Kornitzer, 2009).

Em condições de baixa oxigenação as células irão expressar um transportador de íon ferroso de baixa afinidade, Fet4p, que funciona como um sistema independente de oxigênio para o transporte de ferro para o interior da célula. Este mecanismo de baixa afinidade (que não é regulado pela presença de ferro) também transporta cobalto, cádmio e níquel (Lemanceau, et al., 2009; Marschner et al., 2011; Nagata, et al., 2013; Shi et al., 2011).

Fungos micorrízicos apresentam diferentes mecanismos para tolerar a toxidez por Fe como a produção de melanina, liberação de sideróforos para o meio externo, complexação do Fe no citosol e armazenamento do Fe nos vacúolos. Entretanto, a produção de sideróforos é o mecanismo utilizado tanto por fungos micorrízicos quanto por bactérias para a homeostase do Fe (Hall & Williams, 2003; Hall, 2002)

7. CONCLUSÕES

As plantas adotam diferentes estratégias para absorver Fe da solução do solo. Diversos estudos têm descrito o efeito da deficiência de Fe na fisiologia e nutrição vegetal, porém, com uma visão mais ecossistêmica. Poucos estudos têm se

dedicado no entendimento da tolerância por certos recursos genéticos a altas concentrações Fe, sendo o arroz a principal cultura estudada.

A contaminação ambiental por indústrias de mineração tem afetado espécies nativas, porém, poucos estudos abordam os impactos na agricultura. O uso da biotecnologia para gerar mutantes com super-expressão de certos genes envolvidos na homeostase de Fe, oriundos de plantas e microrganismos, poderá ser importante em gerar materiais mais resistentes em solos sob condições de hipoxia como alternativa de produção nesses ambientes.

Além disso, o uso de microrganismos, como fungos e bactérias, mais tolerantes a essas condições ambientais (hipoxia e excesso de Fe) pode ser uma alternativa viável de biorremediação e de aumento de produção nesses ambientes.

8. REFERENCIAS

- ADELEKE, R. A.; CLOETE, T.E.; BERTRAND, A.; KHASA, D.,P. Iron ore weathering potentials of ectomycorrhizal plants. *Mycorrhiza* 22:535–544. 2012.
- ABADIA, A., LE MOINE, Y., TRÈMOLIÈRES, A., AMBARD-BRETTEVILLE, F., RÈMJ, R. Iron deficiency I in pea: Effects on pigment, lipid and pigment–protein complex composition of thylakoids. *Plant Physiol. Biochem.* 27, 679-687,1989.
- ARANTES, V.; MILAGRES, A.,M. F. Identification of iron-regulated cellular proteins, Fe³⁺-reducing and -chelating compounds, in the white-rot fungus *Perenniporia medulla-panis*. *Can J Microbiol* 53:1323–1329. 2007.
- AUDEBERT, A. & FOFANA, M. Rice Yield Gap due to Iron Toxicity in West Africa. *Journal of Agronomy & Crop Science* 195: 66-76 p. 2009.
- AZNAR, A.; CHEN, N.W.G.; RIGAULT, M.; RIACHE, N.; JOSEPH, D.; DESMAËLE, D.; MOUILLE, G.; BOUTET, S.; SOUBIGOU-TACONNAT, L.; RENOU, J.P.; THOMINE, S.; EXPERT, D.; DELLAGI, A. Scavenging iron: a novel mechanism of plant immunity activation by microbial siderophores. *Plant Physiol.* 164, 2167-2183., 2014.
- BASHIR, K.; INOUE, H.; NAGASAKA, S.; TAKAHASHI, M.; NAKANISHI, H.; MORI, S.; NISHIZAWA, N. K. Cloning and characterization of deoxymugineic acid synthase genes from graminaceous plants. *Journal of Biology Chemistry.* 281:32395–32402. 2006.
- BEHRENFELD, M. J., BALE, A. J., KOLBER, Z. S., AIKEN, J. AND FALKOWSKI, P. G. Confirmation of iron limitation of phytoplankton photosynthesis in the equatorial Pacific Ocean. *Nature*, 383, 508±511.1996.
- BELKHODJA, R., MORALES, F., QUILEZ, R., LOPEZ-MILLAN, A. F., ABADIA, A., ABADIA, J. Iron deficiency causes changes in chlorophyll fluorescence due to the reduction in the dark of the Photosystem II acceptor side. *Photosynth. Res.* 56, 265–276, 1998.

- BIENFAIT, H. F. & VAN DER MARK, F. Phytoferritin and its role in iron metabolism. In: *Metals and Micronutrients: Uptake and Utilization by Plants*. ROBB, D. A. & PIERPOINT, W. S. eds. Academic Press, New York, 111-123p, 1983.
- BOXMA, R. Bicarbonate as the most important soil factor in lime-induced chlorosis in the Netherlands. *Plant Soil*. 37:233–243, 1972.
- BRIAT, J. F.; DUC, C.; RAVET, K.; GAYMARD, F. Ferritins and iron storage in plants. *Biochimica et Biophysica Acta*. V. 1800, 806-814 p. 2010.
- BRIAT, J. F., LOBRÉAUX, S. Iron transport and storage in plants. *Trends Plant Sci.* 2, 187–193, 1997.
- BRIAT, J. F., FOBISLOISY, I., GRIGNON, N., LOBREAUX, S., PASCAL, N., SAVINO, G., THOIRON, S., VONWIREN, N. AND VANWUYTSWINKEL, O. Cellular and molecular aspects of iron metabolism in plants. *Biol. Cell*. 84, 69±81, 1995.
- BRIAT, J. F., CURIE, C., GAYMARD, F. Iron utilization and metabolism in plants. *Curr. Op. Plant Biol.* 10, 276–282, 2007.
- BRUGGEMANN, W.; MAASS-KANTEL, K.; MOOG, P. R. Iron uptake by leaf mesophyll cells: the role of the plasma membrane bound ferric-chelate reductase. *Planta*. 190: 151-155p. 1993.
- BRUN, L.; CORFF, J.; MAILLET, J. Effects of elevated soil copper on phenology, growth and reproduction of five ruderal plant species. *Environmental Pollution*. 122: 361-368p. 2003.
- BUCHANAN, B. B.; GRUISSEN, W.; JONES, R. L. *Biochemistry and molecular biology of plants*. Rockville, Maryland: American Society of Plant Physiologists. 1367 p, 2000.
- CHANEY, R.L.; BROWN, J.C.; TIFFIN, L.O. Obligatory reduction of ferric chelates in iron uptake by soybeans. *Plant Physiol*. 50: 208–213, 1972.

- COLANGELO, E.P.; GUERINOT, M.L. Put the metal to the petal: metal uptake and transport throughout plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 9, 322–330. 2006.
- CURIE, C., BRIAT, J. F. Iron transport and signaling in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54, 183–206, 2003.
- CURIE, C., PANAVIENE, Z., LOULERGUE, C., DELLAPORTA, S.L., BRIAT, J.-F. AND WALKER, E.L. Maize yellow stripe1 encodes a membrane protein directly involved in Fe(III) uptake. *Nature.* 409, 346–349. 2001.
- DE LUCA, N.; WOOD, P. Iron uptake by fungi: contrasted mechanisms with internal or external reduction. *Adv Microb Physiol* 43:39–74. 2000.
- 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. 1-4 p. 2000.
- DONNINI, S., CASTAGNA, A., GUIDI, L., ZOCCHI, G., RANIERI, A. Leaf responses to reduced iron availability in two tomato genotypes: T3238FER (iron efficient) and T3238fer (iron inefficient). *J. Plant Nutr.* 26, 2137–2148, 2003.
- DONNINI, S., CASTAGNA, A., RANIERI, A., ZOCCHI, G. Differential responses in pear and quince genotypes induced by Fe deficiency and bicarbonate. *J. Plant Physiol.* 166, 1181–1193, 2009.
- EPSTEIN, E. & BLOOM, A. J. *Mineral nutrition of plants: principles and perspectives.* 2.ed. Sunderland, Sinauer Associates, 2005. 380p.
- FAGERIA, N. K., SANTOS, A. B., BARBOSA FILHO, M. P., GUIMARÃES, C. M..Iron Toxicity in Lowland Rice, *Journal of Plant Nutrition*, v 31, 1676-1697. 2008.
- GRANTZ, D. A.; GARNER, J. H. B.; JOHNSON, D. W. Ecological effects of particulate matter. *Environment International*, v. 29, n.1, p.213-239, 2003.
- GROTZ, N. & GUERINOT, M. L. Molecular aspects of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1763: 595-608 p. 2006.

- GUERINOT, M. L. & YI, Y. Iron: Nutritious, noxious, and not readily available. *Plant Physiology*. 104: 815-820p, 1994.
- HAAS, H. *Molecular Genetics of Iron Uptake and Homeostasis in Fungi*. 2004.
- HALL, J.L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J Exp Bot* 53:1–11. 2002.
- HALL, J.L.; WILLIAMS, L.E. Transition metal transporters in plants. *J. Exp. Bot.* 54, 2601–2613, 2003.
- 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*, 35, 3863-3868, 2001.
- HECHT-BUCHHOLZ, C. H., ORTMANN, U. Effect of foliar iron application on greening and chloroplast development in iron chlorotic soybean. *J. Plant Nutr.* 9, 647–659, 1986.
- ISHIMARU, Y., SUZUKI, M., TSUKAMOTO, T., SUZUKI, K., NAKAZONO, M., KOBAYASHI, T., WADA, Y., WATANABE, S., MATSUHASHI, S., TAKAHASHI, M., NAKANISHI, H., MORI, S. AND NISHIZAWA, N.K. Rice plants take up iron as an Fe³⁺-phytosiderophore and as Fe²⁺. *Plant J.* 45, 335–346. 2006.
- JEONG, J.; COHU, C.; KERKEB, L.; PILON, M.; CONNOLLY, E. L.; GUERINOT, M. L. Chloroplast Fe(III) chelate reductase activity is essential for seedling viability under iron limiting conditions, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 105 10619-10624, 2008.
- JONES, O. T. G. Ferrochelatase. In *Metals and Micronutrients: Uptake and Utilization by Plants*. ROBB, D. A. & PIERPOINT, W. S. eds., Academic Press, New York, 125-144p, 1983.
- KIM S.A.; GUERINOT, M.L. Mining iron: iron uptake and transport in plants. *FEBS Lett* 581:2273–2280, 2007.

- KIM, S.; PUNSHON, T.; LANZIROTTI, A.; LI, L.; ALONSO, J. M.; ECKER, J. R.; KAPLAN, J. GUERINOT, M. L. Localization of iron in Arabidopsis seed requires the vacuolar membrane transporter VIT1, *Science*, 314 1295-1298, 2006.
- KOBAYASHI, T.; NISHIZAWA, N.K. Iron uptake translocation, and regulation in higher plants, *Annu. Rev. Plant Biol.* 63. 131–152, 2012.
- KORNITZER, D. Fungal mechanisms for host iron acquisition. *Curr Opin Microbiol* 12:377–383. 2009.
- KOSMAN, D. J. MicroReview Molecular mechanisms of iron uptake in fungi. 47:1185–1197.2003.
- KUKI, K. N.; CANO, M. A. O.; PEREIRA, E G.; COSTA, A. C.; CAMBRAIA, J. Iron or industry emissions as a potential ecological risk factor for tropical coastal vegetation. *Environ Manage.* 42: 111-121. 2008a .
- KUKI, K. N.; CANO, M. A. O.; 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* Raddi and *Sophora tomentosa* L. *Science of Total Environment.* 403: 207-214, 2008b.
- LANQUAR, V.; LELIEVRE, F.; BOLTE, S.; HAMES, C.; ALCON, C.; NEUMANN, D.; VANSUYT, G.; CURIE, C.; SCHRODER, A.; KRAMER, U.; BARBIER-BRYGOO, H.; THOMINE, S. Mobilization of vacuolar iron by AtNRAMP3 and AtNRAMP4 is essential for seed germination on low iron, *EMBO J.* 24: 4041-4051p. 2005.
- LEMANCEAU, P.; BAUER, P.; KRAEMER, S.; BRIAT, J. F. Iron dynamics in the rhizosphere as a case study for analyzing interactions between soils, plants and microbes. *Plant Soil* 321:513–535. 2009.
- LINDSAY, W. L. Chemical equilibria in soils . Wiley, New York, p 449. 1979.

- LUCENA, J. J.; MANZANARES, M.; GÁRATE, A. Comparative study of the efficacy of commercial Fe-chelates using a new test. *Journal of Plant Nutrition*, v.15, p.1995-2006, 1992.
- MACHUCA, A.; PEREIRA, G.; AGUIAR, A.; MILAGRES, A. M. F. Metal-chelating compounds produced by ectomycorrhizal fungi collected from pine plantations. *Lett Appl Microbiol* 44:7–12. 2007.
- MARSCHNER, P.; CROWLEY, D.; RENGEL, Z. Rhizosphere interactions between microorganisms and plants govern iron and phosphorus acquisition along the root axis-model and research methods. *Soil Biology & Biochemistry*.43: 883-894p. 2011.
- MENGEL, K.; BREININGER, M. T.; BUBL, W. Bicarbonate, the most important factor inducing iron chlorosis in vine grapes on calcareous soil. *Plant Soil* 81:333–344, 1984.
- MENGEL, K.; & KIRKBY, E. A. *Principles of Plant Nutrition*. International Potash Institute, Worblaufen-Bern, Switzerland, 1987, 687p.
- MISHRA, S.; DUBEY, R. S. Heavy metal toxicity induced alterations in photosynthetic metabolism in plants. Cap 45. In: Pessaraki. M. (ed.) *Handbook of Photosynthesis*. E ed. 862 p. 2005.
- MITLLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7, 405-408, 2002.
- MOLASSIOTIS, A., TANOU, G., DIAMANTIDIS, G., PATAKAS, A., THERIOS, I. Effects of 4-month Fe deficiency exposure on Fe reduction mechanism, photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and antioxidant defense in two peach rootstocks differing in Fe deficiency tolerance. *J. Plant Physiol.* 163, 176–185, 2006.

- MORALES, F., BELKHODJA, R., ABADIA, A., ABADIA, J. Photosystem II efficiency and mechanisms of energy dissipation in iron-deficient, field grown pear trees (*Pyrus communis* L.). *Photosynth. Res.* 63, 9–21, 2000.
- MORALES, F.; GRASA, R.; ABADÍA, A.; ABADÍA, J. Iron chlorosis paradox in fruit trees, *J. Plant Nutr.* 21: 815-825, 1998.
- NAGATA, T.; OBO, T.; AOZASA, O. Efficacy of a bacterial siderophore, pyoverdine, to supply iron to *Solanum lycopersicum* plants. *J Biosci Bioeng* 115:1–5. 2013.
- NEGISHI, T.; NAKANISHI, H.; YAZAKI, J.; KISHIMOTO, N.; FUJII, F.; SHIMBO, K.; YAMAMOTO, K.; SAKATA, K.; SASAKI, T.; KIKUCHI, S.; MORI, S.; NISHIZAWA, N.K. cDNA microarray analysis of gene expression during Fe-deficiency stress in barley suggests that polar transport of vesicles is implicated in phytosiderophore secretion in Fe-deficient barley roots. *Plant Journal.* 30:83–94p. 2002.
- NEUMANN, G. & RÖMHELD, V. Root excretion of carboxylic acids and protons in phosphorus-deficient plants. *Plant and Soil.* 211: 121-130p. 1999.
- OADES, J. M. The nature and distribution of iron compounds in soils. *Soils Fertil.*, 26: 69-80, 1963.
- OH, S. H.; CHO, S. W.; KNOW, T. H.; YANG, M. S. Purification and characterization of phytoferritina. *Journal Biochem. Molecular Biology*, v.29, 415-431p, 1996.
- PALMGREN, M. G. Plant plasma membrane H⁺-ATPases: Powerhouses for Nutrient Uptake. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v 52, 817-845, 2001.
- PEREIRA, E. G.; OLIVA, M. A.; ROSADO-SOUZA, L.; MENDES, G. C.; COLARES, D. S.; STOPATO, C. H.; ALMEIDA, A. M. Iron excess affects Rice

- photosynthesis through stomatal and non-stomatal limitations. *Plant Science*. 201-202, 81-92, 2013.
- PÉREZ, C., VAL, J., MONGE, E. Effects of iron deficiency on photosynthetic structures in peach (*Prunus persica*) leaves, in Abadía, J. (ed.): *Iron Nutrition in Soil and Plants*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 183–189, 1995.
- PONNAMPERUMA, F. N. The chemistry of submerged soils. *Advances in Agronomy* 24: 29-96 p. 1972.
- PUIG, S. L. PEÑARRUBIA. Placing metal micronutrients in context: transport and distribution in plants, *Curr. Opin. Plant Biol.* 12: 299-306, 2009.
- PUSHNIK, J. C. & MILLER, G. W. Iron regulation of chloroplast photosynthetic function: Mediation of PS I development. *J. Plantm Nutr.* 12, 407–421, 1989.
- RAVET, K.; TOURAINÉ, B.; BOUCHÉREZ, J.; BRIAT, J. F.; GAYMARD, F.; CELLIER, F. Ferritins control interaction between iron homeostasis and oxidative stress in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*. V.57, 400-412 p. 2009.
- REVATHI, S.; VENUGOPAL, S. Physiological and biochemical mechanisms of heavy metal tolerance. *Int. J. Environ. Sci.* 3, 1339–1354, 2013.
- RODRÍGUEZ MARTÍN, J.A.; ARIAS, M.L; GRAU CORBÍ, J.M. Heavy metals contents in agricultural topsoils in the Ebro basin (Spain). Application of the multivariate geo-statistical methods to study spatial variations. *Environ. Pollut.* 144:1001–1012, 2006.
- RÖMHELD, V. The chlorosis paradox: Fe inactivation as a secondary event in chlorotic leaves of grapevine, *J. Plant Nutr.* 23: 1629-1643. 2000.
- SANTI, S.; CESCO, S.; VARANINI, Z. Two plasma membrane H(+)-ATPase genes are differentially in iron-deficient cucumber plants. *Plant physiology and biochemistry*. 43:287-292, 2005.

- SCHAAF, G.; HONSBEIN, A.; MEDA, A.; KIRCHNER, S.; WIPF, D.; VON WIREN, N. AtIREG2 encodes a tonoplast transport protein involved in iron-dependent nickel detoxification in *Arabidopsis thaliana* roots, *J. Biol. Chem.* 281: 25532-25540p. 2006.
- SCHENKEVELD, W. D. C.; DIJCKER, R.; REICHWEIN, A. M.; TEMMINGHOFF, E. J. M.; VAN RIEMSDIJK, W. H. The effectiveness of soil-applied FeEDDHA treatments in preventing iron chlorosis in soybean as a function of the o,0-FeEDDHA conten. *Plant Soil.* 303: 161-176p. 2008.
- SHI, S.; RICHARDSON, A. E.; O'CALLAGHAN, M. Effects of selected root exudate components on soil bacterial communities. *FEMS Microbiol Ecol* 77:600–10. 2011.
- SHI, Y.; BYRNE, D. H.; REED, D. W.; LOEPPERT, R. H. Influence of bicarbonate level on iron-chlorosis development and nutrient uptake of the peach rootstock Montclar. *J Plant Nutr.*, 16:1675–1689, 1993.
- SILVEIRA, V. C.; OLIVEIRA, A. P.; SPEROTTO, R. A.; AMARAL, L.; DIAS, J. F.; CUNHA, J. B.; FETT, J. P. Influence of iron on mineral status of two Rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 19: 127-139 p. 2007.
- SINHA, S., GUPTA, M.; CHANDRA, P. Stress induced by iron in *Hydrella verticillata*, (I. F.) Royele: response of antioxidants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 38, 286-291, 1997.
- SNOWDEN, R.; 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*, 131: 503-520p. 1995.
- SOLDATINI, G. F., TAGLIAVINI, M., BALDAN, B., CASTAGNA, A., RANIERI, A. Alterations in thylakoid membrane composition induced by iron starvation in sunflower plants. *J. Plant Nutr.* 23, 1717–1732, 2000.

- SONOIKE K, TERASHIMA I, IWAKI M, ITOH S. Destruction of photosystem I iron–sulfur centers in leaves of *Cucumis sativus* L. by weak illumination at chilling temperatures. *FEBS Lett*, 362: 235–238, 1995b.
- SONOIKE K, KAMO M, HIHARA Y, HIYAMA T, ENAMI I. The mechanism of the degradation of psaB gene product, one of the photosynthetic reaction center subunits of photosystem I, upon photoinhibition. *Photosynth Res.*, 53: 55–63, 1997.
- 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*. 1512: 357-366 p. 2001.
- SPILLER, S. AND TERRY, N. Limiting factors in photosynthesis. II. Iron stress diminishes photochemical capacity by reducing the number of photosynthetic units. *Plant Physiol*. 65, 121±125, 1980.
- TERRY, N. Limiting factors in photosynthesis. I. Use of iron stress to control photochemical capacity in vivo. *Plant Physiol*. 65, 114±120, 1980.
- VANSUYT, G.; LOPEZ, F.; INZÉ, D.; BRIAT, J.; FOURCROY, P. Iron triggers a rapid induction of ascorbate peroxidase gene in *Brassica napus*. *FEBS Letters*, v. 410, n. 1, p. 195-200, 1997.
- WALKER, E. L. & CONNOLLY, E. L. Time to pump iron: iron-deficiency signaling mechanisms of higher plants. *Curr Opin Plant Biol.*, 11:530–535, 2008.
- WALLACE, A. & LUNT, O. R. Iron chlorosis in horticultural plants, a review. *Proc Am Soc Hort Sci.*,75:819–841, 1960.
- WANG, X.; QU, R.; WEI, Z.; YANG, X. Effect of water quality on mercury toxicity to *Photobacterium phosphoreum*: Model development and its application in natural waters. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 104:231–238, 2014.

- YAN, F.; ZHU, Y.; MU, C.; ZHANG, C.; SCHUBERT, S.. Adaptation of H⁺-Pumping and Plasma Membrane H ATPase Activity in Proteoid Roots of White Lupin under Phosphate Deficiency 1. *Plant Physiol.* 129, 50–63, 2002.
- YUN, C. W.; TIEDEMAN, J. S.; MOORE, R. E.; PHILPOTT, C. C. Siderophore-iron uptake in *Saccharomyces cerevisiae*: Identification of ferrichrome and fusarinine transporters. *J Biol Chem* 275:16354–16359. 2000.
- ZANCANI, M. PERESSON, C.; BIROCCIO, A.; FEDERICI, G.; URBANI, A.; MURGIA, I.; SOAVE, C.; MICALI, F.; VIANELLO, A.; MACRI, F. Evidence for the presence of ferritin in plant mitochondria. *European Journal of Biochemistry* 271: 3657-3664 p. 2004.
- ZHAO, J.; DONG, Y.; XIE, X.; LI, X.; ZHANG, X.; SHEN, X. Effect of annual variation in soil pH on available soil nutrients in pear orchards. *Acta Ecol Sin* 31:212–216. 2011.

CAPÍTULO II

Elevadas concentrações de ferro afetam a nutrição e ecofisiologia de plantas de *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* L.

KROHLING, Cesar Abel. Universidade Vila Velha - ES, novembro de 2014. **Elevadas concentrações de ferro afetam a nutrição e ecofisiologia de plantas de *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* L.** Orientador: Dr. Alessandro Coutinho Ramos.

RESUMO

O ferro (Fe) é um elemento essencial às plantas, porém em altas concentrações afetam o crescimento e a produtividade dependendo da espécie vegetal. O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da disponibilidade de Fe sobre o crescimento, acumulação e partição de nutrientes, bem como na ecofisiologia de *C. arabica* L. e *C. canephora* L. expostas a diferentes concentrações de Fe-EDTA por um período de 30 dias. Em ambas espécies, os tratamentos com as concentrações mais elevadas de Fe (1,90 e 3,80 mM Fe-EDTA) resultaram na diminuição da taxa de crescimento, biomassa vegetal, área foliar e uma maior acumulação do Fe nas raízes, caules e folhas. No entanto, em *C. arabica* a acumulação de Fe nas folhas foi significativamente superior a *C. canephora*. Altas concentrações de Fe influenciaram negativamente o rendimento quântico do PSII, taxa fotossintética, condutância estomática e transpiração das espécies estudadas. Os resultados mostraram que em termos ecofisiológicos e nutricionais, as espécies de *C. arabica* e *C. canephora* apresentam respostas diferentes quando expostas a elevadas concentrações de Fe.

Palavras-chave: Fe-EDTA, nutrição mineral; fluorescência da clorofila *a*; fotossíntese.

1. INTRODUÇÃO

O Ferro (Fe) ocorre em abundância na natureza e ocupa a quarta posição entre todos os elementos sobre a superfície da terra. Porém, em condições aeróbicas no solo, está presente na forma de óxido-hidróxidos, que são bastante insolúveis (Kim & Guerinot, 2007; Bou-Abdallah, 2010).

Na maioria dos solos, a concentração de Fe disponível na solução é muito baixa. Em razão disso, as plantas desenvolveram mecanismos para mobilizá-lo e permitir sua absorção pelas raízes (Curie & Briat, 2003; Epstein & Bloom, 2005; Walker & Connolly, 2008). Em solos hidromórficos, a falta de oxigênio diminui a decomposição da matéria orgânica que provoca o acúmulo deste composto, além de promover um ambiente de baixo potencial de oxi-redução, que transforma Fe^{+3} na forma reduzida (Fe^{2+}), que é mais solúvel, principalmente com a diminuição do pH do solo (Becker & Asch, 2005; Bou-Abdallah, 2010). As plantas possuem mecanismos de controle da absorção de Fe (Pereira et al., 2013; Kuki et al., 2008a), dado que tanto a deficiência como a toxidez afetam processos importantes nas plantas como a fotossíntese (Donnini et al., 2013), a respiração (Kim & Guerinot, 2007), a produtividade e a produção de biomassa (Briat et al., 2010).

As alterações nutricionais, bioquímicas ou fisiológicas nas plantas podem ser utilizadas como ferramentas para avaliar a severidade do estresse imposto (Klumpp et al., 2004). Assim, os danos causados pela toxicidade do Fe podem ser diretos, por meio da absorção e acúmulo excessivo do Fe, ou indiretos, quando teores elevados de Fe na solução do solo resultam na precipitação sobre as raízes, formando uma placa de óxido férrico, que pode alterar a absorção de outros nutrientes como P, K e Zn (Hansel, et al., 2001) e ainda, alterar a ciclagem de nutrientes nos ecossistemas e reduzir o crescimento, a floração e a frutificação vegetal (Grantz et al., 2003).

Não existem estudos dos efeitos da disponibilidade do Fe em plantas de café cultivadas em solos sob condições de hidromorfismo, onde predomina uma elevada disponibilidade de Fe^{2+} o qual pode afetar processos metabólicos, resultando numa menor produtividade, vigor e crescimento. Por isso, o objetivo do estudo foi avaliar os efeitos da toxidez do ferro sobre as características de crescimento, a nutrição mineral e a ecofisiológica de *C. arabica* e *C. canephora* e entender se os possíveis mecanismos de tolerância envolvidos variam de acordo com a espécie.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Condições de cultivo e de tratamentos das plantas com ferro

O experimento foi conduzido em casa de vegetação (X:314097,8073 e Y:7738493,3027), coberta com lona transparente de 150 μ m e com proteção lateral com sombrite 50%. A casa de vegetação foi instalada a 687m de altitude e durante os 30 dias do experimento, as médias da umidade relativa (UR) e da temperatura foram de 74,5% e 21,8°C, respectivamente. Plantas café arábica (*C. arabica* L.) Catuaí V. IAC-44 e café conilon (*C. canephora* L.) clone 02 da Variedade Vitória foram padronizadas visualmente e, então, foram escolhidas aquelas com quatro pares de folhas. As plantas foram lavadas em água corrente e transferidas para caixa de poliestireno com capacidade de 5L contendo 3,0 litros de solução de Hoagland (Hoagland & Arnon, 1938) com aeração constante e pH 5,0, o qual foi monitorado e ajustado diariamente. A solução nutritiva foi renovada semanalmente e o volume completado quando necessário. As plantas das duas espécies foram aclimatadas por 10 dias em solução de nutritiva de Hoagland, uma força, contendo 0.5 mM $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 3 mM KNO_3 , 2 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 23.13 μM H_3BO_3 , 4.57 μM $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.382 μM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.16 μM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.0695 μM MoO_3 , e 9 μM Fe-EDTA.

Destaca-se que as plantas foram previamente aclimatadas por meio da adição gradual de Fe-EDTA até alcançar a concentração final com o fim de evitar danos ou estresse nas concentrações mais elevadas. Inicialmente, as plantas foram tratadas com 0,12 mM Fe-EDTA e posteriormente com as concentrações subsequentes, por um período de seis dias. Após a aclimação das mudas, utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x7, constando de duas espécies (*C. arabica* e *C. canephora*), cinco concentrações de Fe-EDTA (0; 0,12; 0,95; 1,90 e 3,80 mM) com seis repetições por tratamento.

Características de crescimento e área foliar

A altura das plantas foi determinada no início (I) e a após 30 dias (F) de tratamento com as concentrações de Fe-EDTA, entre a região do colo e a gema apical com o auxílio de régua milimetrada. O crescimento acumulado das plantas foi calculado de acordo com a fórmula: $(F - I)$. A taxa de crescimento foi calculada de acordo com a fórmula $(F \times 100 / I)$. No final do experimento, três plantas foram

retiradas aleatoriamente de cada tratamento e determinou-se a matéria seca de raízes e parte aérea.

As áreas foliares e necrosadas foram determinadas aos 30 dias de exposição ao Fe, sendo as folhas fotografadas analisadas utilizando o Software ImageJ 1.45s (Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA).

Condições para medição das trocas gasosas, fluorescência e conteúdo de clorofila

As medições foram realizadas 30 dias após os tratamentos com Fe-EDTA, em folhas individuais do 2º par de folhas totalmente expandidas nas 6 plantas dos tratamentos, no horário de 8:00 até as 10:40 horas da manhã. Durante as medições, a umidade relativa (UR) foi de $70,0 \pm 5,0\%$, a temperatura foi $23,0 \pm 3,0^\circ\text{C}$, o déficit de pressão de vapor (DPV) foi de $2,52 \pm 0,32$ kPa e a concentração de CO_2 foi de 380 ± 10 ppm.

Trocas gasosas (A , g_s e E)

Nas avaliações das folhas individuais, a taxa fotossintética líquida (A), a transpiração (E), a condutância estomática (g_s), a concentração interna (C_i) e a ambiente (C_a) de CO_2 e também a relação C_i/C_a foram determinadas com o auxílio de um analisador de gás a infravermelho portátil (IRGA), modelo Li-6400 (LI-COR, Lincoln, NE, USA), utilizando uma fonte luminosa fixa em $1500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de intensidade de fluxo de fótons fotossintéticos.

Fluorescência da clorofila a

As medições da emissão da fluorescência da clorofila foram realizadas por um fluorímetro não-modulado, modelo PEA (Hansatech Instruments Ltd, King's Lynn, Norfolk, UK). Para tanto, foram utilizadas pinças fornecidas pelo fabricante para a adaptação do tecido foliar ao escuro por 30 minutos, para que todos os centros de reação adquirissem a condição de abertos (Q_a oxidada) (Bolhar-Nordenkamp et al., 1989). Por meio do fluorímetro não-modulado, foi possível obter as medidas da fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m) e fluorescência variável (F_v). A partir dos valores de F_v e F_m , foi possível obter a relação F_v/F_m (rendimento quântico máximo do fotossistema II) (Bolhar-Nordenkamp et al., 1989). A indução da fluorescência foi feita por um pulso de luz vermelha (650 nm) com duração de 2 segundos com intensidade de 600 W.m^{-2} (100% de intensidade),

obtido por meio de seis LEDs (Light Emitting Diodes) localizados na sonda do aparelho.

Conteúdo de clorofila

A estimativa do conteúdo de clorofila foi avaliada 30 dias após o início do tratamento com Fe-EDTA por meio dos valores do índice SPAD, os quais foram obtidos por meio do medidor portátil de clorofila (MPC), SPAD-502 (Minolta, Japão). Estas determinações, 03 (três) medições por folha, foram feitas nas mesmas folhas onde foram realizadas as medições da taxa fotossintética líquida e da emissão da fluorescência da clorofila.

Análise de nutrientes

O teor de macro e micronutrientes nas raízes e parte aérea das espécies *C. arabica* e *C. canephora* foram determinados aos 30 dias após o início do tratamento com as diferentes concentrações de Fe-EDTA. Amostras de raiz e parte aérea foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 60-70°C, por um período de 48 horas. Após a secagem, as amostras foram moídas e os teores de P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Mn e B foram quantificados simultaneamente por espectrômetro de emissão ótica com plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP-OES), após digestão com HNO₃ concentrado (Merck) e H₂O₂ (Merck), em sistema de digestão aberta (Peters, 2005). Condições do ICP: fluxo do plasma: 8,0 L min⁻¹, gás auxiliar 0,70 L min⁻¹ e gás carreador 0,55 L min⁻¹.

Análise estatística dos dados

A análise de ANOVA fatorial ($p < 0,05$) foi utilizada para verificar a interação entre o conteúdo de nutrientes com as espécies, os órgãos vegetais e as diferentes concentrações de Fe-EDTA.

Análise de variância (ANOVA) com teste a posteriori de Tukey ($p < 0,05$) e o teste t de Student ($p < 0,05$) foram usados, em cada espécie de café, para verificar o efeito do ferro na massa seca da raiz, do caule e da folha, na relação raiz/parte aérea, no crescimento acumulado e na taxa de crescimento.

A área foliar e área necrosada, o conteúdo de clorofila, as trocas gasosas e a fluorescência da clorofila *a* foram avaliadas com o uso da regressão.

Para a realização das análises estatística foi utilizado o programa Statistica 12.

3. RESULTADOS

Características de crescimento e toxidez por ferro

A massa seca de raízes, caules e folhas, o crescimento acumulado e a taxa de crescimento das plantas de *C. arabica* e de *C. canephora* diminuíram significativamente com o aumento da concentração de Fe-EDTA na solução nutritiva (Tabela 1). A razão raiz/parte aérea diminuiu significativamente nas plantas de *C. canephora* enquanto em *C. arabica* não sofreu alterações com o aumento da concentração de Fe-EDTA (Tabela 1). A massa seca das folhas de *C. arabica* foi significativamente superior em relação a *C. canephora*, já a massa seca de raízes e caules foi semelhante entre as duas espécies. A taxa de crescimento de *C. canephora* foi significativamente superior do que em *C. arabica*, exceto na maior concentração de Fe-EDTA onde não houve diferença significativa (Tabela 1). Os sintomas de toxidez por ferro (bronzeamento das folhas e necrose das bordas da folha) foram observados nas concentrações de 0,95, 1,90 e 3,8 mM Fe-EDTA em *C. arabica* e 1,90 e 3,8 mM Fe-EDTA em *C. canephora* (Figura 1).

Tabela 1. Massa seca de raiz, de caule e folha, relação raiz/parte aérea (R/PA), crescimento (cm) e taxa decrescimento (%) das espécies de *C. arabica* e *C. canephora* após 30 dias de exposição às diferentes concentrações de Fe-EDTA em solução nutritiva. (n=3).

Espécie	Fe (mM)	Massa seca (g)			R/PA	Altura (cm)	Taxa Crescimento (%)
		Raiz	Caule	Folha			
<i>C. arabica</i>	0,00	0,50 Ba	0,49 Aa	1,98 Aab	0,20 Ba	2,98 Aa	25 Ba
	0,12	0,49 Aab	0,52 Aa	2,43 Aa	0,17 Ba	2,84 Aa	29 Ba
	0,95	0,40 Ab	0,44 aa	1,83 Ab	0,17 Ba	2,79 Bb	19 Bb
	1,90	0,35 Ac	0,40 Aa	1,78 Abc	0,16 Ba	2,40 Ab	18 Bb
	3,80	0,26 Ac	0,26 Bb	1,40 Ac	0,15 Aa	1,76 Ab	16 Ac
<i>C. canephora</i>	0,00	0,66 Aa	0,50 Abc	1,25 Ba	0,38 Aa	2,53 Aa	42 Aa
	0,12	0,48 Ab	0,54 Aab	1,19 Ba	0,28 Aab	2,16 Aa	37 Aa
	0,95	0,39 Abc	0,44 Ac	1,10 Ba	0,25 Aab	1,89 Aab	37 Aa
	1,90	0,36 Abc	0,48 Ac	1,04 Bab	0,24 Aab	1,71 Ab	25 Ab
	3,80	0,29 Ac	0,57 Aa	0,79 Bb	0,21 Ab	1,49 Ac	16 Ab

Dentro de um mesmo parâmetro e uma mesma concentração de Fe, média seguida de uma mesma letra maiúscula não difere entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$). Dentro de cada espécie, para um mesmo parâmetro, médias seguidas de uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

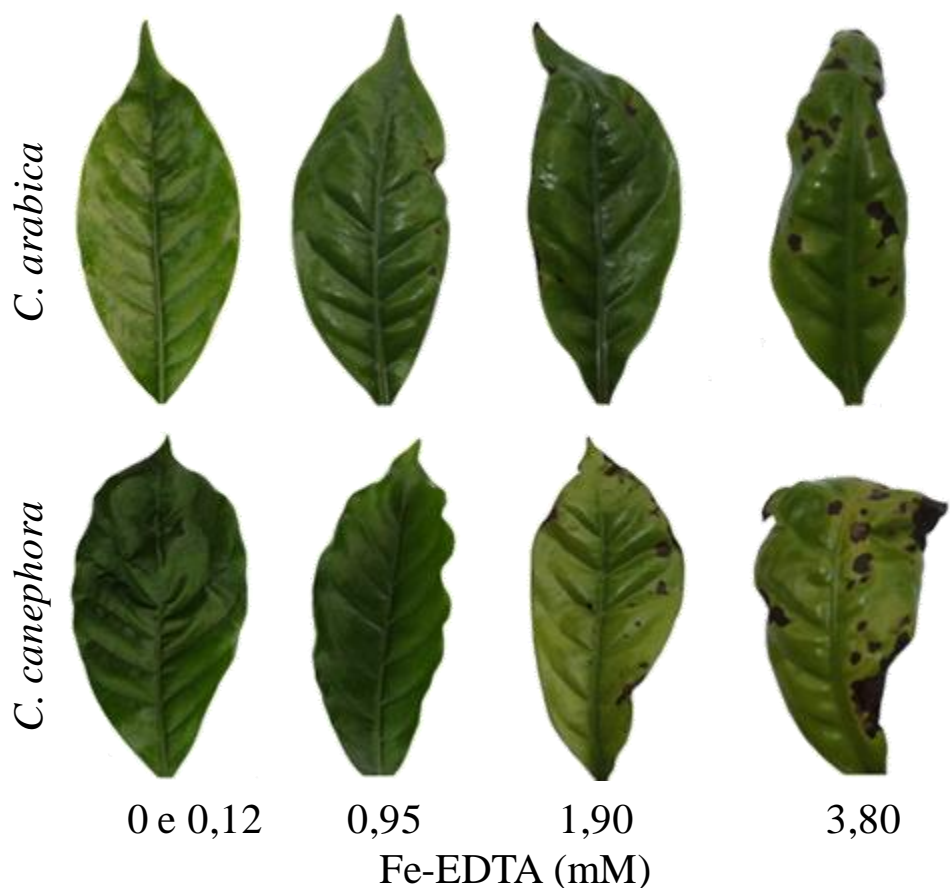


Figura 1. Ontogenia dos sintomas de toxidez de ferro nas folhas do 2° par em plantas de *C. arabica* e *C. canephora* cultivados em solução nutritiva após 30 dias de exposição às diferentes concentrações de Fe-EDTA.

Conteúdo de nutrientes em órgãos de *C. arabica* e *C. canephora*

O conteúdo de nutrientes em raízes, caules e folhas de *C. arabica* e *C. canephora* diminuíram com o aumento da concentração de Fe (Tabela 2). Os maiores conteúdos de nutrientes foram registrados nas folhas de ambas as espécies. O conteúdo de nutrientes variou significativamente dependendo da espécie, do órgão e da concentração de Fe-EDTA utilizada (Tabela 3).

Tabela 2. Conteúdo de macro e micronutrientes na matéria seca de café *C. arabica* e *C. canephora* após 30 dias de exposição a diferentes concentrações de Fe-EDTA em solução nutritiva. (n=3).

Espécie	Órgão	Fe (mM)	Macronutrientes (g.planta ⁻¹)					Micronutrientes (mg.planta ⁻¹)			
			N	P	K	Ca	Mg	S	B	Zn	Mn
<i>C. arabica</i>	Folha	0,00	0,0668	0,0050	0,0333	0,0192	0,0054	0,00436	0,084	0,032	0,337
		0,12	0,0750	0,0058	0,0419	0,0253	0,0066	0,00560	0,103	0,109	0,341
		0,95	0,0632	0,0042	0,0355	0,0161	0,0046	0,00476	0,071	0,033	0,183
		1,90	0,0662	0,0044	0,0356	0,0164	0,0046	0,00427	0,071	0,031	0,222
		3,80	0,0464	0,0039	0,0227	0,0123	0,0032	0,00323	0,056	0,024	0,175
	Caulo	0,00	0,0062	0,0014	0,0073	0,0030	0,0012	0,00123	0,021	0,017	0,064
		0,12	0,0063	0,0016	0,0100	0,0029	0,0015	0,00110	0,027	0,021	0,050
		0,95	0,0061	0,0015	0,0091	0,0025	0,0010	0,00111	0,017	0,002	0,027
		1,90	0,0053	0,0012	0,0056	0,0027	0,0010	0,00092	0,017	0,003	0,028
		3,80	0,0043	0,0008	0,0040	0,0018	0,0006	0,00064	0,011	0,003	0,024
	Raiz	0,00	0,0102	0,0022	0,0076	0,0055	0,0018	0,00136	0,026	0,022	0,053
		0,12	0,0123	0,0017	0,0066	0,0033	0,0016	0,00143	0,026	0,011	0,032
		0,95	0,0092	0,0014	0,0057	0,0030	0,0013	0,00103	0,020	0,011	0,026
		1,90	0,0078	0,0013	0,0039	0,0031	0,0014	0,00093	0,017	0,011	0,024
		3,80	0,0064	0,0009	0,0030	0,0021	0,0009	0,00072	0,011	0,007	0,015
<i>C. canephora</i>	Folha	0,00	0,0362	0,0024	0,0294	0,0141	0,0042	0,00287	0,054	0,030	0,206
		0,12	0,0351	0,0023	0,0320	0,0139	0,0043	0,00237	0,052	0,048	0,119
		0,95	0,0351	0,0019	0,0265	0,0123	0,0038	0,00208	0,052	0,049	0,093
		1,90	0,0327	0,0018	0,0215	0,0118	0,0036	0,00188	0,039	0,034	0,104
		3,80	0,0260	0,0014	0,0214	0,0095	0,0031	0,00173	0,037	0,026	0,067
	Caulo	0,00	0,0058	0,0005	0,0066	0,0039	0,0013	0,00111	0,019	0,017	0,038
		0,12	0,0065	0,0005	0,0069	0,0046	0,0013	0,00108	0,023	0,012	0,030
		0,95	0,0053	0,0005	0,0066	0,0038	0,0014	0,00088	0,022	0,004	0,024
		1,90	0,0075	0,0005	0,0068	0,0042	0,0013	0,00092	0,016	0,006	0,024
		3,80	0,0092	0,0006	0,0074	0,0048	0,0014	0,00131	0,025	0,005	0,026
	Raiz	0,00	0,0134	0,0013	0,0132	0,0053	0,0021	0,00138	0,034	0,048	0,145
		0,12	0,0090	0,0008	0,0083	0,0040	0,0014	0,00126	0,023	0,017	0,046
		0,95	0,0072	0,0008	0,0074	0,0029	0,0013	0,00109	0,024	0,009	0,023
		1,90	0,0069	0,0008	0,0071	0,0030	0,0016	0,00083	0,021	0,006	0,027
		3,80	0,0060	0,0007	0,0042	0,0027	0,0012	0,00066	0,015	0,008	0,017

Tabela 3. Resultado da ANOVA fatorial entre espécies (Sp), órgão do vegetal (órgão) e concentração de Fe (Fe) na solução nutritiva para o conteúdo nutricional das espécies de café *C. arabica* e *C. canephora* após 30 dias de exposição a diferentes concentrações de Fe-EDTA em solução nutritiva. (n=3).

		N	P	K	Ca	Mg	S	B	Zn	Mn
F	Intercept	4650,2	5052,5	5464,3	4738,7	5270,0	5516,9	5462,0	3455,1	3706,4
	Sp	259,5	745,0	19,8	33,7	11,7	237,3	79,5	2,3	206,9
	Órgão	1927,5	885,2	1527,8	1322,5	976,6	967,8	872,4	722,2	1207,2
	Fe	18,1	30,9	39,6	35,0	31,9	32,8	42,3	143,7	124,6
	Sp*Órgão	274,6	179,1	60,1	107,0	42,7	241,4	140,6	27,2	280,3
	Sp*Fe	5,4	7,3	6,8	6,0	9,1	9,6	12,0	48,8	10,7
	Órgão*Fe	10,5	7,5	11,7	17,3	10,9	7,6	9,3	82,9	25,7
	Sp*Órgão*Fe	2,7	1,6	4,4	6,1	1,8	5,2	3,3	40,0	12,8
P	Intercept	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	Sp	*	*	*	*	*	*	*	0.135	*
	Órgão	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	Fe	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	Sp*Órgão	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	Sp*Fe	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	Órgão*Fe	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	Sp*Órgão*Fe	0.013	0.130	*	*	0.087	*	*	*	*

* p<0,01

Conteúdo de ferro

Com o aumento da concentração de Fe, a espécie *C. arabica* acumulou mais Fe nas folhas, enquanto a espécie *C. canephora* apresentou uma distribuição uniforme entre raiz, caule e folha (Figura 2). Em *C. arabica*, a concentração de ferro nas folhas aumenta com o aumento da concentração de Fe, entretanto no caule e na raiz a concentração tende a diminuir com o aumento da concentração de Fe-EDTA. Já em *C. canephora* o conteúdo de Fe nas folhas é maior nas concentrações de 0 e 0,12 mM de Fe-EDTA e a partir da concentração de 0,95 não há diferença significativa do conteúdo de Fe entre raiz, caule e folha (Figura 2).

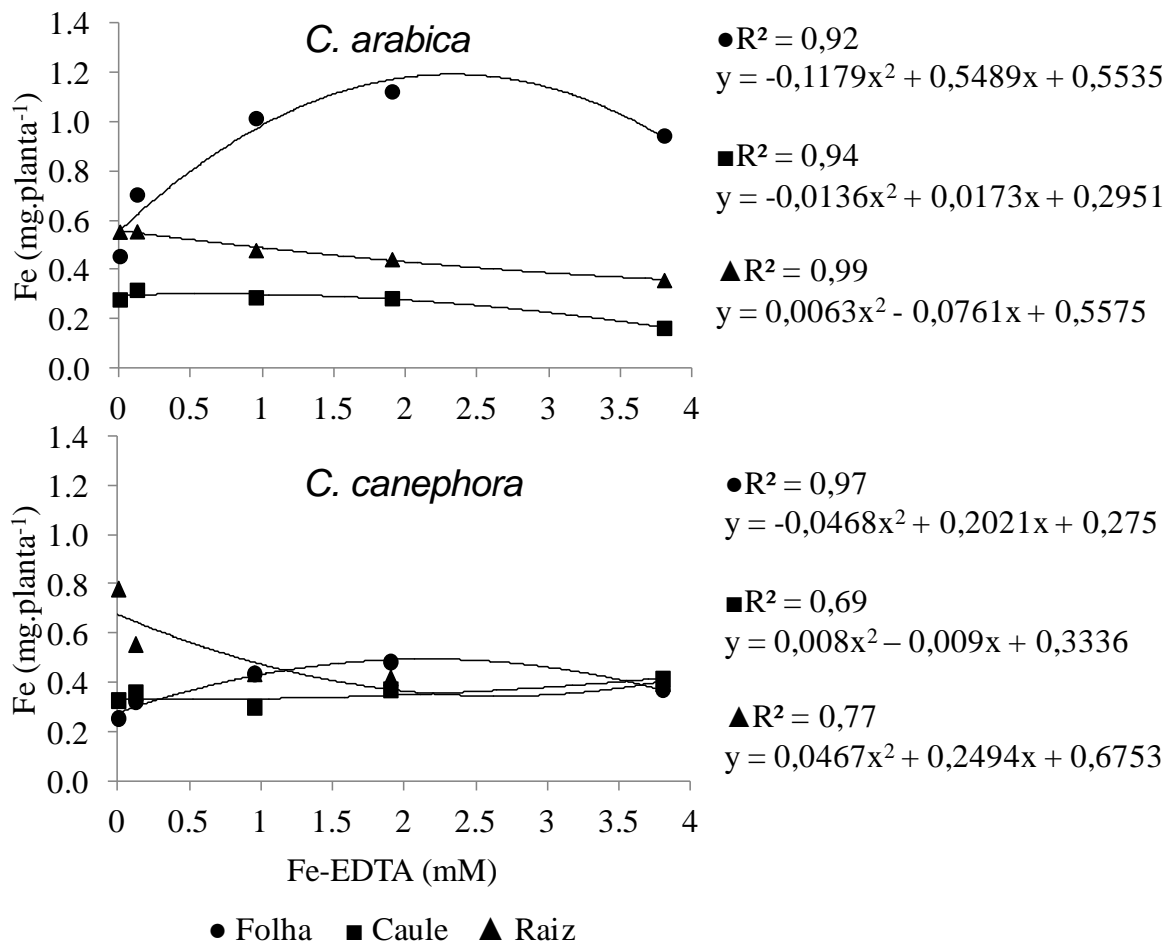


Figura 2. Conteúdo de ferro em *C. arabica* e *C. canephora* após 30 dias de exposição a diferentes concentrações de Fe-EDTA em solução nutritiva. (n=3).

Área foliar das espécies estudadas

A área foliar de ambas as espécies diminuiu significativamente com o aumento da concentração de Fe-EDTA (Figura 3A). A espécie *C. arabica* apresentou uma área foliar maior que *C. canephora* exceto na concentração de 1,9 mM de Fe-EDTA (Figura 3A). Em ambas as espécies a área necrosada aumentou com o aumento da concentração de Fe-EDTA; todavia, *C. arabica* apresentou necrose foliar a partir da concentração de 0,95 mM de Fe-EDTA, enquanto que em *C. canephora* a necrose iniciou a partir da concentração de 1,9 mM (Figura 3B). Embora a necrose tenha iniciado em concentrações mais elevadas, *C. canephora* apresentou uma área necrosada maior do que *C. arabica* na concentração de 3,8 mM de Fe-EDTA (Figura 3B).

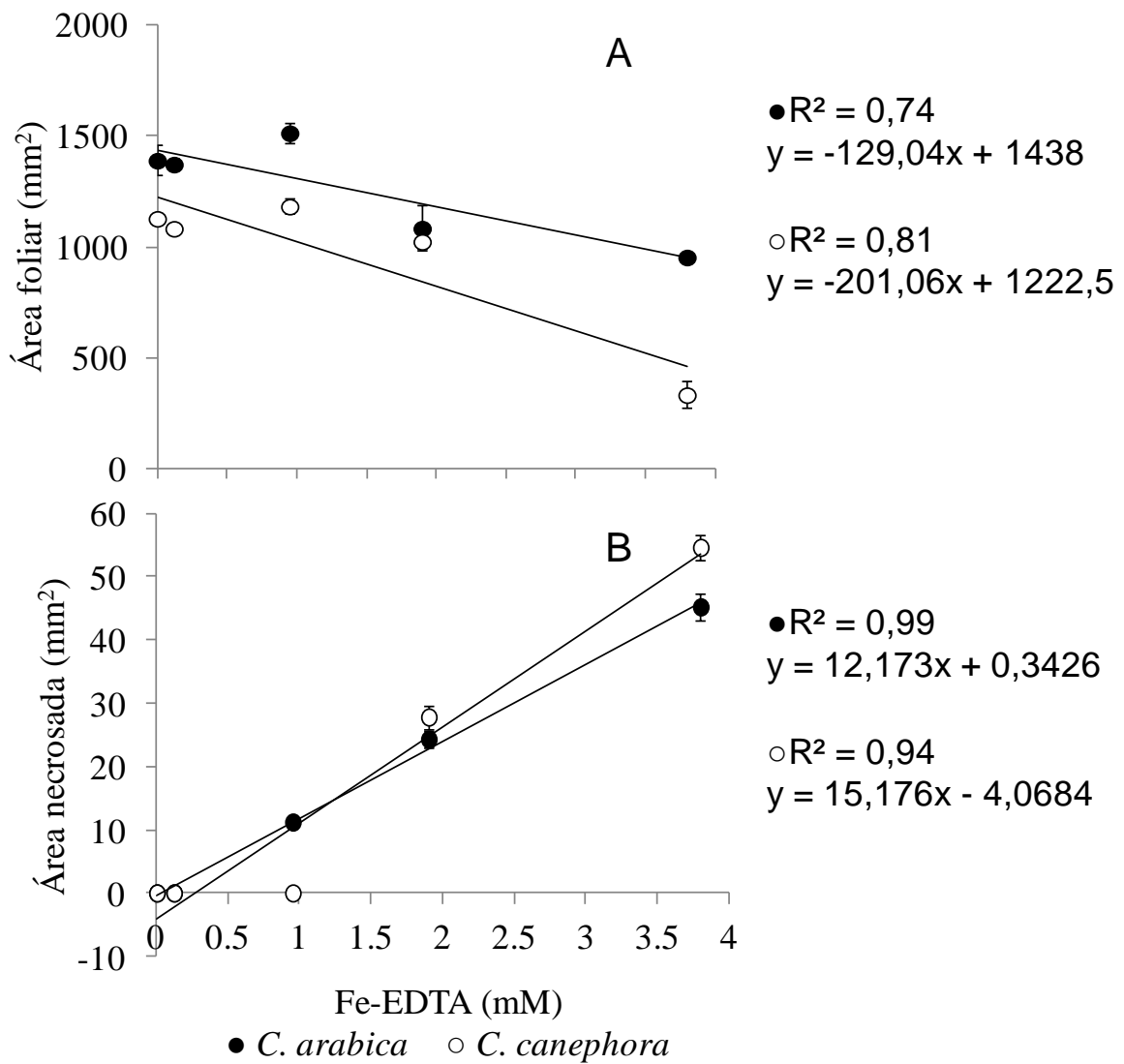


Figura 3. Área foliar (A), área necrosada (B) de *C. arabica* e *C. canephora* após 30 dias de exposição a diferentes concentrações de Fe-EDTA em solução nutritiva. (n=6).

Teor de clorofila

A estimativa do teor de clorofila em *C. arabica* diminuiu significativamente com o aumento da concentração de Fe-EDTA; já *C. canephora* não apresentou diferença significativa no teor de clorofila com o aumento da concentração de Fe-EDTA. O teor de clorofila foi significativamente maior em *C. arabica* do que em *C. canephora* em todas as concentrações de Fe-EDTA (Figura 4).

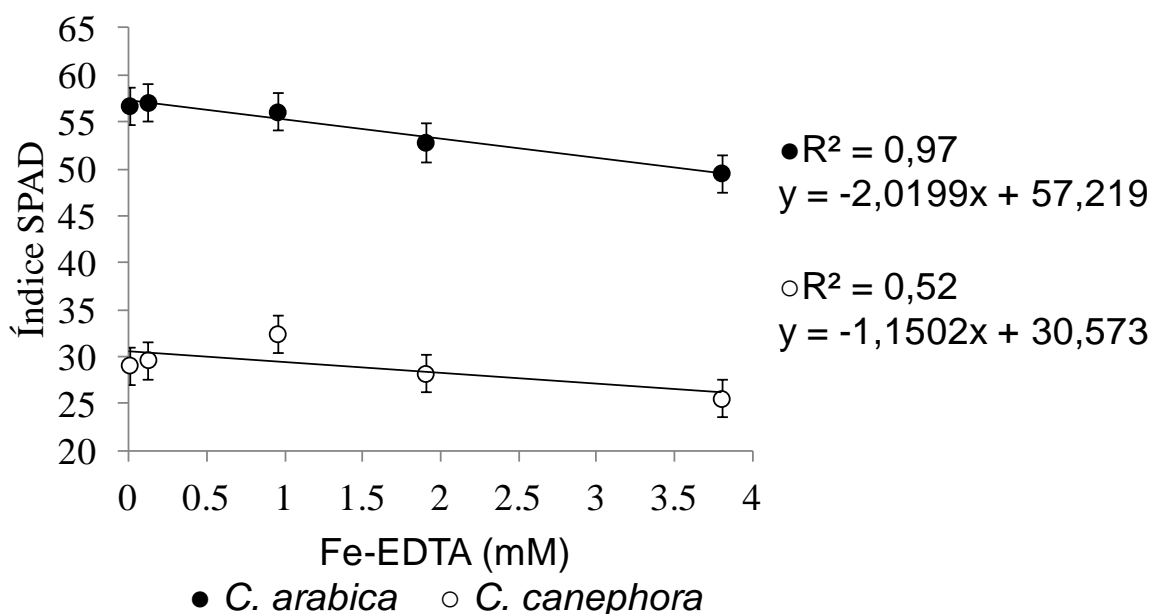


Figura 4. Conteúdo de clorofila de *C. arabica* e *C. canephora* após 30 dias de exposição a diferentes concentrações de Fe-EDTA em solução nutritiva. (n=6).

Trocas Gasosas

A taxa de assimilação líquida do CO₂ foi reduzida significativamente em ambas as espécies de café com o aumento da concentração de Fe-EDTA. A taxa fotossintética foi significativamente menor em *C. arabica* na concentração de 3,80 mM de Fe-EDTA comparada a *C. canephora* (Figura 5A). A condutância estomática (g_s) foi maior em *C. canephora* em relação a *C. arabica* e *C. canephora* não apresentou diferença significativa na g_s com o aumento da concentração de Fe-EDTA enquanto que a g_s em *C. arabica* diminuiu significativamente com o aumento da concentração de Fe-EDTA (Figura 5B). A transpiração (E) foi maior em *C. canephora* em relação a *C. arabica*. A espécie *C. canephora* não apresentou diferença significativa na transpiração com o aumento da concentração de Fe-EDTA enquanto que a E em *C. arabica* diminuiu significativamente com o aumento da concentração de Fe-EDTA (Figura 5C). Em *C. canephora*, a relação entre a concentração interna e a ambiente de CO₂ (C_i/C_a) não diferiu significativamente com o aumento da concentração de Fe-EDTA, já em *C. arabica* ocorreu um aumento significativo de C_i/C_a com o aumento da concentração de Fe-EDTA (Figura 5D).

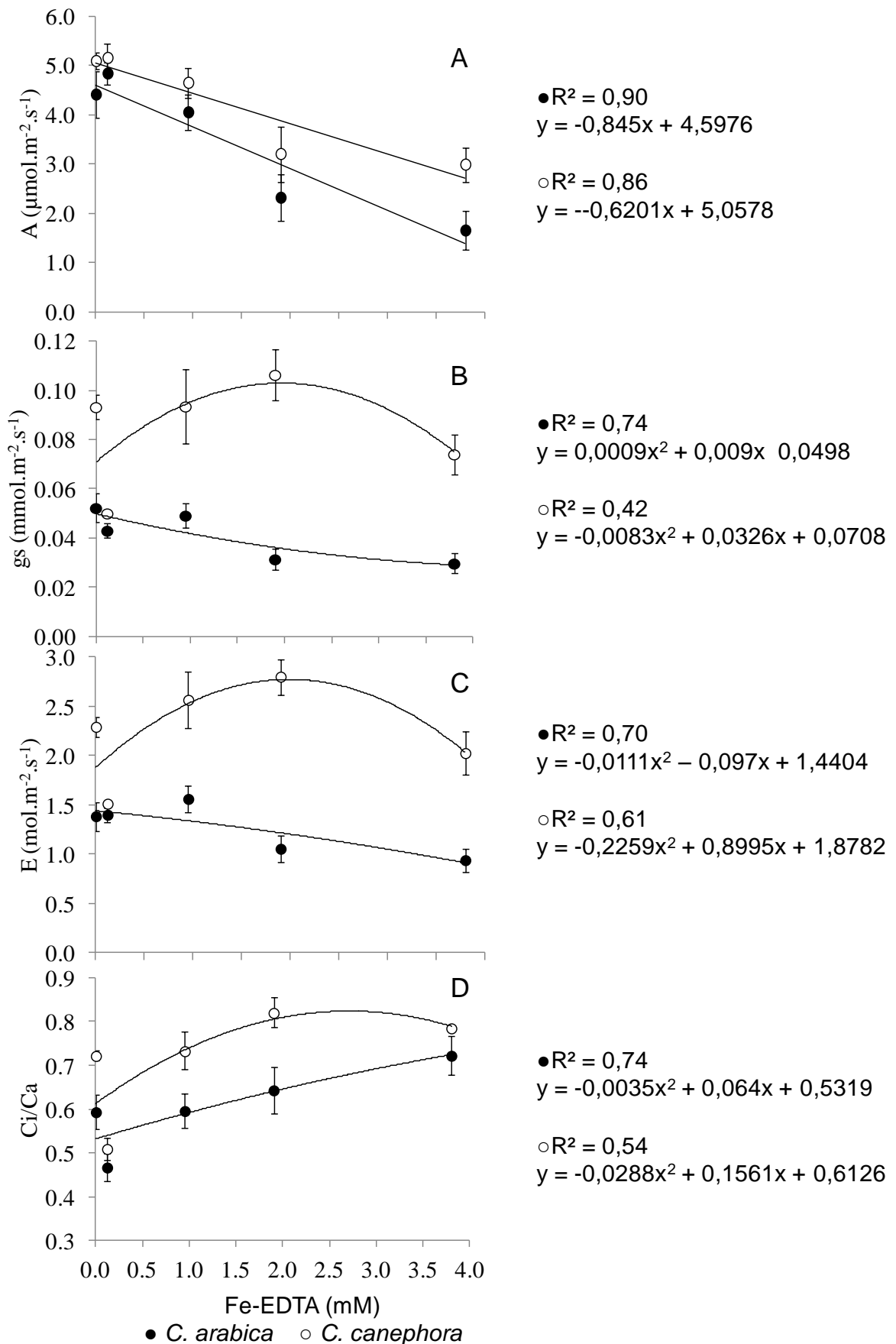


Figura 5. Atividade fotossintética líquida (A) (A), condutância estomática (g_s) (B), transpiração (E) (C) e a relação entre a concentração interna e a ambiente de CO_2

(C_i/C_a) (D) em plantas de *C. arabica* e *C. canephora* após 30 dias de exposição a diferentes concentrações de Fe-EDTA em solução nutritiva. (n=6).

Fluorescência da clorofila a

A relação (F_v/F_m), que avalia o rendimento quântico do fotossistema II (PSII) mostrou que concentrações elevadas de ferro influenciaram negativamente no seu desempenho para as ambas as espécies de café avaliadas (Figura 6).

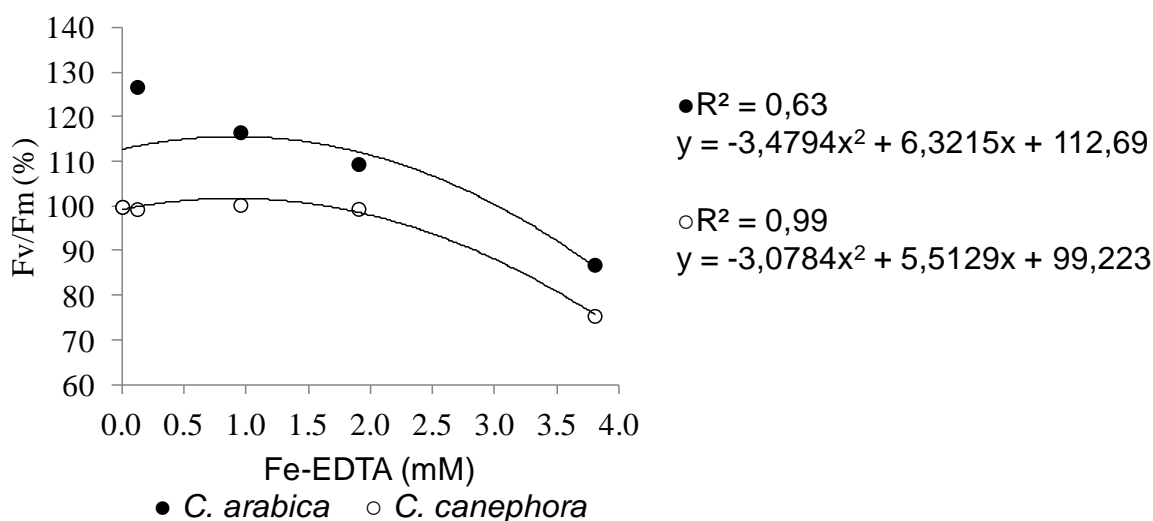


Figura 6. Relação F_v/F_m nas folhas de plantas de *C. arabica* e *C. canephora* após 30 dias de exposição a diferentes concentrações de Fe-EDTA em solução nutritiva. (n=6).

4. DISCUSSÃO

O estudo mostrou que os sintomas de toxidez por Fe apareceram nas folhas de *C. arabica* e *C. canephora* três dias após a exposição com as concentrações de Fe-EDTA na solução hidropônica. Os sintomas foram evidenciados por pequenas pontuações e manchas marrons escuras típicas de bronzeamento nas bordas das folhas jovens e no ápice das plantas, apresentando simultaneamente curvatura na parte abaxial das folhas de ambas espécies (Figura 1). Estes sintomas de toxidez por ferro foram observados a partir da dose de 0,95 mM de Fe-EDTA para *C. arabica* e de 1,90 mM de Fe-EDTA para *C. canephora*. Esses dados corroboram com os descritos por Abraham & Pandey (1989), que observaram, em diferentes fases do crescimento do arroz irrigado, uma diminuição no crescimento e sintomas de toxidez

por Fe em folhas jovens. Segundo Abu et al (1989) a toxicidade do Fe nas fases vegetativas das culturas está associada à redução na altura e menor acúmulo de matéria seca, tal como observado no presente estudo.

Em arroz, os sintomas de bronzeamento são característicos e causados pelo aumento do teor da polifenol oxidase em folhas de plantas sob altas concentrações de ferro no meio (Thipyapong et al., 2004), similarmente ao observado nas duas espécies de café deste estudo. Em cana-de-açúcar e feijão, Kim & Jung (1993) relatam sintomas de toxidez de Fe pelo aparecimento de pontuações escuras nas folhas, que também apareceram nas duas espécies de café (Figura 1).

No Sudeste do Brasil, *C. arabica* e *C. canephora* são cultivados em ambientes aeróbicos, porém, plantios de *C. canephora*, localizados em solos como os tabuleiros costeiros do estado do Espírito Santo podem, principalmente durante o período chuvoso (outubro a março), sofrer alagamentos (hipoxia) que, por consequência, promove reações redox reversíveis e conversões entre Fe^{2+} e Fe^{3+} (Kim & Guerinot, 2007). Assim, o Fe^{2+} se torna altamente disponível para as plantas provocando acúmulo de Fe nas raízes e na parte aérea. Neste estudo, os resultados mostraram que os sistemas radiculares das duas espécies de café acumularam a mesma quantidade de Fe, sendo que na parte aérea, plantas de *C. arabica* apresentaram uma acumulação elevada de Fe. Adicionalmente, a perda de área foliar aliada a essa elevação na concentração de Fe e menor acúmulo de N, P, K, Mg, S, Ca, Zn e Mn foliar, sugerem ser os fatores principais na diminuição da taxa fotossintética das plantas nas doses de 1,90 e 3,80 mM de ferro.

A toxicidade de ferro é o distúrbio nutricional mais comum que afeta a produção de arroz cultivado em sistema de várzea (Dobermann et al., 2000). As características gerais para a maioria dos solos são altas quantidades de Fe^{2+} , baixo pH, baixa Capacidade de Troca de Cátions (CTC) e conteúdo de potássio (K) trocável (Ottow et al., 1982); que podem estar associados com deficiência de fósforo (P) e zinco (Zn) e toxicidade de H_2S (Kirk, 2004), principalmente em condições de anoxia do solo (Ponnamperuma et al., 1967). A disponibilidade química de P, molibdênio (Mo) e alumínio (Al) pode ser afetada pela redução de ferro e a absorção de potássio (K), zinco (Zn) e manganês (Mn) pode ser prejudicada como resultado da acumulação de ferro na rizosfera (Ottow et al., 1982), já que para o cultivo de arroz irrigado a concentração na solução do solo de $300\text{ mg Fe}\cdot\text{L}^{-1}$ solúvel em água é geralmente considerado o limite crítico (Lantin & Neue, 1989).

Essa absorção excessiva de Fe^{2+} pelas plantas de arroz sob condições de encharcamento (hipoxia) leva ao aparecimento de sintomas típicos de toxidez nas folhas novas de ponteiro, chamado “bronzamento”. As raízes dessas plantas ficam grossas, curtas e de cor marrom escuro. O crescimento radicular menor e atrofiado diminui a produtividade (Becker & Asch, 2005; Dorlodot et al., 2005) e promove distúrbios nutricionais (Ottow et al., 1983; Pereira et al., 2013). Neste estudo, sintomas análogos de toxidez de ferro também apareceram nas folhas novas a partir do 3º dia de exposição das plantas às concentrações de Fe-EDTA (Figura 1), o que fez diminuir a taxa de crescimento e a altura das plantas (Tabela 1); fez diminuir o conteúdo de macro e micronutrientes de raízes, caules e folhas (Tabela 2) e ainda promoveu variação do conteúdo de nutrientes significativamente dependendo da espécie, do órgão e da concentração de Fe-EDTA utilizada tanto em *C. arabica* como em *C. canephora* (Tabela 3).

A absorção excessiva de ferro provocou alteração na composição mineral das plantas de café, o que ocorreu devido à solubilidade e à disponibilidade do ferro na forma ferrosa Fe^{+2} (Sahrawat, 2004; Kim e Guerinot, 2007). O estudo mostrou que ocorreu a variação significativa do conteúdo de nutrientes dependendo da espécie vegetal, do órgão e da concentração de Fe-EDTA utilizada (Tabela 3). Concentração mais baixa Mn e K e mais elevada de sulfetos (H_2S) foram descritas por Foy et al., (1978) em solos cultivados com arroz irrigado. Fageria et al. (2008) e Sahrawat (2004) sugerem a aplicação de nutrientes como K, P e Zn, para ajudar as plantas a lidarem com a toxicidade de ferro e assim aumentar a produção em solos com níveis tóxicos de ferro.

O excesso de ferro na solução hidropônica do cultivo das espécies de café causou efeitos severos na taxa de assimilação líquida de CO_2 . Como ferro é armazenado nos cloroplastos, local onde ocorre a fotossíntese, os efeitos da toxicidade provocam diminuição da taxa fotossintética (Suh et al., 2002). Plantas expostas a agentes poluentes sofrem estresse e tem a fotossíntese reduzida (Inoue & Reissmann, 1994), como neste estudo de plantas de café expostas ao excesso de ferro nas folhas que sofreram alterações fisiológicas e queda da fotossíntese.

Pereira e colaboradores (2013), trabalhando com variedades de arroz, verificaram que concentrações a partir de 4,0 mM de Fe-EDTA em solução hidropônica promoveram redução no teor de clorofila e diminuição acentuada da fotossíntese líquida que foi atribuída a uma limitação estomática avaliada pelos baixos valores de g_s e a relação C_i/C_a nesta concentração e, que concentrações

acima 4,0 mM de Fe-EDTA resultaram num aumento da concentração interna de CO₂, neste caso atribuído a limitações não-estomáticas. Neste estudo, realizado com *C. arabica* e *C. canephora* também observamos uma redução no teor de clorofila e da fotossíntese líquida (*A*) das duas espécies de café. Também nas duas espécies de café a *g_s* sofreu redução e a relação Ci/Ca teve aumentos significativos e crescentes nas duas espécies, com exceção da concentração de 3,90 mM em *C. canephora* que sofreu pequena redução (Figura 5); o que também neste caso para as espécies de café é atribuído a limitações estomáticas e não-estomáticas. Como *C. arabica* teve menor taxa fotossintética líquida, maior relação Ci/Ca e menor rendimento quântico do PSII, conseqüentemente, sofreu mais as limitações estomáticas e não-estomáticas do que *C. canephora*.

Tendo em vista que o ferro é transportado via xilema para as folhas mais novas, quando a condutância diminui também ocorre uma diminuição da transpiração (*E*), o que pode explicar como mecanismo de defesa das plantas para diminuir a absorção de ferro e, assim, os sintomas de toxidez nas folhas mais novas, ou seja, as limitações estomáticas. Conforme Dufey (2009), isso pode indicar que os estômatos se fecham para proteção do estresse provocado pelo excesso de ferro, apesar de já aparecerem os sintomas de toxidez. O fechamento dos estômatos pode levar ao estresse oxidativo, o que afeta a cadeia transportadora de elétrons e assim diminuindo a atividade do PSII pela menor atividade fotossintética pelos efeitos não-estomáticos (Figura 5), diminuindo a taxa de crescimento e a altura das plantas (Tabela 1) e ainda provocando diminuição da área foliar e aumento da área necrosada tanto em *C. arabica* como em *C. canephora* (Figura 3).

Existe uma relação direta entre a abertura estomática e taxa fotossintética líquida (Campostrini & Yamanishi, 2001); mas apesar da disponibilidade de CO₂ dado pela relação Ci/Ca (Figura 5) ocorreu uma redução drástica na assimilação de carbono por meio da redução na condutância estomática (efeitos estomáticos) o que provavelmente limitou a reação de carboxilação da Rubisco no mesófilo foliar (Farquhar & Sharkey, 1982) com uma diminuição na assimilação fotossintética do carbono (El-Sharkawy et al., 1985; Monteith, 1995) das plantas de ambas espécies de café sob estresse provocado pelo excesso de ferro, que pode ser explicado pela redução de *A* e da relação F_v/F_m caracterizando os efeitos não estomáticos.

Pell et al. (1994) relatou que o aparato fotossintético pode ser influenciado provocando danos nos estômatos, no conteúdo de clorofila, na capacidade de

captação de luz e na etapa bioquímica da fixação de CO₂ pelas plantas, como também ficou comprovado nas duas espécies de café. A quantidade de ferro absorvido e transportado para a parte aérea promoveu uma necrose severa, que culminou com danos nas estruturas celulares, o que alterou as moléculas de clorofila devido à ação das espécies reativas de oxigênio (EROs) (Becana & Moran, 1998; Gallego, et al., 1996; Sinha, et al., 1997), afetando também os complexos protéicos da cadeia transportadora de elétrons e diminuiu a capacidade de fixação de carbono nos cloroplastos (Gallego, et al., 1996). Além da diminuição na fotossíntese, ocorreu também redução da condutância estomática e da transpiração das plantas nas duas espécies. A relação Ci/Ca aumentou significativamente nas maiores concentrações de ferro tanto para *C. arabica* quanto para *C. canephora*, o que provocou uma diminuição da produção da etapa bioquímica da fotossíntese, pela redução da taxa de transporte de elétrons.

Estudo recente revela que em resposta a exposição com metais, a regulação da taxa de assimilação de CO₂ foi relacionada com a atividade da Rubisco e que a diminuição na fotossíntese foi reflexo de uma regulação específica de certos metais sobre esta enzima (Galmés et al., 2013). Segundo Moller et al (2007), a fragmentação da maior subunidade da Rubisco foi estimulada pelo tratamento com Fe e suprimida por um quelante de ferro específico (deferoxamina), indicando um papel importante de íons Fe livres na geração de ROS nas folhas. Os resultados indicam que a formação *in situ* de HO• via a reação de Fenton entre Fe e H₂O₂ em vivo favoreça a fragmentação da maior subunidade de Rubisco (Moller et al., 2007).

O acúmulo excessivo de Fe nas folhas causa estresse oxidativo severo, principalmente do radical hidroxil (*OH) através da reação de Fenton (Hendry & Brocklebank, 1985; Becana et al., 1998), pela utilização do Fe²⁺, que produz excesso de radicais livres e provoca danos nas membranas e na estrutura das células num processo irreversível (Kobayashi & Nishizawa, 2012). O Fe²⁺ reage com as formas reduzidas de oxigênio, o que faz acelerar a produção de espécies de radicais livres, que além de serem tóxicas, danificam os componentes celulares (Briat e Lobréaux, 1997; Silveira et al, 2007). Porém, experimentos têm demonstrado que enzimas antioxidantes como a SOD são capazes de decompor estes radicais e disparar o processo de defesa das células. Os radicais hidroxil que são formados a partir do peróxido de hidrogênio promovem reações de oxidação dos componentes celulares, como a peroxidação dos lipídeos das membranas (Fang, et al., 2000). Neste estudo também ficou comprovada a redução significativa e progressiva da SOD a partir da

concentração de 0,95 mM Fe-EDTA na solução nutritiva de ambas espécies de café estudadas (dados não publicados).

Price & Hendry (1991) verificaram que excesso de ferro provoca a peroxidação de lipídios e extravasamento de eletrólitos, o que pode destruir as moléculas de clorofila. Neste estudo, os resultados mostraram redução significativa do conteúdo de clorofila *a* à medida que aumentou a concentração de ferro na solução nutritiva tanto para *C. arabica* quanto para *C. canephora*; porém *C. canephora* se mostrou mais sensível e teve uma redução maior no conteúdo de clorofila. Fan & Wang (2000) também verificaram reduções no conteúdo de clorofila em espécies lenhosas quando foram expostas a chuva ácida e em pH baixo, o que provoca diminuição de nutrientes como o magnésio, nutriente importante no processo fotossintético das plantas. Menor conteúdo de clorofila predispõe as plantas ao maior ataque de espécies reativas de oxigênio como consequência do estresse oxidativo produzido pelo excesso de íons Fe^{2+} livres na solução (Gallego et al., 1996; Sinha et al., 1997). Ou seja, plantas de *C. arabica* e *C. canephora* expostas a ferro em excesso tiveram queda na taxa fotossintética possivelmente causada pela produção e acúmulo de radicais livres durante o transporte de elétrons nos cloroplastos.

Plantas que translocaram mais ferro para as folhas mostraram diminuição na condutância estomática, cujos mecanismos ainda não são bem conhecidos. Porém acredita-se que Fe^{2+} livre na solução e em excesso nas células afetam os estômatos, podendo destruir sua estrutura e modificar o seu funcionamento. Silva (2006), trabalhando com *Eugenia uniflora*, observou que os estômatos das plantas tratadas com chuva ácida tiveram mudanças que comprometeram a fotossíntese, ocorrendo rompimento das criptas estomáticas e aparecimento de células guarda flácidas. Zocchi & Cocucci, (1990), acham que a alteração dos movimentos estomáticos seria devido a inibição da H^+ -ATPase das membranas celulares, como consequência do efeito da despolarização provocado pelo excesso de íons Fe^{2+} . A inibição H^+ -ATPase das membranas estomáticas impede o transporte de H^+ para fora das células guardas e impede a abertura do canal de K^+ , os quais interferem diretamente na abertura estomática.

5. CONCLUSÕES

O tratamento com altas concentrações de Fe-EDTA resultou em elevados níveis de Fe nas raízes e na parte aérea de plantas de *C. arabica* e *C. canephora*, sendo que em *C. arabica* a translocação de Fe foi significativamente superior.

O excesso de Fe na planta afetou os parâmetros de crescimento, nutrição e ecofisiologia de *C. arabica* e *C. canephora* a partir da concentração de 1,9 mM de Fe-EDTA. Os resultados mostraram que em termos ecofisiológicos e nutricionais, as espécies de *C. arabica* e *C. canephora* apresentam respostas diferentes quando expostas a elevadas concentrações de Fe.

Estudos são necessários para avaliar as bases moleculares e da sinalização por íons Fe em plantas de café crescendo em ambientes com elevadas concentrações de Fe disponível.

6. REFERÊNCIAS

- Abraham, M.J.; Pandey, D.K. (1989): Performance of selected varieties and advanced generation genotypes in rainfed lowland iron-toxic soil. *Int. Rice Res. Newsl.* 14, 21–21.
- Abu, M. B., Tucker, E. S., Harding, S. S., Sesay, J. S. (1989): Cultural practices to reduce iron toxicity in rice. *Int. Rice Res. Newsl.* 14, 19–19.
- Becana, M.; Moran, J.F. (1998). Iron-dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection, 137–147.
- Becker, M.; Asch, F. (2005). Iron toxicity in rice—conditions and management concepts. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168(4), 558–573.
- Bou-Abdallah, F. (2010). The iron redox and hydrolysis chemistry of the ferritins. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1800 719-731.
- Briat, J.F.; Duc, C.; Ravet, K.; Gaymard, F. (2010). Ferritins and iron storage in plants. *Biochimica et Biophysica Acta.* V. 1800, 806-814 p.
- Briat, J.F.; Lobréaux, S. (1997). Iron transport and storage in plants. *Trends in Plant Science* 2, 187-193.
- Campostrini, E., Yamanishi, O.K. (2001). Influence of mechanical root restriction on gas-exchange of four papaya genotypes. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 13 (2):129-138.
- Curie, C.; Briat, J.F. (2003). Iron transport and signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 54, 183–206.
- Dobermann, T. Fairhurst, T. (200). *Rice: Nutrient Disorders & Nutrient Management*, Potash and Phosphate Institute, Potash and Phosphate Institute of Canada, and International Rice Research Institute, Singapore.
- Donnini, S.; Guidi, L.; Degl'Innocenti, E.; Zocchi, G. (2013). Image changes in chlorophyll fluorescence of cucumber leaves in response to iron deficiency and resupply. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*.
- Dorlodot, S.; Lutts, S.; Bertin, P. (2005). Effects of ferrous iron toxicity on the growth and mineral composition of an interspecific rice, *J. Plant Nutr.* 28 p. 1–20.
- Dufey, I.; Hakizimana, P.; Draye, X.; Lutts, S.; Bertin, P. (2009). QTL mapping for biomass and physiological parameters linked to resistance mechanisms to ferrous iron toxicity in rice, *Euphytica.* 167 p. 143–160.

- El-Sharkawy, M. A.; Cock, M. J. H.; Hernandez, A. D. P. (1985). Stomatal response to air humidity and its relation to stomatal density in a wide range of warm climate species. *Photosynthesis research*, 7:137-149.
- Epstein, E.; Bloom, A.J. *Mineral nutrition of plants: principles and perspectives*. 2.ed. Sunderland, Sinauer Associates, 2005. 380p.
- Fageria, N.K.; Santos, A.B.; Barbosa Filho, M.P.; Guimaraes, C.M. (2008). Iron toxicity in lowland rice. *Journal of Plant Nutrition* 31, 1676-1697.
- Farquhar, G. D., Sharkey, T. D. (1982). Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*, 33:317-345.
- Fang, W.; Wang, J.; Lin, C.C.; Kao, C.H. (2000). Iron induction of lipid peroxidation and effects on antioxidative enzyme activities in rice leaves, 75–80.
- Foy, C.D.; Chaney, R.L.; White, M.C. (1978). The physiology of metal toxicity in plants. *Annual Review of Plant Physiology* 29, 531-535.
- Galmés, J.; Aranjuelo, I.; Medrano. H.; Flexas, J. (2013). Variation in Rubisco content and activity under variable climatic factors. *Photosynthesis Research*.
- Gallego, S.M.; Benavides, M.P.; Tomaro, M.L. (1996). Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress. *Plant Science*, 121(2), 151–159.
- Grantz, D.A.; Garner, J.H.B.; Johnson, D.W. (2003). Ecological effects of particulate matter. *Environment International*, 29(1), 213-239.
- Hansel, C.M.; Fendorf, S.; Sutton, S.; Newville, M. (2001). Characterization of Fe plaque and associated metals on the roots of mine-waste impact aquatic plants. *Environmental Science and Technology*, 35, 3863-3868.
- Hoagland, D. R.; Arnon, D. I. (1938). The method for growing plants without soil: water-culture. Berkeley: Univ. of California. Circular of the Agricultural Experimentation Station, 347, 32p.
- Hendry, G. A. F.; Brocklebank, K. J. (1985). Iron-induced oxygen radical metabolism in waterlogged plants. *New Phytology*, 101: 199-206.
- Inoue, M. T.; Reissmann, C. B. (1994). Efeitos da poluição na fotossíntese, dimensões da folha, deposição de particulados e conteúdo de ferro e cobre em alfeneiro (*Ligustrum lucidum*) da arborização de Curitiba, PR. *Floresta*, 21: 3-11.
- Kim, S.A.; Guerinot, M.L. (2007). Mining iron: iron uptake and transport in plants. *FEBS Letters*, 581(12), 2273–80.
- Kim, C. S., Jung, J. (1993). The susceptibility of mung bean chloroplasts to photoinhibition is increased by an excess supply of iron to plants: a

- photobiological aspect of iron toxicity in plants leave. *Photochemistry and Photobiology*, 58: 120-126.
- Kirk, G. J. D. (2004). *The biogeochemistry of submerged soils*. John Wiley & Sons, Chichester, UK., p. 291.
- Klumpp, A.; Klumpp, G.; Ansel, W. Urban air quality in Europe – results of three years of standardized biomonitoring studies. Pp: 25-50. In: A. Klumpp; W. Ansel.; G. Klumpp (eds.). *Urban air pollution, bioindication and environmental awareness*. Göttingen, Cuvillier Verlag (2004).
- Kobayashi, T.; Nishizawa, N.K. (2012). Iron uptake translocation, and regulation in higher plants, *Annu. Rev. Plant Biol.* 63. 131–152.
- Kuki, K.N.; Cano, M.A.O.; Pereira, E.G.; Costa, A.C.; Cambraia, J. (2008a). Iron or industry emissions as a potential ecological risk factor for tropical coastal vegetation. *Environ Manage.* 42: 111-121.
- Lantin, R. S.; Neue, H. U. (1989). Iron toxicity: a nutritional disorder in wetland rice. 17th Irrigated Rice Meeting. Brazil. 26–30 Sep. 1989. *Lavoura-Arrozeira* 42, 3–8.
- Moller, M.I.; Jensen, P.E.; Hansson, A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu Rev Plant Biol.* 58:459–481.
- Monteith, J. L. (1995). A reinterpretation of stomatal response to humidity. *Plant, Cell and environment*, 18:357-364.
- Ottow, J. C. G.; Benckiser, G.; Watanabe, I. (1982). Iron toxicity of rice as a multiple nutritional soil stress, in *Proc. Int. Symp. on Distribution, Characteristics and Utilization of Problem Soils*. Tropical Agriculture Research Center, Ibaraki, pp. 167–179.
- Ottow, J. C. G.; Benckiser, G.; Watanabe, I.; Santiago, S. (1983). Multiple nutritional soil stress as the prerequisite for iron toxicity of wetland rice (*Oryza sativa* L.), *Trop. Agric.* 60:102–106.
- Pell, E.J.; Eckardt, N.A.; Glick, R.E. (1994) Biochemical and molecular basis for impairment of photosynthetic potential. *Photosynth Res* 39:453–462.
- PEREIRA, E. G.; OLIVA, M. A.; ROSADO-SOUZA, L.; MENDES, G. C.; COLARES, D. S.; STOPATO, C. H.; ALMEIDA, A. M. Iron excess affects Rice photosynthesis through stomatal and non-stomatal limitations. *Plant Science*. 201-202, 81-92, 2013.
- Pereira, E. G.; Oliva, M. A.; Siqueira-Silva, A. I.; Rosado-Souza, L. Pinheiro, D. T.; Almeida, A. M. (2013). Tropical rice cultivars from lowland and upland cropping systems differ in iron plaque formation, *J. of Plant Nutr.*, in press.

- Peters, J.B. (2005). *Wisconsin Procedures for Soil Testing, Plant Analysis and Feed & Forage Analysis: Plant Analysis*. Department of Soil Science, College of Agriculture and Life Sciences, University of Wisconsin-Extension, Madison, W.I. Disponível em: <http://uwlab.soils.wisc.edu/files/procedures/plant_icp.pdf> Acesso em: 20/02/2014.
- Ponnamperuma, F. N.; Tianco, E. M.; Loy, T. (1967). Redox equilibria in flooded soils: The iron hydroxide systems. *Soil Sci.* 103, 374–382.
- Price, A. H, Hendry, G. A. F. (1991). Iron-catalyzed oxygen radical formation and its possible contribution to drought damage in nine native grasses and three cereals. *Plant Cell Environmental*, 14: 477-484.
- Sahrawat, K. L. (2004). Iron toxicity in wetland rice and the role of other nutrients. *Journal of Plant Nutrition* 27, 1471-1504.
- Silva, L. C.; Oliva, M. A.; Azevedo, A. A.; Araújo, J. M. (2006). 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.
- Silveira, V.C.; Oliveira, A.P.; Sperotto, R.A.; Amaral, L.; Dias, J.F.; Cunha, J.B.; Fett, J.P. (2007). Influence of iron on mineral status of two Rice (*Oryza sativa* L.). cultivars. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 19: 127-139.
- Sinha, S.; Gupta, M.; Chandra, P. (1997). Oxidative stress induced by iron in *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle: response of antioxidants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 38(3), 286–91.
- Suh, H.; Kim, C.S.; Lee, J.; Jung, J. (2002). Photodynamic effect of iron excess on photosystem II function in pea plants. *Photochem Photobiol.* 75:513–8.
- Thipyapong, P.; Melkonian, J.; Wolfe, D.W.; Steffens, J.C. (2004). Suppression of Polyphenol Oxidases Increases Stress Tolerance in Tomato. *Plant Sci.* 167, 693-703.
- Zocchi, G.; Cocucci S.M. (1990). Fe uptake mechanism in Fe-efficient cucumber roots. *Plant Physiology*, 92: 908–911.
- Walker, E.L.; Connolly, E.L. (2008). Time to pump iron: iron- deficiency-signaling mechanisms of higher plants. *Current Opinion in Plant Biology*. 11, 530–535.

CAPÍTULO III

Níveis tóxicos de ferro em lavouras de café conilon (*Coffea canephora* L.) em solos de tabuleiros costeiros

KROHLING, Cesar Abel. Universidade Vila Velha - ES, novembro de 2014. **Níveis tóxicos de ferro em lavouras de café conilon (*Coffea canephora* L.) em solos de tabuleiros costeiros.** Orientador: Dr. Alessandro Coutinho Ramos.

RESUMO

O Espírito Santo é o maior produtor de café conilon do Brasil, sendo que neste estado, maior estado produtor desta espécie, parte dos plantios se concentra nos solos dos tabuleiros costeiros. Nesses solos ocorre um ambiente com potencial de oxi-redução, que transforma Fe^{3+} em formas reduzidas (Fe^{2+}), que são mais solúveis e que podem causar efeitos diretos e indiretos no crescimento, desenvolvimento e produtividade. O objetivo do estudo foi avaliar os impactos da concentração de ferro nos tecidos vegetais e a produtividade de lavouras de café conilon (*C. canephora* L.) cultivadas nos solos dos tabuleiros costeiros do estado do Espírito Santo. O estudo foi realizado em 03 propriedades produtoras de café conilon localizadas no Sul do ES, sendo 03 áreas em ambiente de baixada e 03 áreas em ambiente de encosta para comparar a influência dos locais. Foram avaliadas a composição físico-química dos solos, a concentração dos nutrientes em raízes, caules, folhas, grãos e casca das plantas e a produtividade em duas safras. Os resultados mostraram que a concentração de ferro em todos os órgãos avaliados foi maior nas lavouras de baixada e que a produtividade foi significativamente maior nas lavouras de encosta. Conclui-se que a alta concentração de ferro no solo e nos órgãos vegetais avaliados das lavouras de baixada pode estar influenciando negativamente na produtividade das lavouras.

Palavras chave: produtividade, desenvolvimento vegetal, hidromorfismo, físicoquímica

1.INTRODUÇÃO

O relevo plano como o verificado nas regiões dos Tabuleiros Costeiros do Bioma Mata Atlântica (Lani et al., 2008) e as temperaturas favoráveis ao plantio do café conilon (*C. canephora* Pierre ex Froehner) fazem do Espírito Santo o maior produtor de café conilon do Brasil, com uma produção estimada de 9,35 milhões de sacas na safra de 2014 (CONAB, 2014). Os Tabuleiros Costeiros ocorrem em planícies fluviais e em altitudes baixas, próximo ao litoral; os solos são do tipo Latossolos Amarelos e/ou Argissolos (Sobral et al., 2009), pobres em nutrientes com presença de muito material orgânico oriundo de altitudes mais elevadas (EMBRAPA, 2013).

Nesses solos, as zonas coesas impõem restrição ao crescimento e desenvolvimento das raízes o que reduz a profundidade efetiva do solo, além da formação de zonas temporárias de encharcamento na estação chuvosa e de ressecamento na estação seca (Cintra & Libardi, 1998). Apesar destas adversidades, é importante destacar que estes solos têm importância na produção agrícola como coco, caju, mamão, abacaxi, cacau, mandioca, cana-de-açúcar (Souza & Souza, 2014). Associado a estes cultivos, o café conilon no estado do Espírito Santo é intensamente cultivado. Nesses ambientes, partes do relevo tem condições anaeróbicas (ambientes hidromórficos), o que pode provocar a falta de oxigênio, acarretando em um maior acúmulo de matéria orgânica, o que favorece um ambiente de baixo potencial de oxi-redução. A absorção em excesso de Fe^{2+} pode levar até os sintomas de toxidez (Jacomine, 2001; Rezende et al., 2002), sendo que nestes ambientes oxi-redução é propício para transformar Fe^{3+} em formas reduzidas (Fe^{2+}), as quais são mais solúveis, ou seja, disponíveis para serem absorvidos pelas plantas.

Como o ferro é um nutriente mineral limitante para a produtividade das plantas e para a produção de biomassa como um todo (Briat et al., 2010), a homeostase do ferro é extremamente importante e depende da espécie ou do genótipo vegetal, do local (tipo de solo), época do ano, idade do vegetal e ainda conforme o órgão ou tecido da planta (Buchanan, 2000). Por isso, o equilíbrio do Fe deve ser rigorosamente controlado, pois tanto a deficiência como a toxicidade afetam o metabolismo vegetal (Pereira et al., 2013), e assim o desenvolvimento e crescimento das plantas (Kuki et al., 2008a; Kuki, et al., 2008b; Briat et al., 2010). Nos ecossistemas, o excesso de Fe pode alterar a ciclagem de nutrientes, provocar a redução do crescimento, da floração e da frutificação (Grantz et al., 2003). Nos

vegetais, os danos causados pela toxicidade do Fe podem ser diretos, por meio da absorção e acúmulo excessivo do nutriente, ou indiretos, quando altos teores de Fe na solução do solo resultam na precipitação sobre as raízes, formando uma crosta de óxido férrico, que altera a absorção de outros nutrientes como P, K e Zn (Hansel, *et al.*, 2001).

Nas plantas, o Fe é necessário na manutenção de processos essenciais a vida como a respiração e a fotossíntese, onde participa de transferência de elétrons por meio de reações redox reversíveis e nas conversões entre Fe^{2+} e Fe^{3+} (Kim & Guerinot, 2007). Em condições aeróbicas no solo, o Fe está presente na forma de óxidos e hidróxidos que são muito insolúveis ou na forma de quelatos orgânicos na forma de íon férrico (Fe^{3+}). Portanto, a concentração de Fe na solução do solo é muito baixa na maioria dos solos e, conseqüentemente, as plantas desenvolveram mecanismos para mobilizá-lo e permitir a absorção deste nutriente pelas raízes (Epstein & Bloom, 2005).

Poucos são os estudos sobre o estresse provocado pelo excesso de Fe em espécies vegetais como é o caso do café, e em especial em solos sujeitos à hipoxia/anoxia e submetidos ao estresse provocado pelo excesso de Fe. Em indivíduos adultos, tal exposição pode afetar os processos metabólicos, resultando numa menor produtividade e vigor, necessários ao crescimento e a ocorrência das fenofases da cultura (Thompson *et al.*, 1984). Neste sentido, o objetivo do estudo foi avaliar os impactos da concentração de ferro nos tecidos vegetais (raízes, caules, folhas, grãos e cascas), na floração e na produtividade de lavouras de café conilon clonal (*C. canephora* L.) cultivadas na Região dos Tabuleiros Costeiros do estado do Espírito Santo em ambientes de baixada e encosta.

2.MATERIAL E MÉTODOS

Descrição das áreas de estudo

O estudo foi realizado em três propriedades produtoras de café conilon localizadas no Sul do estado do Espírito Santo (Figura 1). Os solos das áreas de estudo são do tipo Argissolo (Embrapa, 2013) (Tabela 1) e o clima é tropical com estação seca de inverno e chuvas de verão, segundo a classificação de Köppen. As características do clima, conforme a estação meteorológica do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER) do município de Alfredo Chaves, coordenadas: Lat: 20,6364 S, Lon: 40,7414 W e altitude de 35 m são: a temperatura

(°C) média de 2013 e 2014 foi de 23,8 e 23,5; a mínima de 16,9 e 17,3 e a máxima de 33,8 e 33,8, respectivamente. A umidade relativa média de 2013 e 2014 foi de 73,7 e 69,6%, respectivamente e a precipitação (mm) foi de 2007,6 e 993,2, respectivamente.

Para as 6 áreas (3 de ambiente de baixada e 3 de ambiente de encosta) o espaçamento foi o mesmo (2,5x1,5 m). Para as avaliações foram delimitados 4 blocos ao acaso com 4 repetições de 10 plantas para todas as lavouras de café conilon variedade G35, sendo avaliadas somente as 8 plantas centrais. Os tratamentos culturais das lavouras durante os dois anos do estudo foram podas anuais para a retirada de ramos ladrões; uma adubação com 20-05-20 e duas adubações com 20-00-20 conforme a produtividade esperada das lavouras, de acordo com recomendação (Prezotti et al., 2007); uma capina manual e duas capinas químicas com o ativo Glyphosate na dose de 1,0 L/ha do produto comercial. Não foi aplicado irrigação, micronutrientes, inseticidas ou fungicidas durante os 2 anos do estudo.

Tabela 1. Características dos três municípios e dos locais do estudo com as coordenadas, altitude, espaçamentos, idade das lavouras, de café conilon variedade G35 e características granulométrica e da classificação textural dos solos da baixada e encosta dos três municípios dos locais do estudo.

		1- Anchieta (Rio Joeba)	2-Iconha (Cor. Jaracatiá)	3- Rio Novo do Sul (Ribeirão S. Francisco)
Coordenadas	x	315698,4	314176,1	304187,9
	y	7711952,6	7700284,2	7693892,5
Altitude (m)	Baixada	15	13	12
	Encosta	27	26	27
Espaçamento (m)		2,5 x 1,5	2,5 x 1,5	2,5 x 1,5
Idade lavoura (anos)		13	10	11
Areia (%)	Baixada	41,6	46,7	56,9
	Encosta	58,8	59,1	58,5
Silte (%)	Baixada	23	29,9	15,7
	Encosta	10,8	9,5	8,1
Argila (%)	Baixada	35,4	23,4	27,4
	Encosta	30,4	31,4	33,4
Classificação Textural	Baixada	Argilosa	Média	Média
	Encosta	Média	Média	Média

Determinação dos atributos físico-químicos do solo

As amostras de solo foram coletadas na camada de 0-20 cm dentro da projeção dos ramos da planta. Cada amostra foi composta (repetição) de 10 sub-amostras de cada parcela. Para as 06 lavouras de café conilon do Sul (3 de Baixada e 3 de Encosta) foram avaliadas as características granulométricas e químicas dos solos (Embrapa, 1997). As análises químicas do solo foram: pH, potássio (K), fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg), alumínio (Al), alumínio (Al) enxofre (S), boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn), Matéria Orgânica (MO).

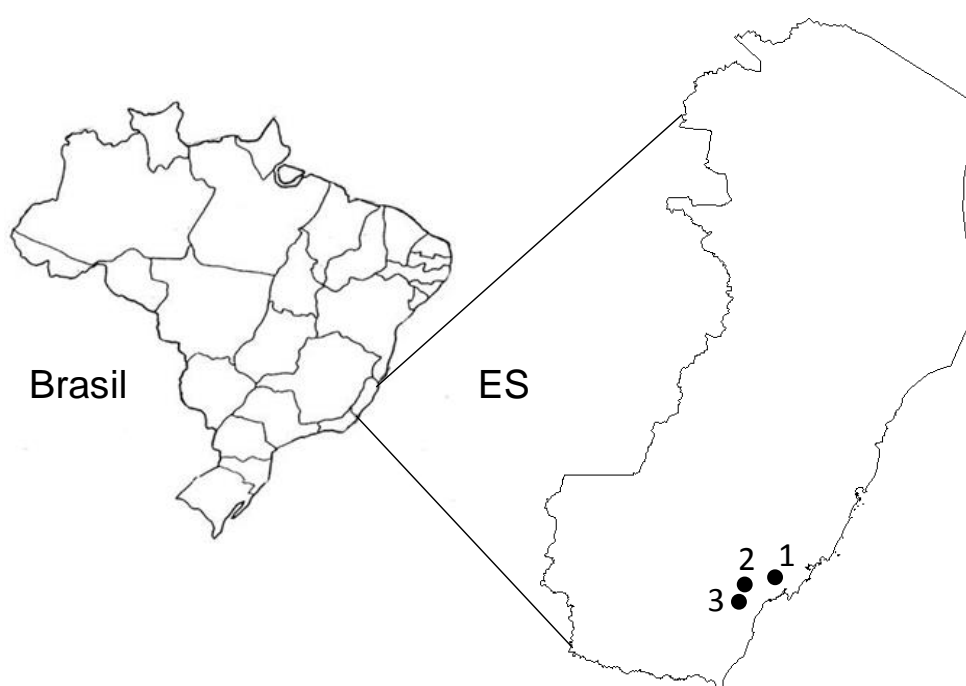


Figura 1. Mapa do estado do Espírito Santo com a localização dos 3 locais do estudo: 1-Anchieta, 2- Iconha e 3- Rio Novo do Sul.

Composição mineral de raízes, caules e folhas

As amostras de raízes, caules e folhas foram coletadas em período de inverno e verão na safra de 2013 e 2014 e os frutos nas safras de 2013 e 2014 no inverno. Foram coletados o 3º e 4º pares de folhas de ramos produtivos do terço médio da planta e os caules foram os ramos onde se coletaram as folhas. Após a coleta, raízes, folhas, caules frescos foram secadas em estufa de circulação forçada, durante 48 horas a 60-70 °C. Os grãos foram secados ao sol até atingirem 12% de

umidade. Depois, raízes, ramos, folhas, grãos e cascas foram moídas para a análise da composição mineral que foi realizada utilizando metodologia de Tedesco et al., (1995) e os teores de nutrientes foi determinado em mg.kg^{-1} dos seguintes elementos: N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn e Zn.

Fenologia e produtividade das plantas

Nas plantas no campo, foram analisadas o Número de Frutos Totais/Ramo (NFT); Número de Frutos Médios/Roseta (NFMR) e o Número de Rosetas (NR) em 40 plantas, para caracterizar o vingamento da floração. Para a avaliação da produtividade (sacas beneficiadas/hectare) da lavoura foi realizada a colheita manual nas 08 plantas/parcela nas 04 repetições nas safras de 2013 e 2014. Amostras médias de 2,0 kg/parcela foram retiradas, secadas ao sol até a umidade de 12% e após foram beneficiadas e transformadas em sacas/hectare de acordo com o rendimento das parcelas.

Análise estatística dos dados

Para a análise dos dados da concentração dos nutrientes nas raízes, caules e folhas das plantas das lavouras de café conilon da baixada e encosta, assim como, a composição mineral dos solos das áreas de café conilon da baixada e da encosta, da baixada natural, do pasto e da mata, foi utilizada a Análise de Componentes Principais (PCA).

O Teste t foi usado para comparação das médias dos ambientes (baixada e encosta) entre a produtividade, o Número de Frutos Totais (NFT), o Número de Frutos Médios/Roseta (NFMR) e o Número de Rosetas (NR) pelo programa Statistica 12.

3. RESULTADOS

Concentração de nutrientes nos órgãos vegetais de *C. canephora* em ambientes de baixada e encosta

Com a Análise dos Componentes Principais (PCA) procurou-se resumir os nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn, Zn) em variáveis compostas, tornando mais simples a avaliação do acúmulo dos nutrientes em função do órgão vegetal. Os dois eixos (variáveis compostas) das variáveis dos nutrientes explicaram 68,24% e 73,78 da variabilidade dos dados de café conilon da baixada e da encosta, respectivamente (Figura 2).

A PCA mostrou que nas plantas de café conilon cultivadas na baixada (Figura 2A) houve uma maior concentração dos nutrientes Fe, Zn, Cu, Mn e S no sistema radicular. Nas plantas da baixada houve uma diminuição dos níveis de N nas folhas. Houve também uma maior concentração de Mg, Ca e B nas folhas. O K acumulou mais nos grãos e na casca dos frutos e o P acumulou mais nos caules (ramos plagiotrópicos) das plantas de café conilon. Os dois eixos (variáveis compostas) foram significativos e explicaram 68,24% da variabilidade dos dados (Figura 2A e Tabela 2).

Para as plantas de café conilon cultivadas em ambiente de encosta observamos pela análise da PCA que os elementos minerais Zn e Fe também se concentraram nas raízes das plantas. Um outro grupo de nutrientes: Mg, Mn, Cu, S, Ca, P, N e B se concentrou nas folhas e somente o K predominou nos grãos e na casca do café. Os dois eixos (variáveis compostas) explicaram 73,78% da variabilidade dos dados (Figura 2B e Tabela 2).

Quando compararmos os dois ambientes estudados, verificamos que café conilon cultivado na baixada teve 53,4%, 71,6%, 25,9%, 213,0% e 48,2% maior acúmulo de ferro do que café conilon cultivado na encosta para raízes, folhas, caules, grãos e cascas, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Acúmulo médio dos nutrientes nos órgãos vegetais (raiz, folha, caule, grão e casca) dos anos de 2013 e 2014 em lavouras de café conilon variedade G35 de baixada e encosta dos municípios de Anchieta, Iconha e Rio Novo do Sul, ES. n=8.

Órgão Vegetal	Local	g.kg ⁻¹						mg.kg ⁻¹				
		N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
Raiz	Baixada	17,4	1,1	8,4	8,3	5,1	2,8	7684	24,3	78	89,7	25,7
	Encosta	16,8	1,1	9	9,5	5	2,9	5008	29,3	86,3	72,7	25,1
Folha	Baixada	20,8	1,3	8,2	23,4	5,3	2,3	166	16,7	15	40,7	94,5
	Encosta	20,8	1,2	12,1	19,4	4	2,2	96,7	23	13	51,7	82,3
Caule	Baixada	15,1	0,7	7,7	13,1	2,6	1,2	16	17,3	26,7	17,3	37
	Encosta	12,8	0,2	9,1	11,7	1,9	1,1	12,7	10	23,3	12,7	30,8
Grão	Baixada	22,9	1,2	19,7	3,6	2,1	2	51,2	20,5	15,9	23,8	36,5
	Encosta	21,4	1,1	19,5	3,4	1,7	1,9	24	12,1	7,3	17,7	37,9
Casca	Baixada	10,3	1,5	13,6	5,2	1,3	1,9	113,8	9,9	7,1	40	45
	Encosta	11,2	1,5	14,5	4,6	1,2	2	76,8	11,5	8,3	33,5	41,1

O teste “t” a 1,0% na tabela 3, mostra que ocorreu diferença significativa entre a relação do Ferro com todos os nutrientes entre os ambientes de cultivo avaliados tanto em folhas como em raízes, sendo que ambas as lavouras foram adubadas com o mesmo formulado e de acordo com a produtividade esperada de cada ano. A relação do Ferro nas folhas e raízes com os demais nutrientes foi maior nas lavouras de café conilon de baixada para todos os nutrientes avaliados, o que mostra que nestes ambientes com forte processo de oxi-redução a disponibilidade do Fe²⁺ é grande; assim como a sua absorção pelas plantas.

Tabela 3. Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (CV) da relação do Ferro com macro e micronutrientes em folhas e raízes de lavouras de café conilon variedade G35 de ambientes de baixada e encosta, e a verificação da diferença entre elas pelo teste “t” de Student.

Órgão vegetal	Relação	Lavoura						Teste t
		Baixada			Encosta			
		Média	Desvio padrão	CV	Média	Desvio padrão	CV	
Folha	Fe/N	8,0	0,7	8,8	4,7	0,3	5,8	*
	Fe/P	128,9	6,8	5,3	81,0	4,1	5,1	*
	Fe/K	20,4	1,6	7,9	8,0	0,4	5,1	*
	Fe/Ca	7,1	0,6	8,9	5,0	0,4	7,4	*
	Fe/Mg	31,1	1,7	5,4	24,1	1,6	6,4	*
	Fe/S	72,8	5,7	7,8	42,9	2,0	4,7	*
	Fe/B	1,8	0,2	12,4	1,2	0,1	10,2	*
	Fe/Cu	10,1	1,3	12,4	4,2	0,4	8,3	*
	Fe/Mn	4,1	0,6	13,3	1,9	0,2	9,0	*
Fe/Zn	11,2	1,1	10,0	7,5	0,5	6,8	*	
Raiz	Fe/N	446,9	65,1	14,6	309,9	43,5	14,0	*
	Fe/P	7050,4	1057,3	15,0	4516,8	1053,1	23,3	*
	Fe/K	918,9	128,1	13,9	597,6	198,3	33,2	*
	Fe/Ca	949,5	175,8	18,5	540,1	132,3	24,5	*
	Fe/Mg	1512,0	123,8	8,2	1023,4	138,3	13,5	*
	Fe/S	2798,3	527,8	18,9	1738,6	224,6	12,9	*
	Fe/B	321,0	40,5	12,6	173,3	25,2	14,5	*
	Fe/Cu	95,0	7,8	8,2	58,3	5,3	9,1	*
	Fe/Mn	85,8	5,8	6,8	69,1	4,0	5,8	*
Fe/Zn	320,6	60,3	18,8	202,9	39,2	19,3	*	

*Significativo 1,0%.

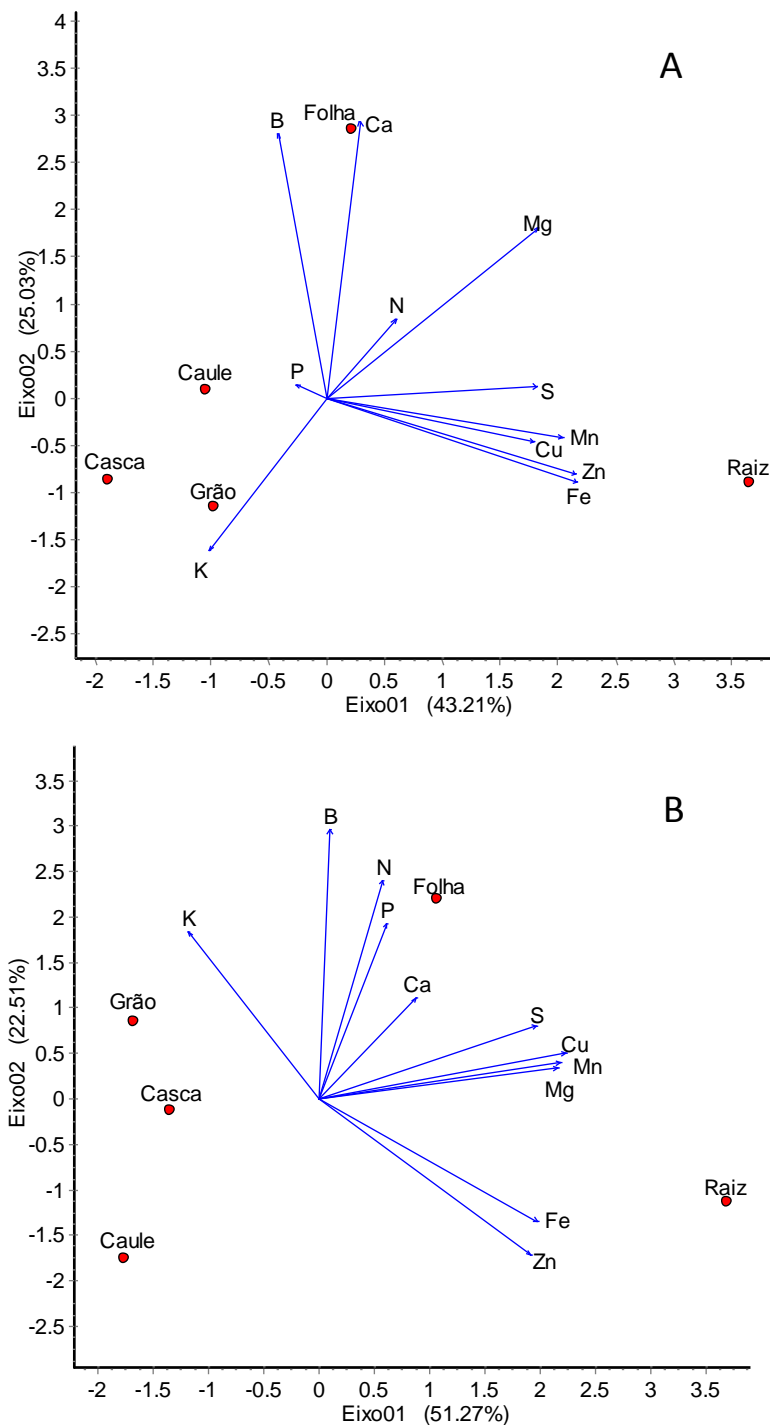


Figura 2. Disposição vetorial das variáveis dos nutrientes: Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Enxofre (S) em dag.Kg⁻¹ e Boro (B), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Zinco (Zn), Manganês (Mn) em mg.Kg⁻¹ de acordo com os dois componentes principais da PCA; e distribuição dos resultados das amostras em relação aos componentes quanto ao órgão vegetal analisado: raiz, ramo, folha, casca e grão em lavouras de café conilon variedade G35 em 2013 e 2014 nos municípios de Anchieta, Iconha e Rio Novo do Sul nos ambientes de Baixada (A) e Encosta (B), ES. n=8.

Composição mineral entre os ambientes estudados

A análise de PCA mostrou que para o grupo café conilon na baixada ocorreu uma maior concentração dos nutrientes Cu, P e Zn no solo das plantas avaliadas. Para o grupo de café conilon na encosta houve uma maior concentração das três bases trocáveis Ca, Mg e K, além do pH que também foi maior neste local. A região avaliada de mata natural (fragmentos restantes) que ocorre nessa Região dos Tabuleiros Costeiros teve uma maior concentração de Mn, B. Na região considerada natural de baixada ocorreu predominância do Fe, Al e MO. No pasto houve uma predominância do elemento B (Tabela 4 e Figura 3).

Tabela 4. Média da composição mineral dos solo dos anos de 2013 e 2014 em lavouras de café conilon variedade G35 de baixada e encosta dos municípios de Anchieta, Iconha e Rio Novo do Sul, ES.

Local	pH	P	K	Na	Ca	Mg	Al	MO	Zn	Fe	Mn	Cu	B	
		mg/dm ³			cmol _c /dm ³			dag/Kg	mg/dm ³					
Conilon	Baixada	5,5	62,0	61,0	11,0	2,0	0,5	1,0	3,2	4,5	195,0	19,7	1,5	0,2
	Encosta	6,3	35,7	89,0	10,7	3,6	1,0	0,0	2,5	5,6	48,6	33,2	0,9	0,2
Natural	Baixada	4,7	10,7	31,7	28,0	0,9	0,1	1,4	4,2	3,9	591,3	22,0	0,9	0,3
	Pasto	5,2	2,3	23,0	15,7	0,7	0,3	0,6	2,1	1,3	212,3	22,3	0,7	0,3
	Mata	5,0	9,0	95,0	43,3	1,4	0,7	0,6	2,9	2,0	188,0	74,0	0,5	0,4

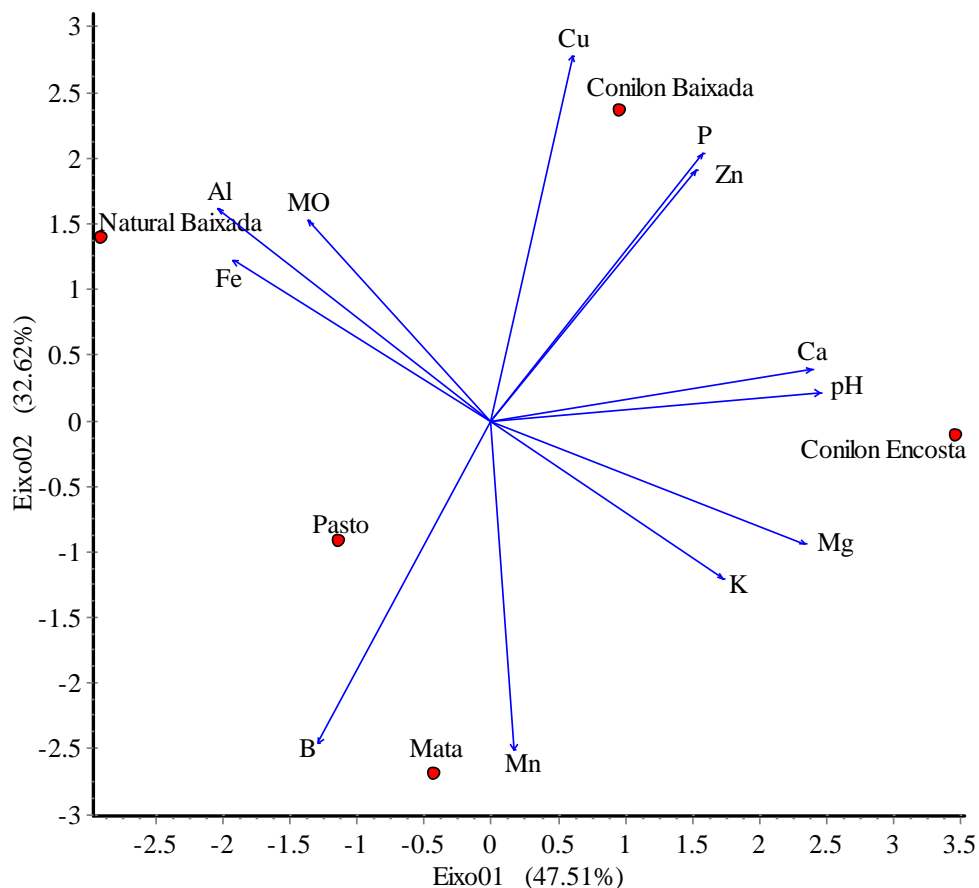


Figura 3. Disposição vetorial das variáveis dos nutrientes: potássio (K), fósforo (P), boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mn) e sódio em $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$, cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S) e Alumínio (Al) em $\text{cmol}_c\cdot\text{dm}^{-3}$, pH e Matéria Orgânica (MO) em $\text{dag}\cdot\text{Kg}^{-1}$ de acordo com os dois componentes principais da PCA; e distribuição das amostras em relação aos componentes quanto ao local da amostragem de solo: de café conilon variedade G35 de baixada e encosta, mata nativa, pasto e natural baixada nos anos de 2013 e 2014 nos municípios de Anchieta, Iconha e Rio Novo do Sul, ES. $n=8$.

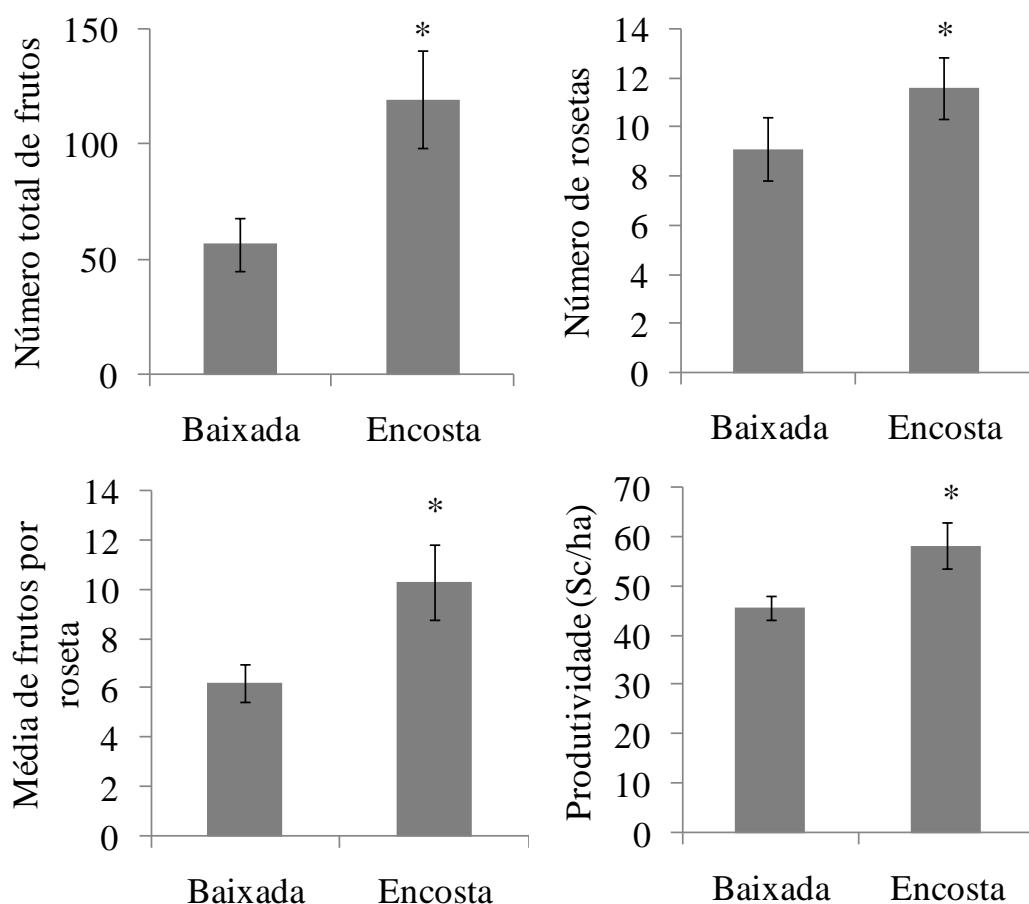


Figura 4. Valores médios da Produtividade (Sc/hectare), Número de Frutos Totais (NFT); do Número de Frutos Médios/Roseta (NFMR) e do Número de Rosetas (NR) das safras de 2013 e 2014 de lavouras de café conilon variedade G35 de áreas de baixada e de encosta nos municípios de Anchieta, Iconha e Rio Novo do Sul, ES. *Significativo ao nível de 1% pelo Teste *t*. n=8.

Produtividade de *C. canephora* em ambientes de baixada e encosta

Na avaliação média das safras de 2013 e 2014 observamos que para o Número de Frutos Totais (NFT), Número de Rosetas (NR), Número de Frutos Médios/Roseta (NFMR) e para a Produtividade (sacas beneficiadas/hectare) os resultados foram maiores e significativos para as lavouras de café implantadas em solos de ambiente de encosta. A produtividade média das duas safras de 2013 e 2014 foi 27,5% maior e o Número de Rosetas (NR) foi também 27,0% superior nas lavouras implantadas na região de ambiente de encosta (Figura 4).

4. DISCUSSÃO

A toxicidade de ferro nas plantas normalmente é encontrada nos solos de pH baixo e/ou que tem pouca drenagem. Nos solos dos Tabuleiros Costeiros do estado do Espírito Santo, é comum ocorrer períodos durante o ano nos quais se verifica o encharcamento (hipoxia) destes solos, momento em que o ferro pode sofrer redução e causar acúmulo nas raízes. No solo, o excesso de ferro pode influenciar na absorção de Mn, Zn, Cu, P, Cobalto (Co) e cálcio (Schmidt, 2003). Neste estudo observamos pela PCA que as plantas de café conilon cultivadas na baixada (Figura 2A) tiveram maior concentração dos nutrientes Fe, Zn, Cu, Mn e S no sistema radicular. A diminuição na produção de matéria seca de raízes se relaciona com deficiência de nutrientes induzida pelo acúmulo excessivo de ferro, que pode induzir deficiências de P, K, Ca, Mg e Zn, o que provoca desbalanço nutricional (Benckiser et al., 1984).

O presente estudo mostrou maior acúmulo de ferro para todos os órgãos avaliados (raízes, folhas, caules, grãos e cascas) de café conilon cultivado na baixada comparado com café conilon de encosta, sendo que as raízes acumularam aproximadamente 95% do total de ferro absorvido, porém, café conilon na baixada acumulou 53,4% mais ferro nas raízes que café conilon cultivado na encosta. No estudo de Bragança (2007), café conilon com seis anos de idade, cultivado em solo latossolo, acumulou 4.716,05 mg/planta de ferro, equivalente a 10,48 kg.ha⁻¹, sendo que deste total avaliado em mg/planta, aproximadamente 3.390 (72%); 434 (9%); 370 (8%); 366 (8%) e 156 (3%) foram acumulados em raízes, tronco + ramos ortotrópicos, folhas, frutos e ramos plagiotrópicos. Neste estudo, observamos que tanto café conilon na baixada como café conilon na encosta acumularam mais ferro nas raízes, sendo que o acúmulo foi maior nas plantas de café conilon de ambiente de baixada.

Howeller (1973) afirma que a alta concentração de Fe²⁺ na solução inibe a formação de raízes novas e ocorre a deposição de uma camada de óxidos sobre as raízes que diminui a capacidade de absorção de nutrientes, acarretando deficiências de P, K, Ca e Mg nas folhas. Os resultados da PCA deste estudo mostram que P e K em café de baixada acumularam mais no caule e nos grãos, respectivamente, enquanto que em cafés na encosta houve uma maior translocação de P para a folha e K para grãos e folhas.

A toxicidade de ferro, conforme descreve Ottow et al. (1982) pode ser considerada como um distúrbio nutricional geral, pois envolve vários elementos. A disponibilidade de P, Mo e Al pode ser afetada como resultado da redução do ferro e a absorção de K, Zn e Mn pode ser prejudicada como resultado da acumulação do ferro na rizosfera. Neste estudo, observamos que as lavouras de café conilon da baixada acumularam mais ferro nos órgãos vegetais analisados quando comparadas com as de encosta.

Ferro reduzido (Fe^{2+}) aumenta a disponibilidade de P e tem interações de antagonismo com elementos catiônicos como Mn, Zn e K, ou seja, aumentada a concentração de ferro pode ocorrer deficiência de Mn, Zn e K (Fageria, 1988). Entretanto, quando adicionamos Mn pode ocorrer a liberação de ferro para a solução, o que diminui a redução dos óxidos de Fe e assim diminui a absorção de ferro pelas raízes do arroz (Tanaka e Navasero, 1966; Howeler, 1973). A redução do ferro pode exercer um efeito antagonista direto na absorção de Zn e na formação de placas de ferro que são da oxidação de ferro ao redor das raízes e podem reduzir a concentração do Zn e formando $ZnFe_2O_4$, que é moderadamente solúvel (Sajwan e Lindsay, 1988). A absorção de K comporta similarmente ao Zn e é afetada pelo excesso de Fe^{2+} na solução do solo (Jugsujinda & Patrick, 1993). De acordo com o solo e com a época, aplicações de P, K, Ca, Mg e Zn isolados ou combinados, podem reduzir os sintomas de bronzeamento e até aumentar a produção de arroz (Mitra et al., 1993; Bhattacharyya et al., 1995; Devi et al., 1996; Sahrawat et al., 1996; Sahrawat, 2000; 2004). Porém, pela alta diversidade de solos e condições ambientais que podem afetar a taxa de redução e a quantidade de Fe^{2+} na solução do solo, são necessários cuidados na intervenção para melhorar as condições dos ambientes com ferro tóxico, como as que podem ocorrer nos solos dos Tabuleiros Costeiros do estado do Espírito Santo.

Os resultados de Partelli et al. (2006) mostraram que não houve diferenças nas relações do Ferro com macro e micronutrientes avaliadas nas folhas entre lavouras de cultivo orgânicas e convencionais. Este estudo mostra que as relações entre Fe/N, Fe/P, Fe/K e Fe/Ca nas folhas foram maiores que os resultados de Partelli et al. (2006) para os dois tipos de lavouras. Porém, as lavouras de baixada deste estudo tiveram relação entre Fe/Mg e Fe/B maiores que as lavouras de cultivo convencional; relação Fe/S maiores que as lavouras convencionais e orgânicas; relação Fe/B maior do que as lavouras convencionais e relação Fe/Cu e Fe/Zn maiores que as lavouras orgânicas. Entretanto, as lavouras de encosta tiveram

relação Fe/Mg, Fe/S, Fe/B, Fe/Cu e Fe/Zn menor que lavouras de cultivo convencionais e orgânicas que aqueles encontrados por Partelli et al. (2006).

O estudo mostrou que a produtividade média das duas safras avaliadas foi 27,5% maior e o Número de Rosetas (NR) também foi 27,0% superior nas lavouras implantadas na região de encosta (Figura 5). Suhartini et al., (1992), obteve rendimento de até 90% menor na cultura do arroz em solo Podzólico Vermelho Amarelo com altos teores de ferro. Virmani (1977) trabalhando também com arroz em áreas com altas concentrações de ferro aponta que houve diminuição na colheita de 70% para as variedades sensíveis e de 30% para as variedades tolerantes. Ismunadji et al (1989) diz que a melhoria da drenagem, equilíbrio na adubação, adição de matéria orgânica e calagem são medidas que devem ser adotadas para aumentar a colheita de arroz em terras que apresentam altas concentrações de ferro; medidas estas que também podem ser tomadas para as lavouras de café já implantadas em ambientes de baixada que estão sujeitas ao encharcamento, mesmo que por apenas um período do ano.

5. CONCLUSÕES

Conclui-se que as altas concentrações de ferro em raízes, caules e folhas podem influenciar negativamente na produtividade das lavouras de café conilon implantadas em ambientes de baixada (hipoxia) nos solos dos Tabuleiros Costeiros do estado do Espírito Santo.

É necessário estudo do local antes da implantação de qualquer cultivo nestes ambientes em que ocorrem processos de oxi-redução para evitar prejuízos significativos na produtividade. Para culturas já instaladas, medidas no manejo das propriedades físico-químicas do solo devem ser adotadas para a sustentabilidade destes ecossistemas.

6. REFERÊNCIAS

- BENCKISER, G; SANTIAGO, S; NEUE, HU; WATANABE, I; OTTOW, JCG. (1984). Effect of iron fertilization on exudation activity, iron-reducing populations and Fe⁺⁺ formation in the rhizosphere rice (*Oryza sativa* L.) in relation to iron toxicity. *Plant and Soil*, 79: 305-316.
- BHATTACHARYYA, D; BAROOAH, RC; THAKUR, AC. (1995). Management of iron-toxic soils with FYM and K for growing rice under submergence. *Proceedings of the Seminar on Problems and Prospects of Agricultural Research and Development in North-East India*, Assam Agricultural University, Jorhat, India, pp. 237–246.
- BRAGANÇA, SM; MARTINEZ, HEP; LEITE, HG; SANTOS, LP; SEDIYAMA, CS; ALVAREZ, VH; LANI, J. (2007). A. Acúmulo de B, Cu, Fe, Mn e Zn pelo cafeeiro conilon. *Ceres*, 54(314). 398-404.
- BRIAT, JF; DUC, C; RAVET, K; GAYMARD, F. (2010). Ferritins and iron storage in plants. *Biochimica et Biophysica Acta*. V. 1800, 806-814.
- BUCHANAN, BB; GRUISSEN, W; JONES, RL. (2000). *Biochemistry and molecular biology of plants*. Rockville, Maryland: American Society of Plant Physiologists. 1367.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Safra 2014. Primeira estimativa. Jan/2014. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em janeiro de 2014.
- CINTRA, FLD; LIBARDI, PL. (1998). Caracterização física de uma classe de solo do ecossistema de Tabuleiros Costeiros. *Sci. Agric.*, 55:367-378.
- DEVI, KMD; GOPI, CS; SANTHAKUMARI, G; PRABHAKARAN, PV. (1996). Effect of water management and lime on iron toxicity and yield of paddy. *J. Trop. Agric.* 34, 44–47.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). (2013). *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. 3ª Ed., Brasília, DF, 353p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). (1997). *Manual de métodos de análise de solo*. 2. ed. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solo, 1997. 212 p.
- EPSTEIN, E; BLOOM, AJ. (2005). *Mineral nutrition of plants: principles and perspectives*. 2ed. Sunderland, Sinauer Associates. 380p.
- FAGERIA, NK. (1988). Influence of iron on nutrient uptake by rice. *Int. Rice Res. Newsl.* 13, 20–21.

- GRANTZ, DA; GARNER, JHB; JOHNSON, DW. (2003). Ecological effects of particulate matter. *Environment International*, v. 29, n.1, p.213-239.
- HANSEL, CM; FENDORF, S; SUTTON, S; NEWVILLE, M. (2001). Characterization of Fe plaque and associated metals on the roots of mine-waste impact aquatic plants. *Environmental Science and Technology*, 35, 3863-3868.
- HOWELLER, RH. (1973). Iron-induced orangng disease of rice in relation to physico-chemical changes in a flooded oxisol. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 37:898-903.
- ISMUNADJI, M; ARDJASA, WS; VON UEXKULL, HR. (1989). Increasing productivity of lowland rice grown on iron toxic soils. In Deturk, P. and F. Ponnampereuma (Eds.). *Rice Production on Acid Soils of the Tropics. Proceeding of International Symposium, Institute of Fundamental Study, Kandy, Sri Lanka. 26-30 June 1989.* p. 205-211.
- JACOMINE, PKT. (2001). Evolução do conhecimento sobre solos coesos no Brasil. In: *WORKSHOP COESÃO EM SOLOS DOS TABULEIROS COSTEIROS, Aracaju, 2001. Anais. Aracaju, Embrapa Tabuleiros Costeiros.* p.19-45.
- JUGSUJINDA, A; PATRICK JR, WH. (1993). Evaluation of toxic conditions associated with orangng symptoms of rice in a flooded Oxisol in Sumatra, Indonesia. *Plant Soil* 152, 237–243.
- KIM, SA; GUERINOT, ML. (2007). Minin iron uptake and transport in plants. *FEBS Letters*, 581(12), 2273-2280.
- KUKI, KN; CANO, MAO; PEREIRA, EG; COSTA, AC; CAMBRAIA, J. (2008a). Iron or industry emissions as a potential ecological risk factor for tropical coastal vegetation. *Environ Manage.* 42: 111-121.
- KUKI, KN; CANO, MAO; PEREIRA, EG; COSTA, AC; CAMBRAIA, J. (2008b). Effects of simulated deposition of acid mist and iron ore particulate matter on photosynthesis and the generation of oxidative stress in *Schinus terebinthifolius* Raddi and *Sophora tomentosa* L. *Science of Total Environment.* 403: 207-214.
- LANI, JL; RESENDE, M; REZENDE, SBde; FEITOZA, LR. (2008). *Atlas de Ecossistemas do Espírito Santo.* Vitória, ES: SEMA: Viçosa, MG: UFV. 504p.
- MITRA, GN; SAHU, SK; ALI, MH. (1993). Effect of potassium application on alleviating iron toxicity and nutrient uptake by rice in lateritic soils. *Proceedings of the Workshop on Micronutrients, Bhubaneswar, India,* pp. 269–272.
- OTTOW, JCG. BENCKISER, G.; WATANABE, I. (1982). Iron toxicity of rice as multiple nutritional stress. *Trop. Agric. Res. Ser.* 15, 167-179.

- PARTELLI, FL.; VIEIRA, HD.; MONERAT, PH.; VIANA, AP. (2006). Estabelecimento de normas DRIS em cafeeiro conilon orgânico ou convencional no estado do Espírito Santo. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, 30: 443-451.
- PREZOTTI, LC. et al. (2007). Calagem e adubação. In: FERRÃO, R. G. et al., (Ed.). *Café conilon*. Vitória, ES: INCAPER. cap. 12, p. 341-342.
- PEREIRA, EG.; OLIVA, M.A.; ROSADO-SOUZA, L.; MENDES, GC.; COLARES, DS.; STOPATO, CH.; ALMEIDA, AM. Iron excess affects Rice photosynthesis through stomatal and non-stomatal limitations. *Plant Science*. 201-202, 81-92, 2013.
- REZENDE, JO. (2002). Reflexões sobre as limitações agrícolas e o manejo dos solos coesos dos Tabuleiros Costeiros. In: 500 ANOS DE USO DO SOLO NO BRASIL, 2002, Ilhéus. Anais. Ilhéus, Editus. p.463-520.
- SAHRAWAT, KL. (2000). Elemental composition of the rice plant as affected by iron toxicity under field conditions. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 31, 2819–2827.
- SAHRAWAT, KL; MULBAH, CK; DIATTA, S; DELAUNE, RD; PATRICK JR, WH; SINGH, BN; JONES, MP. (1996). The role of tolerant genotypes and plant nutrients in the management of iron toxicity in lowland rice. *J. Agric. Sci.* 126, 143–149.
- SAHRAWAT, KL. (2004). Iron toxicity in wetland rice and the role of other nutrients. *Journal of Plant Nutrition* 27, 1471-1504.
- SAJWAN, KS; LINDSAY, WL. (1988). Effects of redox on zinc deficiency in paddy rice. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50, 1264–1269.
- SCHMIDT, W. (2003) Iron solutions: acquisition strategies and signaling pathways in plants. *Trends Plant Sci* 8:188–193.
- SOBRAL, LF; CINTRA, FLD; SMYTH, JT. (2009). Lime and gypsum to improve root depth of orange crop in an Ultisol of the Coastal Tablelands. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.13, p.836-839.
- SOUZA, L.D. & SOUZA, L.S. Irrigação nos Tabuleiros Costeiros no Nordeste do Brasil. Portal do Agronegócio. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br>> Acesso em: 18 out. 2014.
- SUHARTINI, T; ARDJASA, WS; DAN SUWARNO. (1992). Evaluasi potensi hasil varietas dan galur harapan padi pada lahan keracunan Fe. Dalam *Prosiding Lokakarya Penelitian Komoditas dan Studi Khusus*. Vol. 3. Padi. AARP dan Badan Litbang Pertanian.

- TANAKA, A; NAVASERO, SA. (1966). Growth of the rice plant on acid sulfate soils. Soil Science and Plant Nutrition, Tokyo, v. 12, p. 107-114.
- TEDESCO, M. J. et al. (1995). Análise de solo, plantas e outros materiais. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, Departamento de Solos. 174 p. (Boletim Técnico, 5).
- THOMPSON, J.R.; MUELLER, P.W.; FLICKIGERT, W.; RUTTER, A.J. (1984) The Effect of Dust on Photosynthesis and its Significance for Roadside Plants. Environ Pollut (Series A) 34:171–190.
- VIRMANI, SS. (1977). Varietal tolerance of rice to iron toxicity in Liberia. International Rice Res. Newsl. 2(1).4-5.