

Artigo

A Evolução e Interdisciplinaridade nas Pesquisas sobre Fitorremediação de Poluentes Orgânicos: O Caso do TNT

Holzbach, J. C.;* Krauser, M. O.; Siebeneichler, S. C

Rev. Virtual Quim., 2020, 12 (3), 659-667. Data de publicação na Web: 29 de Maio de 2020

<http://rvq.s bq.org.br>

The Evolution and Interdisciplinarity in the Research on Phytoremediation of Organic Pollutants: The Case of TNT

Abstract: Phytoremediation is defined as a set of technologies that employ plants and their associated microorganisms to reduce the concentrations or toxic effects of contaminants present in the environment. The phytoremediation of organic pollutants in large scale requires a transversal approach of the knowledge about the plant/pollutant/soil interaction comprising the routes of metabolization, phytotoxicity of the pollutant on the phytoremediation species and the search for greater efficiency of the process. Research on TNT (2,4,6-trinitrotoluene) is an example of the evolution in phytoremediation of organic contaminants. The limitations to the application and commercialization of phytoremediation are being overcome through the evolution of research and knowledge integration in different areas.

Keywords: Phytoremediation; organic pollutants; phytodegradation.

Resumo

A fitorremediação é definida como um conjunto de tecnologias que empregam plantas e seus microrganismos associados para a redução das concentrações ou dos efeitos tóxicos de contaminantes presentes no ambiente. A implantação da fitorremediação de poluentes orgânicos, em larga escala, necessita de uma abordagem transversal do conhecimento sobre a interação planta/poluinte/solo compreendendo as rotas de metabolização, fitotoxicidade do poluinte sobre a espécie fitorremediadora e a busca por maior eficiência do processo. As pesquisas com TNT (2,4,6-trinitrotolueno) são um exemplo da evolução na fitorremediação de contaminantes orgânicos. As limitações à aplicação e comercialização da fitorremediação estão sendo superadas por meio da evolução nas pesquisas e integração do conhecimento em diferentes áreas.

Palavras-chave: Fitorremediação; poluentes orgânicos; fitodegradação.

* Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi, Curso de Química Ambiental, Rua Badejós Lote 7, Zona Rural, CEP 77402-970, Gurupi-TO, Brasil.

 juholzbach@uft.edu.br

DOI: [10.21577/1984-6835.20200052](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200052)

A Evolução e Interdisciplinaridade nas Pesquisas sobre Fitorremediação de Poluentes Orgânicos: O Caso do TNT

Juliana C. Holzbach,^{a,*} Maike de O. Krauser,^a Susana C. Siebeneichler^b

^a Universidade Federal do Tocantins, Curso de Química Ambiental, Campus de Gurupi, Rua Badejós Lote 7, CEP 77402-970, Zona Rural, Gurupi-TO, Brasil.

^b Universidade Federal do Tocantins, Curso de Agronomia, Campus de Gurupi, Rua Badejós Lote 7, CEP 77402-970, Zona Rural, Gurupi-TO, Brasil.

*juholzbach@uft.edu.br

Recebido em 28 de Maio de 2019. Aceito para publicação em 4 de Maio de 2020.

1. Introdução
2. Delineamento do Estudo
3. Fitorremediação de Poluentes Orgânicos
4. A evolução nas Pesquisas
 - 4.1. Fitodegradação do TNT
 - 4.2. Plantas transgênicas fitorremediadoras do TNT
5. Interdisciplinaridade nas Pesquisas em Fitorremediação
6. Conclusão

1. Introdução

Nas últimas décadas houve uma expansão das atividades agrícolas, industriais e de mineração. Essas atividades são responsáveis pela geração de diversos tipos de resíduos e subprodutos que resultam em um acréscimo considerável dos níveis de poluentes no ambiente. Com relação à poluição do solo, o problema veio à tona principalmente após a década de 70, com uma série de incidentes de repercussão mundial que causaram graves consequências. Como exemplo de acidentes ambientais recentes destacam-se o caso da usina de Fukushima e o rompimento das barragens de rejeitos em Mariana e Brumadinho no estado de Minas Gerais.^{1,2}

A contaminação do solo é definida como uma degradação ocasionada por substâncias químicas

que afetam a saúde humana, o meio ambiente e reduzem a capacidade de atuação do solo em relação ao ecossistema e a produtividade. Esta contaminação pode ser local, como em áreas de atividades industriais, descartes inadequados de resíduos, mineração, atividades militares e acidentes ambientais; ou pode ser difusa, quando o contaminante se dispersa no meio dificultando a determinação da sua origem e, conseqüentemente, das formas de remediação.²

Estimativas apontam que 25 % dos solos globais estão altamente degradados e 44 % moderadamente degradados.³ No Brasil, de acordo com levantamentos realizados pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), no estado de São Paulo houve um aumento crescente no número de áreas contaminadas, onde os principais grupos de contaminantes são poluentes orgânicos (combustíveis seguidos por solventes aromáticos).⁴

Os principais contaminantes do solo incluem metais pesados, contaminantes orgânicos e radionucleotídeos. Os poluentes orgânicos dificilmente são degradados, apresentam mobilidade no meio ambiente e são prejudiciais a saúde dos seres vivos.⁵

O elevado custo das técnicas convencionais para o tratamento do solo contaminado é o maior problema para a sua recuperação. A União Europeia estima um custo total de 119 bilhões (€) para a remediação dos solos contaminados em seu território.² Neste contexto, a fitorremediação é considerada uma alternativa econômica e ambientalmente aceitável para recuperação de locais contaminados, porém esta técnica ainda apresenta algumas limitações que dificultam sua ampla utilização.⁶

Os estudos sobre fitorremediação, em sua maioria, abrangem técnicas para remediação de metais pesados no meio aquático, sendo baixa a quantidade de publicações sobre a fitorremediação de solos contaminados com poluentes orgânicos.

Sendo assim, o presente artigo destaca o segmento das pesquisas em fitorremediação de poluentes orgânicos e, para demonstrar a evolução e interdisciplinaridade dos trabalhos neste campo, foi apresentado de forma sucinta, os mais de 30 anos de estudos sobre a fitorremediação de solos contaminados com o 2,4,6-trinitrotolueno (TNT), responsável por grandes áreas de contaminação e um dos poluentes orgânicos que melhor retrata os impactos que as pesquisas podem gerar na eficiência e aplicabilidade dos processos de fitorremediação.

2. Delineamento do Estudo

Essa revisão baseou-se na pesquisa bibliográfica em bases de periódicos internacionais (Web of

Science, Scopus, Science Direct e SciFinder) e nacionais (Scientific Electronic Library Online Brasil – SciELO e Portal Capes) entre novembro/2018 e abril/2019, utilizando os descritores em língua portuguesa e inglesa: ‘fitorremediação’, ‘degradação TNT’, ‘fitorremediação de explosivos’ e ‘metabolização de poluentes orgânicos’.

3. Fitorremediação de Poluentes Orgânicos

A fitorremediação pode ser definida como um conjunto de tecnologias que empregam plantas e seus microrganismos associados para a redução das concentrações ou dos efeitos tóxicos de contaminantes presentes no ambiente.^{7,8} Este processo pode ser realizado por plantas naturais ou plantas modificadas geneticamente, a fim de se obter melhores resultados.

Os poluentes orgânicos podem ser classificados em: solventes (tricloreto); explosivos (trinitrotolueno, ciclotrimetilenotrinitroamina); hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (naftaleno, pireno – PAHs); produtos derivados de petróleo (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno – BTEX); bifenilas policloradas (PCBs); agroquímicos (atrazina, aldrin, pentaclorofenol, dentre outros) e produtos farmacêuticos. Devido a toxicidade, persistência, bioacumulação e fácil transporte, alguns desses poluentes estão incluídos nas listas de Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) ou de Contaminantes Emergentes (CEs).^{1,9}

Assim como as plantas absorvem água e nutrientes, algumas espécies são capazes de retirar substâncias tóxicas do meio por intermédio de diferentes mecanismos de fitorremediação: fitoextração, fitofiltração, fitovolatilização, fitoestabilização, fitodegradação, rizodegradação e fitodessalinização (Tabela 1).⁷

Tabela 1. Principais distinções entre os mecanismos de fitorremediação

Mecanismo	Descrição
Fitoextração	Extração, transporte das raízes para outras partes da planta e armazenamento
Fitofiltração	Extração e acúmulo do poluente nas raízes
Fitovolatilização	Volatilização e liberação do contaminante na atmosfera, na forma original ou biotransformada
Fitoestabilização	Limitação da mobilidade do contaminante no meio por métodos físicos (reduzindo erosão ou lixiviação) ou químicos (oxidação/redução, precipitação)
Fitodegradação/ Fitotransformação	Biotransformação do contaminante em substâncias com menor toxicidade à planta, degradação ou imobilização
Rizodegradação	Microrganismos rizosféricos associados ou beneficiados pela planta degradam o contaminante
Fitodessalinização	Remoção dos sais por plantas halófitas

Fonte: Adaptado de Ali et al. (2013)⁷; Gomes et al. (2016)¹¹ e Silva et al. (2019)¹²

As plantas fitorremediadoras apresentam, enzimas responsáveis pela metabolização dos poluentes orgânicos, originadas pelo sistema natural de defesa da espécie, e para realizarem a fitorremediação utilizam principalmente os mecanismos de fitovolatilização, rizodegradação (interação planta-microrganismo) e fitodegradação.¹⁰

4. A Evolução nas Pesquisas

O início das pesquisas acerca de fitorremediação do solo limitava-se a busca por plantas capazes de extrair os poluentes do solo, onde era analisada a variação da concentração do poluente no meio em um determinado período.

A capacidade das plantas de degradar xenobióticos orgânicos começou a ser estudada na década de 40, quando constatou-se a biotransformação de alguns pesticidas. Desde então, o desenvolvimento nas áreas de genômica, proteômica e metabolômica potencializou a compreensão da metabolização de muitos compostos xenobióticos.^{10,13}

A metabolização do poluente pela planta é dividida em três fases: transformação (Fase I); conjugação (Fase II) e sequestro (Fase III). Na fase I podem ocorrer reações de oxidação, redução ou hidrólise do poluente, que possibilitam a formação de produtos com menor toxicidade e mais reativos. A fase II visa obter substâncias com maior polaridade, hidrossolubilidade e mobilidade, para isso ocorrem reações de conjugação com glutatona, aminoácidos, açúcares, dentre outros. Na fase III ocorre o sequestro ou armazenamento dos conjugados nas organelas, como vacúolos ou parede celular (Figura 1).¹⁴

A pesquisa e aplicação da fitorremediação deve considerar três aspectos relevantes: 1) toxicidade dos produtos formados, 2) eficiência do processo e 3) fitotoxicidade do poluente. O primeiro ponto refere-se à toxicidade dos produtos de

degradação do poluente, a qual necessita da identificação dos produtos de metabolização e o conhecimento acerca de sua toxicidade, onde espera-se uma diminuição. O segundo ponto a ser considerado está relacionado a necessidade de maior eficiência no processo, onde as plantas possam remediar maiores concentrações de poluentes em menor tempo. O terceiro ponto diz respeito ao conhecimento sobre a fitotoxicidade do poluente em relação as plantas.

Neste contexto, a fitorremediação de solos contaminados com 2,4,6-trinitrotolueno (TNT) é um exemplo da evolução e interdisciplinaridade das pesquisas em fitorremediação de poluentes orgânicos.

4.1 Fitodegradação do TNT

O explosivo 2,4,6-trinitrotolueno (TNT) é um poluente orgânico altamente persistente e prejudicial à saúde humana. Solos contaminados com TNT são encontrados, principalmente, em locais de produção, estocagem de munição e áreas militares.¹⁵ Estimativas apontam a existência de 10 milhões de hectares contaminados por TNT nos Estados Unidos.¹⁶

As pesquisas para a determinação da rota de metabolização, advinda da fitodegradação do TNT, tiveram início em 1986 com os estudos de Palazzo e Leggett¹⁷ onde, após processos de extração da planta *Cyperus esculentus* L. e análises cromatográficas identificou-se o 4-amino-2,6-dinitrotolueno (4-ADNT) e o 2-amino-4,6-dinitrotolueno (2-ADNT), oriundos da redução do TNT, que correspondem a fase I do processo de metabolização.

Em 1999, Bhadra *et al.*¹⁸ utilizaram marcação isotópica [¹⁴C-TNT] com a espécie *Catharanthus roseus*, resultando no isolamento de estruturas de 4-ADNT e 2-ADNT conjugadas, que posteriormente foram identificadas como glicosídeos dessas estruturas.

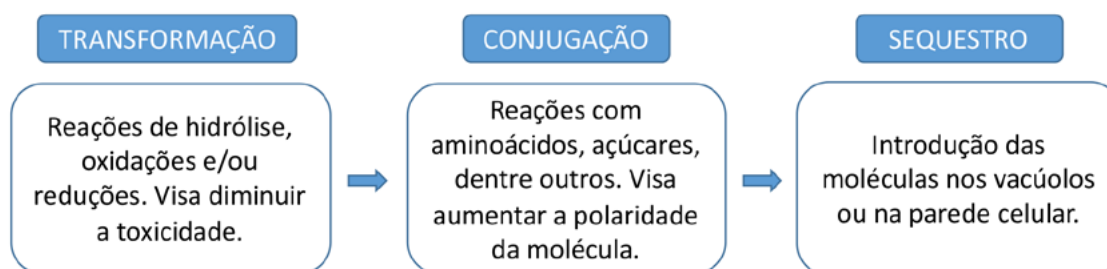


Figura 1. Fases da metabolização de poluentes em plantas

Wang *et al.* (2003),¹⁹ utilizando [¹⁴C-TNT], métodos cromatográficos e espectrométricos conseguiram isolar e elucidar as estruturas dos 2-hidroxiamina-4,6-dinitrotolueno (2-HADNT) e 4-hidroxiamina-2,6-dinitrotolueno (4-HADNT). Com os resultados obtidos foi possível determinar que a etapa inicial da redução do TNT envolve a formação dos intermediários (2 e 4-HADNT), que são novamente reduzidos para a formação das aminas (2 e 4-ADNT), que então sofrem as reações de glicosilação.

Em 2005, pesquisas envolvendo cultura de células facilitaram a descoberta de novos produtos de degradação do TNT. A cultura de células diminuiu a complexidade das amostras, que ao serem analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) evidenciaram a presença de outros metabólitos além do TNT e 2 e 4-ADNT e dos glicosídeos já isolados. Após análises de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹³C e espectrometria de massas (EM) foi possível elucidar as estruturas dos 2 e 4-HADNT mono e diglicosilados (2-HADNT-glc e 4-HADNT-glc). Aumentando assim, o número de substâncias presentes na fase de conjugação do poluente.²⁰

Adamia e colaboradores (2006)²¹ realizaram análises de distribuição dos produtos de [¹⁴C-TNT] em 8 plantas e constataram que parte dos produtos de degradação do TNT localizavam-se nas estruturas de membrana envolvidas no transporte de coenzimas nicotinâmicas; nas folhas e caules houve incorporação em biopolímeros. Análises de autorradiografia apontam que a fitodegradação ocorre principalmente nas raízes.²² Neste estudo também foi relatado que as enzimas nitrorredutases (NTRs) são as principais enzimas envolvidas na redução do TNT. Com isso, pode-se confirmar a terceira fase do processo de fitodegradação, chamada de sequestro.

No ano de 2008, foi publicado um estudo com a espécie *Arabidopsis thaliana*, no qual por meio de análises de CLAE-EM-EM constatou-se a existência de outros glicosídeos além dos já relatados. Outro dado importante revelado neste artigo foi o isolamento de uma série de uridina difosfato glicosiltransferases (UDP-GTs), responsáveis pelas reações de conjugação na fitodegradação do TNT.¹⁵

Em 2009, descobriu-se uma rota diferente de metabolização do TNT, pois ao submeterem a espécie *Arabidopsis* a solos contaminados notou-se uma elevação na expressão de enzimas

oxofitodienoato redutase (OPRs), que são enzimas capazes de reduzir os compostos nitro por meio de dois ataques nucleofílicos e posterior reação com HADNT, resultando na formação das diarilaminas. Esses compostos foram isolados tanto em planta quanto em bactérias, sendo que nas bactérias há maior concentração.²³

Em 2014, Gunning e colaboradores²⁴ demonstraram o envolvimento das enzimas glutathione transferases (GSTs) na fitodegradação do TNT. Também foi possível isolar e identificar três produtos da reação entre o TNT e a glutathione (2-HADNT GSH, 4-HADNT GSH e 2-GSH DNT), que se enquadram na etapa de conjugação do TNT.

Ao conseguir identificar alguns intermediários e as enzimas responsáveis por cada etapa da fitodegradação foi possível estabelecer as rotas de degradação do TNT nas plantas (Figura 2).

Com a rota de metabolização estabelecida, a determinação dos genes e enzimas envolvidos no processo de metabolização, tornou-se viável o aumento da capacidade fitorremediadora mediante a utilização de plantas geneticamente modificadas.

4.2 Plantas transgênicas fitorremediadoras do TNT

A elucidação da rota de metabolização do TNT nas plantas forneceu as informações necessárias para o aumento na eficiência da fitorremediação utilizando plantas geneticamente modificadas. Para isso, induziu-se o aumento da produção das enzimas envolvidas na fitodegradação ou introduziu-se enzimas oriundas de microrganismos, capazes de degradar o TNT, em diferentes espécies de vegetais.^{10,25}

Em 1999, French *et al.*²⁶ relatou que plantas de *Nicotiana* geneticamente modificadas, nas quais foi introduzida a enzima bacteriana PETN, foram capazes de germinar e se desenvolver em soluções de 0,05 mmol de TNT, enquanto as espécies controle (sem modificação genética) foram inibidas nas mesmas condições.

Em 2001, Hannink *et al.*²⁷ expressaram nitrorredutases (NTRs), oriundas de bactérias *Enterobacter cloacae*, em espécies de *Nicotiana tabacum* e observaram a remoção de 50 % do TNT presente no meio em 6 horas e 100 % em 72 horas, enquanto que as espécies controle removeram quantidades consideradas negligenciáveis de TNT do meio.

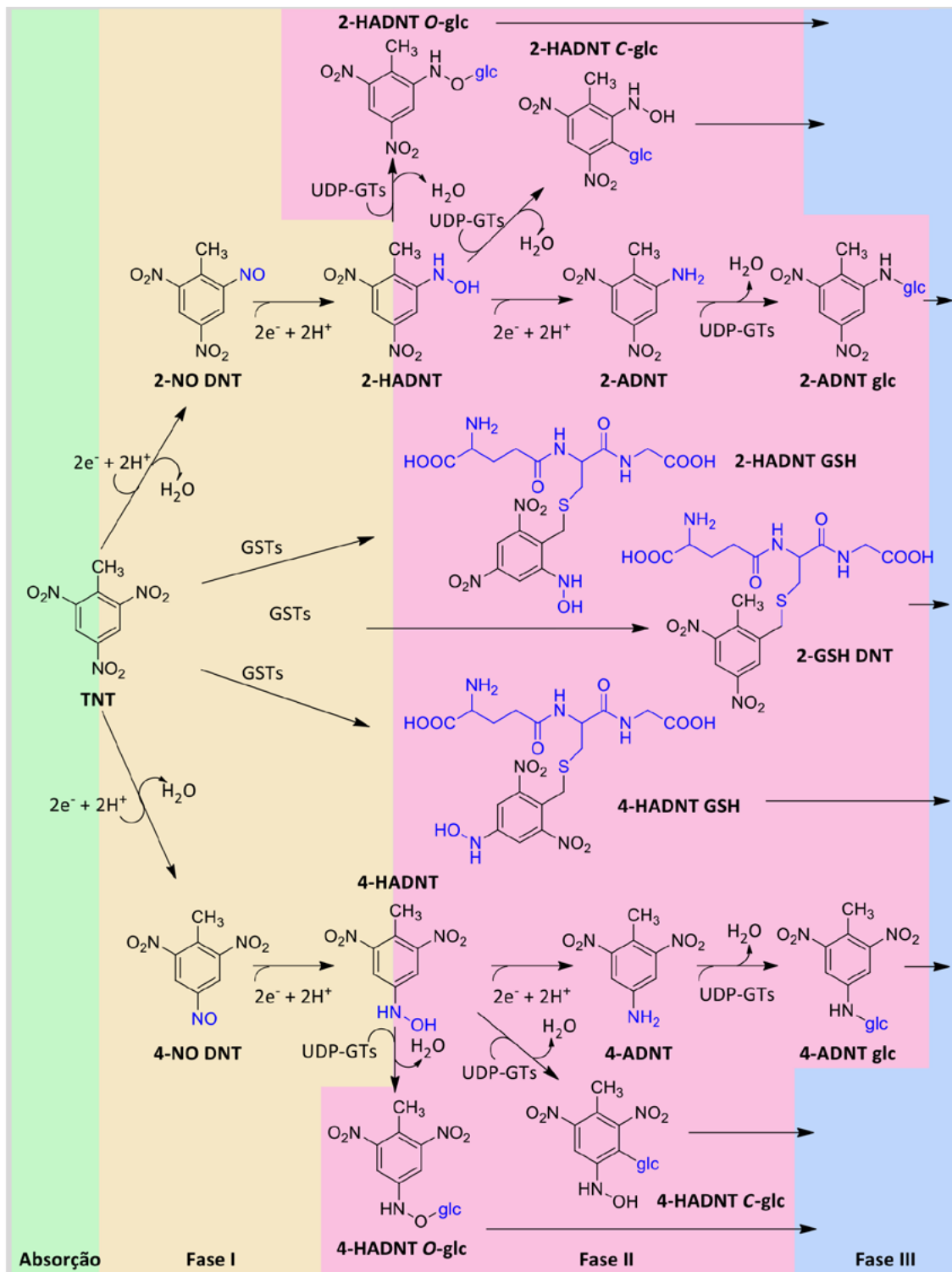


Figura 2. Rota de metabolização do TNT por fitorremediação. Adaptado de Rylott & Bruce (2009)²⁸.

Van Dillewijn *et al.* (2008)²⁹ demonstrou que espécies de *Populus* transgênicas toleravam níveis de 57 mg TNT/L em meio hidropônico e mais de 1000 mg TNT/ kg de solo, enquanto plantas controle não se desenvolveram em 11 mg TNT/L e 500 mg TNT/kg de solo.

A fim de compreender a fitotoxicidade do TNT nas plantas Johnston *et al.* (2015)³⁰ descobriram que a enzima monodehidroascorbato redutase 6 (MDHAR6) é a catalisadora do processo de redução do TNT na mitocôndria, produzindo radicais que reagem com o oxigênio, resultando

na geração de superóxido (causadores de danos celulares). Observou-se que durante o processo há consumo de NADH, aumento nas concentrações de superóxido e que a concentração de TNT era constante, caracterizando um processo cíclico capaz de inibir a germinação e/ou o desenvolvimento vegetal. Com isso, espécies vegetais deficientes ou, nas quais a enzima MDHAR6 seja suprimida, são promissoras na fitorremediação do TNT.

Ainda em 2015, Das *et al.*³¹ demonstrou que modificações nas práticas agronômicas, como a aplicação de ureia no solo, podem facilitar a remoção e biotransformação do TNT.

Atualmente as pesquisas visam as modificações genéticas, baseada nas pesquisas relatadas, de espécies de gramíneas encontradas em áreas contaminadas e que, portanto, possuem os atributos necessários para a implantação da fitorremediação em campo.³²

5. Interdisciplinaridade nas Pesquisas em Fitorremediação

O conhecimento sobre a interação entre planta, poluente e solo é essencial para a eficiência e empregabilidade da fitorremediação.³³ Estudos sobre esta interação necessitam da integração do conhecimento, principalmente, em química, biologia e agronomia, conforme ilustrado na figura 3.

Com base na interdisciplinaridade da área, a busca pelo aprimoramento da fitorremediação necessita de estudos envolvendo, por exemplo:

- seleção de microrganismos e espécies vegetais fitorremediadores;
- propriedades físico-químicas dos poluentes;
- quantificação dos níveis de poluentes no meio e da capacidade fitorremediadora das espécies vegetais;
- síntese de substâncias marcadas isotopicamente;
- identificação das substâncias geradas e enzimas envolvidas no processo de fitodegradação;
- determinação da sequência de biotransformações do poluente;
- avaliação da toxicidade dos produtos de degradação gerados;
- modificações genéticas em espécies vegetais;
- clonagem de espécies vegetais;
- propriedades físico-químicas e microbiológicas dos solos;
- adaptação, desenvolvimento e produção de biomassa da espécie fitorremediadora no meio;
- modificações de práticas agronômicas visando a fitorremediação;
- determinação da taxa de translocação e local de acúmulo do poluente no vegetal.

As contribuições que cada área de conhecimento agrega para a compreensão da rota de metabolização do poluente, do

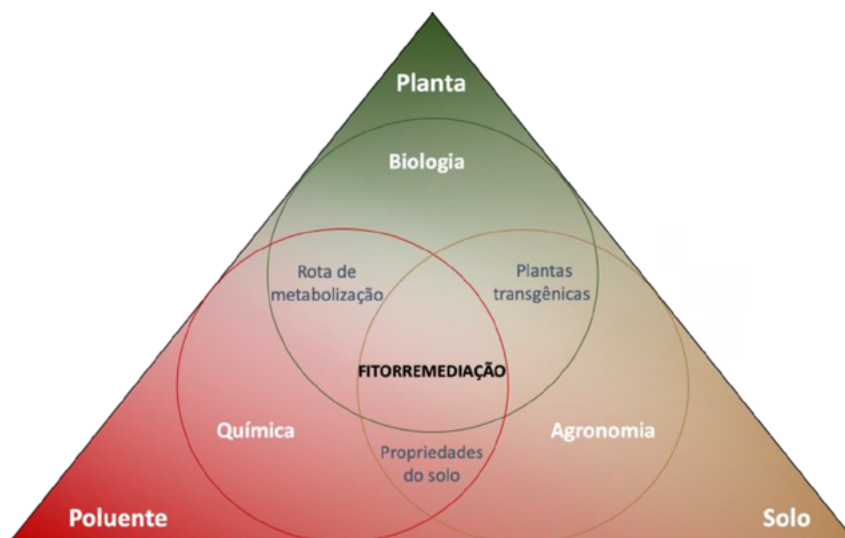


Figura 3. A interdisciplinaridade das pesquisas em fitorremediação

aumento na capacidade fitorremediadora e da tolerância da espécie vegetal às concentrações do contaminante no meio, são essenciais para a aplicação desta técnica em larga escala.

6. Conclusão

Afim de potencializar a aplicabilidade da fitorremediação, é necessário ampliar o conhecimento sobre as interações planta/poluidor/solo e compreender os mecanismos de fitodegradação envolvidos.

Utilizando o exemplo do TNT, pode-se notar que uma abordagem transversal do conhecimento possibilita o aumento da eficiência da fitorremediação, juntamente com a redução dos efeitos deletérios que o poluidor causa no desenvolvimento vegetal. Atualmente as pesquisas estão focadas nas modificações genéticas de espécies adaptadas às condições bióticas, o que possibilitará, em breve, as primeiras aplicações em campo para a fitorremediação do TNT.

A fitorremediação é uma técnica que se enquadra nas tendências atuais de integração do conhecimento científico e que apresenta perspectivas positivas para a aplicação e comercialização.

Agradecimentos

À Universidade Federal do Tocantins.

Referências Bibliográficas

¹ Duarte, R. M. B. O.; Matos, J. T. V; Senesi, N. Em *Soil Pollution*, Duarte, A. C., Cachada, A., Rocha-Santos, T. Academic Press: Cambridge, 2018, cap. 5. [CrossRef]

² Pérez, A. P.; Eugenio, N. R.; *Status of local soil contamination in Europe*, Publications Office of the EU: Luxemburgo, 2018. [CrossRef]

³ Jeelani, N.; Yang, W.; Xu, L.; Qiao, Y; An, S; Leng, X. Phytoremediation potential of *Acorus calamus* in soils co-contaminated with cadmium and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Scientific Reports* 2017, 7, 8028. [CrossRef]

⁴ Relação de áreas contaminadas e reabilitadas no Estado de São Paulo, CETESB: São Paulo, 2017. [Link]

⁵ Mao, X.; Jiang, R.; Xiao, Wei; Yu, J. Use of surfactants for the remediation of contaminated soils: A review. *Journal of Hazardous Materials* 2015, 285, 419. [CrossRef]

⁶ Wan, X.; Lei, M.; Chen, T. Cost-benefit calculation of phytoremediation technology for heavy-metal-contaminated soil. *Science of The Total Environment* 2016, 563, 796. [CrossRef]

⁷ Ali, H.; Khan, E.; Sajad, M. A. Phytoremediation of heavy metals—Concepts and applications. *Chemosphere* 2013, 91, 869. [CrossRef]

⁸ Andrade, J. C. M.; Tavares, S. R. L.; Mahler C. F.; *Fitorremediação: o uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental*. Oficina de Textos: São Paulo, 2007.

⁹ Calvo-Flores, F. G.; Isac-Garcia, J.; Dobado, J. A. *Emerging Pollutants: Origin, Structure, and Properties*. Wiley: Weinheim, 2018.

¹⁰ Aken, B. Van. Transgenic plants for phytoremediation: helping nature to clean up environmental pollution. *Trends in Biotechnology* 2008, 26, 225. [CrossRef]

¹¹ Gomes, M. A. C.; Hauser-Davis, R. A.; Souza, A. N.; Vitória, A. P. Metal phytoremediation: General strategies, genetically modified plants and applications in metal nanoparticle contamination. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2016, 134, 133. [CrossRef]

¹² Silva, T. J.; Hansted, F.; Tonello, P. S.; Gouveia, D. Fitorremediação de Solos Contaminados com Metais: Panorama Atual e Perspectivas de uso de Espécies Florestais. *Revista Virtual de Química* 2019, 11, 18. [CrossRef]

¹³ Sandermann, H. In *Plant Biotechnology and In Vitro Biology in the 21st Century*. Altman, A.; Ziv, M.; Izhar, S. eds. Springer: Netherlands, 1999, cap. 75. [CrossRef]

¹⁴ Hernández-Vega, J. C.; Cady, B.; Kayanja, G; Mauriello, A; Cervantes, N.; Gillespie, A.; Lavia, L.; Trujillo, J.; Alkio, M.; Colón-Carmona, A. Detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in *Arabidopsis thaliana* involves a putative flavonol synthase. *Journal of Hazardous Materials* 2017, 321, 268. [CrossRef]

¹⁵ Gandia-Herrero, F.; Lorenz, A.; Larson, T.; Graham I. A.; Bowles, D. J.; Rylott, E. L.; Bruce, N. C. Detoxification of the explosive 2,4,6-trinitrotoluene in *Arabidopsis*: discovery of bifunctional O- and C-glucosyltransferases. *The Plant Journal* 2008, 56, 963. [CrossRef]

¹⁶ Beans, C. Core Concept: Phytoremediation advances in the lab but lags in the field. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2017, 114, 7475. [CrossRef]

- ¹⁷ Palazzo, A. J.; Leggett, D. C. Effect and Disposition of TNT in a Terrestrial Plant. *Journal of Environmental Quality* 1986, 15, 49. [[CrossRef](#)]
- ¹⁸ Bhadra, R.; Wayment, D. G.; Hughes, J. B.; Shanks, J. V. Confirmation of Conjugation Processes during TNT Metabolism by Axenic Plant Roots. *Environmental Science & Technology* 1999, 33, 446. [[CrossRef](#)]
- ¹⁹ Wang, C.; Lyon, D. Y.; Hughes, J. B.; Bennet, G. N. Role of Hydroxylamine Intermediates in the Phytotransformation of 2,4,6-Trinitrotoluene by *Myriophyllum aquaticum*. *Environmental Science & Technology* 2003, 37, 3595. [[CrossRef](#)]
- ²⁰ Vila, M.; Pascal-Lorber, S.; Rathahao, E.; Debrauwer, L.; Canlet, C.; Laurent, F. Metabolism of [¹⁴C]-2,4,6-Trinitrotoluene in Tobacco Cell Suspension Cultures. *Environmental Science & Technology* 2005, 39, 663. [[CrossRef](#)]
- ²¹ Adamia, G.; Ghoghoberidze, M.; Graves, D.; Khatishashvili, G.; Kvesitadze, G.; Lomidze, E.; Ugrekhelidze, D.; Zaalishvili, G. Absorption, distribution, and transformation of TNT in higher plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2006, 64, 136. [[CrossRef](#)]
- ²² Kiiskila, J. D.; Das, P.; Sarkar, D.; Datta, R. Phytoremediation of Explosive-Contaminated Soils. *Current Pollution Reports* 2015, 1, 23. [[CrossRef](#)]
- ²³ Beynon, E. R.; Symons, Z. C.; Jackson, R. G.; Lorenz, A.; Rylott, E. L.; Bruce, N. C. The Role of Oxophytodienoate Reductases in the Detoxification of the Explosive 2,4,6-Trinitrotoluene by *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 2009, 151, 253. [[CrossRef](#)]
- ²⁴ Gunning, V.; Tzafestas, K.; Sparrow, H.; Johnston, E. J.; Brentnall, A. S.; Potts, J. R.; Rylott, E. L.; Bruce, N. C. *Arabidopsis* Glutathione Transferases U24 and U25 Exhibit a Range of Detoxification Activities with the Environmental Pollutant and Explosive, 2,4,6-Trinitrotoluene. *Plant Physiology* 2014, 165, 854. [[CrossRef](#)]
- ²⁵ You, S. H.; Zhu, B.; Han, H.; Wang, B.; Peng, R.; Yao, Q. Phytoremediation of 2,4,6-trinitrotoluene by *Arabidopsis* plants expressing a NAD(P)H-flavin nitroreductase from *Enterobacter cloacae*. *Plant Biotechnology Reports* 2015, 9, 417. [[CrossRef](#)]
- ²⁶ French, C. E.; Rosser, S. J.; Davies, G. J.; Nicklin, S.; Bruce, N. C. Biodegradation of explosives by transgenic plants expressing pentaerythritol tetranitrate reductase. *Nature Biotechnology* 1999, 17, 491. [[CrossRef](#)]
- ²⁷ Hannink, N.; Rosser, S. J.; French, C. E.; Basran, A.; Murray, J. A. H.; Nicklin, S.; Bruce, N. C. Phytodetoxification of TNT by transgenic plants expressing a bacterial nitroreductase. *Nature Biotechnology* 2001, 19, 1168. [[CrossRef](#)]
- ²⁸ Rylott, E. L.; Bruce, N. C. Plants disarm soil: engineering plants for the phytoremediation of explosives. *Trends in Biotechnology* 2009, 27, 73. [[CrossRef](#)]
- ²⁹ Van Dillewijn, P.; Couselo, J. L.; Corredoira, E.; Delgado, A.; Wittich, R.; Bellester, A.; Ramos, J. L. Bioremediation of 2,4,6-Trinitrotoluene by Bacterial Nitroreductase Expressing Transgenic Aspen. *Environmental Science & Technology* 2008, 42, 7405. [[CrossRef](#)]
- ³⁰ Johnston, E. J.; Rylott, E. L.; Beynon, E.; Lorenz, A.; Chechik, V.; Bruce, N. C. Monodehydroascorbate reductase mediates TNT toxicity in plants. *Science* 2015, 349, 1072. [[CrossRef](#)]
- ³¹ Das, P.; Sarkar, D.; Makris, K. C.; Datta, R. Urea-facilitated uptake and nitroreductase-mediated transformation of 2,4,6-trinitrotoluene in soil using vetiver grass. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2015, 3, 445. [[CrossRef](#)]
- ³² Zhang, L.; Rylott, E. L.; Bruce, N. C.; Strand, S. E. Genetic modification of western wheatgrass (*Pascopyrum smithii*) for the phytoremediation of RDX and TNT. *Planta* 2019, 249, 1007. [[CrossRef](#)]
- ³³ Coutinho, H. D.; Barbosa, A. R. Fitorremediação: Considerações gerais e características de utilização. *Silva Lusitana* 2007, 15, 103. [[Link](#)]