

CAMILLA OLIVEIRA RIOS

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE GRAMÍNEAS AO DÉFICIT HÍDRICO
VISANDO A REVEGETAÇÃO DE PILHA DE ESTÉRIL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, para obtenção do título de Magister Scientiae.

FLORESTAL
MINAS GERAIS – BRASIL
2017

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca da Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Florestal

T

R586r
2017 Rios, Camilla Oliveira, 1991-
Respostas fisiológicas de gramíneas ao déficit hídrico visando a revegetação de pilha de estéril / Camilla Oliveira Rios. – Florestal, MG, 2017.
xiii, 84f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Eduardo Gusmão Pereira.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Revegetação - gramíneas. 2. Déficit hídrico. 3. *Paspalum densus*. 4. *Setaria parviflora*. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa de Pós-graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários. II. Título.

CDD 22 ed. 631.64

CAMILLA OLIVEIRA RIOS

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE GRAMÍNEAS AO DÉFICIT HÍDRICO
VISANDO A REVEGETAÇÃO DE PILHA DE ESTÉRIL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, para obtenção do título de Magister Scientiae.

APROVADA: 21 de fevereiro de 2017.

Diego Antônio França de Freitas

Talita Oliveira de Araújo

Advanio Inácio Siqueira Silva
(Coorientador)

João Paulo de Souza
(Coorientador)

Eduardo Gusmão Pereira
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me abençoar e por atender a todas as minhas súplicas. Agradeço também a Nossa Senhora, com o poder de teu Filho, Jesus, por resolver as coisas difíceis e impossíveis, por passar a frente e abrir as estradas e os caminhos, por cuidar e ajudar em todos os detalhes.

A meus pais, Valdivino e Rosângela, pelo apoio, compreensão e carinho, por sempre estarem ao meu lado me incentivando, esse título é nosso. Saibam que vocês são meus grandes exemplos de vida. Eu não seria nada sem vocês!! Agradeço também ao meu noivo, futuro marido, Alanderson, pelos finais de semanas que passamos no laboratório, pelos vasos carregados e acima de tudo pela compreensão e amor. Aos meus padrinhos, Edécio e Regina por serem minha casa de apoio nos momentos difíceis. E a minha vovó Lúcia hoje no céu, se viva, sei o quanto estaria orgulhosa de mim.

Agradeço também aos meus fiéis companheiros de jornada, Anna Elisa, Advânio, Elisa, Bruno Luan, Bruno Fagundes, Bárbara e Rosiane, pelas várias análises no laboratório, pelas saídas de campo e pelo conhecimento a mim transmitido, o meu muito obrigada pela ajuda, saibam que podem sempre contar comigo. A meus amigos do mestrado, pelos momentos vividos juntos, especialmente à Amanda, que se tornou verdadeira amiga. Obrigada por dividirem comigo as angústias e as alegrias. Foi muito bom poder contar com vocês!

Aos meus amigos de sempre, Gabriella, Glaúber, Luíza e Isabela, a vocês devo desculpas, por não ter sido presente como gostaria. Mas saibam que vocês estão sempre em meu coração e em minhas orações. Obrigada pela amizade! As minhas amigas de república agradeço pelo companheirismo e por sempre me ouvirem nos momentos de loucura.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Gusmão Pereira, que acreditou em meu potencial, obrigada pelo seu apoio e amizade, além de sua dedicação, competência e especial atenção nas revisões e sugestões, fatores fundamentais para a conclusão deste trabalho. Você foi e é referência profissional e pessoal para meu crescimento. Obrigada por estar ao meu lado e acreditar tanto em mim!

A todos os professores do Programa de Mestrado em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários que de alguma forma contribuíram para minha formação.

Finalmente, gostaria de agradecer à Universidade Federal de Viçosa campus Florestal por abrir as portas para que eu pudesse realizar este sonho, proporcionou-me mais que a busca pelo conhecimento técnico e científico, mas uma lição de vida. Agradeço também a empresa VALE S.A. pela bolsa concedida e pelo auxílio financeiro.

Ninguém vence sozinho... OBRIGADA A TODOS!

BIOGRAFIA

Camilla Oliveira Rios, nascida em Mateus Leme – MG, Brasil, em 05 de novembro de 1991. Filha de Valdivino Caetano Rios Filho e Rosângela Maria de Oliveira Rios. Em dezembro de 2009, concluiu o ensino médio, pelo Colégio Anglo de Pará de Mina – MG e em dezembro de 2014, finalizou o curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, pela Universidade Federal de Viçosa – Campus Florestal – MG. Em março de 2015, iniciou os estudos no curso de Mestrado em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, na Universidade Federal de Viçosa – Campus Florestal – MG.

SUMÁRIO

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	vii
RESUMO	x
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	4
CAPITULO I.....	8
RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE GRAMÍNEAS NATIVAS SUBMETIDAS AO ESTRESSE HÍDRICO E SUBSTRATO PROVENIENTE DE MINERAÇÃO DE FERRO	8
RESUMO	8
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. MATERIAL E MÉTODOS	12
2.1. Área de Estudo	12
2.2. Material vegetal.....	12
2.3. Variáveis avaliadas.....	14
2.3.1. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a	14
2.3.2. Índices de clorofila	15
2.3.3. Teor de minerais nos tecidos vegetais	15
2.3.4. Determinação da composição química do solo	17
2.3.5. Caracterização física do solo.....	19
2.3.6. Determinação dos teores de malonaldeído (MDA)	19
2.3.7. Determinação dos teores de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)	20
2.3.8. Análise do metabolismo antioxidativo	20
2.3.9. Teor de umidade do substrato	21
2.3.10. Teor relativo de água na folha.....	21
2.4. Delineamento experimental e análise estatística	21
3. RESULTADOS	21
4. DISCUSSÃO.....	40
5. CONCLUSÕES.....	45
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
CAPITULO II	54
EXPOSIÇÃO DA GRAMÍNEA NATIVA, <i>Paspalum densum</i> (Poir.), A PILHA DE ESTÉRIL E A SAZONALIDADE CLIMÁTICA IMPOSTA PELAS CONDIÇÕES DE CAMPO	54
RESUMO	54
ABSTRACT.....	56
1. INTRODUÇÃO	57

2. MATERIAIS E MÉTODOS	58
2.1. Área de estudo e material vegetal.....	58
2.2. Variáveis avaliadas.....	60
2.2.1. Fluorescência da clorofila a	60
2.2.2. Índices de clorofila	60
2.2.3. Teor de minerais nos tecidos vegetais.....	60
2.2.4. Determinação da composição química do solo	61
2.2.5. Determinação dos teores de malonaldeído (MDA)	61
2.2.6. Determinação dos teores de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)	61
2.2.7. Determinação dos teores de prolina	61
2.3. Delineamento experimental e análise estatística	61
3. RESULTADOS	62
4. DISCUSSÃO.....	74
5. CONCLUSÕES.....	78
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	83

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

- $^1\text{O}_2$ = oxigênio singleto
- A = taxa fotossintética
- Al^{3+} = alumínio trocável
- APX = ascorbato peroxidase
- ASA = ascorbato
- B = Boro
- Ca = cálcio
- CAT = catalase
- Cd = cádmio
- Ci/Ca = razão entre a concentração interna e externa de CO_2
- CO_2 = gás carbônico
- Cont = substrato controle
- ContEh = substrato controle com estresse hídrico
- ContSeh = substrato controle sem estresse hídrico
- Cr = cromo
- Cu = cobre
- DAT = dias após o início do tratamento
- E = transpiração
- EDTA = ácido etilenodiamino tetra-acético
- Eh = estresse hídrico
- EROS = espécies reativas de oxigênio
- ETR = taxa de transporte de elétrons
- F = fluorescência em steadystate
- F_0 = fluorescência inicial
- Fe = ferro
- F_m' = fluorescência máxima do tecido vegetal iluminado
- F_m = fluorescência máxima
- FSII = fotossistema II
- F_v/F_m = eficiência quântica máxima do FSII
- gs = condutância estomática

- H^+Al = acidez potencial
- H_2O_2 = peróxido de hidrogênio
- IA = absorbância foliar
- K = potássio
- m = índice de saturação por alumínio
- MDA = malonaldeído
- MF = matéria fresca
- Mg = magnésio
- Mn = manganês
- MO = matéria orgânica
- MS = massa seca
- MT = matéria túrgida
- MU = massa úmida
- N = nitrogênio
- Ni = níquel
- NPQ = coeficiente de dissipação não fotoquímico
- $O_2^{\bullet -}$ = ânion superóxido
- $OH^{\bullet}$ = radical hidroxila
- P = fósforo
- PAR = radiação fotossinteticamente ativa
- Pb = chumbo
- Pe = substrato pilha de estéril
- PeEh = substrato pilha de estéril com estresse hídrico
- PeSeh = substrato pilha de estéril sem estresse hídrico
- pH = potencial hidrogeniônico
- P-Rem = fósforo remanescente
- qL = quenching fotoquímico
- S = enxofre
- SB = soma de bases
- Seh = sem estresse hídrico
- SOD = superóxido dismutase
- T = capacidade de troca catiônica a pH 7,0

- t = capacidade de troca catiônica efetiva
- TRA = teor relativo de água na folha
- V = índice de saturação por bases
- Zn = zinco
- Φ_{II} = rendimento quântico efetivo do FSII
- Φ_{NO} = rendimento quântico de dissipação não regulada de energia não fotoquímica do FSII
- Φ_{NPQ} = rendimento quântico de dissipação regulada de energia não fotoquímica do FSII

RESUMO

RIOS, Camilla Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2017. **Respostas fisiológicas de gramíneas ao déficit hídrico visando a revegetação de pilha de estéril.** Orientador: Eduardo Gusmão Pereira. Coorientadores: João Paulo de Souza e Advanio Inácio Siqueira Silva.

A extração mineral promove retirada da camada superficial do solo, desmatamento da vegetação nativa, alterações topográficas, poluição do ar e formação de pilhas de estéréis. Além das degradações proporcionadas pela mineração as condições climáticas, como os prolongados períodos de seca, tornam a revegetação dos ambientes impactados um processo lento, entretanto, o uso de espécies de gramíneas nativas e resistentes é uma técnica eficiente e de baixo valor econômico. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar as respostas ao déficit hídrico de gramíneas nativas utilizadas na revegetação de pilha de estéril em condições semi-controladas de casa de vegetação e em campo. No primeiro experimento, foram avaliadas as respostas fisiológicas de *Paspalum densum* (Poir.) e *Setaria parviflora* (Poir.) Kerguelen expostas ao substrato proveniente de pilha de estéril, frente ao estresse hídrico. O experimento foi montado em casa de vegetação, com dois substratos, pilha de estéril e substrato controle, e dois regimes de irrigação, com estresse e sem estresse hídrico. Ambas as espécies apresentaram respostas semelhantes, com acúmulo de ferro acima do considerado fitotóxico, redução na taxa fotossintética e nos índices de clorofilas em função do estresse hídrico, entretanto com rápida reestruturação do aparato fotossintético após retorno da irrigação, eficiente forma de dissipação do excesso de energia luminosa e eficaz mecanismo de eliminação das espécies reativas de oxigênio. Os resultados comprovaram o alto potencial das gramíneas para revegetação de ambientes com concentrações elevadas de ferro e períodos prolongados de seca. Por ser uma espécie perene, no segundo experimento, foram avaliadas as respostas fisiológicas apenas da gramínea *P. densum* em ambiente impactado pela deposição de estéréis de mineração de ferro ao longo da estação seca e chuvosa. O trabalho foi desenvolvido em duas áreas, pilha de estéril e campo ferruginoso, na mina Retiro das Almas, município de Ouro Preto, MG, com início no período chuvoso (janeiro a abril) e término no período seco (maio a agosto). Ao longo do experimento foi observado total mortalidade dos indivíduos em desenvolvimento no campo ferruginoso, maior capacidade de absorção de nutrientes e elementos traço pelas plantas crescendo na pilha de estéril sendo o acúmulo de ferro e cromo acima dos valores considerados

fitotóxicos, redução nos índices de clorofila e no rendimento quântico efetivo do FSII em função do déficit hídrico, eficiente forma de dissipação do excesso de energia luminosa e dinamismo entre as concentrações de malonaldeído e o acúmulo de prolina. *P. densum* apresentou satisfatório crescimento e rápida aclimação quando submetida a pilha de estéril e a período de seca demonstrando alto potencial para revegetação.

ABSTRACT

RIOS, Camilla Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2017.
Physiological responses of grasses to water deficit in order to revegetation "sterile mine". Adviser: Eduardo Gusmão Pereira. Co-Advisers: João Paulo de Souza and Advânio Inácio Siqueira Silva.

Mineral extraction promotes removal of the topsoil, deforestation of native vegetation, topographic changes, air pollution and formation of "sterile mine". In addition to the degradations provided by mining, climatic conditions, such as prolonged periods of drought, make revegetation of impacted environments a slow process, however, the use of native and resistant grass species is an efficient technique with low economic value. In this context, the objective of this work was to evaluate the responses to the water deficit of native grasses used in the revegetation of sterile cell under semi-controlled conditions of greenhouse and field. In the first experiment, the physiological responses of *Paspalum densum* (Poir.) and *Setaria parviflora* (Poir.) Kerguelen were evaluated, exposed to the substrate from the "sterile mine", in face of water stress. The experiment was set up in a greenhouse, with two substrates, sterile cell and control substrate, and two irrigation schemes, with stress and no water stress. Both species presented similar responses, with accumulation of iron considered phytotoxic, reduction in the photosynthetic rate and in the chlorophyll indexes as a function of water stress, however with a rapid restructuring of the photosynthetic apparatus after irrigation return, efficient way to dissipate excess energy Luminous and effective mechanism of elimination of reactive oxygen species. The results confirmed the high potential of grasses for revegetation of environments with high concentrations of iron and prolonged periods of drought. As a perennial species, in the second experiment, the physiological responses of the *P. densum* grass were evaluated only in an environment impacted by the deposition of iron ore in the dry and rainy season. The work was carried out in two areas, a "sterile mine" and a ferruginous field, at the Retiro das Almas mine, in the municipality of Ouro Preto, MG, beginning in the rainy season (January to April) and ending in the dry period (May to August). During the experiment, it was observed total mortality of the developing individuals in the ferruginous field, greater capacity of absorption of nutrients and traces elements by the plants growing in the "sterile mine" being the accumulation of iron and chromium above the values considered phytotoxic, reduction in the indexes of chlorophyll And in the effective quantum yield of FSII as a function of water deficit, efficient form of dissipation

of the excess light energy and dynamism between the concentrations of malonaldehyde and the accumulation of proline. *P. densum* presented satisfactory growth and rapid acclimatization when submitted to a “sterile mine” and the drought period demonstrating a high potential for revegetation.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A mineração é um dos pilares da sustentação econômica do Brasil. O país encontra-se em terceiro lugar no ranking mundial de reserva de minério de ferro, sendo superado apenas pela Austrália e Rússia, e também é o terceiro maior produtor de minério de ferro do mundo, com 13,6% das reservas mundiais, sendo que 99% da produção são utilizados na fabricação de aço e ferro fundido (DNPM, 2016). Entre os estados brasileiros produtores de minério de ferro estão Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Bahia e Pará, sendo que 51,6% e 32% do minério exportado são originários dos estados de Minas Gerais e Pará, respectivamente (IBRAM, 2015).

Apesar do ganho econômico, a mineração de ferro é responsável também por severos impactos ambientais, como por exemplo, poluição dos recursos hídricos, desmatamento de áreas nativas, assoreamento, retirada da camada superficial do solo, além de gerar pilhas e lagoas de rejeitos com altas incidências de elementos traço, deposição de material sólido particulado de ferro e consequentemente danos à saúde humana (Barreto, 2001; Chaturvedi et al., 2014). Desde o final da década de 80 as empresas mineradoras, que geram impactos sobre o meio ambiente, são obrigadas por lei a recuperarem as áreas afetadas (Ferreira e Ferreira, 2008). Porém, esta não é uma ação simples de ser realizada, devido às características do substrato na área degradada pela mineradora, bem como outros fatores estressores, como alta irradiância e períodos prolongados de seca.

A atividade mineradora resulta em diversas perturbações abióticas no ambiente, que por sua vez, são responsáveis por dificultar o processo de revegetação nas áreas impactadas. Entre elas podemos citar características do solo como perda da camada superficial, aumento da densidade, alteração na estrutura, diminuição da capacidade de retenção de água, alta resistência a penetração de raízes e perda de matéria orgânica, em alguns casos a presença de elementos tóxicos podem tornar as condições ainda mais hostis (Moreira, 2004). A remoção do horizonte superficial do solo pelas atividades de mineração de ferro resulta na perda de nutrientes e de matéria orgânica, ausência da atividade biológica e alteração nas propriedades físicas, consequentemente estes fatores favorecem os processos erosivos e a acidificação do substrato (Marx et al., 1995).

Outro fator resultante da atividade de mineração de ferro é o aumento significativo nos teores de metais no substrato, principalmente os teores de ferro. Este é um micronutriente essencial para as plantas, sendo utilizado em diversas etapas do

metabolismo vegetal, tais como fotossíntese, respiração, fixação de nitrogênio, síntese de hormônios e clorofilas, assimilação de nitrogênio e enxofre (Jeong e Connolly, 2009). Porém, quando em excesso, como nas áreas impactadas por mineradoras, o ferro pode desencadear alterações nos processos fisiológicos das plantas, sendo as concentrações acima de 500 mg_{Fe} Kg⁻¹ na massa seca das folhas, consideradas fitotóxicas para a maioria das espécies vegetais (Pugh et al., 2002; Broadley et al., 2012).

A toxidez severa por ferro pode causar danos aos complexos fotossintéticos reduzindo a eficiência quântica do fotossistema II (FSII) e a taxa de transporte de elétrons, aumentando a dissipação não fotoquímica do excesso de energia (Neves et al., 2009; Pereira et al., 2009). O excesso de Fe pode levar também ao estresse oxidativo, pelo aumento na produção de EROS, como oxigênio singleto (¹O₂), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), radical hidroxila (OH*) e ânion superóxido (O₂*⁻). As EROS são moléculas tóxicas formadas durante funções metabólicas normais ou induzidas por fatores ambientais de estresses, tais como exposição a níveis elevados de metais e a escassez hídrica (Sharma e Dubey, 2007). Em altas concentrações, quando as EROS excedem os mecanismos de defesa ocorre o estresse oxidativo. Isso resulta na peroxidação de lipídios, oxidação de proteínas, danos aos ácidos nucleicos, inibição enzimática, alterações na fotossíntese, inibição do crescimento e diminuição na concentração de clorofilas e, em última instância, morte celular (Chatterjee et al., 2006; Maheshwari, 2009). Entretanto, as plantas apresentam mecanismos enzimáticos responsáveis por neutralizar as espécies reativas de oxigênio, como superóxido dismutase, catalase e peroxidase, sendo a primeira considerada uma enzima chave nos mecanismos de regulação da concentração intracelular das espécies reativas de oxigênio (EROS), já as outras duas enzimas são potenciais catalizadoras de H₂O₂, resultante da atividade da enzima superóxido dismutase (Vansuyt et al., 1997; Fang et al., 2001; Becana et al., 1998). Também existem componentes não enzimáticos sintetizados pelas plantas que podem atuar como moléculas antioxidantes com finalidade de neutralizar a ação de EROS, como por exemplo, os componentes fenólicos (Jung et al., 2003; Michalak, 2006), glutatona reduzida, α-tocoferóis, ácido ascórbico, carotenóides, ácido úrico, ácido lipóico e ubiquinol (Edge et al., 1997; Becana et al., 1998). Tais mecanismos podem ser essenciais no processo de tolerância ao estresse.

Plantas que conseguem obter sucesso em ambientes com elevada concentração de ferro e elementos traço, baixo teor de matéria orgânica e nutrientes, possuem algum grau de resistência ao estresse, podendo desenvolver estratégias de evitação ou tolerância. Por

outro lado, se a planta não consegue ter sucesso em um ambiente estressante, então pode ser classificada como sensível (Lambers et al., 1998).

Além das condições do substrato nos locais minerados, as plantas devem ser capazes de se estabelecerem e sobrevierem a uma estação prolongada de seca. A porção central de Minas Gerais, região com maior extração de minério de ferro do Brasil, apresenta um clima tropical semi-úmido típico. A estação úmida se concentra nos meses de verão e a seca no inverno, este clima predomina devido a distância dos oceanos e das barreiras orográficas (Salgado, 2012). Quando expostas a deficiência hídrica as plantas tendem a alterar seu metabolismo a fim de se aclimatarem ao estresse (Ashraf et al., 2007). Nestas condições alguns genes são induzidos proporcionando a produção de importantes proteínas responsáveis na proteção contra o déficit hídrico (Shinozaki et al., 2003). Em plantas sob estresse, o conteúdo de prolina, aminoácido com alta sensibilidade de resposta a condições de estresse, pode aumentar até 100 vezes em comparação ao observado em plantas cultivadas sob condições normais (Verbruggen e Hermans, 2008). Além disso, a escassez hídrica resulta em uma diminuição do potencial hídrico do solo, com isso as plantas necessitam apresentar um potencial hídrico ainda mais negativo, de modo a manter o seu gradiente de absorção de água. Deste modo, o decréscimo de água no solo acarreta em uma diminuição do potencial de água na folha e consequentemente diminuição da condutância estomática e fechamento dos estômatos (Yordanov et al., 2000). Uma vez que os estômatos se fecham, o influxo de CO₂ é bloqueado o que diminui o acúmulo de fotoassimilados (Ober e Luterbacher, 2002).

O sucesso na revegetação de áreas mineradas depende da espécie vegetal escolhida, a qual deve apresentar crescimento vegetativo rápido e capacidade de gerar um grande número de descendentes, bem como ser resistente à altas concentrações de metais no substrato (Jacobi et al., 2008). As gramíneas são espécies pioneiras com grande potencial de desenvolvimento e destacada aplicação na recuperação de áreas degradadas por atividades mineradoras (Martins, 1996; Maiti e Maiti, 2015).

A invasão dos ecossistemas por espécies exóticas é a segunda principal causa de perda de biodiversidade no planeta (Gurevitch e Padilla, 2004). Por isso, o uso de gramíneas nativas tem sido indicado em processos de revegetação de áreas impactadas pela mineração (Machado et al., 2013; de la Fuente et al., 2014). Contribuindo assim na conservação da biodiversidade, protegendo e expandindo as fontes naturais de diversidade genética da flora em questão e da fauna a ela associada, representando também importantes vantagens técnicas e econômicas devido à proximidade da fonte de

propágulos, facilidade de aclimação e perpetuação das espécies (Oliveira-filho, 1994).

Neste contexto, o objetivo do trabalho foi caracterizar as respostas fisiológicas das gramíneas nativas selecionadas quando submetidas ao estresse hídrico e a pilha de estéril em casa de vegetação e em áreas impactadas pela mineração de ferro.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R.; WAHID, A.; GELANI, S. Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany*, v. 61, p. 199–223, 2007.

BARRETO, M. L. Mineração e desenvolvimento sustentável: desafios para o Brasil, CETEM/MCT, Brasil, 215 p., 2001

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

BROADLEY, M; BROWN, P; CAKMAK, I; RENGEL, Z; ZHAO, F. Function of nutrients: Micronutrients. Marschner, P. (Ed). *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*, Academic Press, San Diego, p. 191-248, 2012.

CHATTERJEE, C.; GOPAL, R.; DUBE, B. K. Impact of iron stress on biomass, yield, metabolism and quality of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Scientia Horticulturae*, v.108, p.1-6, 2006.

CHATURVEDI, N.; AHMED, MD. J.; DHAL N. K. Effects of iron ore tailings on growth and physiological activities of *Tagetes patula* L. *J Soils Sediments*. v. 14, p. 721-730, 2014.

de la FUENTE, C.; PARDO, T.; ALBURQUERQUE, J. A.; MARTÍNEZ-ALCALÁ, I.; BERNAL, M. P.; CLEMENTE, R. Assessment of native shrubs for stabilisation of a trace elements-polluted soil as the final phase of a restoration process. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v. 196, p. 103-111, 2014.

DNPM - Departamento nacional de produção mineral, 2016. Disponível em: http://www.dnpm.gov.br/assuntos/ao-publico/anuario-mineral/arquivos/ANUARIO_MINERAL_2010.pdf/view . Acesso 28 set. 2016.

EDGE, R.; MCGARVEY, D.J.; TRUSCOTT, T.G. The carotenoids as anti-oxidants – a review. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, v.41, p. 189-200, 1997.

FANG, W.; WANG, J.; LIN, C.; KAO, C. Iron induction of lipid peroxidation and effects on antioxidative enzyme activities in rice leaves. *Plant Growth Regulation* v. 35, p. 75-80, 2001.

FERREIRA, G. L. B. V.; FERREIRA, N. B. V. Exploração minerária e a recuperação de áreas degradadas. *Âmbito Jurídico*, v. 11, n. 51, p. 1-4, 2008.

GUREVITCH, J.; PADILLA, D. K. Are invasive species a major cause of extinctions?. *Trends in Ecology e Evolution*, v. 19, n. 9, p. 470-474, 2004.

IBRAM – Instituto Brasileiro de Mineração. Informações sobre a economia mineral brasileira, 2015.

JABOBI, C. M.; CARMO, F. F.; VINCENT, R. C. Estudo fitossociológico de uma comunidade vegetal sobre canga como subsídio para a reabilitação de áreas mineradas no Quadrilátero Ferrífero, MG. *R. Árvore* v.32, p. 345-353, 2008.

JEONG, J.; CONNOLLY, E. L. Iron uptake mechanisms in plants: functions of the family of ferric reductases. *Plant science*, v.176, p.709-714, 2009.

JUNG, C.; MAEDER, V.; FUNK, F.; FREY, B.; STICHER, H.; FROSSARD, E. Release of phenols from *Lupinus albus* L. roots exposed to Cu and their possible role in Cu detoxification. *Plant and Soil*, v. 252, p. 301–312, 2003.

LAMBERS, H.; CHAPIN, F.S.; PONS, T.L. *Plant physiological ecology*. New York: Springer–Verlag, 540p. 1998.

MACHADO, N. A. M.; LEITE, M. G. P.; FIGUEIREDO, M. A.; KOZOVITS, A. R. Growing *Eremanthus erythropappus* in crushed laterite: A promising alternative to topsoil for bauxite-mine revegetation. *Journal of Environmental Management*, v. 129, p. 149-156, 2013.

MAHESHWARI, R.; DUBEY, R. S. Nickel-induced oxidative stress and the role of antioxidant defence in rice seedlings. *Plant Growth Regulation*, v. 59, n. 1, p. 37–49, 2009.

MAITI, S. K.; MAITI, D. Ecological restoration of waste dumps by topsoil blanketing, coir-matting and seeding with grass-legume mixture. *Ecological Engineering*, v. 77, p. 74-84, 2015.

MARTINS, C. R. Revegetação com gramínea de uma área degradada no Parque Nacional de Brasília, DF, Brasília. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Departamento de Ecologia, Universidade de Brasília, Brasília, 1996.

MARX, D.H.; HEDIN, A.; TOE, S.F.P Fiel performace of *Pinus caribea* var. *hondurensis* seedlings with specific ectomicorrhizae and fertilizer after three years on a savanna site in Libera. *Forest Ecology Management*, Amnsterdan, v.13, n.2 p.1-15, 1995.

MICHALAK, A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, v.15, p. 523-530, 2006.

MOREIRA, P. R. Manejo do solo e recomposição da vegetação com vistas a recuperação de áreas degradadas pela extração de bauxita, Poços de Caldas, MG. Doutorado - Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2004.

NEVES, N. R.; OLIVA, M. A.; CENTENO, D. C.; COSTA, A. C.; RIBAS, R. F.; PEREIRA, E. G. Photosynthesis and oxidative stress in the restinga plant species *Eugenia uniflora* L. exposed to simulated acid rain and iron ore dust deposition: Potential use in environmental risk assessment. *Sci Total Environ*, v. 407, p. 3740-3745, 2009.

OBER, E. S.; LUTERBACHER, M. C. Genotypic variation for drought tolerance in *Beta vulgaris*. *Annals of Botany*, v. 89, p. 917-924, 2002.

OLIVEIRA-FILHO, A. T. Estudos ecológicos da vegetação como subsídios para programas de revegetação com espécies nativas: uma proposta metodológica. *Revista Cerne*. Lavras, Minas Gerais, v. 1, p. 64-72, 1994.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Involvement of oxidative stress and role of antioxidative defense system in growing rice seedlings exposed to toxic concentrations of aluminum. *Plant Cell Rep*, v.26, p. 2027–2038, 2007.

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

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

SALGADO, A. A. R. Grandes domínios morfobioclimáticos de minas gerais: uma breve apresentação. In: *Panorama da biodiversidade em Minas Gerais*, Instituto Estadual de Florestas – IEF, 2012.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SEKI, M. Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses. *Plant Biology*, v. 6, n 5, p. 410–417, 2003

VANSUYT, G.; LOPEZ, F.; INZÉ, D.; BRIAT, J.F.; FOURCROY, P. Iron triggers a rapid induction of ascorbate peroxidase gene expression in *Brassica napus*. *FEBS Letter* v. 410, p. 1195-1200, 1997.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*, v.35, p.753-759, 2008.

YORDANOV, I.; VELIKOVA, V. ; TSONEV, T. Plant Responses to Drought, Acclimation, and Stress Tolerance. *Photosynthetica*, v.38, n.2, p.171-186, 2000.

CAPITULO I

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE GRAMÍNEAS NATIVAS SUBMETIDAS AO ESTRESSE HÍDRICO E SUBSTRATO PROVENIENTE DE MINERAÇÃO DE FERRO

RESUMO

Em áreas degradadas pela mineração, a revegetação é um processo lento. Isso ocorre devido as características químicas e físicas do substrato, além das condições ambientais adversas, com períodos de seca prolongada. O uso de espécies vegetais nativas e resistentes é uma técnica eficiente e de baixo custo, com alto potencial para revegetação de áreas minerárias. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar as respostas fisiológicas de *Paspalum densum* (Poir.) e *Setaria parviflora* (Poir.) Kerguelen expostas ao estresse hídrico e ao substrato proveniente de pilha de estéril de mineração de ferro. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação, utilizando-se dois substratos, solo proveniente de local não impactado e pilha de estéril, e duas condições de estresse hídrico, com e sem irrigação. A exposição a pilha de estéril resultou em um acúmulo de ferro acima do limite fitotóxico nas duas espécies. O estresse hídrico causou redução do teor relativo de água nas folhas para ambas as espécies, com posterior aumento nos valores após a reidratação. O mesmo foi observado nos valores de fotossíntese, condutância estomática e transpiração. Consequentemente, ocorreram queda na eficiência quântica máxima do FSII e no rendimento quântico efetivo do FSII e aumento na dissipação de energia de forma não fotoquímica no período de máximo estresse. Os baixos níveis de malonaldeído apresentados por *P. densum* e *S. parviflora* após retorno da irrigação são indicativos do potencial mecanismo de controle de espécies reativas de oxigênio. Aumento na concentração de H_2O_2 foi observado em ambos os substratos quando exposto ao estresse hídrico, sendo uma maior produção observada para a espécie *S. parviflora*. Entretanto, houve aumento da atividade da enzima catalase no dia posterior ao retorno da irrigação em *S. parviflora* expostas ao solo controle e consequente redução da concentração de H_2O_2 . A resistência apresentada por *P. densum* e *S. parviflora* após exposição ao substrato proveniente de pilha de estéril e ao estresse hídrico, comprova seu potencial uso na revegetação de ambientes com concentrações elevadas de ferro e sujeitos a longos períodos de seca.

Palavras-chave: *Paspalum densum*, *Setaria parviflora*, pilha de estéril, déficit hídrico, revegetação.

PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF NATIVE GRAMINEES SUBMITTED TO WATER STRESS AND SUBSTRATE FROM IRON MINING

ABSTRACT

In areas degraded by mining, revegetation is a slow process. This is due to the chemical and physical characteristics of the substrate, in addition to adverse environmental conditions, with periods of prolonged drought. The use of native and resistant plant species is an efficient and low cost technique with high potential for revegetation of mining areas. In this context, the objective of this work was to evaluate the physiological responses of *Paspalum densum* (Poir.) and *Setaria parviflora* (Poir.) Kerguelen exposed to water stress and the substrate from the iron mining “sterile mine”. The plants were cultivated in a greenhouse, using two substrates, soil from non-impacted soil and sterile soil, and two water stress conditions, with and without irrigation. Exposure to sterile cell resulted in an accumulation of iron above the phytotoxic limit in both species. The water stress caused a reduction of the relative water content in the leaves for both species, with a subsequent increase in the values after the rehydration. The same was observed in the values of photosynthesis, stomatal conductance and transpiration. Consequently, there was a fall in the maximum quantum efficiency of FSII and in the effective quantum yield of FSII and increase in energy dissipation in a non-photochemical way in the period of maximum stress. The low levels of malonaldehyde presented by *P. densum* and *S. parviflora* after irrigation return are indicative of the potential control mechanism of reactive oxygen species. Increased H_2O_2 concentration was observed in both substrates when exposed to water stress, being a higher production observed for *S. parviflora* species. However, there was an increase in the activity of the catalase enzyme on the day after irrigation return in *S. parviflora* exposed to the control soil and consequent reduction of the H_2O_2 concentration. The resistance presented by *P. densum* and *S. parviflora* after exposure to the substrate from the “sterile mine” and the water stress, confirms its potential use in the revegetation of environments with high concentrations of iron and subject to long periods of drought.

Key words: *Paspalum densum*, *Setaria parviflora*, “sterile mine”, water deficit, revegetation.

1. INTRODUÇÃO

A mineração possui ampla extensão nos territórios brasileiros e consiste nos processos de extração, elaboração e beneficiamento de substâncias minerais incluindo o carvão, petróleo, água, gás mineral e minerais diversos. Entre os minerais extraídos no Brasil, o minério de ferro apresenta relevante importância para a economia, uma vez que o país detém o terceiro lugar no ranking de produção mundial (DNPM, 2016). Entre os estados brasileiros produtores de minério de ferro, Minas Gerais é responsável por 51,6% da produção nacional (IBRAM, 2015). Entretanto, apesar do ganho econômico, a mineração é responsável por gerar inúmeros impactos ambientais. Entre eles podemos citar, emissão de material particulado de ferro, desmatamento, poluição dos recursos hídricos, geração de pilhas de estéréis e lagoas de decantação de rejeitos com altos teores de elementos traço, o que resulta em vastas áreas degradadas com poucas formas vitais (Chaturvedi et al., 2014).

A sucessão natural em áreas degradadas pela mineração de ferro é lenta (Malcová et al., 2001; Silva et al., 2006) devido as características químicas e físicas do solo, como baixo teor de matéria orgânica e nutrientes, valores de pH extremos, presença de elementos traço e alta densidade entre as partículas, o que dificulta a penetração radicular (Liebenberg et al., 2013). Outros fatores estressores como o excesso de ferro e sazonalidade climática podem influenciar na comunidade vegetal local.

Na porção central de Minas Gerais encontra-se o Quadrilátero Ferrífero, região com maior atividade de extração de minério de ferro do Brasil. O clima local apresenta duas estações, a estação úmida que se concentra nos meses de setembro a abril, e a estação seca, que se estende entre os meses de maio a agosto (Salgado, 2012). Por isso é importante selecionar espécies nativas que consigam resistir ao desequilíbrio nutricional do solo, mas que também consigam sobreviver a quatro meses de seca com reduzidas precipitações. Uma vez que a escassez hídrica acarreta em uma diminuição do teor relativo de água na folha e consequentemente diminuição da condutância estomática e fechamento dos estômatos (Yordanov et al., 2000), resultando em um decréscimo no acúmulo de fotoassimilados (Ober e Luterbacher, 2002).

Espécies de gramíneas apresentam grande potencial em processos de recuperação de áreas degradadas, uma vez que possuem a capacidade de gerar grande número de sementes, apresentam rápido crescimento vegetativo, favorecendo a cobertura e protegendo o substrato da exposição à chuva e ao sol (Silva et al., 2006), além de possuírem ciclo de vida curto e sobreviverem em habitats com intensa competição por recursos (Ricklefs, 2001). Por estes motivos foram selecionadas espécies de gramíneas nativas *S. parviflora* e *P. densum* que apresentam características favoráveis de tolerância ao excesso de ferro (Araújo et al., 2014;

Rios et al., 2017). A ampla distribuição e capacidade de aclimação destas espécies a diferentes ambientes são características favoráveis iniciais para serem utilizadas em projetos de recuperação de áreas impactadas por usinas de minério de ferro.

Neste contexto, espera-se que *P. densum* e *S. parviflora* não apresentem queda no metabolismo fotossintético demonstrando eficiente mecanismo de eliminação das espécies reativas de oxigênio, quando expostas ao déficit hídrico e ao substrato pilha de estéril, bem como apresentam rápida recuperação quando submetidas ao término do período de estresse hídrico. Este trabalho tem como objetivo avaliar as respostas fisiológicas de ambas espécies expostas ao estresse hídrico e ao substrato proveniente de pilha de estéril.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de Estudo

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação na Universidade Federal de Viçosa - Campus Florestal (UFV-CAF), situada no município de Florestal, Minas Gerais (19°53'20.23"S e 44°25'56.38"W). O clima é classificado como tropical segundo Koppen, com precipitação média anual de 1500 mm, sendo as estações do ano bem definidas entre verão (chuvoso) e inverno (seco), com temperaturas médias variando entre 15°C a 30°C (Tabela 1) (Clima tempo, 2015).

Tabela 1: Banco de dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) da estação automática A535 de Florestal, MG, durante o período experimental em casa de vegetação.

Espécie	Temperatura (°C)		Umidade (%)		Pressão		Rad. (KJm ²)	Precip. (mm)
	Máx	Mín	Máx	Mín	Máx	Mín		
<i>P. densum</i>	26,67	23,21	78,35	71,06	930,31	929,74	974,80	0,25
<i>S. parviflora</i>	24,03	22,70	81,46	75,35	930,54	930,02	837,90	0,24

Os dados do experimento com a espécie *P. densum* são médias do mês de dezembro de 2015. E os dados do experimento com a espécie *S. parviflora* são médias dos meses de fevereiro e março de 2016.

2.2. Material vegetal

Em estudos anteriores foram selecionadas espécies vegetais de Poaceae, nativas da região e resistentes ao excesso de ferro no substrato (Araújo, 2016; Rios et al., 2017). Portanto, duas

destas espécies foram utilizadas, sendo elas: *Paspalum densum* (Poir.) e *Setaria parviflora* (Poir.) Kerguelen. *S. parviflora* é anual apresenta colmos eretos ou geniculados; nós inferiores geniculados; lígula presente; lâminas foliares rígidas, planas ou involutas, glabras ou pilosas (Batalha e Mantovani, 1999). *P. densum* é perene, possui hábito cespitoso com bainhas esponjosas; colmos eretos; entre nós glabros ou pubescentes; lígula presente; lâmina foliar glabra com ápice acuminado (Clayton, 2006). Inicialmente, foram coletadas sementes de ambas espécies nas margens da usina de pelotização de minério de ferro localizada em Ubu (ES) (20°46'49.52"S 40°35'08.69"O). Estas foram dispostas em leito de areia e após a germinação transplantadas para o solo.

Para os experimentos, foram utilizadas plantas de *P. densum* e *S. parviflora* obtidas a partir de matrizes cultivadas no solo e transferidas para solução nutritiva de Hoagland mantida a meia força e pH 5,0. Durante o período de aclimação de *P. densum* e *S. parviflora* por 53 e 120 dias, respectivamente, a parte aérea e as raízes das plantas, foram podadas duas vezes. Posteriormente quando ocorreu a emissão das primeiras raízes e expansão foliar, as plantas foram selecionadas quanto ao tamanho, vigor e homogeneidade e transplantadas para vasos plásticos com capacidade de cinco litros contendo diferentes substratos utilizados nos experimentos.

Os experimentos foram montados com 2 substratos distintos. Sendo o tratamento com substrato controle, composto por solo proveniente de áreas não impactadas adjacente a mineração. E o segundo tratamento composto por solo proveniente de pilha de estéril de mineração de ferro, da Mina de Fábrica pertencente a VALE S.A. em Ouro Preto, MG. Após o transplântio, as plantas de *P. densum* e *S. parviflora* foram irrigadas diariamente e monitoradas durante 47 e 23 dias, respectivamente, quanto aos teores de clorofilas e fluorescência da clorofila a, medidos a cada dois dias. Em seguida deu-se início aos tratamentos com imposição do estresse hídrico.

Para cada espécie de gramínea avaliada, foi montado um experimento independente. Sendo cada experimento composto por quatro tratamentos, sendo eles: solo controle e sem estresse hídrico (ContSeh), solo de pilha de estéril e sem estresse hídrico (PeSeh), solo controle e com estresse hídrico (ContEh) e solo de pilha de estéril com estresse hídrico (PeEh). Cada tratamento composto por cinco repetições. A irrigação das plantas no tratamento sem estresse hídrico foi mantida constantemente na capacidade de campo ao longo de todo o experimento, já as plantas expostas ao estresse hídrico permaneceram sem irrigação até o ponto de máximo estresse, ou seja, quando a fotossíntese se encontrava com valores próximos de zero. Para *P. densum* o ponto máximo de estresse ocorreu no 9º dia de experimento e para *S. parviflora* quando exposta ao

substrato pilha de estéril no 12º dia e para o solo controle no 19º dia. Neste momento, a irrigação foi retomada até a recuperação total das variáveis das plantas expostas ao estresse. Ao longo dos experimentos foram analisados diariamente as trocas gasosas, os índices de clorofilas e fluorescência da clorofila a. Também foram avaliadas umidade do solo, teor relativo de água na folha, concentração de malonaldeído e peróxido de hidrogênio e atividades enzimáticas do sistema antioxidante, para *P. densum* nos dias 1, 3, 7, 9, 13 e 16 e para *S. parviflora* exposta ao solo controle nos dias 1, 8, 19, 21 e 26 e a pilha de estéril nos dias 1, 8, 12, 14 e 19. Ao final dos experimentos, após 16 para *P. densum* e 19 e 26 dias para *S. parviflora* exposta aos substratos pilha de estéril e controle, respectivamente, foram realizadas análises do teor de minerais nas raízes e parte aéreas. O final dos experimentos se deu quando as plantas expostas ao estresse hídrico haviam recuperado totalmente a taxa fotossintética.

2.3. Variáveis avaliadas

2.3.1. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a

As análises de trocas gasosas: taxa fotossintética (A); condutância estomática (gs), transpiração (E) e razão entre a concentração interna e externa de CO₂ (Ci/Ca) foram realizadas na 3ª folha totalmente expandida para cada indivíduo, com auxílio de um analisador de gases no infravermelho, modelo LI-6400xt (Li-Cor Inc., Lincoln, Nebraska, EUA). A luz (1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foi fornecida por 12 LEDs presentes na câmara foliar com fluorescência (modelo 6400-40, Li-Cor Inc.), com área de 2 cm². As avaliações foram realizadas com auxílio de sistema de controle de CO₂ (modelo 6400-01, Li-Cor Inc.) com concentração de 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, com médias de temperatura e umidade do ar de 31°C e 45%, respectivamente, e temperatura foliar de 30°C. Nas mesmas folhas em que foram feitas as medições de trocas gasosas foram efetuadas medições das variáveis de fluorescência da clorofila a, com o auxílio de um fluorômetro de pulso modulado Mini-PAM (Heinz Walz, Effeltrich, Germany). Após aclimação do tecido vegetal ao escuro por pelo menos 30 minutos, foram feitas medições da fluorescência inicial (F₀) e fluorescência máxima (F_m), utilizando luz de medição (0,15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e pulso de luz saturante (12000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), respectivamente. Os valores obtidos foram utilizados para a determinação da eficiência quântica máxima do fotossistema II (FSII), ($F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$) (Kitajima e Butler, 1975). Após a determinação de F_v/F_m, o tecido vegetal foi exposto por 60 segundos à radiação fotossinteticamente ativa (PAR) com intensidade de 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Após o período de iluminação foi aplicado um pulso de luz saturante, para a determinação das variáveis: F – fluorescência em steady state, antes do pulso de luz saturante; F_m' – fluorescência máxima do tecido vegetal iluminado. Também foram calculadas as variáveis: $\Phi_{II} = (F_m' - F)/F_m'$

– rendimento quântico efetivo do FSII no tecido vegetal iluminado; $\Phi_{NPQ} = F/Fm' - F/Fm$ – rendimento quântico de dissipação regulada de energia não fotoquímica do FSII e $\Phi_{NO} = F/Fm$ – rendimento quântico de dissipação não-regulada de energia não fotoquímica do FSII (Genty et al., 1996); $qL = (Fm' - Fs) / (Fm' - F0') \times F0' / Fs$ – quenching fotoquímico, que estima a fração de centros de reação abertos do FSII (Kramer et al., 2004) e $NPQ = Fm - Fm' / Fm'$ - coeficiente de dissipação não-fotoquímico (Bilger e Björkman, 1990); $ETR = 0,5 \times IA \times \Phi_{II} \times PAR$ – taxa de transporte de elétrons, em que 0,5 é a proporção de fótons destinado aos dois fotossistemas (Melis et al., 1987) e IA é a absorvância foliar.

2.3.2. Índices de clorofila

As avaliações dos teores de clorofila (clorofila total, clorofila a, clorofila b e a razão clorofila a/b) foram feitas com auxílio do medidor portátil de clorofila ClorofiLOG (Falker, Brasil). Cada folha foi caracterizada pela média de três medições realizadas na porção central da terceira folha totalmente expandida.

2.3.3. Teor de minerais nos tecidos vegetais

No último dia dos experimentos, todo o material vegetal restante foi dividido em raiz e parte aérea, lavados com água corrente e água deionizada, em seguida, foram colocados em estufa para secagem a 75°C durante 72 horas. Posteriormente, as amostras foram pesadas em balança de precisão e, então, reduzidas a partículas menores que 1mm, com auxílio de moinho de facas de aço inox. Após a moagem as amostras foram acondicionadas em frascos de vidro.

Para determinação dos teores de P, K, Ca, Mg, S, Zn, Cu, Mn e Fe foi feita digestão nítrico-perclórica. Inicialmente foram pesados 0,5 g do material vegetal moído, em seguida, foram adicionados 10 mL da mistura de ácido nítrico + ácido perclórico na proporção 4:1 dentro de capela de exaustão. A solução foi levada em chapa quente pré-aquecida a 80° C e a temperatura elevada gradativamente até atingir 200° C. Quando o extrato ficou cristalino a solução foi retirada da chapa para esfriar e posteriormente o volume foi completado com água deionizada para 25 mL (Sarruge e Haag, 1974).

Para análise de nitrogênio a digestão sulfúrica foi utilizada 0,2 g do material moído adicionados em 5 mL de ácido sulfúrico dentro de capela de exaustão. Posteriormente as amostras foram levadas ao bloco digestor pré-aquecido a 120° C e a temperatura elevada gradativamente até atingir 350° C. Assim que o extrato ficou cristalino, retirou-se para esfriar. Por fim o volume foi completado para 50 mL com água deionizada (Kjeldahl, 1883). Não houveram resultados dos teores de N presentes nas raízes de *S. parviflora* devido à falta de material para análise.

Para análise de boro foram pesados 0,25 g do material moído e colocado em cadinho de porcelana, este foi vedado com papel alumínio e colocado na mufla a temperatura de 550° C por 3 horas. A cinza foi dissolvida com 10 mL de HCl 0,1N (Jackson, 1970).

A determinação de fósforo foi realizada com uma alíquota de 1 mL do extrato, acrescidos de 9 mL de reagente de trabalho. Após 20 minutos, foi feita a leitura em espectrofotômetro a 725 nm. Foi utilizada a curva padrão de calibração, tendo como concentração máxima 1 mg L⁻¹ de P. O reagente de trabalho foi preparado com 1 g de subcarbonato de bismuto, sendo acrescentado 138,8 mL de H₂SO₄ concentrado, e o volume completado para 1000 mL. Posteriormente, uma alíquota de 111 mL desta solução foi adicionada em 0,88 g de ácido ascórbico em um balão volumétrico de 1000 mL (Braga e Defelipo, 1974).

Para determinação de potássio foi retirada uma alíquota de 1 mL do extrato e transferida para tubo de ensaio, foram adicionados 24 mL de água deionizada, agitados e posteriormente determinada a emissão de luz no fotômetro de chama descrito por Malavolta et al. (1989).

A determinação de cálcio e de magnésio foi realizada com alíquota de 1 mL do extrato em tubo de ensaio, em seguida, foram adicionados 1,5 mL de solução de SrCl₂ a 16.000 mg L⁻¹ e o volume completado para 15 mL com água deionizada foi determinada a emissão de luz no espectrômetro de absorção atômica. Foi utilizada a curva padrão de calibração para Ca até 20 mg L⁻¹ e Mg até 4 mg L⁻¹ (Sarruge e Haag, 1974). Para determinação de enxofre foram pipetados 5 mL do extrato, acrescentados 2,5 mL de solução tampão de trabalho e 2,5 mL de reagente de trabalho. Após 20 minutos, foi feita leitura em espectrofotômetro a 725 nm. Foi utilizada curva padrão de calibração até 1 mg L⁻¹.

A solução tampão de trabalho foi realizada com 80 g de cloreto de magnésio hexahidratado, 7,7 g de acetato de amônio e 1,68 g de nitrato de potássio, ambos adicionados a 700 mL de água deionizada, 56 mL de álcool etílico a 95% e o volume completado para 1000 mL. Posteriormente 200 mL desta solução foi completada novamente para o volume de 1000 mL. Já o reagente de trabalho, é composto por 26,6 g de cloreto de bário, 140 mL de água deionizada, 0,266 g de goma arábica e o volume completado para 1000 mL, a solução foi agitada e filtrada usando filtro de papel lento (Alvarez et al, 2001).

A determinação de micronutrientes foi realizada com 5 mL do extrato nítrico-perclórico adicionados a 15 mL com água deionizada, após agitação foi determinada a emissão de luz no espectrômetro de absorção atômica. A curva padrão de calibração utilizada para o Fe foi de até 20 mg L⁻¹, Mn até 5 mg L⁻¹, Cu até 5 mg L⁻¹ e Zn até 2 mg L⁻¹ (Malavolta et al., 1989).

Os teores de Cd, Cr, Pb e Zn nas amostras de plantas foram determinados nos extratos obtidos da digestão em $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{HCl}$, conforme o método descrito em USEPA-3050 (1986), e quantificados por espectrofotometria de absorção atômica.

2.3.4. Determinação da composição química do solo

Para determinação da composição química do solo, no início do experimento foram coletadas amostras compostas de cada tratamento (0-5 cm de profundidade). Inicialmente as amostras identificadas foram espalhadas e destorroadas, manualmente. Em seguida, foi efetuada a completa secagem da amostra ao ar em ambiente ventilado, ou em estufa com circulação forçada, à temperatura de 40 °C. As amostras foram passadas através de peneira com malha de 2 mm. Foi descartada a parte da amostra retida na peneira. A terra fina seca ao ar (TFSA) foi transferida para o recipiente apropriado, devidamente identificado.

Para a análise de pH em água foram colocados 10 cm³ de TFSA num frasco de 50 mL e adicionado 25,0 mL de H₂O. A amostra foi agitada com bastão de vidro por 1 min. Em seguida, foi colocada em repouso por 30 a 60 min. Por fim foi feita a leitura do pH em potenciômetro devidamente calibrado com soluções-padrão de pH 4,0 e 7,0. O mesmo foi realizado para a análise de pH em KCl, substituindo a água pela solução de KCl 1,0 mol L⁻¹ (74,6 g L⁻¹) (Jackson, 1958).

Para análise do fósforo foi realizada a extração com 5,0 cm³ de TFSA em erlenmeyer de 125 mL e adicionados 50 mL de extrator Mehlich-1. Agitado por 5 min em agitador circular horizontal a 200 rpm, deixando em repouso por ± 16 h. Pipetou-se 5,0 mL do sobrenadante e adicionou-se 5,0 mL de reagente de trabalho (RT). Após 30 min, foi feita a leitura no espectrofotômetro de absorção molecular, utilizando o comprimento de onda de 725 nm (Braga e Defelipo, 1974).

Para análise de potássio foi primeiramente realizada a extração, da qual foram pipetados 10 mL do sobrenadante em um becker e a leitura feita diretamente no extrato, utilizando um espectrofotômetro de emissão em chama (Defelipo e Ribeiro, 1997).

Para análise de cálcio e magnésio foi medido 10 cm³ de TFSA em erlenmeyer de 125 mL e adicionado 100 mL de extrator KCl 1,0 mol L⁻¹. A amostra foi agitada por 5 min em agitador circular horizontal a 200 rpm e colocada em repouso por ± 16 h. Em seguida, foi retirada uma alíquota de 0,5 mL e colocada em tubo de ensaio, onde foi adicionado 10 mL da solução de SrCl_2 contendo 1.680 mg L⁻¹ de Sr. O tubo de ensaio foi agitado e posteriormente feita a leitura em espectrofotômetro de absorção atômica devidamente calibrado. Para curva de calibração do espectrofotômetro de absorção atômica foi utilizado extratos de KCl 1,0 mol L⁻¹, na relação solo:extrator (Defelipo e Ribeiro, 1997).

Para análise de alumínio trocável foi medido 10 cm³ de TFSA em erlenmeyer de 125 mL e adicionar 100 mL de extrator KCl 1,0 mol L⁻¹. Agitado por 5 min em agitador circular horizontal a 200 rpm e deixar em repouso por $\pm$ 16 h. Foi retirada uma alíquota de 25 mL do sobrenadante e colocada em erlenmeyer de 125 mL, onde se adicionou três gotas de indicador azul de bromotimol a 1 % e titulado com NaOH 0,025 mol L⁻¹ (Defelipo e Ribeiro, 1997).

Análise de acidez potencial foi realizada com 5,0 cm³ de TFSA em erlenmeyer de 125 mL e adicionado a 75,0 mL de acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ a pH 7,0. A amostra foi agitada durante 10 min e deixada em repouso por $\pm$ 16 h. Em seguida, foi pipetado 25,0 mL do extrato em um erlenmeyer de 125 mL, adicionado 2 gotas de fenolftaleína e titulado com solução padronizada de NaOH 0,025 mol L⁻¹. A viragem é de incolor para róseo (Castro et al., 1972).

Para análise de fósforo remanescente foram colocados 7,5 cm³ de TFSA em erlenmeyer de 125 mL e adicionados a 75 mL da solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ contendo 60 mg L⁻¹ de P (solução de equilíbrio). A amostrada foi agitada por 5 min e deixada em repouso por $\pm$ 16 h. Foi tomada uma alíquota de 0,2 mL e adicionados 4,8 mL de H₂O. Foi misturado os 5,0 mL da solução diluída com 5,0 mL do reagente de trabalho (RT). Decorridos 30 min, foi feita a leitura da absorvância no comprimento de onda de 725 nm (Alvarez, 2000).

Para análise de ferro, manganês, zinco e cobre foram pipetados 10 mL do sobrenadante e feita a leitura diretamente no extrato, utilizando um espectrofotômetro de absorção atômica (Jackson, 1958).

A análise de enxofre foi realizada com 10 cm³ de TFSA colocada em erlenmeyer de 125 mL. Adiciona-se uma medida ($\pm$ 0,30 g) de carvão ativado e 25 mL do extrator. A amostra foi agitada por 45 min, decantada por 5 min e filtrada em papel de filtração lenta tipo Whatman 42. Em tubo de ensaio de 50 mL, pipetou-se 10 mL do extrato, onde foram adicionadas as sementes de S (1mL da solução-padrão 15 mg L⁻¹ de S) e 4 mL do reagente de trabalho (RT). Agitou-se em agitador de tubos de ensaio até a homogeneização da suspensão. Posteriormente, foi realizada a leitura em espectrômetro de absorção molecular a 420 nm em cubetas de 1,0 cm de largura (Alvarez, 2001).

Para análise de boro foi cachimbado 10 cm³ de solo em saquinhos de polipropileno (15 x 30 cm). Adicionados 20 mL da solução extratora de cloreto de cálcio 5 mmol L⁻¹ e 0,5 cm³ de carvão ativo. Os saquinhos foram selados e agitados levemente e levados ao forno de microondas para 4 min na potência máxima (700 W) e 5 min na potência média máxima (490 W). A suspensão foi esfriada por 30 min e filtrada imediatamente usando papel de filtro de filtração lenta. As amostras foram transferidas para tubos de ensaio e adicionadas 1 mL da

solução-tampão e homogeneizadas. Foram adicionados mais 1 mL da solução de azometina-H e agitado vigorosamente. Em seguida, a amostra foi mantida em repouso no escuro por 30 min. As leituras foram realizadas no espectrofotômetro UV-VIS, utilizando o comprimento de onda de 420 nm.

Para as análises de cádmio, cromo, chumbo e níquel primeiramente foram realizadas as extrações, posteriormente pipetou-se 10 mL do sobrenadante e a leitura feita diretamente no extrato, utilizando um espectrofotômetro de absorção atômica (Wear e Evans, 1968).

2.3.5. Caracterização física do solo

Para determinação da caracterização física do solo, foram coletadas no início dos experimentos amostras compostas de cada tratamento (0-5 cm de profundidade). Para análise de textura/granulometria do solo foi adotado comunicado técnico 66 “Padronização de Métodos para Análise Granulométrica no Brasil” realizado pela Embrapa em dezembro de 2012.

2.3.6. Determinação dos teores de malonaldeído (MDA)

Os teores de MDA foram estimados segundo metodologia proposta por Hodges et al. (1999). Parte da primeira folha totalmente expandida, de cada indivíduo, foi coletada. E posteriormente, foi macerado 0,1g de tecido foliar em nitrogênio líquido em almofariz e pistilo congelado e adicionado 1mL de etanol 80%. A amostra foi vortexada (Phoenix, modelo AP:54) e levada para o banho ultrassônico refrigerado (Elmasonic S30 H) durante 15 minutos. Em seguida, as amostras foram centrifugadas (Thermo scientific, megafuge 16R) por 10 min a 10.000g, a 4°C. O sobrenadante foi coletado e o processo de extração foi repetido outras duas vezes. Do extrato resultante, 1mL foi adicionado a tubos de ensaios rosqueados contendo 1mL de solução de TBA+ (ácido tricloacético a 20%, hidroxitolueno butilado 0,01% e 0,65% de ácido tiobarbitúrico). Novamente, 1mL da amostra foi adicionado a tubos contendo 1mL de solução de TBA- (ácido tricloacético a 20%, hidroxitolueno butilado 0,01%). Os tubos foram incubados em banho maria (Ethik technology, 521-3D) durante 25min a 95°C. Após esse tempo os tubos foram colocados em banho de gelo durante 10 min. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 10 min a 25°C e 10.000g e foram feitas as leituras utilizando o espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1800) nos comprimentos de ondas de: 440nm, 532nm e 600nm. Os cálculos foram realizados de acordo com a equação: $\{[(A_{523} - A_{600}) - (A_{440} - A_{600})] \times (MA \text{ de sacarose a } 532 / MA \text{ de sacarose a } 440)\} / 157000$ Sendo A o valor a absorbância, MA a absorbância molar e 157000 o coeficiente de extinção molar (Hodges et al., 1999).

2.3.7. Determinação dos teores de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

Os teores de H₂O₂ foram estimados segundo metodologia proposta por Velikova et al. (2000). Parte da primeira folha totalmente expandida, de cada indivíduo, foi coletada. E posteriormente, foi macerado 0,1g de tecido foliar em nitrogênio líquido em almofariz e pistilo congelado e adicionado 1mL de TCA 0,1% (ácido tricloroacético). Seguida por centrifugação (Thermo scientific, megafuge 16R) por 15 min a 12.000g a 4°C. Posteriormente, 0,250 mL do sobrenadante foram adicionados 0,250 mL de TCA 0,1% e 1mL de Iodeto de potássio 1M. Seguido de leitura utilizando o espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1800) no comprimento de onda de 390 nm. O teor de peróxido de hidrogênio foi obtido com auxílio de curva padrão (Velikova et al., 2000).

2.3.8. Análise do metabolismo antioxidativo

Para análise do sistema de defesa enzimático, parte da primeira folha totalmente expandida, de cada indivíduo, foi coletada. E posteriormente, foi macerado 0,1g de tecido foliar fresco auxílio de nitrogênio líquido em almofariz e pistilo congelados contendo 500 µL de tampão fosfato de potássio (pH 6,8), 10 µL de EDTA, 2 µL de coquetel inibitor de protease, 488 µL de água milliQ e 0,01g de polivinilpolipirrolidona, em seguida, o homogeneizado foi centrifugado a 10.000 x g por 15 minutos, à temperatura de 4° C, e o sobrenadante utilizado nos testes enzimáticos de superóxido dismutase – SOD; EC 1.15.1.1 (Del Longo et al., 1993), catalase – CAT; EC 1.11.1.6 (Havir e Mchale, 1987) e ascorbato peroxidase – APX; EC 1. 11.1.11 (Kar e Mishra, 1976). A atividade da superóxido dismutase foi determinada pela formação da formazana azul, resultante da fotorredução do azul de p-nitro tetrazólio (NBT), detectada a 560 nm e expressa em U min⁻¹ mg_{prot.}⁻¹, conforme sugerido por Beauchamp e Fridovich (1971). A atividade da catalase foi determinada pelo decréscimo na absorvância a 240 nm, no primeiro minuto de reação, utilizando para cálculo o coeficiente de extinção molar de 39,4 mM⁻¹ cm⁻¹ e expressa em µmol H₂O₂ min⁻¹ mg_{prot.}⁻¹ (Havir et al., 1987). A quantificação da atividade da ascorbato peroxidase, foi determinada seguindo-se a decomposição de peróxido de hidrogênio por 1 minuto, por alterações na absorbância a 290 nm. Utilizando para cálculo o coeficiente de extinção molar de 2,8 mM⁻¹ cm⁻¹ e expressa em µmol ascorbato min⁻¹ mg_{prot.}⁻¹ (Nakano e Asada, 1981). O método de Bradford (1976) foi utilizado para as determinações da concentração de proteínas totais, utilizando-se albumina sérica bovina (BSA) como padrão.

2.3.9. Teor de umidade do substrato

Foram realizadas coletas de amostras de substrato em todos os tratamentos. O substrato coletado foi acondicionado em placas de petri e vedado. As placas foram pesadas e, após 48 h em estufa à temperatura de 105°C, foram pesadas novamente.

A partir das diferenças entre a massa úmida (MU) e a seca (MS), foi determinada a umidade no solo em base gravimétrica, sendo calculada por: $(\%) = 100 * [(MU/MS) / MS]$.

2.3.10. Teor relativo de água na folha

As medições do teor relativo de água na folha (TRA) foram efetuadas em torno das 12h (horário local). Coletou-se a primeira folha totalmente expandida e exposta à radiação solar, esta foi colocada imediatamente em sacos de plástico e acondicionada em caixa térmica para evitar perda de água. Posteriormente, retirou-se três discos foliares de 1 cm de diâmetro que foram imediatamente pesados em balança analítica para determinar a matéria fresca. A seguir, os discos foliares eram dispostos em placa de Petri com água destilada, e mantidas sobre refrigeração durante 24 horas. Após secagem com papel filtro, os discos foram pesados para determinação da matéria túrgida e colocados em estufa a 65°C até peso constante, para posterior determinação da matéria seca.

O TRA foi calculado a partir dos três discos foliares de acordo com a equação: $TRA = 100 * [(MF - MS) / (MT - MS)]$, em que TRA é o teor relativo de água na folha em porcentagem; MF é a matéria fresca em g; MS é a matéria seca em g; e MT é a matéria túrgida em g.

2.4. Delineamento experimental e análise estatística

Foi adotado esquema fatorial 2x2 em cada experimento, sendo dois substratos (solo proveniente de área não contaminados adjacentes à mineradora e solo proveniente da pilha de estéril de mineração de ferro) e dois regimes de irrigação (sem estresse hídrico e com estresse hídrico), com cinco repetições. O tempo foi considerado como sub-parcela. Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a teste de média (Tukey $p < 0,05$) utilizando o programa estatístico SAEG.

3. RESULTADOS

Entre os macronutrientes analisados, foram encontrados maiores teores de P, Ca e S no substrato proveniente da pilha de estéril e maiores teores de nitrogênio no substrato controle (Tabela 2). Para os micronutrientes a concentração de manganês e níquel foi maior na pilha de estéril, o contrário foi observado para o cobre. Para os demais nutrientes minerais, não foi observado diferença entre os substratos utilizados ao longo do experimento (Tabela 1). Entre os elementos traço, chumbo e arsênio foram os únicos elementos que apresentaram diferenças

significativas, com maiores concentrações no substrato controle e pilha de estéril, respectivamente. A capacidade de troca catiônica a pH 7,0, o índice de saturação de alumínio, o alumínio trocável e a matéria orgânica foram maiores no substrato controle. O índice de saturação de bases e a capacidade de troca catiônica efetiva foram maiores no substrato pilha de estéril. Já o solo controle apresentou pH mais ácido em relação a pilha de estéril. (Tabela 2).

A pilha de estéril apresentou maiores valores para areia grossa, areia fina e silte. Já a concentração de argila foi maior no substrato controle. Com isso os substratos controle e pilha de estéril foram classificados como argiloso e franco, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2: Características físico-químicas do substrato no início dos experimentos (0-5 cm de profundidade) em casa de vegetação

Tratamentos		
Características Físico-químicas	Substrato controle	Substrato pilha de estéril
N (dag kg ⁻¹)	0,37*	0,09
P (mg dm ⁻³)	0,00	14,20 *
K (mg dm ⁻³)	73,75	83,25
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,84	4,84 *
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,15	0,17
S (mg dm ⁻³)	25,73	71,63 *
Fe (mg dm ⁻³)	75,05	83,03
Mn (mg dm ⁻³)	20,35	259,90 *
Zn (mg dm ⁻³)	3,21	4,89
Cu (mg dm ⁻³)	1,94*	0,69
Ni (mg dm ⁻³)	0,93	1,36 *
Pb (mg dm ⁻³)	3,29*	1,29
Cd (mg dm ⁻³)	0,23	0,30
Cr (mg dm ⁻³)	0,99	0,90
As (mg dm ⁻³)	0,20	0,42*
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	1,45*	0,00
H+Al (cmol _c dm ⁻³)	6,75*	0,23
SB (cmol _c dm ⁻³)	1,19	5,22 *
t (cmol _c dm ⁻³)	2,64	5,22 *
T (cmol _c dm ⁻³)	7,94*	5,44
V (%)	15,10	95,90 *
m (%)	55,05*	0,00
P-Rem (mg L ⁻¹)	13,13	16,68
MO (dag kg ⁻¹)	4,78*	0,16
pH H ₂ O	4,41	7,96 *
pH KCl	4,00	8,71 *
Areia grossa (kg kg ⁻¹)	0,09	0,28*
Areia fina (kg kg ⁻¹)	0,08	0,19*
Silte (kg kg ⁻¹)	0,28	0,39*
Argila (kg kg ⁻¹)	0,54*	0,14
Classificação textural (1)	Argiloso	Franco

Amostras compostas (n=4). Legenda: (SB) soma de bases trocáveis, (t) capacidade de troca catiônica efetiva, (T) capacidade de troca catiônica a pH 7,0; (V) índice de saturação de bases, (m) índice de saturação de alumínio, (P-Rem) fósforo remanescente; (H+Al) acidez potencial; (MO) matéria orgânica; (1) com base na SBCS. * Indica diferença significativa entre os substratos, segundo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em ambas as espécies, não houve diferença significativa em função do estresse hídrico para os teores de Mg, Mn, Ni, Pb, Cd e Cr nas folhas e raízes (Tabela 3). Para a espécie *S. parviflora* foram observados maiores valores de Mg e Mn e menores de Cr nas raízes das plantas expostas ao substrato pilha de estéril, sendo o acúmulo de Mn nas raízes das plantas cultivadas em substrato pilha de estéril 7 vezes maior em relação ao substrato controle. As plantas de *S. parviflora* expostas ao solo controle apresentaram maiores incrementos de Pb na parte aérea e raiz (Tabela 3). Já para *P. densum* os teores de Mg, Cd e Cr apresentaram diferenças significativas apenas nas raízes sendo os maiores valores observados quando em substrato controle. O acúmulo de Mn e Ni na parte aérea foi maior nas plantas cultivadas no substrato controle, o mesmo foi observado para a concentração de níquel nas raízes. Para o Mn presente nas raízes o maior acúmulo foi observado nas plantas expostas a pilha de estéril (Tabela 3).

Tabela 3: Teores de elementos minerais na parte aérea e na raiz em plantas de *P. densum* e *S. parviflora* cultivadas em substrato controle ou pilha de estéril

		Parte aérea		Raiz	
		Substrato Pilha de estéril	Substrato Controle	Substrato Pilha de estéril	Substrato Controle
Paspalum densum	Mg (g kg ⁻¹)	1,80±0,04A	1,70±0,03A	0,70±0,01B	0,90±0,02A
	Mn (mg kg ⁻¹)	186,78±41,09B	448,84±121,79A	460,34±255,80A	103,68±17,74B
	Ni (mg kg ⁻¹)	2,00±0,23B	3,26±0,65A	5,31±2,04B	9,67±2,01A
	Pb (mg kg ⁻¹)	1,00±0,75A	0,75±0,47A	0,87±1,18A	1,23±0,74A
	Cd (mg kg ⁻¹)	0,00±0,01A	0,01±0,02A	0,04±0,05B	0,11±0,09A
	Cr (mg kg ⁻¹)	1,86±0,65A	2,56±1,02A	8,49±4,48B	13,23±2,22A
Setaria parviflora	Mg (g kg ⁻¹)	1,70±0,03A	1,40±0,03A	0,80±0,02A	0,40±0,01B
	Mn (mg kg ⁻¹)	135,99±20,75A	146,71±17,45A	1492,38±1150,60A	217,70±42,46B
	Ni (mg kg ⁻¹)	3,38±0,48A	3,24±0,47A	9,77±11,83A	11,76±3,02A
	Pb (mg kg ⁻¹)	6,92±1,11B	9,56±1,35A	6,16±2,18B	9,75±1,83A
	Cd (mg kg ⁻¹)	0,55±0,13A	0,54±0,15A	0,34±0,18A	0,42±0,14A
	Cr (mg kg ⁻¹)	4,15±0,46A	4,07±0,60A	11,39±9,84B	23,05±3,59A

Médias seguidas por letras iguais não apresentaram diferenças entre os substratos analisados para cada órgão em cada espécie de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados foram agrupados em função da não significância entre os tratamentos com e sem estresse hídrico. Médias ± desvio padrão de dez repetições.

Menores teores de nitrogênio foram observados na parte aérea de *S. parviflora* e *P. densum* expostas a pilha de estéril (Fig. 1A e 1B). Já para o cálcio observou-se maiores incrementos na parte aérea e raiz nas gramíneas submetidas ao substrato pilha de estéril (Fig. 1G e 1H). Foram observados maiores teores de fósforo na parte aérea das plantas de *S. parviflora* expostas a pilha de estéril (Fig. 1C). O mesmo incremento na concentração de fósforo foi observado nas raízes de *P. densum* na pilha de estéril (Fig. 1D). O estresse hídrico também resultou em menores teores de fósforo nas folhas de *S. parviflora* expostas ao solo controle (Fig. 1C). As raízes de *S. parviflora* apresentaram menores teores de potássio quando expostas ao estresse hídrico (Fig. 1E). Foram observados maiores teores de enxofre na parte aérea das plantas de *S. parviflora* e menores nas raízes de *P. densum* no substrato controle quando comparado a pilha de estéril (Fig. 1I e 1J). Também houve redução no teor de enxofre nas folhas de *S. parviflora* em estresse hídrico (Fig. 1I).

O estresse hídrico resultou em aumento nos teores de nitrogênio e potássio na parte aérea das plantas de *P. densum* expostas ao estresse hídrico, independentemente do substrato (Fig. 1B e 1F). Nesta espécie também foi observado maiores teores de Ca quando em estresse hídrico para as análises dos tecidos radiculares (Fig. 1H).

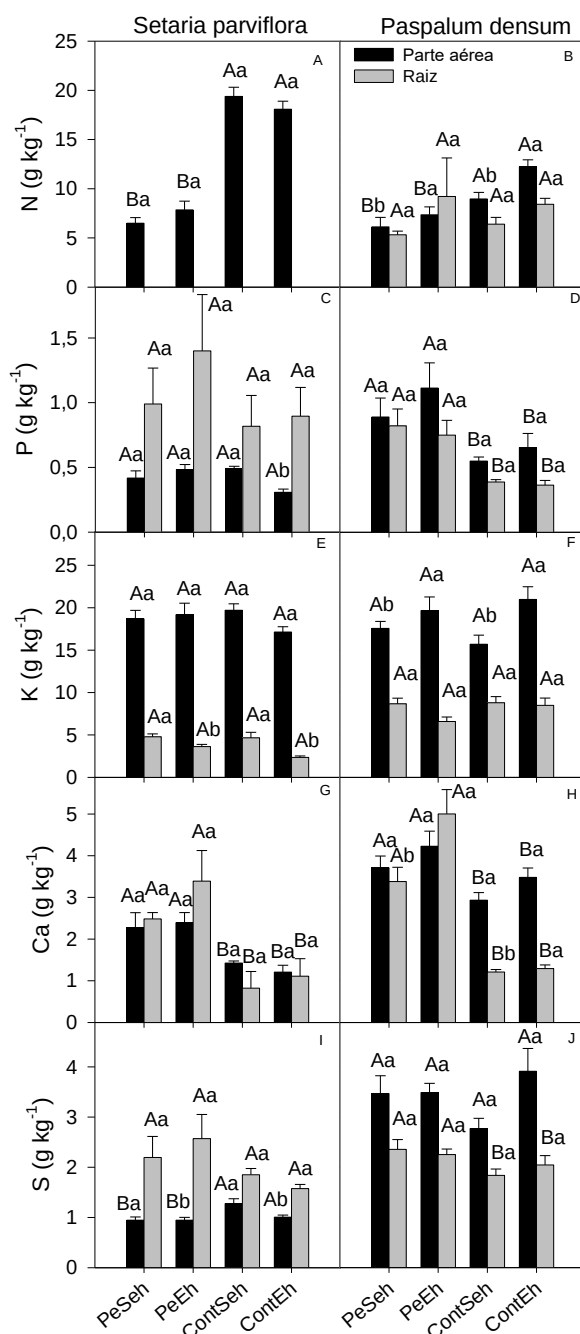


Figura 1: Teores de nitrogênio (A e B), fósforo (C e D), potássio (E e F), cálcio (G e H) e enxofre (I e J) em plantas de *S. parviflora* (A, C, E, G e I) e *P. densum* (B, D, F, H e J) cultivadas sobre substrato proveniente de áreas não impactadas (Cont) ou pilha de estéril (Pe) e na presença (Eh) ou ausência de estresse hídrico (Seh). As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de cinco repetições. Médias seguidas por letras iguais não apresentaram diferenças de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas comparam os substratos, letras minúsculas comparam a presença ou ausência de irrigação. As análises estatísticas foram feitas separadamente para raiz e parte aérea. Não foram apresentados os resultados dos teores de N presentes nas raízes de *S. parviflora* devido à falta de material para análise.

Em relação aos micronutrientes, para ambas as espécies, foi observado menores concentrações de cobre, na raiz e na parte aérea das plantas expostas aos tratamentos com pilha de estéril (Fig. 2A e 2B). Em relação ao ferro, os maiores valores foram observados nas raízes e parte aérea das plantas da pilha de estéril, para as duas espécies (Fig. 2C e 2D). Já os teores de zinco foram maiores nos tratamentos com solo controle na parte aérea de *S. parviflora* e apresentou redução nas raízes expostas ao estresse hídrico, independentemente do substrato (Fig. 2E). Para *P. densum* apenas as análises da parte aérea foram significativas para os teores de zinco, com maiores valores para os tratamentos com estresse hídrico (Fig. 2F).

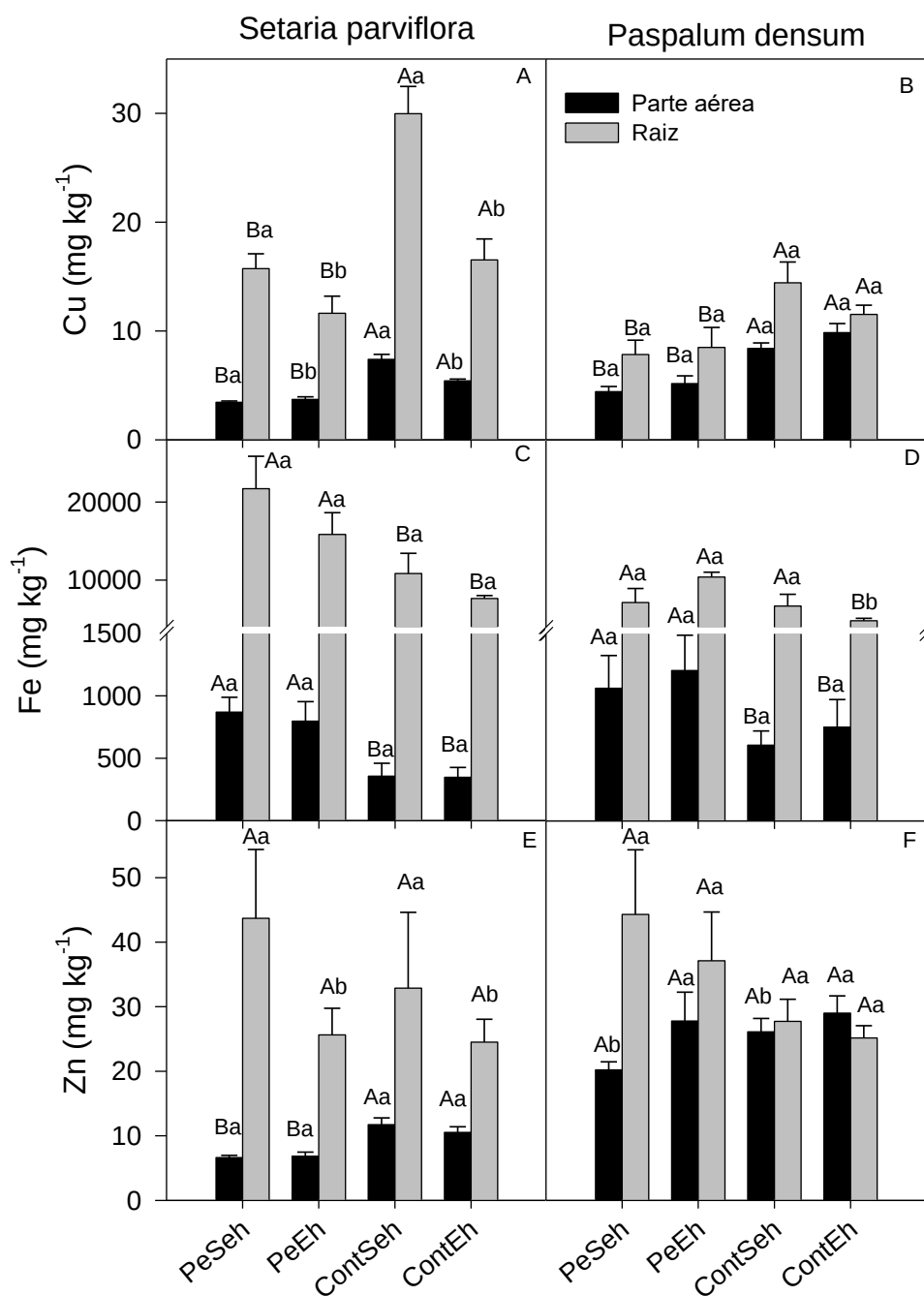


Figura 2: Teores de cobre (A e B), ferro (C e D) e zinco (E e F) em plantas de *S. parviflora* (A, C e E) e *P. densum* (B, D e F) cultivadas sobre substrato proveniente de áreas não impactadas (Cont) ou pilha de estéril (Pe) e na presença (Eh) ou ausência de estresse hídrico (Seh). As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de cinco repetições. Médias seguidas por letras iguais não apresentaram diferenças de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas comparam os substratos, letras minúsculas comparam a presença ou ausência de irrigação. As análises estatísticas foram feitas separadamente para raiz e parte aérea.

Ao longo dos experimentos com as espécies de gramíneas *S. parviflora* e *P. densum*, observou-se queda nos valores de umidade do solo com a suspensão da irrigação, posteriormente ao ponto máximo de estresse foi observado incrementos nos valores chegando a igualarem ou até mesmo ultrapassarem aos respectivos tratamentos sem estresse hídrico (Fig. 3A e 3B). Foi observado também diferença significativa na umidade do solo em relação aos substratos utilizados ao longo de todo o experimento com *S. parviflora* (Fig. 3A). A menor retenção de umidade da pilha de estéril resultou em maior severidade das plantas expostas ao estresse hídrico.

O teor relativo de água nas folhas das espécies *S. parviflora* e *P. densum* expostas aos tratamentos com estresse hídrico apresentou queda até o ponto máximo de estresse, em seguida foi possível observar aumento no teor relativo de água na folha, chegando os valores a se igualarem ao primeiro dia de exposição aos tratamentos (Fig. 3C e 3D).

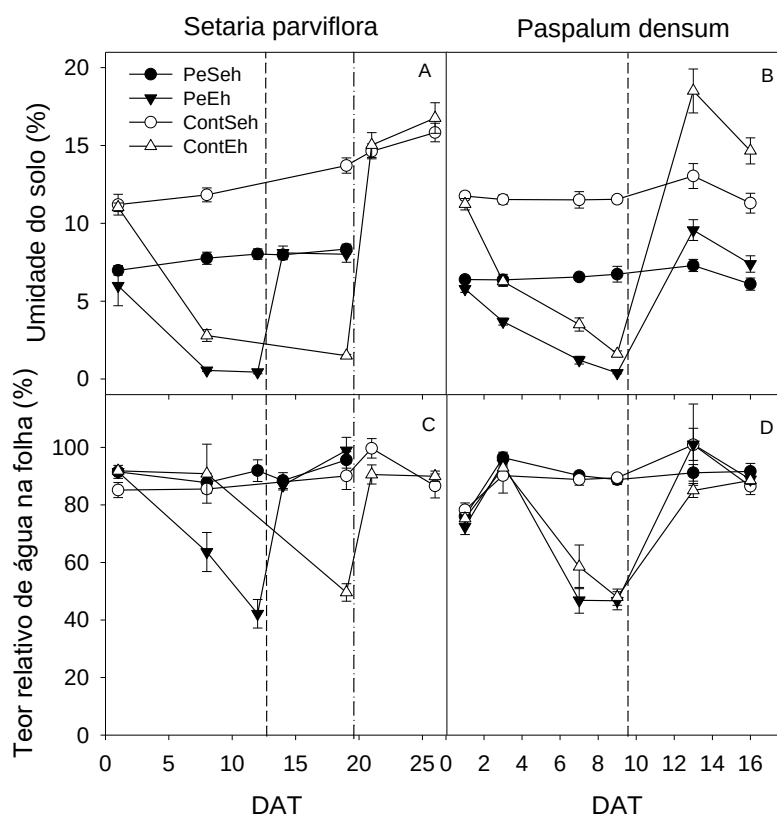


Figura 3: Umidade do solo (A e B) e teor relativo de água na folha (C e D) em plantas de *S. parviflora* (A e C) e *P. densum* (B e D) cultivadas sobre substrato proveniente de áreas não impactadas (Cont) ou pilha de estéril (Pe) e na presença (Eh) ou ausência de estresse hídrico (Seh). As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de cinco repetições. As linhas pontilhadas representam o momento no qual ocorreu o retorno da irrigação, sendo na espécie *S. parviflora* a primeira linha referente aos tratamentos com pilha de estéril e a segunda com solo controle.

O ponto de máximo estresse, ou seja, quando a fotossíntese se encontrava com valores próximos de zero para *S. parviflora* crescendo em pilha de estéril o ponto de máximo estresse ocorreu no DAT 12 e para o solo controle no DAT 19, já para *P. densum* se deu no 9º dia de experimento para ambos os substratos (Fig. 4A e 4B).

A gramínea *S. parviflora* cultivada sob déficit hídrico, independente do substrato, apresentou decréscimo nos valores de fotossíntese, condutância estomática e transpiração a partir de 8 dias após a suspensão da irrigação. Com a retomada da irrigação, observou-se aumento destes valores chegando, em alguns momentos, a se igualarem ao início do experimento (Fig. 4A, 4C e 4E). As plantas de *S. parviflora* sem estresse hídrico expostas ao substrato controle exibiram maior taxa fotossintética, condutância estomática e transpiração quando comparadas as expostas ao substrato proveniente de pilha de estéril (Fig. 4A, 4C e 4E). A razão entre a concentração interna e externa de CO₂ (C_i/C_a) das plantas de ambas as espécies expostas ao estresse hídrico apresentou incrementos, independentemente do substrato (Fig. 4G).

De maneira geral a partir do quinto dia após a suspensão da irrigação as plantas de *P. densum* expostas ao estresse hídrico apresentaram queda significativa nos valores de fotossíntese, condutância estomática e transpiração. Após 3 dias do retorno da irrigação estes parâmetros se igualaram aos tratamentos sem estresse hídrico, chegando ainda a apresentar incrementos a partir do décimo terceiro dia de tratamento para fotossíntese e condutância estomática, e a partir do décimo quarto dia para transpiração. As plantas de *P. densum* expostas ao substrato controle e pilha de estéril apresentaram a mesma resposta quanto ao estresse hídrico (Fig. 4B, 4D, 4F, 4H).

Indivíduos de *S. parviflora* e *P. densum* quando submetidos aos tratamentos com estresse hídrico apresentaram declínio nos valores de clorofila a, clorofila b e clorofila total, independentemente do substrato (Fig. 5A – 5F). Os tratamentos expostos ao estresse hídrico apresentaram incrementos nos valores de razão clorofila a/b para *S. parviflora*. (Fig. 5G).

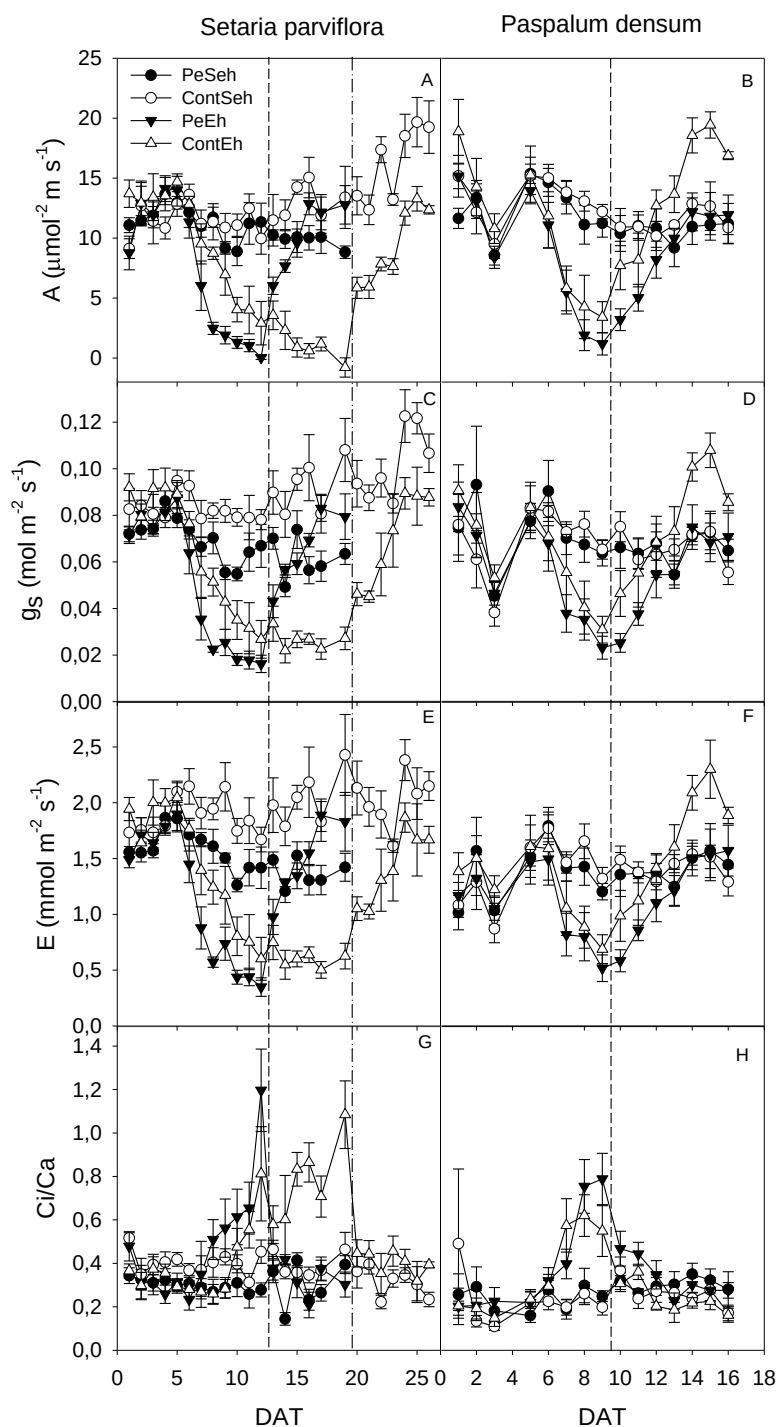


Figura 4: Fotossíntese (A e B), condutância estomática (C e D), transpiração (E e F) e razão entre a concentração interna e externa de CO_2 (G e H) em plantas de *S. parviflora* (A, C, E e G) e *P. densum* (B, D, F e H) cultivadas sobre substrato proveniente de áreas não impactadas (Cont) ou pilha de estéril (Pe) e na presença (Eh) ou ausência de estresse hídrico (Seh). As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de cinco repetições. As linhas pontilhadas significam o momento no qual ocorreu o retorno da irrigação, sendo na espécie *S. parviflora* a primeira linha referente aos tratamentos com pilha de estéril e a segunda com solo controle.

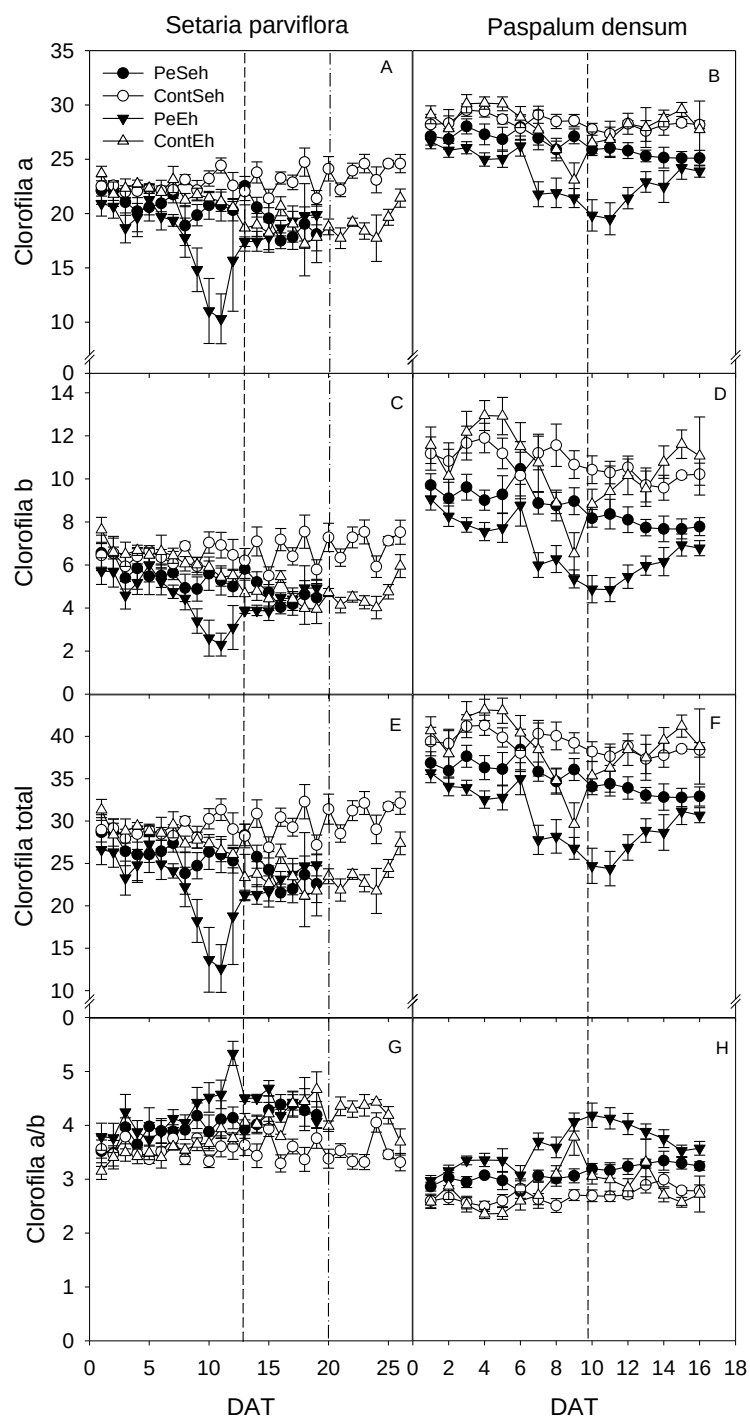


Figura 5: Índices de clorofila a (A e B), clorofila b (C e D), clorofila total (E e F) e razão clorofila a/b (G e H) em plantas de *S. parviflora* (A, C, E e G) e *P. densum* (B, D, F e H) cultivadas sobre substrato proveniente de áreas não impactadas (Cont) ou pilha de estéril (Pe) e na presença (Eh) ou ausência de estresse hídrico (Seh). As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de cinco repetições. As linhas pontilhadas significam o momento no qual ocorreu o retorno da irrigação, sendo na espécie *S. parviflora* a primeira linha se referente aos tratamentos com pilha de estéril e a segunda com solo controle.

S. parviflora apresentou aumento nos valores de F_0 quando submetidos ao estresse hídrico somente em solo controle (Fig. 6A). Para ambas as espécies foram observados menores valores de F_0 para as plantas expostas ao substrato de pilha de estéril, independente do regime de irrigação (Fig. 6A e 6B).

A eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_m) foi menor para os indivíduos de *S. parviflora* e *P. densum* submetidos ao estresse hídrico quando comparado aos tratamentos com irrigação contínua, independente do substrato utilizado. Houve recuperação dos valores de F_v/F_m , no dia seguinte ao retorno da irrigação para *S. parviflora* e após 3 dias para *P. densum* (Fig. 6C e 6D).

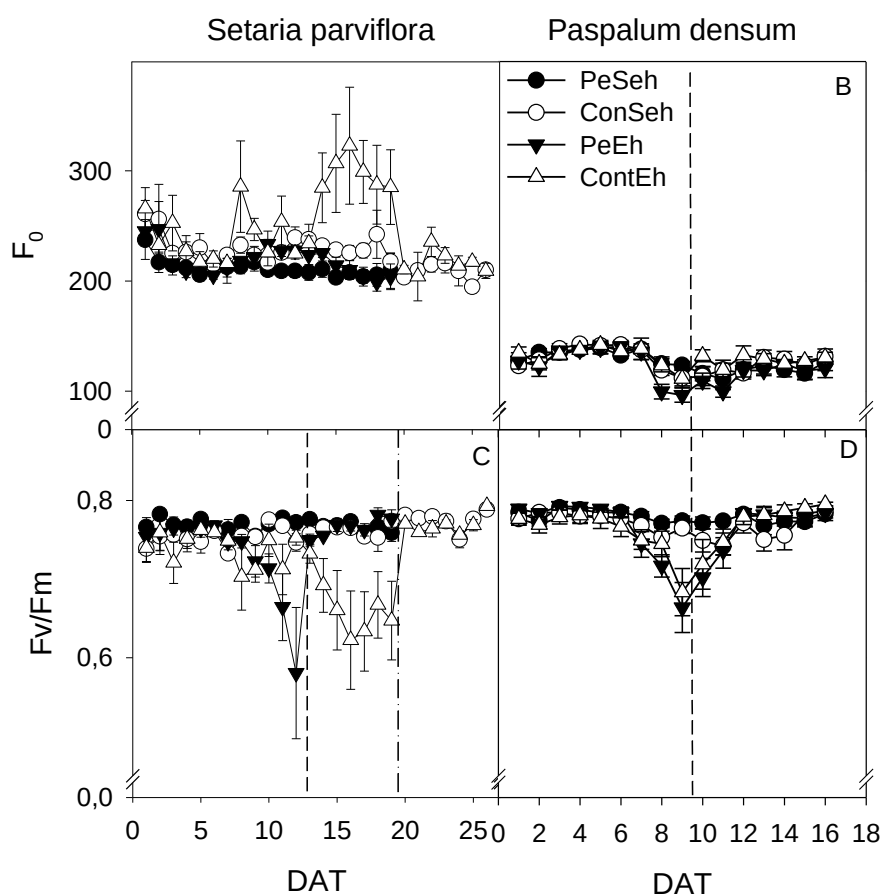


Figura 6: Fluorescência inicial (A e B) e eficiência quântica máxima do FSII (C e D) em plantas de *S. parviflora* (A e C) e *P. densum* (B e D) cultivadas sobre substrato proveniente de áreas não impactadas (Cont) ou pilha de estéril (Pe) e na presença (Eh) ou ausência de estresse hídrico (Seh). As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de cinco repetições. As linhas pontilhadas significam o momento no qual ocorreu o retorno da irrigação, sendo na espécie *S. parviflora* a primeira linha referente aos tratamentos com pilha de estéril e a segunda com solo controle.

Em ambas as espécies o rendimento quântico efetivo do FSII (Φ_{II}) apresentou queda nos valores com a suspensão da irrigação, independentemente do substrato (Fig. 7A e 7B). Em *S. parviflora* esta redução ocorreu a partir do DAT 8 e 12 para as plantas expostas a pilha de estéril e ao substrato controle, respectivamente. Após a irrigação houve acréscimo nos valores, se igualando aos tratamentos sem estresse hídrico (Fig. 7A).

O rendimento quântico de dissipação regulada de energia não fotoquímica do FSII (Φ_{NPQ}) apresentou incrementos nas plantas de *S. parviflora* expostas ao estresse hídrico no período de máximo estresse e durante a recuperação, independentemente do substrato (Fig. 7C). Neste mesmo período foi observado queda no rendimento quântico de dissipação não regulada de energia não fotoquímica do FSII (Φ_{NO}) para as plantas de *S. parviflora* expostas ao solo controle e estresse hídrico (Fig. 7E). As plantas de *P. densum* sem estresse hídrico em solo controle apresentaram maior rendimento quântico de dissipação regulada de energia não fotoquímica do FSII quando comparadas as expostas a pilha de estéril. Já para os tratamentos expostos ao substrato pilha de estéril os maiores valores foram observados na ausência de irrigação (Fig. 7D).

Indivíduos de *S. parviflora* e *P. densum* quando expostos ao estresse hídrico apresentaram redução na taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) para ambos os substratos (controle e pilha de estéril), em seguida após a irrigação observou-se incremento nos valores (Fig. 8A e 8B). As plantas de *P. densum* cultivadas com irrigação constante e em substrato proveniente de pilha de estéril apresentaram valores de ETR maiores do que as plantas expostas ao solo controle (Fig. 8B).

Somente foi observado redução significativa nos valores de quenching fotoquímico do FSII (q_L) para *S. parviflora* exposta ao estresse hídrico e solo controle (Fig. 8C). Para *P. densum* também foi observado redução nos valores do tratamento com solo controle e estresse hídrico nos dias que antecedem o retorno da irrigação (Fig. 8D).

A partir do 19º dia de experimento, com a retomada da irrigação para *S. parviflora* em solo controle, foi observado incremento nos valores do coeficiente de extinção não fotoquímico (NPQ). Para ambos os substratos as plantas expostas ao déficit hídrico apresentaram maiores incrementos de NPQ, já para o fator substrato os menores valores observados foram para as plantas sobre pilha de estéril (Fig. 8E).

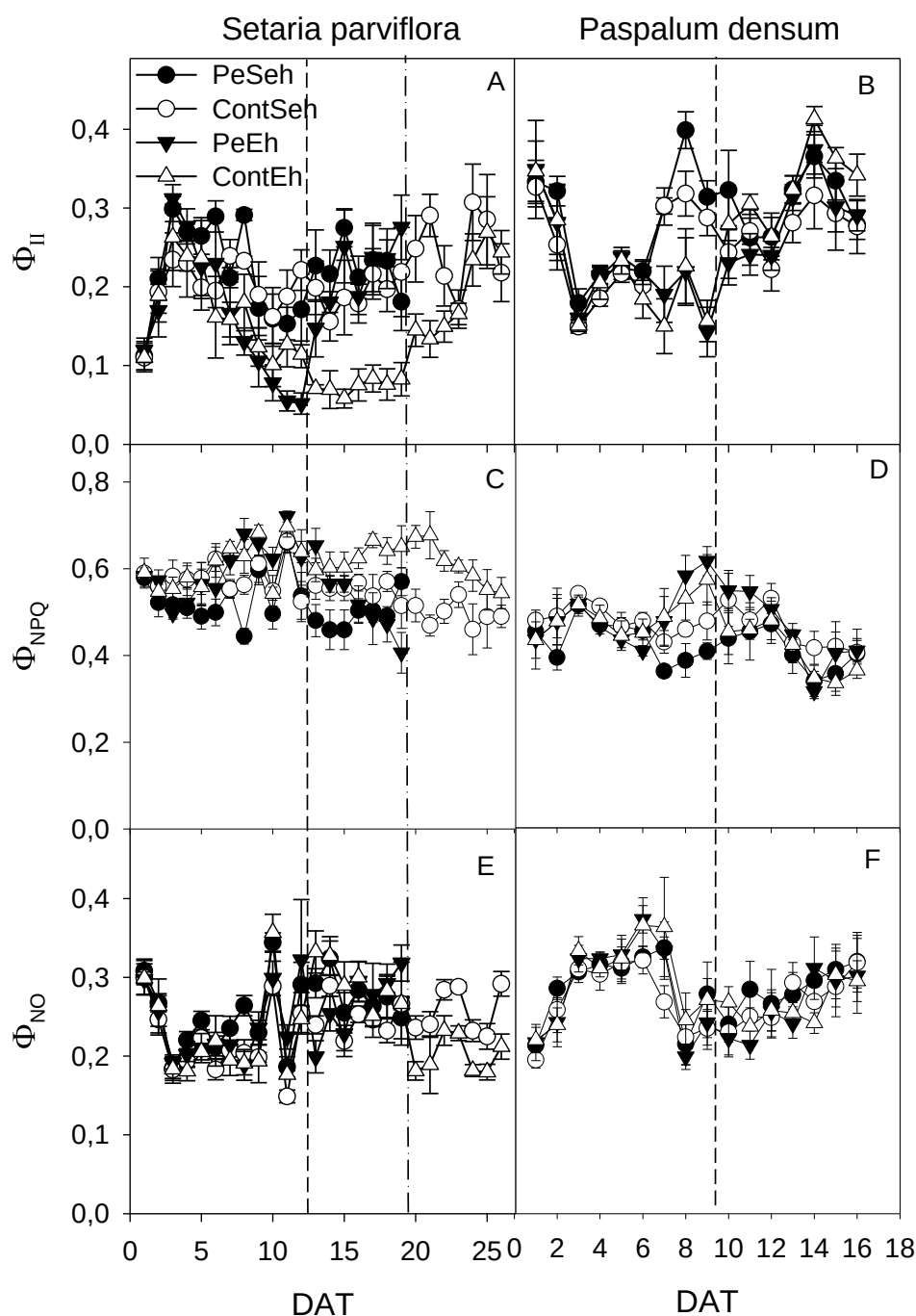


Figura 7: Rendimento quântico efetivo do FSII (A e B), rendimento quântico de dissipação regulada de energia não fotoquímica do FSII (C e D) e rendimento quântico de dissipação não regulada de energia não fotoquímica do FSII (E e F) em plantas de *S. parviflora* (A, C e E) e *P. densum* (B, D e F) cultivadas sobre substrato proveniente de áreas não impactadas (Cont) ou pilha de estéril (Pe) e na presença (Eh) ou ausência de estresse hídrico (Se). As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de cinco repetições. As linhas pontilhadas significam o momento no qual ocorreu o retorno da irrigação, sendo na espécie *S. parviflora* a primeira linha referente aos tratamentos com pilha de estéril e a segunda com solo controle.

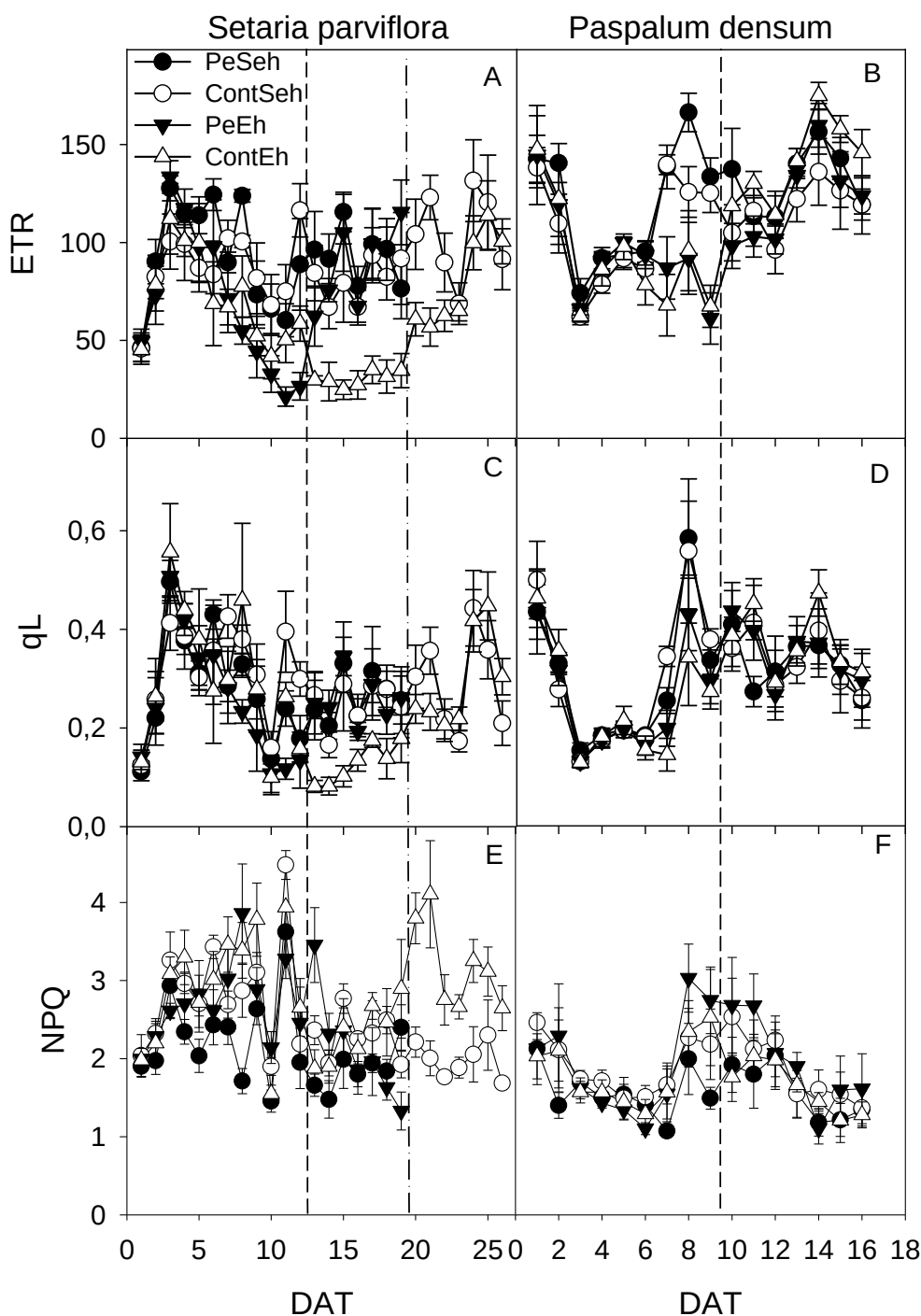


Figura 8: Taxa aparente de transporte de elétrons (A e B), quenching fotoquímico do FSII (C e D) e coeficiente de extinção não fotoquímico (E e F) em plantas de *S. parviflora* (A, C e E) e *P. densum* (B, D e F) cultivadas sobre substrato proveniente de áreas não impactadas (Cont) ou pilha de estéril (Pe) e na presença (Eh) ou ausência de estresse hídrico (Seh). As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de cinco repetições. As linhas pontilhadas significam o momento no qual ocorreu o retorno da irrigação, sendo na espécie *S. parviflora* a primeira linha referente aos tratamentos com pilha de estéril e a segunda com solo controle.

Em folhas de *S. parviflora* houve aumento da concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e MDA somente no período de máximo estresse hídrico nos substratos pilha de estéril e solo controle (DAT 12 e 19, respectivamente), sendo que nos demais dias o fator irrigação não foi significativo (Fig. 9A e 9C). Para *P. densum* também foi observado incrementos nos valores de H_2O_2 nas folhas para as plantas expostas ao estresse hídrico e incrementos nos valores de MDA nos dois dias que antecedem o retorno da irrigação. Com o retorno da irrigação ocorreu decréscimo nos valores de H_2O_2 e MDA, se igualando ao tratamento sem estresse hídrico proveniente do mesmo substrato (Fig. 9B e 9D).

A atividade de ascorbato peroxidase em *S. parviflora* sobre a pilha de estéril foi maior nas plantas irrigadas diariamente nas duas primeiras coletas, atingindo menores valores posteriormente, nas duas últimas coletas (DATs 14 e 19) quando comparadas com as plantas sob estresse hídrico (Fig. 10A). Para *P. densum* foi observada diferença significativa somente ao longo do tempo, com os maiores incrementos no segundo dia de coleta (DAT 3). Neste período, houve aumento na atividade da APX nas plantas sob estresse hídrico do solo controle e menores valores para as plantas do substrato de pilha de estéril (Fig. 10B).

Em *S. parviflora* foi observada maior atividade das enzimas catalase apenas no dia posterior ao retorno da irrigação, para as plantas sobre solo controle e na ausência de irrigação (Fig. 10C). *P. densum* apresentou incrementos na atividade da catalase para as plantas expostas ao solo controle submetidas ao estresse hídrico em relação ao substrato da pilha de estéril. Já na ausência de estresse não houve diferença na atividade da catalase em função dos substratos utilizados (Fig. 10D).

Não foram observadas alterações significativas na atividade de superóxido dismutase para as plantas *P. densum* em função dos tratamentos. Entretanto os maiores valores foram observados no dia que antecede a irrigação e no último dia de experimento (Fig. 10F).

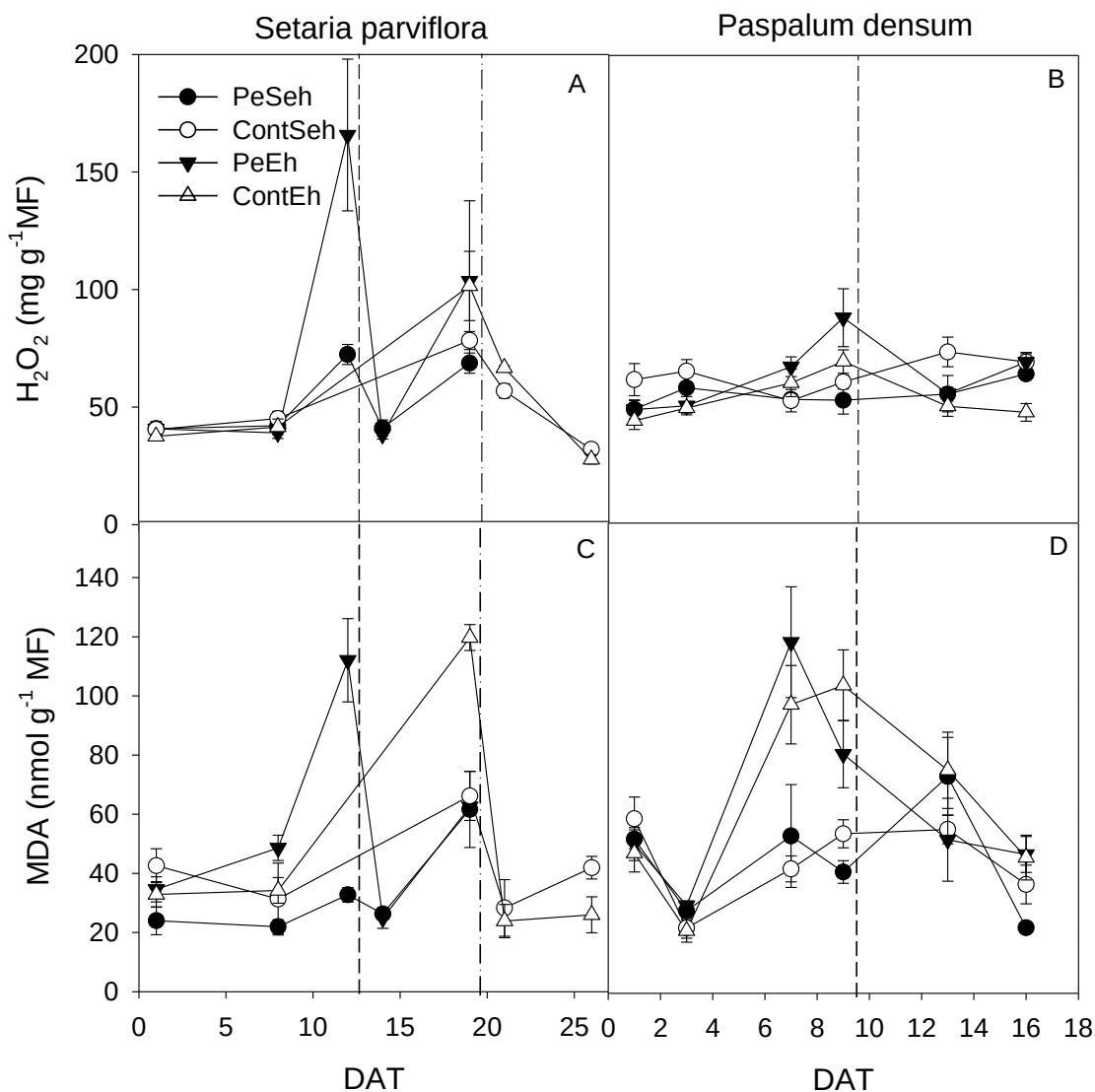


Figura 9: Concentração de malonaldeído (MDA) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em folhas de *S. parviflora* (A e C) e *P. densum* (B e D) cultivadas sobre substrato proveniente de áreas não impactadas (Cont) ou pilha de estéril (Pe) e na presença (Eh) ou ausência de estresse hídrico (Seh). As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de cinco repetições. As linhas pontilhadas significam o momento no qual ocorreu o retorno da irrigação, sendo na espécie *S. parviflora* a primeira linha referente aos tratamentos com pilha de estéril e a segunda com solo controle.

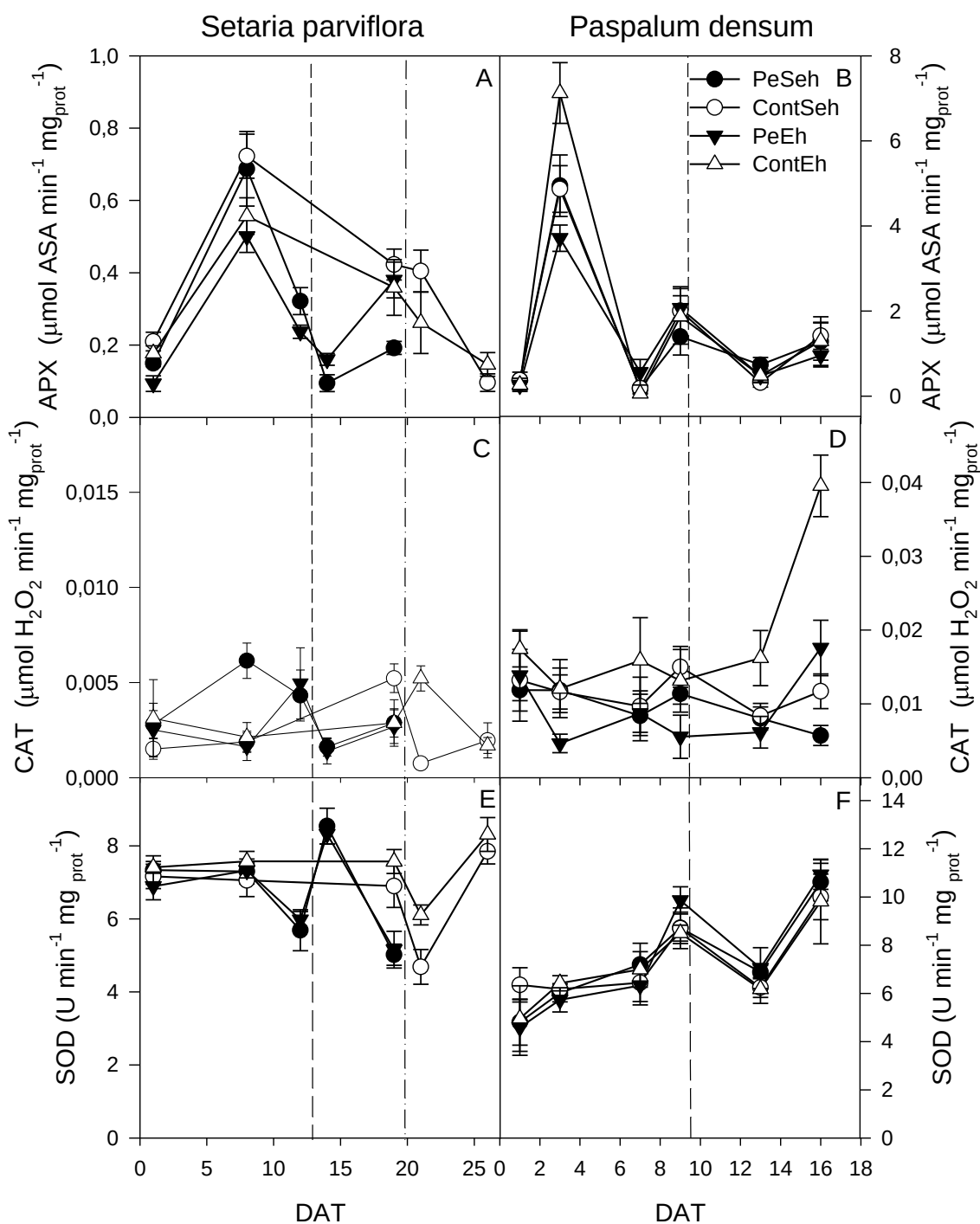


Figura 10: Atividade da catalase (CAT), da ascorbato peroxidase (APX) e da superóxido dismutase (SOD) em folhas de *S. parviflora* (A, C e E) e *P. densum* (B, D e F) cultivadas sobre substrato proveniente de áreas não impactadas (Cont) ou pilha de estéril (Pe) e na presença (Eh) ou ausência de estresse hídrico (Se). As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de cinco repetições. As linhas pontilhadas significam o momento no qual ocorreu o retorno da irrigação, sendo na espécie *S. parviflora* a primeira linha referente aos tratamentos com pilha de estéril e a segunda com solo controle.

4. DISCUSSÃO

Para ambas gramíneas estudadas, *P. densum* e *S. parviflora*, o acúmulo de ferro nas plantas expostas a pilha de estéril atingiu valores acima do considerado fitotóxico ($>500 \text{ mg}_{\text{Fe}} \text{ Kg}^{-1}$) para a maioria dos vegetais (Pugh et al. 2002; Broadley et al. 2012), entretanto não foi observado sintomas visuais, evidenciando assim a capacidade destas espécies em acumular ferro em seus tecidos vegetais sem a presença de danos visuais. O mesmo foi observado em estudos desenvolvidos por Araújo (2016) com *S. parviflora* e *P. urvillei* expostas a concentração de 7mM de Fe-EDTA em solução nutritiva. Por outro lado, indivíduos de *P. densum* que cresceram em pilha de estéril apresentaram menor absorção de Mn mesmo havendo maior concentração deste mineral na pilha de estéril, o que evidencia a estratégia de evitação desenvolvida por esta espécie. Entretanto, acúmulos acima de 50 mg Mn kg^{-1} de massa seca das folhas, como observados neste estudo, são considerados superiores ao acúmulo médio observado na maioria dos vegetais (Broadley, 2012). Variações das concentrações de Mn nas plantas têm sido atribuídas às diferenças inter e intra-específicas, além das condições edafoclimáticas (Fageria, 2001; Moroni et al., 2003). Apenas as concentrações dos elementos traço cádmio e chumbo estão acima do limite aceitável para os solos, segundo reportado por Kabata-Pendias (2011). O cádmio apresenta concentração acima do limite aceitável para os solos em ambos os substratos, já o chumbo apenas o solo controle. Entretanto, dentre os elementos traço não essenciais, nenhuma das espécies estudadas apresentaram concentrações acima das consideradas fitotóxicas (Bergmann e Cumakov, 1977; Kabata-Pendias, 2011), não havendo assim estresse oxidativo desencadeado por estas.

Segundo os critérios de essencialidade estabelecidos por Arnon e Stout (1939), um elemento é essencial para a planta quando: está diretamente envolvido no metabolismo vegetal, a planta não é capaz de completar o seu ciclo de vida na ausência do elemento e a função do elemento é específica, ou seja, nenhum outro elemento poderá substituí-lo naquela função. Entretanto, ambas as espécies estudadas apresentaram teores de P, Mg, e Ca abaixo dos considerados satisfatórios (Broadley et al., 2012), para todos os tratamentos. A deficiência de fósforo compromete a atividade fotossintética das plantas, uma vez que promove diminuições no consumo e na produção de ATP e NADPH, menor carboxilação/regeneração de ribulose-1,5-bifosfato (Shubhra et al., 2004), decréscimo na expressão de genes relacionados à fotossíntese (Lawlor e Cornic, 2002) e fechamento estomático (Flügge et al., 2003). Já a deficiência em magnésio afeta a síntese proteica e de ácidos nucleicos, o tamanho e a estrutura dos cloroplastos e a transferência de elétrons

no FSII (Broadley et al., 2012). Sintoma típico de deficiência de Ca é a desintegração das paredes celulares nos pecíolos e nas partes superior dos caules (Ho e White, 2005). *P. densum* e *S. parviflora* possivelmente não apresentaram sintomas de deficiência de P, Mg e Ca uma vez que não foram observados sintomas visuais e nem reduções nas trocas gasosas das plantas irrigadas diariamente. Ao contrário, *P. densum* e *S. parviflora* apresentaram concentrações acima do considerado satisfatório para a maioria das espécies vegetais para os nutrientes Ni e K em ambos os substratos analisados ($>0,1\text{mg kg}^{-1}$ e $>10\text{g kg}^{-1}$, respectivamente). Já a concentração de Zn e S foram maiores apenas para *P. densum* ($>20\text{mg kg}^{-1}$ e $>1,0\text{g kg}^{-1}$) (Broadley et al., 2012). O zinco desempenha papel de desintoxicação de radicais superóxido, sendo a superóxido dismutase CuZn (CuZnSOD) a mais abundante SOD em células vegetais (Abreu e Cabelli, 2010), o que justifica a maior concentração de superóxido dismutase em plantas de *P. densum* quando comparada a *S. parviflora*. Apesar do acúmulo de zinco, as plantas em estudo apresentaram concentrações abaixo do limite de toxidez (Broadley et al., 2012). Altas concentrações de enxofre presentes em *P. densum* culminaram com menores teores de Pb, Cd e Cr, quando comparado a *S. parviflora*. O enxofre é responsável pela formação de enzimas e co-enzimas, bem como compostos secundários tais como fitoquelatinas, que auxiliam a desintoxicação de metais (Dominguez-Solis et al., 2004).

As concentrações foliares de Cu foram acima do acúmulo médio para ambas as espécies expostas apenas ao solo controle, entretanto o acúmulo foi abaixo do fitotóxico para a maioria dos vegetais (Broadley et al., 2012). Assim como zinco o cobre atua na desintoxicação de radicais superóxido, porém sua deficiência parece conduzir a aumentos da atividade de várias outras isoformas de SOD, incluindo FeSOD e MnSOD (Burkhead et al., 2009), entretanto não foi observada diferença na atividade da superóxido dismutase entre os substratos estudados.

A absorção e o acúmulo excessivo de ferro podem aumentar a formação de espécies reativas de oxigênio (EROS) (Neves et al. 2009; Rout et al. 2015) assim como observado para *P. densum* e *S. parviflora*. Da mesma forma, o estresse hídrico é responsável por intensificar a formação de radicais livres, aumentando a probabilidade de transferência de energia de excitação para O_2 , levando à produção de O_2^- e $^1\text{O}_2$ e, consequentemente, peroxidação lipídica (Smirnoff, 1993). Entretanto não foi observado danos oxidativo uma vez que ambas gramíneas apresentaram eficiente mecanismos antioxidantes.

A menor capacidade de retenção de água do substrato pilha de estéril, devido sua estrutura mais arenosa, pode ter contribuído para que o ponto máximo de estresse das

plantas de *S. parviflora* neste substrato ter sido atingido antes das plantas sobre substrato controle. Solos mais argilosos, como no substrato controle, possuem uma alta taxa de retenção de água e maior retenção de nutrientes (Freitas e Silva, 1984). Entretanto, as respostas similares no ponto máximo de estresse hídrico apresentadas por *P. densum* entre os substratos, demonstra o eficiente mecanismo desta espécie contra danos proporcionados pelo déficit hídrico, uma vez que o ponto máximo de estresse ocorreu de acordo com a taxa fotossintética.

A baixa disponibilidade hídrica é considerada o principal fator ambiental responsável por limitar o crescimento e o rendimento vegetal. Para *P. densum* e *S. parviflora* o déficit hídrico proporcionou limitações metabólicas responsáveis por danos ao ciclo de Calvin, fechamento estomático seguido pela diminuição na condutância estomática e transpiração e consequentemente diminuição do influxo de CO₂ que acarreta em decréscimo na taxa fotossintética em gramíneas (Xu et al., 2009).

As respostas de trocas gasosas indicam uma maior resistência a pilha de estéril para *P. densum*, e uma maior resistência ao estresse hídrico para a espécie *S. parviflora* quando exposta ao substrato pilha de estéril. A queda nos valores de condutância estomática e transpiração em *S. parviflora* quando exposta ao substrato pilha de estéril evidencia o motivo pelo qual o ponto máximo de estresse das plantas em desenvolvimento na pilha de estéril foi atingido antes das plantas sobre substrato controle. A capacidade das plantas de recuperarem a taxa fotossintética após o retorno da irrigação precedida por um período de seca remete à eficiência das mesmas e ditará a resistência à seca (Chaves et al., 2009). O aumento e manutenção nos valores de fotossíntese (*A*), condutância estomática (*gs*) e transpiração (*E*), bem como a ausência de danos oxidativos, após irrigação, nas gramíneas crescidas em pilha de estéril comprova a resistência destas espécies ao excesso de ferro e a seca. Resultados similares foram observados por Walter et al. (2011) com a gramínea *Arrhenatherum elatius* submetida a ciclos de estresse hídrico, no qual não houve reduções na fotossíntese líquida do tratamento com déficit hídrico.

Ambas as espécies de Poaceae estudadas, *P. densum* e *S. parviflora*, possuem metabolismo fotossintético C₄. O metabolismo fotossintético C₄ envolve uma série de modificações bioquímicas e anatômicas, no qual a enzima fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPCase) atua concentrando CO₂ em torno da enzima rubisco (Hatch, 1987). Gramíneas com este metabolismo dominam quase todas as pastagens das regiões tropicais, subtropicais e zonas temperadas quentes, são também representantes importantes das paisagens áridas (Archibold, 1995). Isso porque plantas com o metabolismo C₄

apresentam maior eficiência no uso da água, uma vez que as taxas de absorção de CO₂ são mais altas em relação às plantas C₃, e possuem melhor controle da abertura e fechamento de estômatos para prevenir a perda de água (Schulze et al., 1996).

O metabolismo fotossintético C₄ está diretamente relacionado a rápida recuperação observada por *P. densum* e *S. parviflora* quando expostas ao estresse hídrico, o que permite indicá-las como espécies com alto potencial de uso em programas de revegetação de áreas impactadas pela mineração e por prolongados períodos de seca.

Os efeitos mais eminentes em gramíneas sob déficit hídrico são fechamento estomático (Baruch e Fernandez, 1993), perda da turgescência foliar (Hsiao e Acevedo, 1974), diminuição das taxas fotossintética (Sarmiento, 1984) e por fim a degradação de clorofilas (Chaves e Oliveira, 2004). Assim como observado neste experimento, estudos realizados por Delabio (2014) demonstraram que espécies nativas de gramíneas quando expostas a períodos úmidos apresentam um maior índice de clorofilas totais quando comparado com o período de seca. O efeito do estresse hídrico nas clorofilas foi acentuado pelo aumento no teor de ferro nas plantas expostas à pilha de estéril. O ferro, apesar de ser um elemento indispensável à biossíntese de clorofila (Broadley et al. 2012; Jeong e Connolly 2009; Jeong e Guerinot 2009) quando em elevadas concentrações, pode ocasionar degradação dos pigmentos cloroplastídicos devido ao estresse oxidativo (Pereira et al. 2013; Xu et al. 2015; da Silva et al. 2015). Desta forma o decréscimo nos índices de clorofilas observado nas plantas expostas ao déficit hídrico e a pilha de estéril proporcionou alterações nas variáveis de fluorescência da clorofila a.

O aumento nos valores de fluorescência inicial (F₀) para as plantas de *S. parviflora* expostas ao tratamento com solo controle e estresse hídrico indica diminuição na capacidade de transferência de energia do complexo antena para os centros de reações. A elevação dos valores de F₀ é comum para plantas sujeitas a estresses severos, e contribui como forma de evitar a super excitação do centro de reação (Bergantino et al., 1995; Papageorgiou e Govindjee, 2004).

Em condições de deficiência hídrica são relatados danos ao fotossistema II (FSII), (Calatayud et al., 2006) e alterações nas formas de dissipação de energia (Suresh et al., 2010). Nessas condições, a diminuição na taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), resulta em redução do rendimento quântico efetivo do FSII (Φ_{II}); consequentemente, a energia absorvida que seria utilizada para a fotossíntese será dissipada, pelo aumento da emissão de fluorescência da clorofila a e na forma de calor (Calatayud et al., 2006). Assim como o estresse hídrico, a toxidez severa por ferro resulta em danos aos complexos

fotossintéticos, percebidos por meio da redução nos valores da eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_m), da taxa de transporte de elétrons (ETR) ou incremento na dissipação não fotoquímica do excesso de energia (Suh et al., 2002; Pereira et al., 2009). A diminuição dos valores de F_v/F_m das gramíneas sob estresse hídrico, demonstra que a eficiência na utilização da energia luminosa foi reduzida, porém não houve dano permanente ao complexo fotossintético pois após irrigação as espécies se recuperaram rapidamente.

A diminuição nos valores do rendimento quântico efetivo do FSII (Φ_{II}) durante o estresse hídrico foi acompanhado do aumento do rendimento quântico de dissipação não regulada de energia não fotoquímica (Φ_{NO}) e do rendimento quântico de dissipação regulada de energia não fotoquímica (Φ_{NPQ}), uma vez que estes mecanismos dissipadores de energia são competitivos entre si (Eskling et al., 1997). A maior dissipação de energia na forma regulada é indicativo da capacidade fotoprotetora do aparato fotossintético (Baraldi et al., 2008), a qual foi observada com a exposição de *S. parviflora* e *P. densum* ao déficit hídrico e durante a recuperação da taxa fotossintética após a reidratação. Com a redução do Φ_{II} e aumento do Φ_{NPQ} , a taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) da espécie *S. parviflora* foi reduzida após a suspensão da irrigação, tendo retornado a valores similares às plantas sem estresse hídrico somente durante a reidratação.

Os valores de Φ_{NPQ} corroboram com os resultados do coeficiente de extinção não fotoquímico (NPQ), demonstrando que quando em estresse hídrico ambas as espécies apresentam maior eficiência de dissipação de energia não fotoquímica de forma regulada por meio do ciclo das xantofilas (Demmig-Adams e Adams, 2006). O ciclo das xantofilas é ativado pelo bombeamento de prótons para o lúmen que resulta na criação da diferença de potencial eletroquímico transmembrana, acarretando desepoxidação da violaxantina, que formará a anteraxantina, e esta por sua vez formará a zeaxantina (Baraldi et al., 2008). Desta forma o excesso de energia é dissipado na forma de calor, atuando como um importante meio de proteção do complexo fotossintético contra a superexcitação e subsequente dano oxidativo no centro de reação do FSII (Baker, 2008; Pereira et al., 2013).

Os baixos níveis de MDA apresentados por *P. densum* e *S. parviflora* após retorno da irrigação é um indicativo do potencial mecanismo de controle de espécies reativas de oxigênio, uma vez que o aumento nos teores deste subproduto da peroxidação lipídica tem sido considerado um importante indicador de estresse oxidativo em plantas (de Oliveira Jucoski et al. 2013; Pinto et al. 2016). O que pode ser comprovada pelo aumento

da atividade da enzima catalase no dia posterior ao retorno da irrigação das plantas *S. parviflora* expostas ao solo controle e consequente redução da concentração de H_2O_2 . Uma vez que as catalases são enzimas peroxissomais e glioxissomais que catalisam a redução direta do H_2O_2 a H_2O e O_2 (Yanik e Donaldson, 2005). Entretanto, a atividade enzimática da *S. parviflora* não conseguiu evitar um possível dano oxidativo quando exposta a pilha de estéril, já as plantas sobre solo controle apresentaram uma atividade enzimática de reparo.

Mecanismos enzimáticos minimizam os efeitos fitotóxicos das EROS (Schutzendubel e Polle, 2012), por meio das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) (Becana et al., 1998). Essas são enzimas chaves durante o processo de detoxificação das EROS nas células, o que garante a tolerância ao estresse (Gill e Tuteja 2010). Possivelmente ambas as espécies estudadas apresentam componentes não enzimáticos sintetizados pelas plantas que atuam como moléculas antioxidantes com finalidade de neutralizar a ação de EROS, como por exemplo, os componentes fenólicos (Michalak, 2006), glutatona reduzida, α -tocoferóis, ácido ascórbico, carotenóides, ácido úrico, ácido lipóico e ubiquinol (Edge et al., 1997; Becana et al., 1998).

5. CONCLUSÕES

P. densum apresentou maior resistência a pilha de estéril e *S. parviflora* maior resistência ao estresse hídrico.

Ambas espécies acumularam níveis de ferro acima do considerado fitotóxico após exposição ao substrato pilha de estéril, sendo o maior acúmulo nos tecidos radiculares.

As diminuições na taxa fotossintética e nos índices de clorofilas ocorreram em função do estresse hídrico.

O estresse hídrico foi responsável por causar danos reversíveis ao aparato fotossintético de ambas espécies.

P. densum e *S. parviflora* possuem eficiente forma de dissipação do excesso de energia luminosa de maneira a evitar danos fotoinibitórios em condição de estresse hídrico.

Ambas espécies apresentaram um eficiente mecanismo na eliminação de EROS de forma a não causar danos severos às plantas, como indicado pelos teores de MDA e H_2O_2 .

P. densum e *S. parviflora* podem ser consideradas plantas com mecanismos de resistência e com alto potencial para revegetação de ambientes com concentrações elevadas de ferro e períodos de seca.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, I. A.; CABELLI, D. E. Superoxide dismutases – a review of the metal-associated mechanistic variations. *Biochim Biophys Acta* v. 1804, p. 263–274, 2010.
- ALVAREZ, V.; V.H., NOVAIS, R.F.; DIAS, L.E. e OLIVEIRA, J.A. Determinação e uso do fósforo remanescente. *Boletim Informativo– SBCS. Viçosa MG.* v.25, n.1, p.27-32, 2000.
- ALVAREZ, V. H.; DIAS, L. E.; RIBEIRO Jr. E. S.; SOUZA, R. B.; FONSECA, C. A. Métodos de análises de enxofre em solos e plantas. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 131p. 2001.
- ARAÚJO, T. O.; FREITAS-SILVA L.; SANTANA, B. V. N.; KUKI, K. N.; PEREIRA, E. G.; AZEVEDO, A. A.; SILVA, L. C. Tolerance to iron accumulation and its effects on mineral composition and growth of two grass species. *Environmental Science and Pollution Research* v. 21, p. 2777-2784, 2014.
- ARAÚJO, T. O. Mechanisms of tolerance and localization of iron excess in two tropical grass species. Dissertação (Doutorado em Botânica) – Departamento de Botânica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.
- ARCHIBOLD, O. W. Ecology of world vegetation. London, UK: Chapman e Hall, 1995.
- ARNON, D.I.; STOUT, P. R. The essentiality of certain elements in minute quantity for plants. *Plant Physiol*, v.14(2), p. 371–375, 1939.
- BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, v. 55, p. 1607-1621, 2004.
- BAKER, N. R. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. *Annual Review of Plant Biology*, v. 59, p. 89-113, 2008.
- BARALDI, R.; CANACCINI, F.; CORTES, S.; MAGNANI, F.; RAPPARINI, F.; ZAMBONI, A.; RADDI, S. Role of xanthophyll cycle-mediated photoprotection in *Arbutus unedo* plants exposed to water stress during the Mediterranean summer. *Photosynthetica*, v. 46, n. 3, p. 378-386, 2008.
- BARUCH, Z. FERNANDEZ, D. S. Water relations of native and introduced C4 in a neotropical savana. *Oecologia*, v. 96, p. 179-185, 1993.

BATALHA, M.A.; MANTOVANI, W. Chave de identificação baseada em caracteres vegetativos para as espécies vasculares do cerrado na ARIE pé-de-gigante (Santa Rita do Passa Quatro, SP). *Revista do Instituto Florestal*, v. 11, p. 137-158, 1999.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, v. 44, n 1, p. 276–287, 1971.

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

BERGANTINO, E.; DAINESE, P.; CEROVIC, Z.; SECHI, S.; BASSI, R. A post-translational modification of the photosystem II subunit CP29 protects maize from cold stress. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 270, n. 15, p. 8474-8481, 1995.

BERGMANN, W. AND CUMAKOV, A., Diagnosis of nutrient requirement by plants, G. Fischer Verlag, Jena, and Priroda, Bratislava, 1977.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, n. 1–2, 7, p. 248-254, 1976.

BRAGA, J.M.; DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica do fósforo em extrato de solo e plantas. *Revista Ceres*, v. 21, n. 73-85, 1974.

BROADLEY, M; BROWN, P; CAKMAK, I; RENGEL, Z; ZHAO, F. Function of nutrients: Micronutrients. Marschner, P. (Ed). *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*, Academic Press, San Diego, p. 191-248, 2012.

BURKHEAD, J. L.; GOGOLIN REYNOLDS, K. A.; ABDEL-GHANY, S. E.; COHU, C. M.; PILON, M. Copper homeostasis. *New Phytologist*. v.182, p.799–816, 2009.

CALATAYUD, A.; ROCA, D.; MARTÍNEZ, P. F. Spatial-temporal variations in rose leaves under water stress conditions studied by chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 44, n. 10, p. 564-573, 2006.

CASTRO, A.F. de; BARRETO, W. de. O.; ANASTACIO, M.L.A Correlação entre pH e saturação de bases de alguns solos brasileiros. *Pesquisa Agropecuária Brasileira Série Agronomia*, Rio de Janeiro, v. 7, p. 9-17, 1972.

CHATURVEDI, N.; AHMED, MD. J.; DHAL N. K. Effects of iron ore tailings on growth and physiological activities of *Tagetes patula* L. *Journal Soils Sediments*. v. 14, p. 721-730, 2014.

CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, v. 103, n. 4, p. 551-560, 2009.

CHAVES, M.M.; OLIVEIRA, M. M. Mechanism underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of Experimental Botany*, v. 55, p. 2365-2384, 2004.

CLAYTON, W.D., VORONTSOVA, M.S., HARMAN, K.T. AND WILLIAMSON, H. GrassBase - The Online World Grass Flora. 2006. Disponível em: <<http://www.kew.org/data/grasses-db.html>>. Acesso 28 set. 2016.

da SILVA, L.; DE ARAÚJO, T.; MARTINEZ, C.; DE ALMEIDA LOBO, F.; AZEVEDO, A.; OLIVA, M. Differential responses of C3 and CAM native Brazilian plant species to a SO₂⁻ and SPMFe-contaminated Restinga. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(18), 14007-14017, 2015.

de OLIVEIRA JUCOSKI, G.; CAMBRAIA, J.; RIBEIRO, C.; de OLIVEIRA, J. A.; de PAULA, S. O.; OLIVA, M. A. Impact of iron toxicity on oxidative metabolism in young *Eugenia uniflora* L. plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(5), 1645-1657, 2013.

DEFELIPO, B. V. e RIBEIRO, A. C. Análise química do solo (metodologia). 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 26p. (Boletim de extensão 29), 1997.

DELABIO, J. C. Ecofisiologia comparativa entre gramíneas nativas e gramíneas exóticas invasoras em um Cerrado Campo Sujo, SP. Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação da Universidade de São Paulo, 2014.

DEL LONGO, O. T.; GONZÁLEZ, C. A.; PASTORI, G. M.; TRIPPI, V. S. Antioxidant defences under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. *Plant Cell Physiologist*, v. 34 (7), p. 1023-1028, 1993.

DEMMIG-ADAMS, B., e ADAMS, W. W. Photoprotection in an ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation. *New Phytologist*, 172(1), 11-21, 2006.

DNPM - Departamento nacional de produção mineral, 2016. Disponível em: <http://www.dnpm.gov.br/assuntos/ao-publico/anuario-mineral/arquivos/ANUARIO_MINERAL_2010.pdf/view>. Acesso 28 set. 2016.

DOMINGUEZ-SOLIS, J.R.; LOPEZMARTIN, M.C.; AGER, F.J.; YNSA, M.D.; ROMERO, L.C.; GOTOR, C. Increased cysteine availability is essential for cadmium tolerance and accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biotechnology Journal*, v.2,

p.469–476, 2004.

EDGE, R.; MCGARVEY, D.J.; TRUSCOTT, T.G. The carotenoids as anti-oxidants – a review. *Journal of Photochemistry and Photobiology*.41, 189-200, 1997.

ESKLING, M.; ARVIDSSON, P. O.; AKERLUND, H. E. The xanthophyll cycle, its regulation and components. *Physiologia Plantarum*.100, 806-816, 1997.

FAGERIA, N.K. Adequate and toxic levels of copper and manganese in upland rice, common bean, corn, soybean and wheat grown on an Oxisol. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 32:1659-1676, 2001.

FLÜGGE, U.I.; HÄUSLER, R.E.; LUDEWIG, F.; FISCHER, K. Functional genomics of phosphate antiport systems of plastids. *Physiologia Plantarum*, v.118, p.475-482, 2003.

FREITAS JÚNIOR, E.; SILVA, E.M. Uso da centrífuga para a determinação da curva de retenção de água no solo, em uma única operação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.19, p.1423-1428, 1984.

GENTY, B.; HARBINSON, J.; CAILLY, A. L.; RIZZA, F. 1996. Fate of excitation at PSII in leaves: the non-photochemical side. Presented at The Third BBSRC Robert Hill Symposium on Photosynthesis, University of Sheffield, Department of Molecular Biology and Biotechnology, Western Bank, Sheffield, UK, Abstract no. 28, 1996.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48(12), 909-930, 2010.

HATCH, M. D. C4 photosynthesis: a unique blend of modified biochemistry, anatomy and ultrastructure. *Biochimica Biophysica Acta* 895: 81–106, 1987.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N.A. biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology*, 1987 vol. 84 no. 2 450-455, 1987.

HO, L.; WHITE, P. J. A cellular hypothesis for the induction of blossom end rot in tomato fruit. *Ann. Bot.* v. 95, p. 571–581, 2005.

HODGES, D. M.; DELONG, J. M.; FORNEY, C. F.; PRANGE, R. K. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, v. 207, n. 4, p. 604–611, 1999.

HSIAO, T. C.; ACEVEDO, E. Plant responses to water deficits, efficiency, and drought resistance. *Agricultural meteorology*, 14: 59-84, 1974.

IBRAM – Instituto Brasileiro de Mineração. Informações sobre a economia mineral brasileira, 2015.

- JACKSON, M. L. *Análise química de solos*. Barcelona: Omega, 662p, 1970.
- JACKSON, M. L. *Soil chemical analysis*. New York: Prentice Hall, 498p, 1958.
- JEONG, J.; CONNOLLY, E. L. Iron uptake mechanisms in plants: Functions of the FRO family of ferric reductases. *Plant Science*, 176(6), 709-714, 2009.
- JEONG, J.; GUERINOT, M. L. Homing in on iron homeostasis in plants. *Trends in Plant Science*, 14(5), 280-285, 2009.
- KABATA-PENDIAS A., SADURSKI W. *Elements and their compounds in the environment*, 4 ed., Wiley-VCH, Weinheim, 2011.
- KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during Rice Leaf Senescence. *Plant Physiology*, v. 57 n. 2 315-319, 1976.
- KITAJIMA, M., BUTLER, W. L. 1975. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymo quinone. *Biochimica et Biophysica Acta*. 376, 105-115, 1975.
- KJELDAHL, J. Neue methode zur bestimmung des stickstoffs in organischen. Körpern, *Z. Anal. Chem*, v. 22, p. 366-382, 1883.
- LARCHER, W. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos: ed. Rima Artes e Textos, 531p., 2000.
- LAWLOR, D.W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment*, v.25, p.275-294, 2002.
- LIEBENBERG, D.; CLAASSENS, S.; VAN RENSBURG, L. Insights and lessons learned from the long-term rehabilitation of an iron ore mine. *International Journal Environmental Research* v.7, p. 633-644, 2013.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. de; *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. Piracicaba, POTAFOS, p. 201, 1989.
- MALCOVÁ, R.; ALBRECHTOVÁ, J.; VOSÁTKA, M. The role of the extraradical mycelium network of arbuscular mycorrhizal fungi on the establishment and growth of *Calamagrostis epigejos* in industrial waste substrates. *Applied Soil Ecology*, v. 18, p. 129-142, 2001.
- MELIS, A.; SPANGFORT, M.; ANDERSSON, B. Light-absorption and electron transport balance between photosystem II and photosystem I in spinach chloroplasts. *Photochemistry and Photobiology*. 45, 129-136, 1987.
- MICHALAK, A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*. 15, 523-530, 2006.

MORONI, J.S.; SCOTT, B.J. e WRATTEN, N. Differential tolerance of high manganese among rapeseed genotypes. *Plant Soil*, 253:507-519, 2003.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NEVES N.R.; OLIVA M.A.; CRUZ CENTENO D.; COSTA A.C.; RIBAS R.F.; PEREIRA E.G. Photosynthesis and oxidative stress in the restinga plant species *Eugenia uniflora* L. exposed to simulated acid rain and iron ore dust deposition: potential use in environmental risk assessment. *Science of the total environment*, v. 407, n.12, p. 3740-3745, 2009.

PAPAGEORGIOU, G. C.; GOVINDJEE. Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis. Dordrech: Springer, 820 p., 2004.

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(1), 81-92, 2013.

PINTO, S. S.; DE SOUZA, A. E.; OLIVA, M. A.; PEREIRA, E. G. Oxidative damage and photosynthetic impairment in tropical rice cultivars upon exposure to excess iron. *Scientia Agricola*, 73(3), 217-226, 2016.

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

RICKLEFS, Robert. The economy of nature. 5. ed. New York: W. H. Freeman and company, 620 p, 2001.

RIOS, C. O.; SOUZA, B. C.; SIQUEIRA-SILVA, A. I.; PEREIRA, E. G. Assessment of iron toxicity in tropical grasses with potential for revegetation of mined areas. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2017. In press.

ROUT, J. R.; BEHERA, S.; KESHARI, N.; RAM, S. S.; BHAR, S.; CHAKRABORTY, A.; SUDARSHAN, M.; SAHOO, S. L. Effect of iron stress on *Withania somnifera* L.: antioxidant enzyme response and nutrient elemental uptake of in vitro grown plants. *Ecotoxicology*, 24(2), 401-413, 2015.

SALGADO, A. A. R. Grandes domínios morfobioclimáticos de minas gerais: uma breve apresentação. In: *Panorama da biodiversidade em Minas Gerais*, Instituto Estadual de Florestas – IEF, 2012.

SARMIENTO, G. The ecology of neotropical savannas. Harvard University Press, England, 235 p. 1984.

SARRUGE , J. R. ;HAAG , H. P. Análises Químicas em Plantas. E.S.A . "Luiz de Queiroz", Piracicaba, Brasil. 56 p, 1974.

SCHULZE, E-D.; ELLIS, R.; SCHULZE, W.; TRIMBORN, P. Diversity, metabolic types and $\delta^{13}\text{C}$ carbon isotope ratios in the grass flora of Namibia in relation to growth form, precipitation and habitat conditions. *Oecologia* 106: 352–369, 1996.

SCHUTZENDUBEL, A.; POLLE, A. Plants responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of Experimental Botany*. 53, 1351-1365, 2012.

SHUBHRA; DAYAL, J.; GOSWAMI, C.L.; MUNJAL, R. Influence of phosphorus application on water relations, biochemical parameters and gum content in cluster bean under water deficit. *Biologia Plantarum*, v.48, p.445-448, 2004.

SILVA, G. P.; FONTES, M. P. F.; COSTA, L. M.; VENEGAS, V. H. A. Potencialidade de plantas para revegetação de estéreis e rejeito da mineração de ferro da mina de Alegria, Mariana-MG. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. 36, 165-172, 2006.

SUH H.; KIM C.S., LEE J.; JUNG J. Photodynamic effect of iron excess on photosystem II function in pea plants. *Photochemistry and photobiology* 75, 513–8, 2002.

SURESH, K.; NAGAMANI, C.; KANTHA, D. L.; KUMAR, M. K. Changes in photosynthetic activity in five common hybrids of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seedlings under water deficit. *Photosynthetica*, v. 50, n. 4, p. 549-556, 2012.

SURESH, K.; NAGAMANI, C.; RAMACHANDRUDU, K.; MATHUR, R. K. Gas-exchange characteristics, leaf water potential and chlorophyll a fluorescence in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seedlings under water stress and recovery. *Photosynthetica*, v. 48, n. 3, p. 430-436, 2010.

TISDALE, S.I.; NELSON, W.I.; BEATON, J. D. Soil fertility and fertilizers. 4.ed. New York: Macmillan, 754p, 1985.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant system in acid rain treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*. 151, 59–66, 2000.

WALTER, J.; NAGY, L.; HEIN, R.; RASCHER, U.; BEIERKUHNLEIN, C.; WILLNERD, E.; JENTSCH, A. Do plants remember drought? Hints towards a drought-memory in grasses. *Environmental and Experimental Botany*, v. 71, n. 1, p. 34-40, 2011.

WEAR, J.I.; EVANS, C.E. Relationship of zinc uptake by corn and sorghum to soil zinc measured by three extractants. *Soil Science Society of America Proceeding*, 32:543-546, 1968.

with special reference to copper. *Plant Physiology*, v. 14, n. 2, p. 371-375, 1939.

XU, S.; LIN, D.; SUN, H.; YANG, X.; ZHANG, X. Excess iron alters the fatty acid composition of chloroplast membrane and decreases the photosynthesis rate: a study in hydroponic pea seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(10), 2015.

XU, Z., ZHOU, G., SHIMIZU, H. Are plant growth and photosynthesis limited by pre-drought following rewatering in grass? *Journal of experimental botany*, p. 216, 2009.

YANIK, T.; DONALDSON, R. P. A protective association between catalase and isocitrate lyase in peroxisomes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 435, n. 243-252, 2005.

YORDANOV, I. ; VELIKOVA, V. ; TSONEV, T. Plant Responses to Drought, Acclimation, and Stress Tolerance. *Photosynthetica*, v.38, n.2, p.171-186, 2000.

CAPITULO II

EXPOSIÇÃO DA GRAMÍNEA NATIVA, *Paspalum densum* (Poir.), A PILHA DE ESTÉRIL E A SAZONALIDADE CLIMÁTICA IMPOSTA PELAS CONDIÇÕES DE CAMPO

RESUMO

A atividade de extração e beneficiamento de minério de ferro traz consigo a produção considerável de estéréis, que são descartados em pilhas. As características do substrato nas pilhas de estéril e as prolongadas estações de seca deste ambiente torna a revegetação natural e sucessão vegetal um processo lento. Entretanto, estudos anteriores apontaram algumas espécies de gramíneas nativas resistentes com alto potencial para revegetação destas áreas. O objetivo do trabalho foi avaliar as respostas fisiológicas da gramínea *Paspalum densum* em área impactada por mineração de ferro, no decorrer das estações seca e chuvosa. As plantas foram expostas a duas condições sobre pilha de estéril e sobre campo ferruginoso adjacente a área minerada, sendo as análises realizadas nos períodos chuvoso e seco, entre os meses fevereiro e agosto de 2016. Após o plantio, foi observada menor taxa de mortalidade entre os indivíduos da pilha de estéril, em relação ao campo ferruginoso. As plantas expostas a pilha de estéril apresentaram acréscimo nos valores de elementos traço ao longo do experimento e maior capacidade de acúmulo de macro e micronutrientes em relação às plantas do campo ferruginoso. O período seco proporcionou decréscimos nos índices de clorofilas, no rendimento quântico efetivo do FSII (Φ_{II}) e no quenching fotoquímico do FSII (qL) das plantas sobre pilha de estéril. Porém, a fluorescência inicial destas mesmas plantas apresentou redução apenas na última coleta. As plantas expostas ao campo ferruginoso apresentaram menores teores de malonaldeído e de H_2O_2 nas raízes e parte aérea, respectivamente, em relação àquelas da pilha de estéril. Foi observado acréscimo na concentração de prolina presente na parte aérea das plantas cultivadas sobre pilha de estéril apenas no último mês de experimento. A espécie em estudo, *P. densum*, apresentou satisfatório crescimento e rápida aclimação quando submetida a pilha de estéril mesmo após prolongado período de seca e exposição a estresses abióticos, o que comprova o alto potencial para revegetação destas áreas.

Palavras-chave: mineradora de ferro, gramínea, campo ferruginoso, período seco, revegetação.

EXPOSITION OF THE NATIVE GRAMINE, *Paspalum densum* (Poir.), THE “STERILE MINE” AND THE CLIMATE SEASON IMPOSED BY FIELD CONDITIONS

ABSTRACT

The activity of extraction and processing of iron ore brings with it the considerable production of sterols, which are discarded in piles. The characteristics of the substrate in the sterile stacks and the prolonged dry seasons of this environment make natural revegetation and vegetative succession a slow process. However, previous studies have pointed out some species of resistant native grasses with high potential for revegetation of these areas. The objective of this work was to evaluate the physiological responses of the *Paspalum densum* grass in an area impacted by iron mining during the dry and rainy seasons. The plants were exposed to two conditions on a “sterile mine” and on a ferruginous field adjacent to the mined area. The analyzes were carried out in the rainy and dry periods between February and August 2016. After planting, a lower mortality rate was observed between The individuals from the sterile stack, relative to the ferruginous field. The plants exposed to the “sterile mine” presented increase in trace element values throughout the experiment and greater capacity of accumulation of macro and micronutrients in relation to the plants of the ferruginous field. The dry period provided a decrease in the chlorophyll indices, in the effective quantum yield of FSII (Φ_{II}) and in the photochemical quenching of FSII (qL) of the plants on a “sterile mine”. The plants exposed to the ferruginous field presented lower levels of malonaldehyde and H₂O₂ in the roots and aerial part, respectively, in relation to those in the sterile cell. *P. densum* showed satisfactory growth and rapid acclimatization when submitted to a “sterile mine” even after prolonged drought and exposure to abiotic stresses, which confirms the high potential for revegetation of these areas.

Key words: iron mining, grass, ferruginous field, dry period, revegetation.

1. INTRODUÇÃO

A extração de minério de ferro representa uma das atividades econômicas mais importantes para o Brasil. Sendo o país o terceiro maior produtor de minério de ferro do mundo, com 13,6% das reservas mundiais (DNPM, 2016). Entre os estados brasileiros produtores de minério de ferro estão Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Pará, sendo Minas Gerais responsável por 67% da produção (Anuário mineral brasileiro, 2010; DNPM, 2016). Na porção centro-sul do estado encontra-se o Quadrilátero Ferrífero com inúmeras cavas e usinas de beneficiamento de minério de ferro e um alto potencial para exploração e expansão de novas áreas de extração (DNPM, 2008). Porém, a atividade de extração mineral traz consigo a produção considerável de estéril, que é um agregado natural composto por diversos minerais e com reduzido valor econômico. Estes são descartados em pilhas na condição natural, sua disposição se dá de forma contínua durante toda a etapa de extração do minério (Robertson et al., 1985). Portanto, a mineração é responsável por modificar, de forma considerável, o ambiente natural, por meio de desmatamento e modificação dos relevos originais (Silva et al., 2006).

O processo de revegetação natural e sucessão vegetacional em substratos resultantes da atividade mineradora é lento (Malcová et al., 2001; Silva et al., 2006), pois são inúmeras as limitações encontradas nestes ambientes, tais como: baixo conteúdo de matéria orgânica, pH extremo, presença de elementos traço, excesso de ferro, manganês, entre outros (Libenberg et al., 2013). Além das características do substrato, a condição climática também é um fator chave para o estabelecimento vegetativo. O Quadrilátero Ferrífero localiza-se na porção central de Minas Gerais, região com clima tropical semi-úmido típico, sendo que a estação úmida se concentra nos meses de verão e a seca no inverno (Salgado, 2012). Por isso, além da capacidade de crescimento satisfatório em ambientes impactados pela mineração de ferro é necessário também que a espécie selecionada seja capaz de tolerar períodos de estiagem e variações climáticas no local a ser revegetado.

Em ambientes degradados por mineração, as plantas estão sujeitas a diversos estresses abióticos. Favorecendo assim a absorção excessiva de elementos traço, desencadeando toxidez às plantas (Williams et al., 2000; Pugh et al., 2002; Ducic e Polle, 2005; Broadley et al., 2012), alterações no processo fotossintético e no acúmulo de biomassa (Neves et al., 2009), principalmente quando associado a déficit hídrico e alta irradiância.

Não obstante, algumas plantas possuem a capacidade de aclimatar-se às condições adversas, por meio de estratégias de resistência à elevada concentração de metais no

substrato. A exclusão do metal no apoplasto radicular, ou o acúmulo deste na parte aérea em conjunto com mecanismos de neutralização do mineral (Rout et al. 2015), proporcionam a colonização e a distribuição geográfica dessas plantas em ambientes degradados pelas mineradoras. Diversas espécies de gramíneas apresentam esses mecanismos de defesa o que garantem sua sobrevivência em ambientes impactados. Uma destas espécies é a *Paspalum densum*, uma gramínea perene capaz de resistir ao excesso de ferro em solução nutritiva, mostrando-se promissora no processo de revegetação de áreas impactadas pela mineração de ferro (Rios et al., 2017) porém torna-se necessário conhecer suas respostas em campo.

Neste contexto espera-se que *P. densum* apresente eficiente mecanismo de dissipação de energia e eliminação das espécies reativas de oxigênio de forma a não causar danos severos às plantas, quando exposta a sazonalidade hídrica e pilha de estéril, sendo eficiente no processo de revegetação deste ambiente. Este trabalho objetivou-se avaliar as respostas fisiológicas da gramínea *P. densum* em área impactada por mineração de ferro, no decorrer das estações seca e chuvosa.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Área de estudo e material vegetal

O estudo foi conduzido em duas áreas na Mina Retiro das Almas, pertencente a mineradora Vale S.A., situada no município de Ouro Preto, estado de Minas Gerais. O clima local se enquadra na classificação de Koppen como tipo Cwb – tropical de altitude, se caracterizando por invernos secos e verões chuvosos, com baixa amplitude térmica anual (média do mês mais quente em torno de 22°C e média do mês mais frio em torno dos 18°C) e precipitação média anual de 1500 mm (Fig. 1). A mina está localizada nas coordenadas 20° 24' 15.70"S e 43° 54' 14.6"W, sendo o domínio vegetacional de transição entre Mata Atlântica e Cerrado, e altitude 1354 m. As coordenadas e altitude foram aferidas com auxílio de um GPS (modelo GPSmap625, GARMIN).

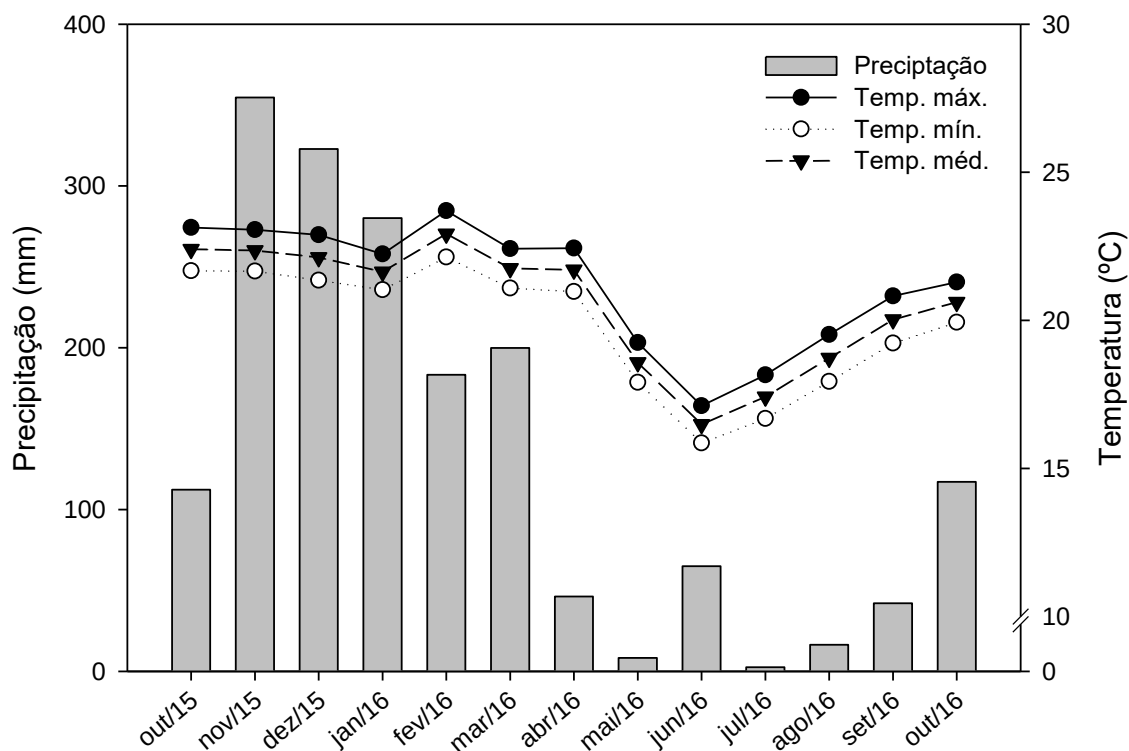


Figura 1: Climadograma com base no banco de dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) da estação automática A513 de Ouro Branco, MG, nas estações chuvosa e seca. Distância em linha reta entre a área de estudo e a estação automática: 23,20 km.

O experimento foi conduzido com a gramínea nativa *Paspalum densum* (Poir.). Inicialmente as sementes foram coletadas as margens da lagoa de decantação de uma usina de pelotização de minério de ferro localizada em Ubu (ES) (20°46'49.52"S 40°35'08.69"O). Estas foram cultivadas em leito de areia e após a germinação transplantadas para o solo.

As plântulas de *P. densum* utilizadas no experimento foram obtidas por meio de perfilhos oriundos das matrizes mantidas no campus UFV Florestal. Os propágulos foram podados a uma altura de 20 cm, e posteriormente acondicionadas em vasos plásticos com capacidade de 5 litros, contendo solução nutritiva de Hoagland, com pH 5,0 (aferido diariamente), sendo a solução trocada semanalmente. As plantas replicadas permaneceram nestas condições durante 5 meses, em seguida foram mais uma vez podadas e após 7 dias levadas para a área de campo, na Mina Retiro de Almas. O transporte das plantas ao campo foi realizado com o auxílio de bandejas cobertas com papel germiteste umedecido.

Em campo as plantas de *P. densum*, foram plantadas em duas áreas pré-selecionadas, sendo uma área sobre a pilha de estéril e a outra sobre campo ferruginoso adjacente a mineradora. Em ambas as áreas foi demarcada uma parcela de 18 m², dividida em três subparcelas de 2 m² com 0,5 m de bordas. Onde foram plantadas 12 plantas em cada subparcela com espaçamento de 0,2 m entre plantas e 0,5 m entre linhas. O plantio ocorreu na estação chuvosa, no dia 26 de janeiro de 2016.

O experimento teve duração de oito meses, com início no período chuvoso (janeiro a março) e término no período seco (abril a agosto). Durante este período foram analisados os índices de clorofilas, fluorescência da clorofila a, contagem de indivíduos, teor de minerais na raiz e parte aérea, análises da concentração de malonaldeído e peróxido de hidrogênio e determinação de prolinas. Devido ao lento crescimento inicial e, consequentemente, a falta de material vegetal, as análises destrutivas tiveram início no mês de março.

2.2. Variáveis avaliadas

2.2.1. Fluorescência da clorofila a

As medições das variáveis de fluorescência da clorofila a foram realizadas entre a segunda e terceira folha totalmente expandida, nos dias 17 de fevereiro, 18 de março, 28 de abril, 14 de julho e 18 de agosto. As análises foram realizadas com auxílio de um fluorômetro de pulso modulado Mini-PAM (Heinz Walz, Effeltrich, Germany). Idem ao tópico 2.3.1 do capítulo I (pág. 14).

2.2.2. Índices de clorofila

As avaliações dos índices de clorofila (clorofila total, clorofila a, clorofila b e a razão clorofila a/b) foram realizadas nos dias 17 de fevereiro, 18 de março, 28 de abril, 8 de junho, 14 de julho e 18 de agosto com auxílio do medidor portátil de clorofila ClorofiLOG (Falker, Brasil). Idem ao tópico 2.3.2 do capítulo I (pág. 15).

2.2.3. Teor de minerais nos tecidos vegetais

O material vegetal foi coletado nos dias 18 de março, 28 de abril, 8 de junho, 14 de julho e 18 de agosto e dividido em raiz e parte aérea, sendo a parte aérea lavada com água corrente e água deionizada, e as raízes com solução de DCB (ditionito de sódio, citrato de sódio e bicarbonato de sódio), o que garante a remoção de ferro e outros metais aderidos na porção externa da raiz. Em seguida, foi feita a secagem do material a 75°C durante 72 horas. As amostras foram pesadas em balança de precisão e, então, reduzidas a partículas menores que 1mm, com auxílio de moinho de facas de aço inox. Após a

moagem as amostras foram acondicionadas em frascos de vidro. As análises foram realizadas conforme tópico 2.3.3 do capítulo I (pág 15).

2.2.4. Determinação da composição química do solo

Para determinação da composição química do solo, no primeiro dia de experimento, foram coletadas amostras compostas de cada tratamento (0-5 cm de profundidade). Idem ao tópico 2.3.4 do capítulo I (pág. 16)

2.2.5. Determinação dos teores de malonaldeído (MDA)

Os teores de MDA foram realizados nos dias 18 de março, 28 de abril, 8 de junho, 14 de julho e 18 de agosto segundo metodologia proposta por Hodges et al. (1999). Conforme tópico 2.3.6 do capítulo I (pág. 19).

2.2.6. Determinação dos teores de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

Os teores de H₂O₂ foram estimados nos dias 18 de março, 28 de abril, 8 de junho, 14 de julho e 18 de agosto, segundo metodologia proposta por Velikova et al.(2000). Conforme tópico 2.3.7 do capítulo I (pág. 19).

2.2.7. Determinação dos teores de prolina

As análises do conteúdo de prolina foram realizadas nos dias 18 de março, 28 de abril, 8 de junho, 14 de julho e 18 de agosto. Para determinação de prolina foi utilizado o método de Bates et al. (1973), sendo 0,1g de massa fresca de folhas e raízes maceradas em nitrogênio líquido, juntamente com 5 mL de ácido sulfossalicílico 3%. Em seguida, a mistura foi centrifugada por 10 minutos a 12.000 xg na temperatura ambiente, sendo depois coletado 1 mL de sobrenadante e transferido para um tubo de ensaio, adicionando-se 1 mL de ninidrina ácida e 1 mL de ácido acético glacial. As amostras foram colocadas em banho-maria por 1 h a 100 °C. Em seguida, foram resfriadas em gelo, sendo adicionados em seguida 2 mL de tolueno puro e agitado vigorosamente em vórtex, por 30 segundos, para separação das fases (o tolueno extrai a substância cromófora formando um complexo colorido avermelhado). Após atingir a temperatura ambiente, aspirou-se a fase aquosa superior (cromóforo + tolueno), para leitura em espectrofotômetro a 520 nm. Para obtenção dos valores de concentração de prolina, utilizou-se a curva de calibração $y = 0,0959x - 0,2147$ (sendo y = absorbância; x = concentração de prolina; e $R^2 = 0,9926$). Essa curva de calibração foi realizada utilizando-se concentrações de prolina variando de zero (água destilada/deionizada) a 500 µg/mL de solução-padrão de prolina (100 µg/mL).

2.3. Delineamento experimental e análise estatística

Foi adotado delineamento inteiramente casualizado, sendo duas áreas de estudo (pilha de estéril e área não contaminada adjacente à mineradora) com seis repetições. As

áreas foram comparadas utilizando análise variância (ANOVA) e teste de média (Tukey, $P < 0,05$), considerando o tempo como subparcela. Foi realizado também ANOVA e teste de Tukey ($P < 0,05$) para comparar as respostas das plantas sobre a pilha de estéril ao longo das estações de crescimento.

3. RESULTADOS

Dentre os macronutrientes analisados, a pilha de estéril apresentou menores concentrações de nitrogênio e potássio e maiores valores de fósforo e enxofre em relação ao campo ferruginoso (Tabela 1). Os teores de magnésio e cálcio não apresentaram diferenças significativas entre as duas áreas. Quanto aos micronutrientes, apenas o ferro, o manganês e o zinco apresentaram diferenças significativas entre as duas áreas, sendo os maiores valores de ferro encontrados no campo ferruginoso e manganês e zinco na pilha de estéril. Dentre os elementos traço, apenas o teor de cromo foi maior no campo ferruginoso, não sendo observada diferenças significativas entre as áreas para níquel, cádmio e arsênio. Não foi encontrada presença de chumbo em nenhuma das áreas. O campo ferruginoso apresentou pH mais ácido, maior concentração de alumínio trocável e matéria orgânica, maior capacidade de troca catiônica e maior índice de saturação por alumínio. Por outro lado, a pilha de estéril apresentou maiores índices de saturação por bases e maiores valores de fósforo remanescente (Tabela 1).

No decorrer do experimento foi observada maior taxa de mortalidade no campo ferruginoso em relação a pilha de estéril. Após 5 meses todos os indivíduos cultivados sobre campo ferruginoso haviam morrido, enquanto a pilha de estéril ainda apresentava 74,3% dos indivíduos vivos. Por este motivo, não foi possível comparar as áreas amostradas ao longo de todo o experimento.

Tabela 1: Características químicas dos solos (0-5 cm de profundidade) da pilha de estéril e do campo ferruginoso.

Características Químicas	Campo ferruginoso	Pilha de estéril
N (dag kg ⁻¹)	0,33*	0,27
P (mg dm ⁻³)	0,00	14,50*
K (mg dm ⁻³)	60,60*	13,60
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	1,04	1,11
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,19	0,17
S (mg dm ⁻³)	7,46	19,16*
Fe (mg dm ⁻³)	106,70*	28,86
B (mg dm ⁻³)	0,51	0,43
Mn (mg dm ⁻³)	90,66	200,04*
Zn (mg dm ⁻³)	0,72	2,34*
Cu (mg dm ⁻³)	4,02	3,41
Ni (mg dm ⁻³)	0,92	0,65
Pb (mg dm ⁻³)	0,00	0,00
Cd (mg dm ⁻³)	0,17	0,19
Cr (mg dm ⁻³)	0,42*	0,10
As (mg dm ⁻³)	0,16	0,21
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	1,14*	0,00
H+Al (cmol _c dm ⁻³)	7,44*	1,28
SB (cmol _c dm ⁻³)	1,39	1,32
t (cmol _c dm ⁻³)	2,54*	1,32
T (cmol _c dm ⁻³)	8,83*	2,60
V (%)	15,80	50,30*
m (%)	45,06*	0,00
P-Rem (mg L ⁻¹)	14,00	45,84*
MO (dag kg ⁻¹)	3,46*	0,44
pH H ₂ O	5,08	6,04*
pH KCl	4,27	5,32*

Amostras compostas (n=5). Legenda: (SB) soma de bases trocáveis, (t) capacidade de troca catiônica efetiva, (T) capacidade de troca catiônica a pH 7,0; (V) índice de saturação de bases, (m) índice de saturação de alumínio, (P-Rem) fósforo remanescente; (H+Al) acidez potencial. * Indica diferença significativa entre os substratos, segundo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Entre os macronutrientes analisados, foram observados maiores teores de fósforo, cálcio, magnésio e enxofre na parte aérea das plantas expostas a pilha de estéril (Fig. 2A, 2E, 2G e 2I). Apenas o potássio não apresentou diferença significativa entre as áreas estudadas (Fig. 2C). Já nas raízes, não foram observadas diferenças significativas nos teores de macronutrientes das plantas expostas a pilha de estéril em relação àquelas do campo ferruginoso. Ao longo do tempo foram observadas reduções nos teores de fósforo,

potássio, magnésio e enxofre presentes na parte aérea das plantas expostas a pilha de estéril (Fig. 2A, 2C, 2G e 2I). O mesmo ocorreu para os teores de fósforo, cálcio, magnésio e enxofre presentes nas raízes (Fig. 2A, 2E, 2G e 2I).

Em relação aos micronutrientes, as plantas crescendo na pilha de estéril apresentaram os maiores teores de cobre, ferro e manganês na parte aérea e na raiz (Fig. 3A, 3B, 3C, 3D, 3E e 3F). O mesmo ocorreu para o teor de zinco presente na parte aérea, com exceção apenas para a raiz, na qual não foram observadas diferenças entre as áreas Fig. 3G e 3H). Foi observado, ao longo do tempo, redução no teor de ferro presente na parte aérea das plantas crescendo sobre pilha de estéril (Fig. 3C).

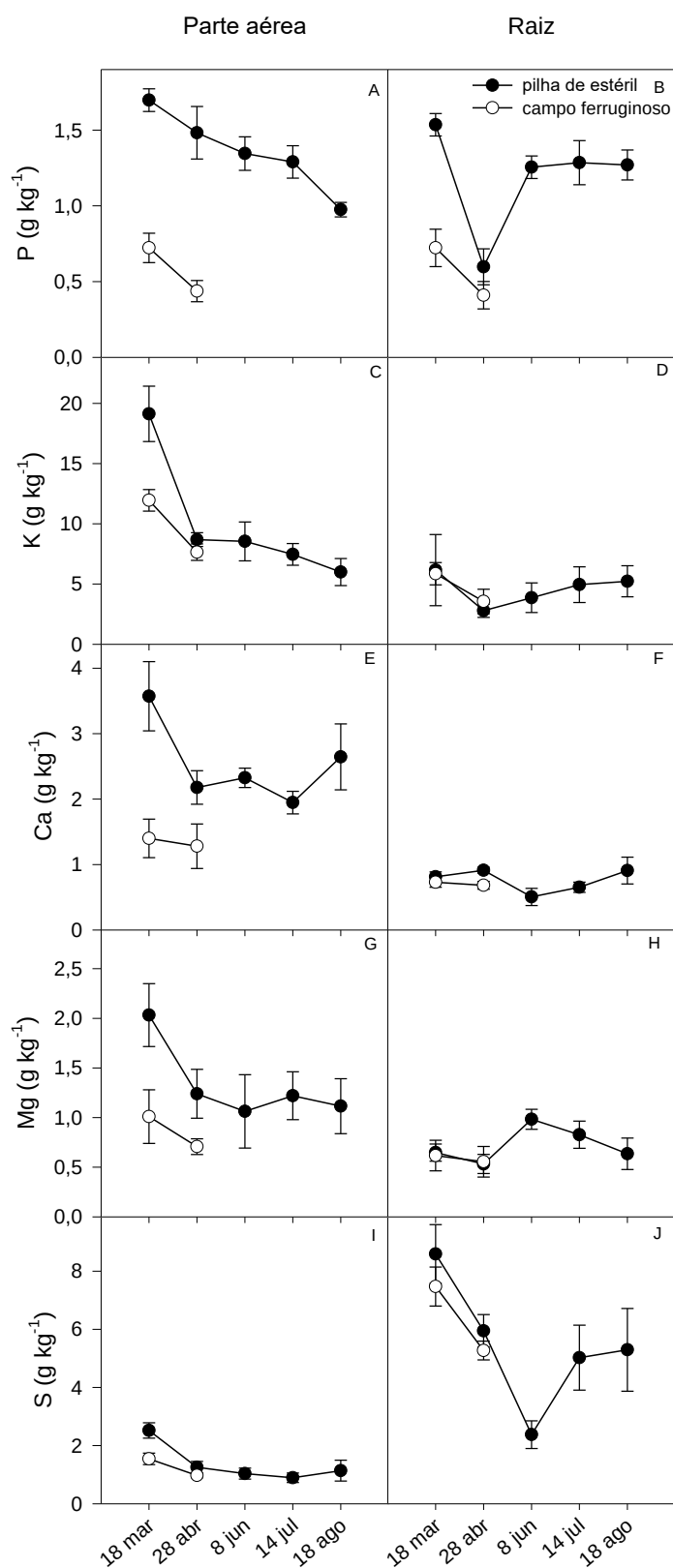


Figura 2: Teor de fósforo (A e B), potássio (C e D), cálcio (E e F), magnésio (G e H) e enxofre (I e J) na parte aérea (A, C, E, G e I) e na raiz (B, D, F, H e J) das plantas *P. densum* crescendo em campo ferruginoso e em pilha de estéril. As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de quatro repetições.

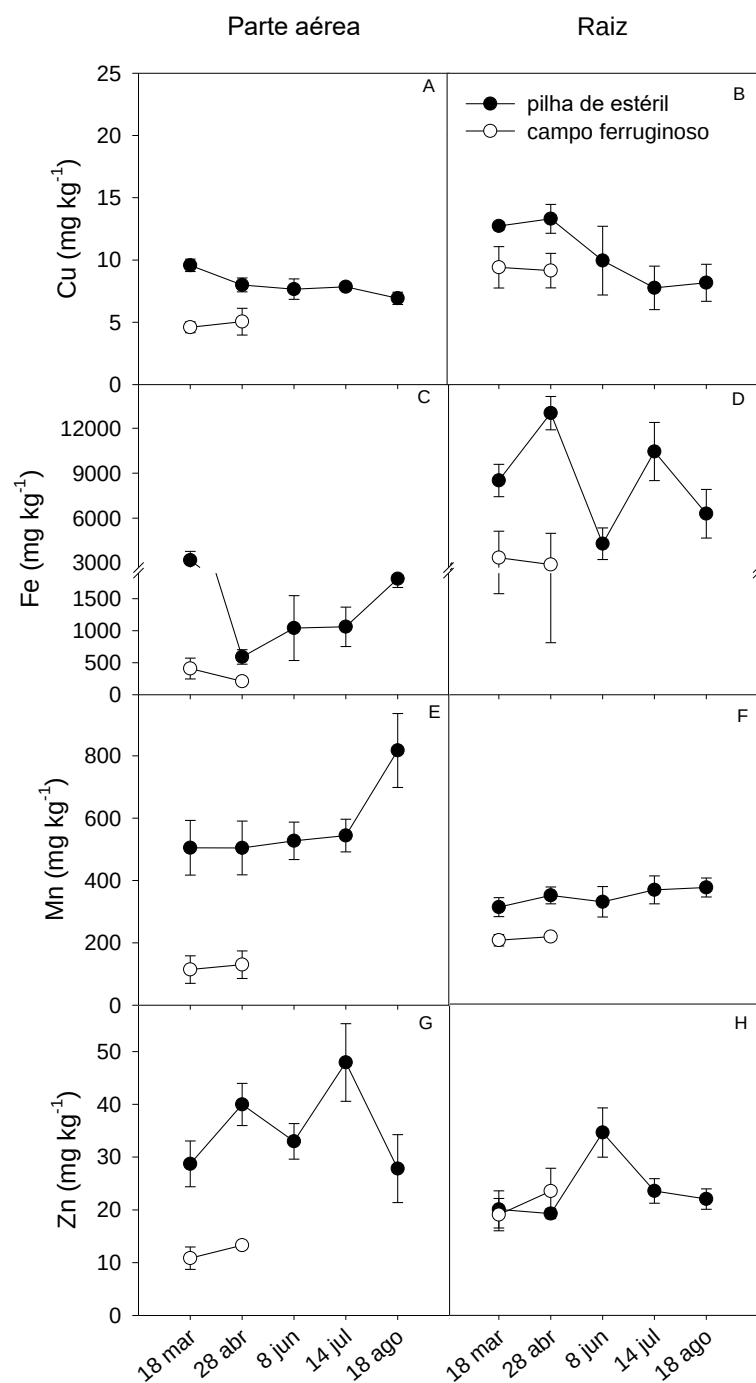


Figura 3: Teor de cobre (A e B), ferro (C e D), manganês (E e F) e zinco (G e H) na parte aérea (A, C, E e G) e na raiz (B, D, F, E e H) das plantas *P. densum* crescendo em campo ferruginoso e em pilha de estéril. As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de quatro repetições.

Dentre os elementos traço apenas o chumbo apresentou maiores valores na parte aérea e raiz das plantas expostas ao campo ferruginoso (Fig. 4C e 4D). Não foram observadas diferenças significativas entre as áreas para os teores de níquel, cádmio e cromo nas raízes e na parte aérea (Fig. 4A, 4B, 4E, 4F, 4G e 4H). Ao longo do experimento observou-se acréscimos nos teores de níquel, chumbo e cádmio para as plantas expostas à pilha de estéril em ambos os órgãos (Fig. 4A, 4B, 4C, 4D, 4E e 4F) . O mesmo ocorreu para o teor de cromo presente na parte aérea das plantas expostas a pilha de estéril, com exceção apenas para a raiz, na qual não foram observadas diferenças ao longo dos dias (Fig. 4G e 4H).

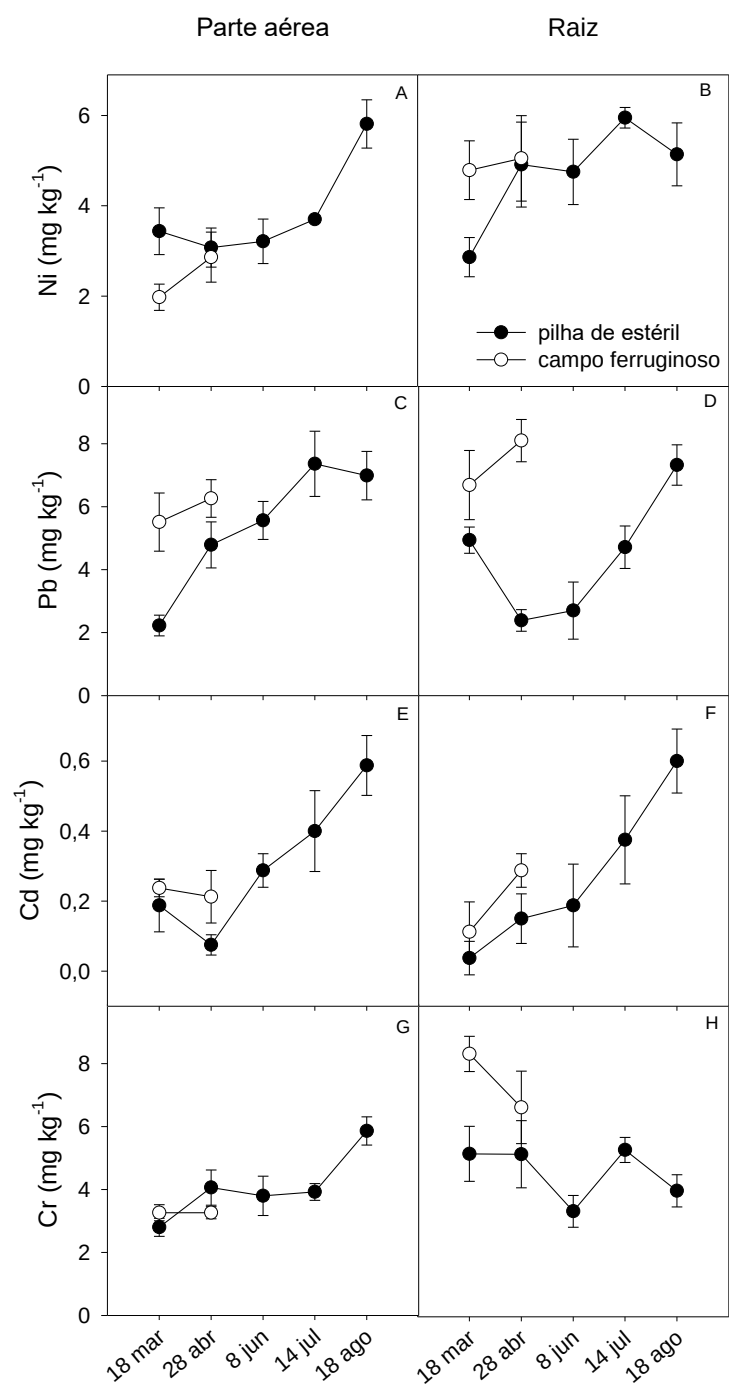


Figura 4: Teor de níquel (A e B), chumbo (C e D), cádmio (E e F) e cromo (G e H) na parte aérea (A, C, E e G) e na raiz (B, D, F, E e H) das plantas *P. densum* crescendo em campo ferruginoso e em pilha de estéril. As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de quatro repetições.

Ao longo dos 205 dias de experimento em campo não foi observado diferença significativa nos valores de clorofilas nas plantas em relação às diferentes áreas (Fig. 5A - 5D). No entanto, as plantas expostas ao quadrante sobre a pilha de estéril, apresentaram maiores valores para clorofila a, clorofila b e clorofila total durante o período chuvoso (nos meses fevereiro, março e abril), com decréscimo a partir do mês de junho (Fig. 5A – 5C). O contrário foi observado na razão clorofila a/b na qual os menores valores foram observados nas quatro primeiras coletas e os maiores incrementos a partir de 14 de julho (Fig. 5D).

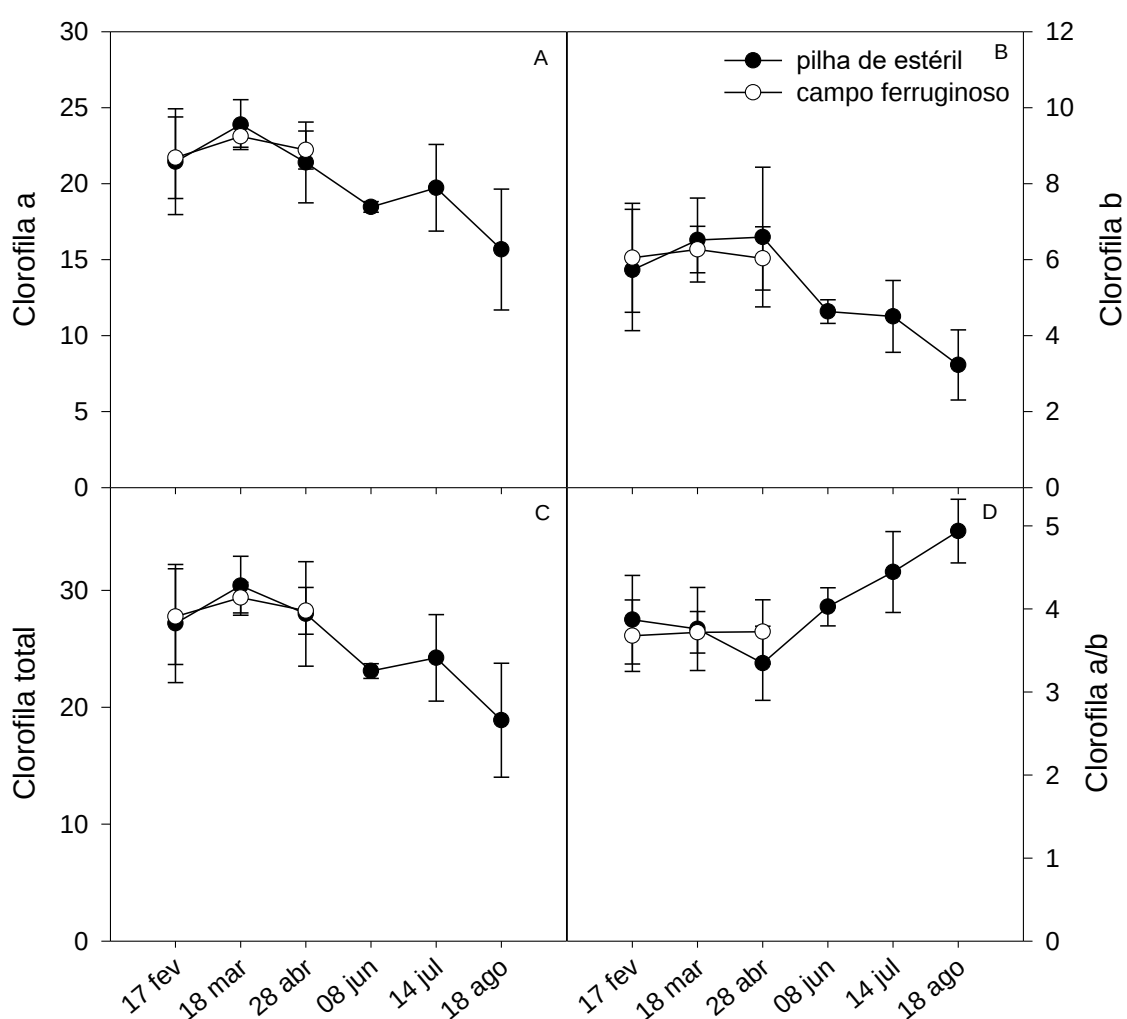


Figura 5: Índices de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e razão clorofila a/b (D) em plantas de *P. densum* crescendo em campo ferruginoso e em pilha de estéril. As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de seis repetições.

Foi observado redução da fluorescência inicial (F_0) nas plantas expostas ao campo ferruginoso no mês de transição entre a estação chuvosa e seca (Fig. 6A). Houve também decréscimo nos valores de F_0 para as plantas expostas ao quadrante sobre a pilha de estéril na última coleta, entretanto sem alterações em F_v/F_m (Fig. 6B).

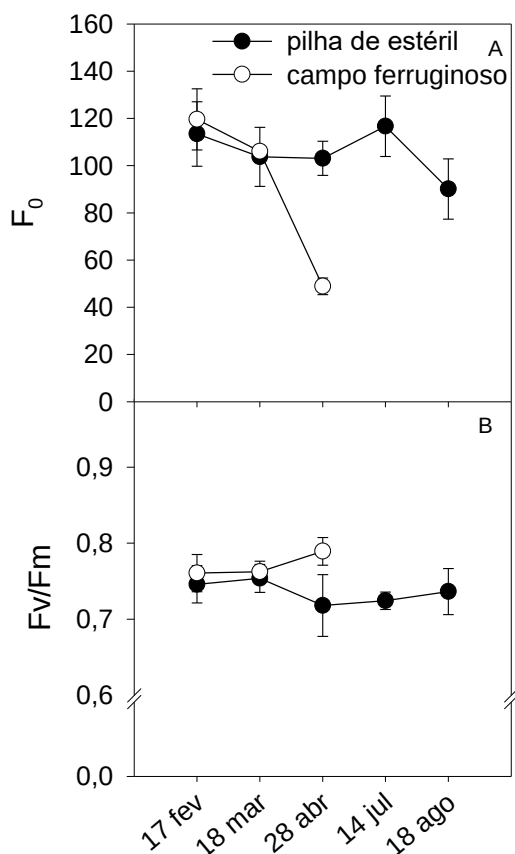


Figura 6: Fluorescência inicial (A) e eficiência quântica máxima do FSII (B) em plantas de *P. densum* expostas a quadrante sobre campos ferruginosos e pilha de estéril. As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de seis repetições.

Observou-se redução nos valores do rendimento quântico efetivo do FSII (Φ_{II}) e aumento dos valores de rendimento quântico de dissipação não-regulada (Φ_{NO}) e regulada (Φ_{NPQ}) de energia não fotoquímica do FSII no início da estação seca nas plantas presentes na pilha de estéril (Fig. 7A – 7C). As plantas expostas ao quadrante sobre campo ferruginoso apresentaram aumento no Φ_{NO} em função do tempo (Fig. 7C).

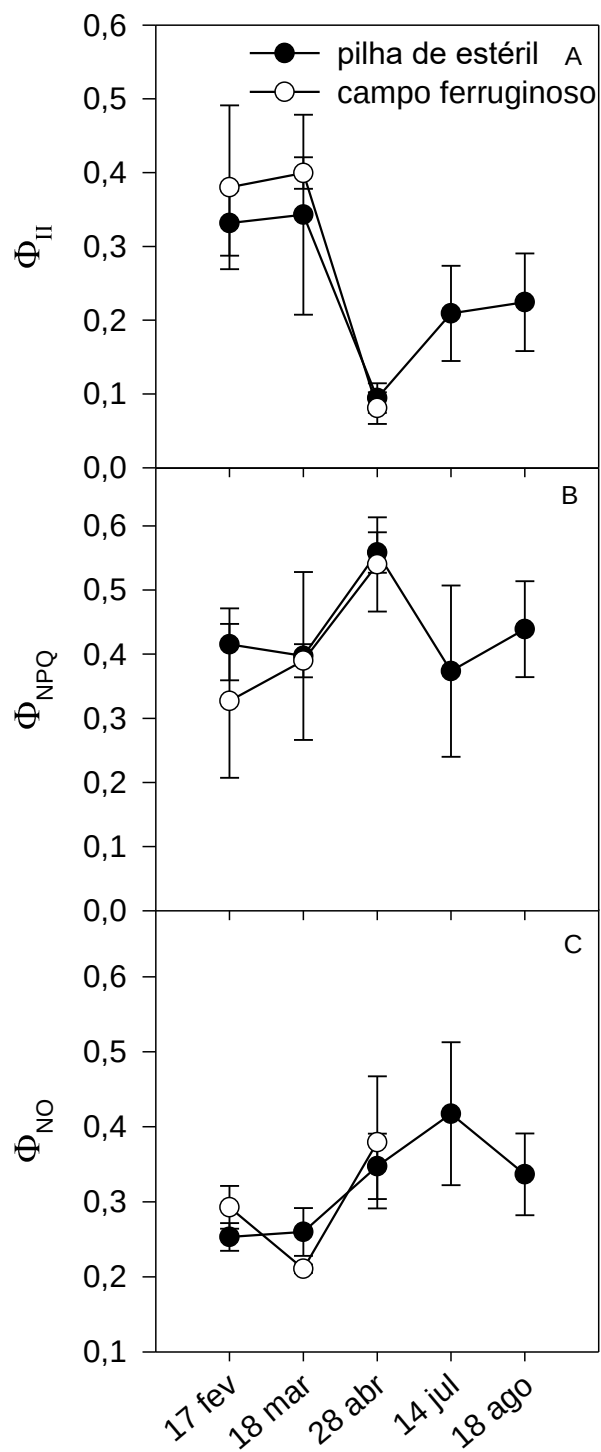


Figura 7: Rendimento quântico efetivo do FSII (A), rendimento quântico de dissipação regulada de energia não fotoquímica do FSII (B) e rendimento quântico de dissipação não regulada de energia não fotoquímica do FSII (C) em plantas de *P. densum* expostas a quadrante sobre campo ferruginoso e pilha de estéril. As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de seis repetições.

Houve decréscimo nos valores da taxa aparente do transporte de elétrons do FSII (ETR) e no quenching fotoquímico do FSII (qL) para as plantas expostas a pilha de estéril no início da estação seca, em abril (Fig. 8A e 8B). Foi observado também incremento no qL para as plantas expostas ao campo ferruginoso apenas em março, quando se finaliza a estação chuvosa (Fig. 8B). Não foi observada diferença significativa entre as áreas de estudo para ETR e qL (Fig. 8A e 8B). Da mesma forma, os dias de exposição e as áreas não foram significativas para o coeficiente de extinção não fotoquímico (NPQ) (Fig. 8C).

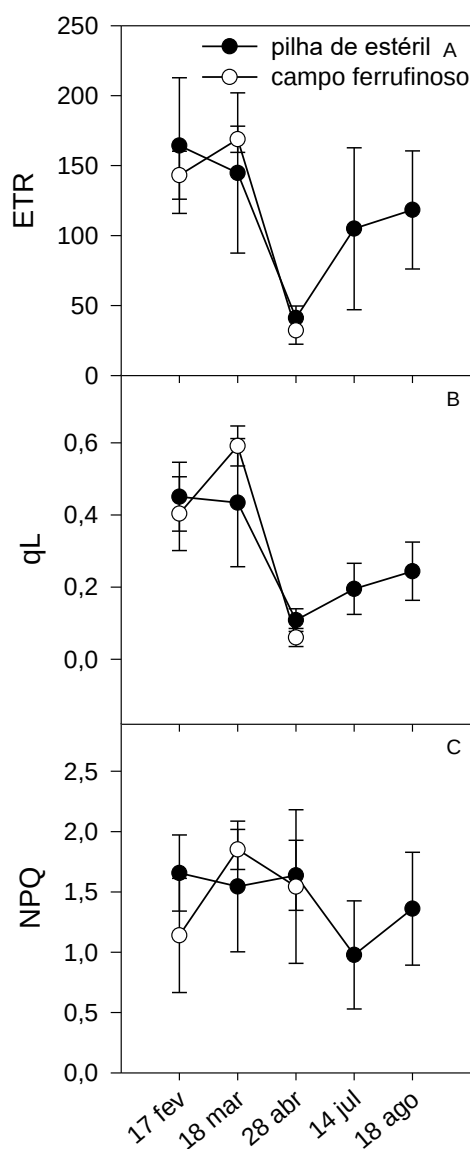


Figura 8: Taxa aparente de transporte de elétrons (A), quenching fotoquímico do FSII (B) e coeficiente de extinção não fotoquímico (C) em plantas de *P. densum* expostas a quadrante sobre campo ferruginoso e pilha de estéril. As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de seis repetições.

Em relação ao teor de malonaldeído presente na parte aérea, não foram observadas alterações significativas entre as plantas presentes nos distintos ambientes (Fig. 9A). Já o teor de MDA nas raízes foi maior nas plantas expostas a pilha de estéril quando comparado as plantas expostas ao campo ferruginoso (Fig. 9C). As plantas presentes na pilha de estéril apresentaram maiores incrementos nos teores de MDA da parte aérea nos meses de seca, entre junho e julho. Para as raízes, os maiores valores foram observados no período de transição entre a estação seca e a chuvosa e a menor concentração no último dia de experimento (Fig. 9A e 9C).

O teor de H_2O_2 na parte aérea foi maior nas plantas crescendo na pilha de estéril em relação àquelas do campo ferruginoso. Entretanto na pilha de estéril não houve diferença significativa ao longo do experimento (Fig. 9B e 9D). Na raiz ocorreu maiores teores de H_2O_2 nas plantas expostas a pilha de estéril e campo ferruginoso, ao longo da primeira e segunda coleta, respectivamente. Para as plantas expostas pilha de estéril observou-se queda nos valores de H_2O_2 nas raízes a partir do mês de julho (Fig. 9D).

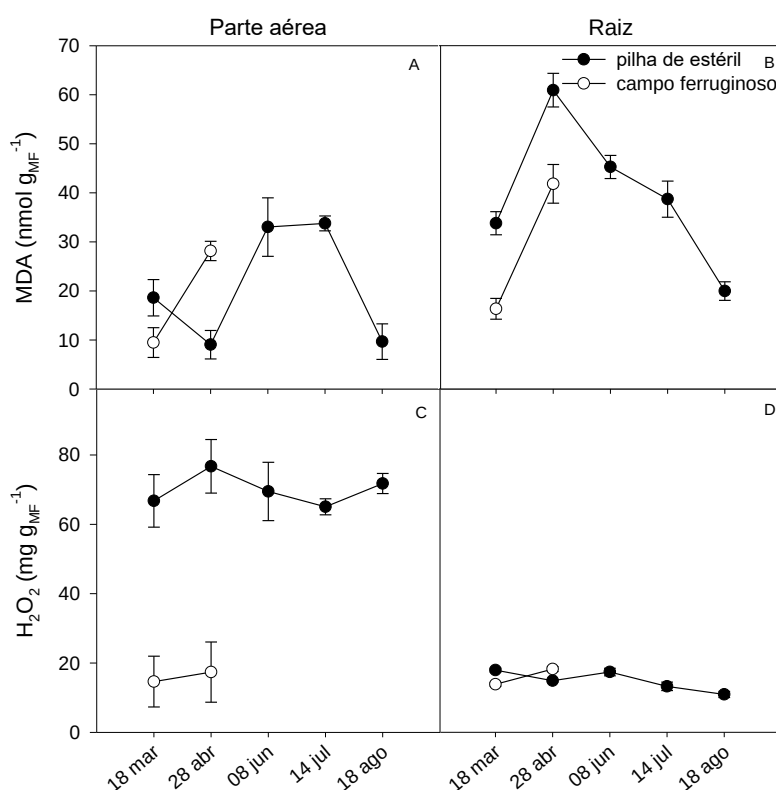


Figura 9: Concentração de malonaldeído (MDA) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na parte aérea (A e B) e raízes (C e D) de *P. densum* expostas a quadrantes sobre a pilha de estéril e sobre o campo ferruginoso. As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de quatro repetições.

Não houve diferença na concentração de prolina entre as plantas dos distintos ambientes. Foi observado maior concentração de prolina presente na parte aérea das plantas expostas a pilha de estéril no final da estação seca (18 de agosto). Na raiz das plantas expostas à pilha de estéril, foi observado maior concentração de prolina em julho em relação ao início do experimento (Fig. 10).

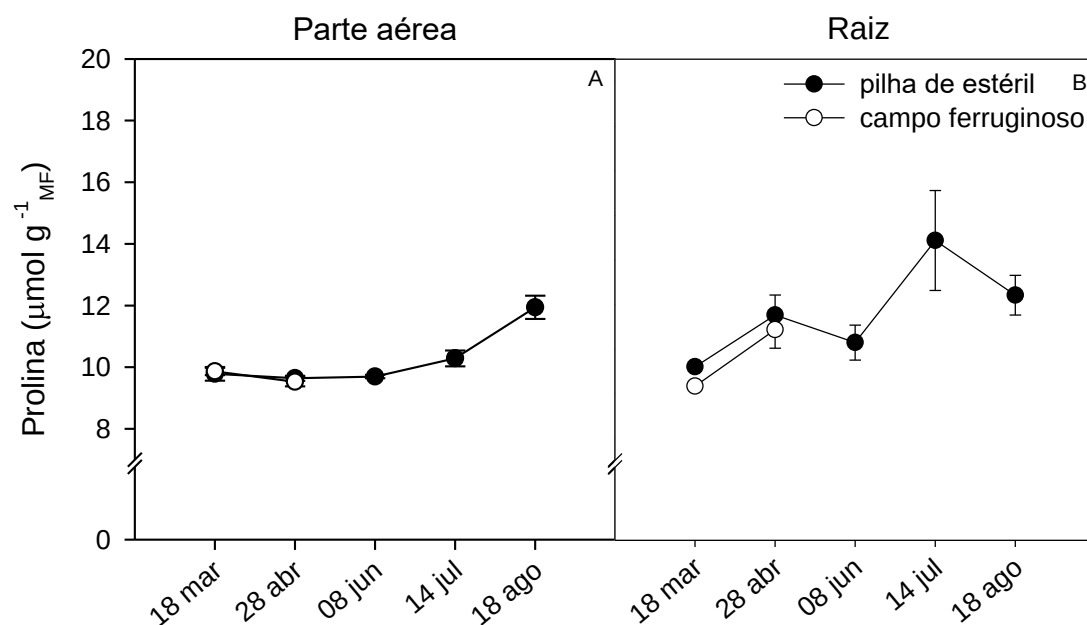


Figura 10: Concentração de prolina na parte aérea (A) e raízes (B) de *P. densum* expostas a quadrantes sobre a pilha de estéril e sobre o campo ferruginoso. As barras representam as médias $\pm$ erro padrão de quatro repetições.

4. DISCUSSÃO

A revegetação de áreas impactadas pela mineração de ferro é um processo lento (Malcová et al., 2001) em função das características físico-químicas dos rejeitos e estéreis, associados ao déficit hídrico sazonal e alta irradiância como observado neste estudo. A alta compactação do solo, responsável por diminuir o desenvolvimento radicular, assim como a ausência de fósforo foi determinante para a mortalidade das plantas que se encontravam sobre o campo ferruginoso, uma vez que a deficiência por P compromete a atividade fotossintética (Shubhra et al., 2004), a expressão genética (Lawlor e Cornic, 2002) e o fechamento estomático. A redução na frequência de precipitação diminui também a disponibilidade de água para a planta, com isso a transpiração é reduzida drasticamente, potencializando outros fatores ambientais de

estresse (Gates, 1968) presentes no campo ferruginoso, como alta concentração de ferro e elementos traço, competição interespecífica e grande compactação do solo. Entre os elementos traço não essenciais, apenas a concentração de cádmio, em ambos os substratos estudados, está acima da concentração máxima descrita para solos contaminados (Kabata-Pendias, 2011).

O estresse hídrico resulta em severa inibição do processo fotossintético, primeiramente em razão da maior resistência difusiva à entrada do CO₂ desencadeado pelo fechamento estomático (Baruch, 1994; Silva et al., 2001) e em seguida devido a limitações metabólicas, na qual a concentração interna de CO₂ se mantém alta mesmo durante o período de seca, porém ocorre redução da síntese de ATP (Ghannoum et al., 2003). Estudos realizados por Ghannoum et al. (2003) com quatro plantas de metabolismo C₄ demonstram que a assimilação de CO₂ e a eficiência quântica máxima do PSII são sensíveis ao déficit hídrico, independente do suprimento de CO₂. A intensificação dos efeitos degenerativos decorrentes da deficiência hídrica sobre os tecidos vegetais pode ocasionar danos permanentes na planta, culminando com sua morte (Larcher, 1995).

A maior absorção de macro e micronutrientes pelos indivíduos de *Paspalum densum* que cresceram na pilha de estéril pode ter contribuído para sua baixa taxa de mortalidade neste ambiente, apesar das concentrações de alguns elementos essenciais como nitrogênio, potássio e ferro serem maiores no solo presente em campo ferruginoso. A intensa competição interespecífica, observada principalmente no campo ferruginoso, por recursos do meio, tais como: luz, água e nutrientes, é determinante no crescimento e desenvolvimento vegetal resultando em uma menor absorção por nutrientes e, conseqüentemente, danos severos as espécies vegetais (Zanine e Santos, 2004).

Gramíneas C₄ apresentam alto requerimento nutricional pelo ferro (Smith et al., 1984; Broadley et al., 2012) o que justifica o rápido acúmulo de ferro pela *P. densum*, em maior concentração que o considerado fitotóxico para a maioria das espécies vegetais (Pugh et al., 2002; Broadley et al., 2012), principalmente quando expostas a pilha de estéril. A diminuição, no decorrer do tempo, dos teores de macronutrientes presentes na parte aérea e raízes das plantas expostas a pilha de estéril, pode se justificar pelo fato de anteriormente as plantas estarem aclimatadas a solução nutritiva. Ou devido a diminuição de precipitações, que provoca decréscimo na transpiração (Rosenthal et al., 1987), na absorção de H₂O presente no solo (Bergamaschi, 1992), no fluxo de massa e conseqüentemente redução do aproveitamento dos nutrientes do solo (Claassen e Shaw,

1970). Isso explica o acúmulo de potássio e enxofre acima da concentração média para as plantas apenas durante a primeira coleta (18 de março) (Broadley et al., 2012).

Segundo Broadley et al. (2012) todos os micronutrientes presentes na parte aérea de ambas espécies estudadas expostas a pilha de estéril apresentaram concentrações superiores as médias para os vegetais. Entretanto, apenas os teores de Fe se encontram acima do limite fitotóxico (Pugh et al. 2002; Broadley et al. 2012).

A capacidade de aclimação de *P. densum* quando exposta às condições da pilha de estéril, a caracteriza como resistente e possivelmente com mecanismos de tolerância, conseguindo tolerar concentrações elevadas de metais nos tecidos vegetais (Baker, 1981). Isso comprova o potencial da espécie na revegetação deste ambiente, como observado por Rios et al (2017) com *P. densum* exposta a diferentes concentrações de Fe-EDTA em solução nutritiva. Apesar do aumento crescente nas concentrações de elementos traço não essenciais nos tecidos vegetais de *P. densum* ao longo de experimento, apenas o acúmulo de cromo foi acima dos níveis fitotóxicos (Bergmann e Cumakov, 1977; Kabata-Pendias, 2011), o que a considera como possível espécie fitorremediadora. A fitorremediação tem sido considerada uma técnica de baixo custo para a descontaminação de áreas por elementos tóxicos (Accioly e Siqueira, 2000).

Os menores índices de clorofilas na estação seca indicam declínio progressivo na capacidade fotossintética das plantas, uma vez que o déficit hídrico tem sido relatado como um dos estresses ambientais responsáveis pela perda de pigmentos foliares (Hendry e Price, 1993). O mesmo foi observado por Taylor et al. (2014) trabalhando com espécies de gramíneas sujeitas ao déficit hídrico. A análise dos pigmentos fotossintéticos é uma importante ferramenta para detecção e quantificação de plantas tolerantes ao estresse hídrico (Jabeen et al., 2008), assim como a fluorescência da clorofila a (Bolhar-Nordenkamp et al., 1989; Figueiroa et al., 1997). A redução nos valores de clorofila em função da diminuição dos níveis de precipitação ao longo da estação seca não afetou a eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_m) de *P. densum*. A queda na razão F_v/F_m reflete a presença de dano fotoinibitório nos centros de reação do FSII (Björkman e Demming, 1987), como observado Silva et al (2006) com quatro espécies de Poacea (*Setaria anceps*, *Hemarthria altissima*, *Acroceras macrum* e *Brachiaria purpurascens*) submetidas a déficit hídrico. Estes mesmos autores descreveram redução nos valores de F_0 a medida que o estresse hídrico se acentuava, como também observado para as plantas de *P. densum* do campo ferruginoso.

Declínios na taxa fotossintética assim como alterações nas formas de dissipação de energia são observados em plantas submetidas a deficiência hídrica. O que resulta em uma diminuição no rendimento quântico efetivo do FSII (Φ_{II}), proporcionando, consequentemente, aumento de dissipação de energia pela forma não fotoquímica (Ghannoum, 2003). A diminuição nos valores do rendimento quântico efetivo do FSII (Φ_{II}) durante o período seco foi acompanhado do aumento do rendimento quântico de dissipação não regulada de energia não fotoquímica (Φ_{NO}) e do rendimento quântico de dissipação regulada de energia não fotoquímica (Φ_{NPQ}), uma vez que estes mecanismos dissipadores de energia são competitivos entre si (Eskling et al., 1997). *P. densum* apresentou grande eficácia fotoprotetora do aparato fotossintético, uma vez que a dissipação de energia na forma regulada foi maior (Baraldi et al., 2008). A redução do Φ_{II} e aumento do Φ_{NPQ} proporcionou decréscimo na taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) e no quenching fotoquímico do FSII. Entretanto, algumas plantas apresentam sistema de defesa eficiente contra danos proporcionados pelo déficit hídrico, por meio de moléculas com função osmoprotetoras.

A prolina é um aminoácido presente em pequenas quantidades nas plantas, sendo fundamental para o ajustamento osmótico sob deficiência hídrica. Apresenta função osmoprotetora (Marin, 2003; Giannakoula et al., 2008), prevenindo assim a desnaturação de proteínas, preservando a estrutura de enzimas (Sharma e Dubey, 2005) e protegendo as membranas dos efeitos deletérios causados pelas espécies reativas de oxigênio (EROs). Por possuir um anel pirrolina, que confere baixa capacidade de ceder elétrons, a prolina forma um complexo de transferência de carga e sequestro de O_2 livre, reduzindo assim os danos fotoinibitórios causados as membranas dos tilacóides (Szabados e Saviouré, 2010). O aumento nos níveis de MDA apresentados por *P. densum* no início da estação seca é um indicativo de estresse oxidativo nas plantas (de Oliveira Jucoski et al., 2013; Pinto et al. 2016). O que pode ser comprovada pelo aumento da concentração de H_2O_2 presente na parte aérea. Entretanto, reduções na concentração de malonaldeído culminou com o acúmulo de prolina, durante o período de aclimação das plantas, observado ao final da estação seca, sendo considerado um importante parâmetro de seleção de plantas tolerantes aos estresses (Manivannan et al., 2007). Uma vez que este aminoácido se acumula principalmente no citoplasma e atua como osmoprotetor, restringindo a desidratação do citosol sob redução do potencial hídrico extracelular (Kavi Kishor et al., 2005).

5. CONCLUSÕES

Os indivíduos de *Paspalum densum* que cresceram em pilha de estéril apresentaram menor taxa de mortalidade quando comparado ao campo ferruginoso.

Plantas crescendo em pilha de estéril apresentaram maior acúmulo de macro e micronutrientes e elementos traço na parte aérea, sendo o acúmulo de ferro e cromo acima do considerado fitotóxico.

Reduções nos índices de clorofilas ocorreram em função do período prolongado de seca.

O estresse hídrico proporcionou redução nos valores do rendimento quântico efetivo do FSII e concomitante incremento na dissipação de energia não fotoquímica nas plantas do substrato pilha de estéril.

A espécie em estudo apresentou eficiente mecanismo na eliminação de EROS de forma a não causar danos severos às plantas, como indicado pelos teores prolina.

Paspalum densum apresenta alto potencial para revegetação de pilhas de estéril, uma vez que rapidamente se aclimata as condições climáticas e estruturais deste ambiente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O. Contaminação química e biorremediação do solo. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 299-352, 2000.

ALVAREZ, V.; V.H., NOVAIS, R.F.; DIAS, L.E. e OLIVEIRA, J.A. Determinação e uso do fósforo remanescente. Boletim Informativo– SBCS. Viçosa MG. v. 25, n. 1, p. 27-32, 2000.

ALVAREZ, V. H.; DIAS, L. E.; RIBEIRO Jr. E. S.; SOUZA, R. B.; FONSECA, C. A. Métodos de análises de enxofre em solos e plantas. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 131p., 2001.

BAKER A. J. Accumulators and excluders - strategies in the response of plants to heavy metals. Journal of plant nutrition, v. 3, n. 1-4, p. 643-654, 1981.

BARALDI, R. et al. Role of xanthophyll cycle-mediated photoprotection in *Arbutus unedo* plants exposed to water stress during the Mediterranean summer. Photosynthetica, v. 46, n. 3, p. 378-386, 2008.

BARUCH, Z. Responses to drought and flooding in tropical forage grasses. Leaf water potential, photosynthesis rate and alcohol dehydrogenase activity. Plant Soil, v. 164, p. 97-105, 1994.

BATES, L. S.; WAKLREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline water stress studies. *Plant Soil*, v. 39, p. 205-207, 1973.

BERGMANN, W.; CUMAKOV, A. Diagnosis of nutrient requirement by plants. G. Fischer Verlag, Jena, and Priroda, Bratislava, 1977.

BILGER, W.; BJÖRKMAN, O. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. *Photosynthesis Research*, v. 25, p. 173-185, 1990.

BJÖRKMAN, O.; DEMMING, B. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta*, v. 170, p. 61-66, 1987.

BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R.; LONG, S.P.; BAKER, N. R.; OQUIST, G.; SCHREIBER, U.; LECHNER, E. G. Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrument. *Functional Ecology*, v. 3, p. 497-514, 1989.

BRAGA, J.M.; DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica do fósforo em extrato de solo e plantas. *R. Ceres*, v. 21, p. 73-85, 1974.

BROADLEY, M.; BROWN, P.; CAKMAK, I.; RENGEL, Z.; ZHAO, F. Function of nutrients: Micronutrients. Marschner, P. (Ed). *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*, Academic Press, San Diego, p. 191-248, 2012.

CASTRO, A.F. de; BARRETO, W. de O.; ANASTACIO, M.L.A. Correlação entre pH e saturação de bases de alguns solos brasileiros. *Pesquisa Agropecuária Brasileira Série Agronomia*, Rio de Janeiro, v. 7, p. 9-17, 1972.

CLAASSEN, M.M.; SHAW, R.H. Water deficit effects on corn. II Grain components. *Agronomy Journal*, Madison, n. 62, p. 652-655, 1970.

DEFELIPO, B. V. e RIBEIRO, A. C. *Análise química do solo (metodologia)*. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 26p. (Boletim de extensão 29), 1997.

de OLIVEIRA JUCOSKI, G.; CAMBRAIA, J.; RIBEIRO, C.; de OLIVEIRA, J. A.; de PAULA, S. O.; OLIVA, M. A. Impact of iron toxicity on oxidative metabolism in young *Eugenia uniflora* L. plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 35, n. 5, p. 1645-1657, 2013.

DNPM - Departamento nacional de produção mineral, 2016. Disponível em: http://www.dnpm.gov.br/assuntos/ao-publico/anuario-mineral/arquivos/ANUARIO_MINERAL_2010.pdf/view . Acesso 28 set. 2016.

DUCIC, T.; POLLE, A. Transport and detoxification of manganese and copper in plants. *Braz J Plant Physiol*, v.17, p. 103-112, 2005.

ESKLING, M.; ARVIDSSON, P. O.; AKERLUND, H. E. The xanthophyll cycle, its regulation and components. *Physiologia Plantarum*, v. 100, p. 806-816, 1997.

GATES, D.M. Transpiration and leaf temperature. *Annual Review Plant Physiology*, v. 19, p. 211-238, 1968.

GENTY, B.; HARBINSON, J.; CAILLY, A. L.; RIZZA, F. 1996. Fate of excitation at PSII in leaves: the non-photochemical side. Presented at The Third BBSRC Robert Hill Symposium on Photosynthesis, University of Sheffield, Department of Molecular Biology and Biotechnology, Western Bank, Sheffield, UK, Abstract no. 28, 1996.

GHANNOUM, O.; CONROY, J. P.; DRISCOLL, S. P.; PAUL, M. J.; FOYER, C. H.; LAWLOR, D. W. Nonstomatal limitations are responsible for drought-induced photosynthetic inhibition in four C₄ species. *New Phytol*, v. 159, p. 599- 608, 2003.

GIANNAKOULA, A.; MOUSTAKAS, M.; MYLONA, P.; PAPADAKIS, I.; YUPSANIS, T. Aluminum tolerance in maize is correlated with increased levels of mineral nutrients, carbohydrates and proline, and decreased levels of lipid peroxidation and Al accumulation. *Journal of Plant Physiology*, v. 165, p. 385-396, 2008.

HENDRY, G. A. F.; PRICE, A. H. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. London, Chapman e Hall, 1993.

HODGES, D. M.; DELONG, J. M.; FORNEY, C. F.; PRANGE, R. K. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, v. 207, n. 4, p. 604–611, 1999.

JABEEN, F.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Discriminating some prospective cultivars of maize (*Zea mays* L.) for drought tolerance using gas exchange characteristics and proline contents as physiological markers. *Pakistan Journal of Botany*, Islamabad, v. 40, n. 6, p. 2329-2343, 2008.

JACKSON, M. L. Soil chemical analysis. New York: Prentice Hall, 498p, 1958.

JACKSON, M. L. Análise química de solos. Barcelona: Omega, 662p, 1970.

KABATA-PENDIAS A., SADURSKI W. Elements and their compounds in the environment, 4 ed., Wiley-VCH, Weinheim, 2011.

KAVI KISHOR, P.B.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R.N.; SRI LAXMI, P.; NAIDU, K.R.; RAO, S.S.; RAO, S.; REDDY, K.J.; THERIAPPAN, P.; SREENIVASULU, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its

implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science*, v.88, p.424-438, 2005.

KITAJIMA, M., BUTTER, W. L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymo quinone. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.376, p.105-115, 1975.

KRAMER, D. M.; JOHNSON, G.; KIRATS, O.; EDWARDS, G. E. New fluorescence parameters for the determination of QA redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis Research*, v.79, p. 209-218, 2004.

LARCHER, W. *Physiological plant ecology*. 3.ed. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 340p, 1995.

LAWLOR, D. W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment*, v. 25, p. 275-294, 2002.

LIBENBERG, D.; CLAASSENS, S.; VAN RENSBURG, L. Insights and lessons learned from the long-term rehabilitation of an iron ore mine. *Int J Environ Res* v.7, p. 633-644, 2013.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. de; *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. Piracicaba, POTAFOS, 201p, 1989.

MALCOVÁ, R.; ALBRECHTOVÁ, J.; VOSÁTKA, M. The role of the extraradical mycelium network of arbuscular mycorrhizal fungi on the establishment and growth of *Calamagrostis epigejos* in industrial waste substrates. *Applied Soil Ecology*, v. 18, p. 129-142, 2001.

MANIVANNAN, P.; ABDUL JALEEL, C.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; SOMASUNDARAM, R.; LAKSHMANAN, G.M.A.; PANNEERSELVAM, R. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 59, p. 141-149, 2007.

MARIN, A.; SANTOS, D. M. M. Interação da deficiência hídrica e da toxicidade do alumínio em guandu cultivado em hidroponia. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1267-1275, 2008.

MELIS, A.; SPANGFORT, M.; ANDERSSON, B. Light-absorption and electron transport balance between photosystem II and photosystem I in spinach chloroplasts. *Photochemistry and Photobiology*, v. 45, p. 129-136, 1987.

NEVES, N. R.; OLIVA, M.A.; CENTENO, D. C.; COSTA, A. C.; RIBAS, R. F.; PEREIRA E. G. Photosynthesis and oxidative stress in the restinga plant species *Eugenia*

uniflora L. exposed to simulated acid rain and iron ore dust deposition: Potential use in environmental risk assessment. *Science of Total Environment*, v. 407, p. 3740-3745, 2009.

PINTO, C.S. Curso básico de mecânica dos solos em 16 aulas. 3ª edição, São Paulo: Oficina de Textos, 2009.

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

QUEIROZ, C. G. S.; GARCIA, Q. S.; LEMOS FILHO, J. P. Atividade fotossintética e peroxidação de lipídios de membrana em plantas de aroeira-do-sertão sob estresse hídrico e após reidratação. *Braz. J. Plant Physiol.*, v. 14, n. 1, p. 59-63, 2002.

RIOS, C. O.; SOUZA, B. C.; SIQUEIRA-SILVA, A. I.; PEREIRA, E. G. Assessment of iron toxicity in tropical grasses with potential for revegetation of mined areas. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2017. In press.

ROBERTSON, A. M., STEFFEN e KIRSTEN. Mine waste disposal: na update on geotechnical and geohydrological aspects. Vancouver, Canadá, 24p., 1985.

ROSENTHAL, W.D.; ARKIN, G.F.; SHOUSE, P.L. et al. Water deficit effects on transpiration and leaf growth. *Agronomy Journal*, Madison, v. 79, p. 1019-1026, 1987.

ROUT, JR; BEHERA, S.; KESHARI, N.; RAM, S. S.; BHAR, S.; CHAKRABORTY, A.; SUDARSHAN, M.; SAHOO, S. L. Effect of iron stress on *Withania somnifera* L.: antioxidant enzyme response and nutrient elemental uptake of in vitro grown plants. *Ecotoxicology*, 2015.

SALGADO, A. A. R. Grandes domínios morfobioclimáticos de minas gerais: uma breve apresentação. In: *Panorama da biodiversidade em Minas Gerais*, Instituto Estadual de Florestas – IEF, 2012.

SARRUGE, J. R. ;HAAG, H. P. Análises Químicas em Plantas. E.S.A. "Luiz de Queiroz", Piracicaba, Brasil. 56 p, 1974.

SHARMA, P.; DUBEY, R.S. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. *Journal of Plant Physiology*, v. 162, n. 8, p. 854-864, 2005.

SHUBHRA; DAYAL, J.; GOSWAMI, C.L.; MUNJAL, R. Influence of phosphorus application on water relations, biochemical parameters and gum content in cluster bean under water deficit. *Biologia Plantarum*, v. 48, p. 445-448, 2004.

- SILVA, G. P.; FONTES, M. P. F.; COSTA, L. M.; VENEGAS, V. H. A. Potencialidade de plantas para revegetação de estéreis e rejeito da mineração de ferro da mina de alegria, Mariana-MG. *Pesquisa Agropecuária Tropical* v. 36, p. 165-172, 2006.
- SILVA, M. M. O.; VASQUEZ, H. M.; BRESSAN-SMITH, R.; SILVA, J. F. C.; ERBESDOBLER, E. D.; JUNIOR, P. S. C. A. Eficiência fotoquímica de gramíneas forrageiras tropicais submetidas à deficiência hídrica. *R. Bras. Zootec.*, v. 35, n. 1, p. 67-74, 2006.
- SILVA, S.; SOARES, A.M.; OLIVEIRA, L.E.M. et al. Respostas fisiológicas de gramíneas promissoras para revegetação ciliar de reservatórios hidrelétricos, submetidos à deficiência hídrica. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 25, n. 1, p. 124-133, 2001.
- SZABADOS, L.; SAVOURÉ, A. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, Oxford, v. 15, n. 2, p. 89-97, 2010.
- TAYLOR, S. H.; RIPLEY, B. S.; MARTIN, T.; DE-WET, L. A.; WOODWARD, F. I.; OSBORNE, C. P. Physiological advantages of C4 grasses in the field: a comparative experiment demonstrating the importance of drought. *Global change biology*, v. 20, n. 6, p. 1992-2003, 2014.
- VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant system in acid rain treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci.* v. 151, p. 59–66, 2000.
- WEAR, J.I.; EVANS, C.E. Relationship of zinc uptake by corn and sorghum to soil zinc measured by three extractants. *Soil Science Society of America Proceeding.*, v. 32, p. 543-546, 1968.
- WILLIAMS, L.E.; PITTMAN, J.K.; HALL, J.L. Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants. *Biochim Biophys Acta Rev Biomembr.* v. 1465, p. 104-126, 2000.
- ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M. Competition among species of plants – a review. *Revista da FZVA.* v. 11, n. 1, p. 10-30, 2004.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Paspalum densum e *Setaria parviflora* acumularam níveis de ferro acima do considerado fitotóxico após cultivadas em substrato pilha de estéril.

O estresse hídrico provocou diminuição na taxa fotossintética e nos teores de clorofilas.

Após reidratação, ambas espécies conseguem rapidamente restabelecer a estrutura do aparato fotossintético.

P. densum e *S. parviflora* possuem eficiente forma de dissipação do excesso de energia luminosa de maneira a evitar danos fotoinibitórios em condição de estresse hídrico.

Ambas espécies apresentaram um eficiente mecanismo na eliminação de EROS de forma a não causar danos severos às plantas.

P. densum e *S. parviflora* podem ser consideradas plantas com mecanismos de resistência e com alto potencial para revegetação de ambientes com concentrações elevadas de ferro e períodos prolongados de seca.

Quando submetida a condições de campo, *P. densum* aclimata-se rapidamente a alta irradiância, ao baixo teor de matéria orgânica e ao déficit nutricional expostos pela pilha de estéril, o que lhe garante alto potencial para revegetação destas áreas.