

ANNA ELISA DE SOUZA

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS EM PLANTAS EXPOSTAS À  
ESTRESSORES ABIÓTICOS DECORRENTES DA EXPLORAÇÃO DE  
MINÉRIO DE FERRO**

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  
2016

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

T

S729r  
2016 Souza, Anna Elisa. 1990-  
Respostas morfofisiológicas em plantas expostas à estressores  
abióticos decorrentes da exploração de minério de ferro / Anna Elisa  
Souza. - Florestal, MG, 2016  
xi, 85f. : il. : 29 cm.

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

1. Gramíneas. 2. *Paspalum densum*. 3. Plantas - Efeito de ferro.  
4. Mudanças climáticas. 5. Ferro - Minas e Mineração. I. Universidade  
Federal de Viçosa. Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-  
graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e  
Agrários. II. Título.

CDD 22. ed. 584.9

ANNA ELISA DE SOUZA

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS EM PLANTAS EXPOSTAS À  
ESTRESSORES ABIÓTICOS DECORRENTES DA EXPLORAÇÃO DE  
MINÉRIO DE FERRO**

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: 29 de Fevereiro de 2016.

---

Cláudio Pagotto Ronchi

---

João Paulo de Souza  
(Co-orientador)

---

Eduardo Gusmão Pereira  
(Orientador)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por estar sempre à frente, guiando os meus caminhos e por enviar o Espírito Santo e a Nossa Senhora para iluminar e abençoar a minha vida. Ele me proporcionou uma família maravilhosa e amigos na formas de anjos a caminhar comigo.

À minha mãe Cidinha, guerreira e ao mesmo tempo amorosa, mesmo que distante, sempre esteve ao meu lado, me apoiando em todos os momentos e não me deixando fracassar. Você mãe, nunca mediu esforços para que eu pudesse realizar todos os meus sonhos e com seu amor incondicional me guiou passo a passo nas estradas da vida. Ao meu pai, mesmo que do céu, tenho certeza que está torcendo por mim e me abençoando. Ao meu irmão Luiz Henrique, eu tantas às vezes ausente, sem muito tempo para conversar, obrigada pelo apoio e amor, sempre ao meu lado me incentivando a sonhar. Ao meu padrasto, pelo carinho e apoio. As minhas avós, vocês são meus exemplos de fé, de felicidade e simplicidade, obrigada por me ensinarem que o mais importante na vida é a saúde, o amor e união da família, e que isso basta para sermos felizes. Ao meu namorado, pelo carinho, incentivo e compreensão. A minhas afilhadas, meus amorzinhos, vocês são presentes de Deus para mim, sempre me alegrando com os mais doces sorrisos e olhares sinceros. Enfim, a minha tão amada e unida família, vocês são meus alicerces. Tios como pais, tias como mães e primos como irmãos. Obrigada por sempre estarem ao meu lado em todos os momentos. A todos vocês devo desculpas, por não ter sido presente como gostaria. Mas saibam que vocês estão sempre em meu coração e em minhas orações. E que eu amo muito todos vocês!!

Aos meus grandes amigos: da república Uma Grande Família, de infância e do Grupo de Botânica, com vocês muito aprendi, foram como anjos na minha vida, sempre me ajudando, me escutando e acreditando em mim. Obrigada pela amizade sincera. Foram MDAs (Samuel, Bruno, Bruna, Rose); estatística e gráficos (Nayara e Professora Elisângela); planilhas (Adriel); programas para análises dados (Talles); auxílio nas formatações (Bruninha) e saída a campo (Advânio, Eduardo e Camilla). Muito abrigada pelas ajudas, pois, sem essa equipe, esse trabalho não sairia como desejado. A união faz a força!

Ao Prof. Dr. Eduardo Gusmão Pereira, meu orientador, que com seu exemplo de dedicação e competência no trabalho, nos ensina a dar o melhor de nós mesmos, com responsabilidade e caráter com a pesquisa. Obrigado pela confiança, por esses anos de

orientação, crescimento e oportunidade, eles foram muito importantes na minha vida e me desculpe se às vezes deixei a desejar.

À Universidade Federal de Viçosa e todos os integrantes e professores do programa de mestrado em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, obrigada pelos ensinamentos e pela oportunidade de realização dessa pesquisa.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho. Muito obrigada!

## **BIOGRAFIA**

Anna Elisa de Souza, nascida em Alvinópolis – MG, Brasil, em 27 de fevereiro de 1990. Filha de Aparecida Maria Crepalde de Souza e Nilton Andrade de Souza. Em abril de 2008, concluiu o curso Técnico em Mineração, pelo Centro de Educação Tecnológica de Ouro Preto – MG e em dezembro de 2013, finalizou o curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, pela Universidade Federal de Viçosa – *Campus Florestal* – MG. Em março de 2014, 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 .....	viii
ABSTRACT .....	x
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	3
CAPITULO I.....	6
RESPOSTAS MORFOFISILÓGICAS DE <i>Paspalum densum</i> Poir. À DEPOSIÇÃO DE MATERIAL SÓLIDO PARTICULADO DE FERRO FRENTE AO INCREMENTO NA CONCENTRAÇÃO ATMOSFÉRICA DE CO <sub>2</sub> .....	6
RESUMO .....	6
ABSTRACT .....	8
1. INTRODUÇÃO .....	9
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	10
2.1. Área de Estudo .....	10
2.2. Material vegetal e condições experimentais.....	10
2.3. Variáveis avaliadas.....	11
2.3.1. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila <i>a</i> .....	11
2.3.2. Índices de clorofila .....	12
2.3.3. Teor de ferro nos tecidos vegetais.....	13
2.3.4. Determinação da composição química do solo .....	13
2.3.5. Determinação dos teores de malonaldeído (MDA).....	14
2.3.6. Determinação dos teores de peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....	15
2.5. Caracterização estrutural em microscopia de luz .....	16
2.6. Delineamento experimental e Análise estatística.....	16
3. RESULTADOS .....	17
3.1. Variáveis fisiológicas .....	17
3.2. Teor de ferro nos tecidos .....	27
3.3. Variáveis morfológicas .....	27
3.4. Caracterização estrutural em microscopia de luz e sintomatologia visual após a deposição do MSPFe e incremento de CO <sub>2</sub> .....	30
4. DISCUSSÃO.....	31
5. CONCLUSÕES.....	36
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	37
CAPITULO II .....	44

ESTRESSORES ABIÓTICOS LIMITANTES NO ESTABELECIMENTO DE PLANTAS EM ÁREA DEGRADADA POR MINERAÇÃO DE FERRO.....	44
RESUMO .....	44
ABSTRACT .....	46
1. INTRODUÇÃO .....	47
2. METODOLOGIA .....	49
2.1. Área de Estudo e implantação do experimento .....	49
2.2. Material Vegetal.....	50
2.2.1. Caracterização das espécies .....	50
2.3. Variáveis avaliadas.....	51
2.3.1. Fluorescência da clorofila <i>a</i> .....	51
2.3.2. Índices de clorofila .....	52
2.3.3. Determinação dos teores de malonaldeído (MDA).....	52
2.3.4. Determinação dos teores de peróxido de hidrogênio H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	52
2.3.5. Determinação da composição química do solo .....	52
2.3.6. Análise de elementos minerais nas folhas .....	52
2.3.7. Cobertura vegetal do solo e diversidade de espécies.....	52
2.4. Delineamento experimental e análise estatística .....	53
3. RESULTADOS .....	54
3.1. Alterações nas variáveis fisiológicas em plantas em resposta ao ambiente degradado por mineração de ferro.....	54
3.1.1. Análise de componentes principais .....	62
3.2. Avaliações de cobertura vegetal e riqueza de espécies .....	64
3.3. Análise de solo e elementos minerais em tecido vegetal .....	64
4. DISCUSSÃO.....	71
5. CONCLUSÃO .....	77
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	78
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	85

## SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

- A = taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub>
- AFT = área foliar total
- Bf = bainha do feixe
- Cb = células buliformes
- Chl a = clorofila *a*
- Chl b = clorofila *b*
- Chl total = Clorofila *total*
- Chl ab = razão clorofila *a/b*
- CF = campo ferruginoso
- CO<sub>2</sub> = gás carbônico
- CS = porcentagem de cobertura do solo
- E = taxa de transpiração
- Ead = face adaxial da folha
- Eab = face abaxial da folha
- Es = estômato
- ETR = taxa de transporte de elétrons
- Fi = fibras
- Fv = feixe vascular
- F<sub>0</sub> = fluorescência inicial
- Fv/Fm = eficiência quântica máxima do FSII
- g<sub>s</sub> = condutância estomática
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = peróxido
- MDA = malonaldeído
- Me = mesofilo
- MSPFe = material sólido particulado de ferro
- NF = número de folhas
- NPQ = quenching não fotoquímico
- NP = número de perfilhos
- PA = comprimento da parte aérea
- PC<sub>CF</sub> = componente principal do campo ferruginoso
- PC<sub>PE</sub> = componente principal da pilha de estéril
- PE = pilha de estéril
- PSC = peso seco dos colmos
- PSFB = peso seco das folhas + bainha
- PSR = peso seco da raiz
- qL = quenching fotoquímico do FSII
- Tr = tricoma tector
- $\phi_{II}$  = Yield = rendimento quântico efetivo do FSII
- $\phi_{NPQ}$  = Y<sub>NPQ</sub> = rendimento quântico de dissipação regulada de energia não-fotoquímica do FSII
- $\phi_{NO}$  = Y<sub>NO</sub> = rendimento quântico de dissipação não-regulada de energia não-fotoquímica do FSII

## RESUMO

SOUZA, Anna Elisa, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2016. **RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS EM PLANTAS EXPOSTAS À ESTRESSORES ABIÓTICOS DECORRENTES DA EXPLORAÇÃO DE MINÉRIO DE FERRO.** Orientador: Eduardo Gusmão Pereira. Coorientadores: João Paulo de Souza e Marihus Atoé Baldotto.

O impacto ambiental decorrente de empreendimentos minerários promove retirada da vegetação nativa, alterações topográficas com escavações de terras em grande extensão e em profundidade, formação de pilhas de estéreis e poluição do ar através de lançamento de material sólido particulado de ferro (MSPFe). Neste contexto, o objetivo do trabalho foi conhecer como o MSPFe afeta as respostas morfofisiológicas de gramínea resistente, frente as mudanças climáticas e quais aspectos interferem no estabelecimento de espécies em ambientes degradados pela mineração de ferro. No primeiro experimento, foram avaliados as respostas morfofisiológicas de *Paspalum densum* expostas ao MSPFe, frente ao incremento nas concentrações atmosféricas de CO<sub>2</sub>. As plantas foram cultivadas durante 180 dias, em câmaras de topo aberto sob duas concentrações de CO<sub>2</sub> (380 e 700 ppm), expostas à duas concentrações de MSPFe (0 e 2,14 mg cm<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup>) ao longo de cinco avaliações, com quatro repetições. *P. densum* apresentou eficiente forma de dissipação do excesso de energia luminosa de maneira a evitar danos fotoinibitórios em condição de estresse por MSPFe. Entretanto, com o aumento na concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico houve prejuízo no mecanismo de dissipação regulada de energia. A reduzida peroxidação lipídica indicou que *P. densum* apresentou eficiente mecanismo na eliminação de EROS de forma a não causar danos severos em função do excesso de ferro nos tecidos decorrentes da deposição de MSPFe. A resistência apresentada por *P. densum* ao MSPFe sob elevada [CO<sub>2</sub>] comprova o seu potencial para uso na revegetação de ambientes com concentrações elevadas de ferro e sujeitos à deposição particulada, mesmo em futuros cenários de mudanças climáticas. No segundo experimento, foram avaliadas as respostas fisiológicas das espécies presentes em ambiente degradado pela deposição de estéreis de mineração de ferro, a fim de se identificar os principais estressores abióticos que limitam a colonização desse ambiente e selecionar marcadores fisiológicos de resistência. O trabalho foi desenvolvido na mina Retiro das Almas, município de Ouro Preto, MG. Em julho de 2015 (estação seca), foram selecionados dois ambientes: pilha de estéril e campo ferruginoso. Foram delimitadas 20 parcelas por ambiente e selecionado quatro espécies

de plantas em cada local. Na pilha de estéril foram selecionadas: *Andropogon bicornis* L., *Melnes minutiflora* P. Beauv, *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC e *Baccharis reticularia* DC. No campo ferruginoso, além de *A. satureioides* e *B. reticularia*, foram selecionadas *Paspalum guttatum* Trin. e *Echinolaena inflexa* (Poir.) Chase. O excesso de ferro e metais pesados de Pb, Cr e Cd não são os principais fatores limitantes para o estabelecimento das espécies na pilha de estéril da mina estudada. As baixas concentrações de macronutrientes, principalmente potássio (K) e de matéria orgânica no solo constituíram as principais limitações no estabelecimento vegetal na área degradada. As espécies presentes na pilha de estéril apresentaram efetivo controle dos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e MDA, que indica eficiente mecanismo na eliminação de EROS ou na neutralização dos metais pesados de forma a não causar danos severos às plantas. As espécies nativas comuns nas duas áreas, *A. satureioides* e *B. reticularia*, por apresentarem adequado desempenho fotoquímico (pigmentos fotossintetizantes, Fv/Fm,  $\phi_{NPQ}$ , NPQ) mesmo sob elevados teores de metais em seus tecidos (Fe, Mn, Zn, Cu e Cd) podem favorecer a incorporação do ambiente impactado no ecossistema circundante.

## ABSTRACT

SOUZA, Anna Elisa, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, February de 2016. **MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL RESPONSES EXPOSED IN PLANTS TO ABIOTIC STRESSES RESULTING FROM IRON ORE EXPLORATION.** Adviser: Eduardo Gusmão Pereira. Co-Advisers: João Paulo de Souza e Marihus Atoé Baldotto.

Brazil has large reserves of high quality iron ore, and is among the largest producers and exporters of this raw material. However, the environmental impact of mining projects promotes deforestation and removal of native vegetation, topographical changes in land excavations at great length and in depth and formation of sterile cells, air pollution through release of particulate solid iron material reduction native species (fauna and flora), but it also reveals the condition of major producer of waste and effluents released on slopes and rivers. In this context the objective of this study was to know which aspects interfere in the establishment and distribution of species in degraded environments by mining and iron as MSPFe influence on morphological and physiological responses of resistant plants. Two experiments were performed. In the first experiment, it evaluated the morphological and physiological responses of *P. densum* exposed to MSPFe, compared to the increase in atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations. The plants were grown *P. densum* open top chambers with two CO<sub>2</sub> concentrations (380 ppm and 700 ppm), two concentrations of MSPFe (0 mgcm<sup>-2</sup>day<sup>-1</sup> and 2,14 mg cm<sup>-2</sup>day<sup>-1</sup>) to five days evaluation, with four replications. *P. densum* has efficient light excess energy dissipation in order to prevent damage to fotoinibitórios stress condition by MSPFe, however the increase in atmospheric CO<sub>2</sub> concentration may impact the dissipation mechanism of regulated power. The reduced lipid peroxidation suggests that *P. densum* shows efficient mechanism in the elimination of ROS in order not to cause severe damage due to MSPFe. The high resistance presented by *P. densum* proves its potential for use in revegetation environments with high concentrations of iron and subject to particulate deposition, even in future climate change scenarios. In the second experiment, it evaluated the physiological responses of species in degraded environment by deposition of iron in mining sterile and near ferruginous fields, in order to identify the main abiotic stressors that limit the colonization of this environment and select physiological resistance markers . The study was conducted in Retiro mine of Souls, Ouro Preto, MG. July 2015 (dry season) were selecionas two areas: waste dump and ferruginous field. 20 quarters were defined

environment and by four species of plants selected at each location. The waste dump were selected: *Andropogon bicornis* L., *Melinos minutiflora* P. Beauv, *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC and *Baccharis reticularia* DC. In ferruginous fields, in addition to *A. satureioides* and *B. reticularia* were selected *Paspalum guttatum* Trin. and *Echinolaena inflexa* (Poir.) Chase. Considering the results of soil analysis, it was possible to infer that the excess iron and other heavy metals are not the main limiting factors for establishing the species in the waste dump of the studied mine. The primary limitations may be considered low concentrations of nutrients, especially potassium (K) and organic matter in the soil. The species showed effective control of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and MDA levels, indicating efficient mechanism in the elimination or neutralization of EROS mechanisms of heavy metals so as not to cause severe damage to plants. The species in common between the two areas, *A. satureioides* and *B. reticularia* for present high performance photochemical (photosynthetic pigments, Fv / Fm  $\phi_{NPQ}$ , NPQ) even under high amounts of metals in their tissues (Fe, Mn, Zn, Cu and Cd) may favor the incorporation of the impacted environment surrounding ecosystem.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O setor de mineração de ferro é destaque na economia mundial (Araújo e Costa, 2013). O Brasil possui grandes reservas de minério de ferro de alta qualidade, e encontra-se entre os maiores produtores e exportadores desta matéria prima (Austin et al., 2007; Araújo et al., 2008).

O impacto ambiental decorrente de empreendimentos minerários, promove desmatamento e retirada da vegetação nativa, alterações topográficas com escavações de terras em grande extensão e em profundidade e formação de pilhas de estéreis, poluição do ar, através de lançamento de material sólido particulado de ferro e outros poluentes, além de redução na diversidade de espécies nativas (fauna e flora). Além disso, a atividade minerária se revela na condição de grande produtor de rejeitos e efluentes, lançados sobre encostas e rios (Ibram, 1992; Koppe, 2007).

Diversos resíduos são gerados durante a atividade de extração e beneficiamento do minério de ferro, como “estéreis de mina” que incluem solo, subsolo e rocha, que ocorrem naturalmente na área, mas que não são aproveitados economicamente e são dispostos em camadas adjacentes à mina, formando as pilhas de estéreis. Há também o rejeito da mineração, material proveniente do beneficiamento do minério de ferro, do qual já foi retirado o percentual economicamente importante e viável, que pode estar na forma de fragmento ou partículas secas, ou em via aquosa (Ibama, 1990; Abrahão e Mello, 1998; Silva, 2011) dependendo do tipo de beneficiamento do minério (Espósito, 2000). Quando em via aquosa são formadas barragens de rejeitos para contenção desses materiais.

Estima-se que anualmente são produzidos 14 milhões de toneladas de rejeitos sólidos durante processo de extração e beneficiamento do minério de ferro no mundo. Além desses resíduos, a mineração ainda contribui de forma relevante para emissão de poluentes atmosféricos, principalmente o material sólido particulado de ferro (MSPFe), que são liberados no ambiente, desde o processo de extração, transporte e beneficiamento do minério de ferro. O MSPFe ao depositar-se sobre as plantas pode causar abrasão e aquecimento radioativo, reduzir a fotossíntese pela diminuição do fluxo de fótons que chega aos tecidos foliares, o que acarreta redução da biomassa das plantas, diminuição do crescimento, podendo comprometer a permanência da espécie no ambiente de origem (Kuki et al, 2008;Pereira et al, 2009). A emissão de CO<sub>2</sub> para o ambiente durante a atividade de mineração, favorece o aumento da concentração

atmosférica de CO<sub>2</sub>, o que contribui de forma considerável para o aumento do efeito estufa, elevação da temperatura e demais fatores relacionados às mudanças climáticas (IPCC, 2014).

O processo de revegetação natural e sucessão em locais impactados pelas atividades industriais minerárias é lento e em alguns casos considerado impossível (Malcová et al., 2001; Silva et al., 2006). O sucesso na revegetação de áreas mineradas depende da espécie vegetal escolhida, a qual deve apresentar crescimento vegetativo rápido e capacidade de gerar grande número de descendentes, bem como tolerar altas concentrações de metais no substrato (Jacobi et al., 2008). Além disso, as espécies estarão sujeitas a baixos teores de nutriente, matéria orgânica e água, um solo com alta densidade e baixa atividade microbiológica (Silva et al., 2006).

A seleção de espécies nativas resistentes, bem como a introdução das mesmas em áreas impactadas com poluentes, pode contribuir para a revegetação desses ambientes, além de ser uma técnica eficiente e de baixo custo (Borges e Barroso, 1997; Carneiro e Gariglio, 2010), com alto potencial para revegetação de áreas impactadas pela mineração (Machado et al., 2013; de la Fuente et al., 2014). Estas espécies contribuem para a conservação da biodiversidade regional, protegendo, ou expandindo as fontes naturais de diversidade genética da flora em questão, representando também importantes vantagens técnicas e econômicas devido à proximidade da fonte de propágulos, facilidade de aclimação e perpetuação das espécies (Oliveira-Filho, 1994). Para a colonização desses ambientes altamente antropizados e com altas concentrações de poluentes no solo, as espécies dispõem de estratégias como exclusão, acúmulo e ou quelação do metal pesado (Rout et al., 2015) que as permitem sobreviver nesses ambientes.

As gramíneas são espécies pioneiras com grande potencial de crescimento e destacada aplicação na recuperação de áreas degradadas por atividades mineradoras (Martins, 1996; Maiti, 2015). Destacam-se pela rapidez de crescimento, cobrindo em menor tempo o substrato, o que reduz o tempo de exposição à chuva e ao sol (Silva et al., 2006), além de possuírem ciclo de vida curto. Tais plantas, sobrevivem em habitats onde geralmente existe intensa competição por recursos (Ricklefs, 2001), favorecendo o surgimento de vegetação secundária.

Neste contexto, espera-se que as espécies que colonizam áreas degradadas pela exploração de ferro, apresentam características fisiológicas favoráveis que possam ser utilizadas no processo de seleção de espécies para a revegetação de ambientes

impactados e sujeitos a diversos estressores abióticos. Além disso, espera-se que as respostas morfofisiológicas de gramíneas resistentes frente à deposição de MSPFe e elevada [CO<sub>2</sub>] permitam o uso destas espécies em programas de revegetação de áreas degradadas.

O objetivo do trabalho foi conhecer como o MSPFe afeta as respostas morfofisiológicas de gramínea resistente, frente as mudanças climáticas e quais aspectos interferem no estabelecimento de espécies em ambientes degradados pela mineração de ferro.

## 2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHÃO, W. A. P.; MELLO, J. W. V. 1998. Fundamentos de pedologia e geologia de interesse no processo de recuperação de uma área degradada. 15, 26.
- ARAÚJO, D. M.; YOSHIDA, M. I.; CARVALHO, C. F.; STAPELFELDT, F. 2008. Reciclagem de minas na flotação de minério de ferro. Revista Escola de Minas. 61, 455-460.
- ARAÚJO, I. C. S.; COSTA, M. C. G. 2013. Biomass and nutrient accumulation pattern of leguminous tree seedlings grown on mine tailings amended with organic waste. Ecological Engineering. 60, 254-260.
- AUSTIN, L. G.; JULIANELLI, K.; SOUZA, A. S.; SCHNEIDER, C. L. 2007. Simulation of wet ball milling of iron ore at Carajas, Brazil. International Journal of Mineral Processing. 84, 157-171.
- BORGES, A. F.; BARROSO, E. V. 1997. Análise da utilização geofísica e biorremediação em problemas de contaminação de solo e água subterrânea. Anuário do Instituto de Geociência. 20, 107-142.
- CARNEIRO, D. A.; GARIGLIO, L. P. 2010. A biorremediação como ferramenta para a descontaminação de ambientes terrestres e aquáticos. Revista Tecer. 3, 82-95.
- DE LA FUENTE, C.; PARDO, T.; ALBURQUERQUE, J. A.; MARTÍNEZ-ALCALÁ, I.; BERNAL, M. P. 2014. 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. 196, 103-111.
- ESPÓSITO, T. J. 2000. Metodologia probabilistic e observacional aplicada a barragens de rejeito constituídas por aterro hidráulico. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília, DF.
- FOX, J.E.D. 1984. Rehabilitation of mined lands. For Abstr. 45, 565-595.

- HAAS, C. N.; J. J. MACAK III. 1985. Revegetation using coal ash mixture. J. of Environ. Engineering. 111, 559-573.
- IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE. 1990. Manual de recuperação de áreas degradadas pela mineração: técnicas de revegetação. Ibama, Brasília. 96p.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO (IBRAM). 1992. Grupo de Trabalho de Redação. Brasília: Comissão Técnica do Meio Ambiente.
- JACOBI, C. M.; CARMO, F. F.; VINCENT, R. C. 2008. Estudo fitossociológico de uma comunidade vegetal sobre canga como subsídio para a reabilitação de áreas mineradas no Quadrilátero Ferrífero, MG. Revista Árvore. 32, 345-353.
- KOPPE, J. C. 2007. A lavra e a indústria mineral do Brasil: estado da arte e tendências tecnológicas.
- KUKI, K. N.; OLIVA, M. A.; PEREIRA, E. G. 2008. Iron ore industry emissions as a potencial ecological risk factor for tropical coastal vegetation. Environmental Management, 42, 111-121.
- LAMONT, B. B. 1978. Biophysical constraints to the rehabilitation of mine wastes. Western Australian Institute of Technology, 37-45.
- LIEBENBERG, D.; CLAASSENS, S.; VAN RENSBURG, L. 2013. Insights and lessons learned from the long-term rehabilitation of an iron ore mine. International Journal of Environmental Research. 7, 633-644.
- MACHADO, N. A. M.; LEITE, M. G. P.; FIGUEIREDO, M. A.; KOZOVITS, A. R. 2013. Growing *Eremanthus erythropappus* in crushed laterite: A promising alternative to topsoil for bauxite-mine revegetation. Journal of Environmental Management. 129, 149-156.
- MAITI, S. K.; MAITI, D. 2015. Ecological restoration of waste dumps by topsoil blanketing, coir-matting and seeding with grass-legume mixture. Ecological Engineering. 77, 74-84.
- MALCOVÁ, R.; ALBRECHTOVÁ, J.; VOSÁTKA, M. 2001. 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. 18, 129-142.
- MARTINS, C. R. Revegetação com gramínea de uma área degradada no Parque Nacional de Brasília, DF, Brasília. 1996. 70 f. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília, DF.
- OLIVEIRA-FILHO, A. T. 1994. Estudos ecológicos da vegetação como subsídios para programas de revegetação com espécies nativas: uma proposta metodológica. Revista Cerne. Lavras, Minas Gerais. 1, 64-72.

- PEREIRA, E. G. 2009. Efeito tóxicos do ferro: alterações fisiológicas e morfológicas em plantas cultivadas e de restinga. Tese de doutorado. Universidade Federal de Viçosa, MG.
- RICKLEFS, R.E. 2001. The economy of nature. 5th ed. W.H. Freeman, New York.
- ROUT, J. R.; BEHERA, S.; KESHARI, N.; RAM, S. S.; BHAR, S.; CHAKRABORTY, A.; SUDARSHAN, M.; SAHOO, S. L. 2015. Effect of iron stress on *Withania somnifera* L.: antioxidant enzyme response and nutrient elemental uptake of in vitro grown plants. *Ecotoxicology*. 24, 401-413.
- SILVA, G. P.; FONTES, M. P. F.; COSTA, L. M.; VENEGAS, V. H. A. 2006. 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.
- SILVA, G. P.; FONTES, M. P. F.; COSTA, L. M.; BARROS, N. F. 2006. Caracterização química, física e mineralógica de estéreis e rejeito da mineração de ferro da mina Alegria, Mariana-MG. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. Goiânia. 36, 45-52.
- SILVA, A. P. M., VIANA, J. P., CAVALCANTE, A. L. B. 2011. Resíduos Sólidos da Atividade de Mineração. *Caderno de Diagnostico*, 41.
- SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; GRISI, B. M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. 1994. *Microrganismos e processos biológicos no solo: perspectiva ambiental*, Brasília, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 142.

## CAPITULO I

### RESPOSTAS MORFOFISILÓGICAS DE *Paspalum densum* Poir. À DEPOSIÇÃO DE MATERIAL SÓLIDO PARTICULADO DE FERRO FRENTE AO INCREMENTO NA CONCENTRAÇÃO ATMOSFÉRICA DE CO<sub>2</sub>

#### RESUMO

A exploração de minério de ferro contribui de forma relevante na emissão de poluentes atmosféricos e aumento do efeito estufa, liberando no ambiente material sólido particulado de ferro (MSPFe), CO<sub>2</sub> e gases azotos. O uso de espécies 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 morfofisiológicas de *P. densum* expostas ao material sólido particulado de ferro (MSPFe), frente ao incremento nas concentrações atmosféricas de CO<sub>2</sub>. As plantas de *P. densum* foram cultivadas durante 180 dias em câmaras de topo aberto, sob duas concentrações de CO<sub>2</sub> (380 e 700 ppm), duas concentrações de MSPFe (0 e 2,14 mg cm<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup>) ao longo de cinco avaliações com quatro repetições. As plantas de *P. densum* expostas ao MSPFe apresentaram redução significativa na fotossíntese independentemente do tempo de exposição ao MSPFe, em função da redução no fluxo de fótons pela deposição do MSPFe na superfície foliar, concomitantemente com incremento na transpiração. Foi observado redução nos valores de clorofila *a*, *b* e *total*, e Fv/Fm com incremento na F<sub>0</sub> ao longo do tempo. A deposição de MSPFe resultou em aumento significativo no teor de ferro nas folhas e colmo, entretanto sem a ocorrência de sintomas visuais e anatômicos de toxidez por Fe. O incremento na concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> resultou em aumento significativo na área foliar total, indiferentemente do MSPFe. *P. densum* apresentou eficiente forma de dissipação do excesso de energia luminosa de maneira a evitar danos fotoinibitórios em condição de estresse por MSPFe. Entretanto a exposição à elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico pode impactar o mecanismo de dissipação regulada de energia. A reduzida peroxidação lipídica indicou eficiente mecanismo na eliminação de EROS de forma a não causar danos severos em função da deposição de MSPFe em *P. densum*. A resistência apresentada por *P. densum* após exposição ao MSPFe, comprova seu potencial para uso

na revegetação de ambientes com concentrações elevadas de ferro e sujeitos à deposição particulada, mesmo em futuros cenários de mudanças climáticas.

**Palavras-chave:** CO<sub>2</sub>, gramínea, mudanças climáticas, MSPFe, revegetação.

## ABSTRACT

The exploitation of iron ore contributed significantly to the emission of air pollutants and increase the greenhouse effect, releasing into the environment particulate solid iron materials (MSPFe), CO<sub>2</sub> and nitrogen forms gases and generate sterile piles and ponds of tailings with high heavy metal content and very few ways lives. The selection of resistant species is an efficient technique and low cost, with high potential for revegetation of mining areas. In this context, the objective of this study was to evaluate the morphological and physiological responses of *P. densum* exposed to MSPFe, compared to the increase in atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations. The plants were grown *P. densum* open top chambers with two CO<sub>2</sub> concentrations (380 and 700 ppm), two concentrations of MSPFe (0 and 2,14 mg cm<sup>-2</sup>day<sup>-1</sup>) to five days evaluation, with four replications. The *P. densum* exposed to MSPFe showed significant reduction in photosynthetic rates regardless of the time of exposure, due to the reduction in the flow of photons by the deposition of MSPFe on the leaf surface, concomitantly with an increase in perspiration. Regardless of the treatments it was observed reduction in chlorophyll values a, b and complete, and Fv/Fm an increase in F<sub>0</sub> over time. The MSPFe deposition resulted in a significant increase in the iron content in the leaves and stem, but without the occurrence of visual and anatomical symptoms of toxicity by Fe. The increase in the atmospheric concentration of CO<sub>2</sub> has resulted in a significant increase in total leaf area. *P. densum* has efficient light excess energy dissipation in order to prevent damage to fotoinibit6rios stress condition by MSPFe, however the increase in atmospheric CO<sub>2</sub> concentration may impact the dissipation mechanism of regulated power. The reduced lipid peroxidation suggests that *P. densum* shows efficient mechanism in the elimination of ROS in order not to cause severe damage due to MSPFe. The high resistance presented by *P. densum* proves its potential for use in revegetation environments with high concentrations of iron and subject to particulate deposition, even in future climate change scenarios.

**Keywords:** Revegetation, climate change, reactive oxygen species.

## 1. INTRODUÇÃO

Após a revolução industrial, a emissão de poluentes atmosféricos aumentou consideravelmente. Isso resultou em uma série de consequências aos ecossistemas naturais, por contribuir com o aumento do efeito estufa, com consequente elevação da temperatura terrestre (IPCC, 2014). Além disso, nas últimas décadas houve a intensificação de práticas envolvendo exploração dos recursos naturais e desmatamento, dentre elas, a extração e beneficiamento de jazidas minerais, atividade de ampla extensão nos territórios brasileiros (DMPM, 2008; IBRAM, 2012; Chemale Junior e Takehara, 2013).

A exploração de minério de ferro contribui de forma relevante na emissão de poluentes, como o material sólido particulado de ferro (MSPFe), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), óxidos de nitrogênio e enxofre, entre outros (Grantz et al., 2003; Chaturvedi et al., 2014). A mineração do ferro gera pilhas de estéreis e lagoas de rejeitos com altos teores de metais pesados resultando em vastas áreas degradadas, que apresentam poucas formas vidas (Chaturvedi et al., 2014).

O MSPFe é um tipo de poeira gerada pela atividade de extração e beneficiamento do minério, constituído por inúmeros poluentes, principalmente o ferro, que pode desencadear danos à saúde humana e ameaçar a biodiversidade local (Kozlowski et al., 1991; Domingos et al., 2002; Grantz et al., 2003; Oliveira et al., 2007; Kuki et al., 2009). O MSPFe, quando depositado sobre as superfícies foliares das plantas pode causar abrasão e aquecimento radioativo, reduzindo a fotossíntese, acarretando mudanças no microclima das folhas, consequentemente afetando o ganho de biomassa das plantas e comprometendo a permanência de espécies nativas nos ambientes de origem (Grantz et al., 2003; Pereira et al., 2009).

Existe grande dificuldade de se promover a revegetação de áreas degradadas pela mineração de ferro. A sucessão natural neste ambiente é lenta (Malcová et al., 2001; Silva et al., 2006) devido à características do substrato com baixo teor de matéria orgânica e nutrientes, pH ácido e presença de metais pesados (Libenberg et al., 2013). Poucas angiospermas (menos de 0,2%) são capazes de tolerar e acumular altas concentrações de ferro em seus tecidos (Rascio e Navari-Izzo, 2011). A seleção de espécies nativas resistentes e introdução das mesmas em áreas impactadas com poluentes podem contribuir para a revegetação desses ambientes.

*Paspalum densum* Poir, é uma espécie de gramínea C<sub>4</sub>nativa da América do Sul e Central (Gomes,1995), que apresenta características favoráveis de resistência, com potencial uso para revegetação de ambiente impactado pela deposição de rejeito e estéreis de mineração por ferro. Entretanto, para permanência da espécie no local impactado e sucesso no processo de revegetação, é preciso conhecer as respostas de *P. densum* frente à deposição do MSPFe comumente encontrado nestas áreas e compreender se essas respostas poderão ser afetadas em função das mudanças climáticas acarretadas com o aumento da concentração de gases do efeito estufa.

Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar as respostas morfofisiológicas de *P. densum* expostas ao MSPFe, frente ao incremento na concentração atmosférica de CO<sub>2</sub>.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Área de Estudo**

O experimento foi realizado em câmaras de topo aberto localizadas na Universidade Federal de Viçosa - *Campus* Florestal, MG (19° 52' 29'' S e 44° 25' 12'' W). As câmaras de topo aberto utilizadas para enriquecimento do ar com CO<sub>2</sub>, consistem em módulos retangulares ajustáveis de acordo com o crescimento das plantas, com portas laterais e capuz, para facilitar a irrigação no ambiente da câmara. Sua estrutura foi feita de aço e as laterais recobertas com plástico transparente (Silva et al, 2012).

### **2.2. Material vegetal e condições experimentais**

Foi utilizada a gramínea *Paspalum densum* Poir (Poaceae) Panicoideae pertencente ao grupo Quadrifaria. *P. densum* é nativa do Brasil com ampla distribuição nas regiões norte, nordeste, sul, sudeste e centro-oeste, envolvendo domínios fitogeográficos do Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica em vegetações de áreas de áreas antrópicas, campo de várzea, floresta ombrófila, manguezal, restinga e savana amazônica. É uma espécie perene, que apresenta forma de vida de erva e terrícola (Gomes, 1995).

As sementes de *P. densum* foram obtidas de matrizes cultivadas em casa de vegetação. Noventa dias após a germinação em leito de areia (mês de julho), as plantas foram selecionadas quanto ao tamanho, vigor e homogeneidade e transplantadas para vasos plásticos com capacidade de cinco litros.

O substrato utilizado foi preparado nas proporções de 3:1:1 (solo, esterco e areia) e adubado utilizando as padrões de correção do solo para gramíneas forrageiras (5<sup>a</sup>

Aproximação, 1999). Posteriormente, o solo foi distribuído em 16 vasos com duas plantas em cada vaso.

Os vasos foram distribuídos igualmente entre quatro câmaras de topo aberto, onde duas das mesmas apresentavam concentração ambiente de CO<sub>2</sub> (aproximadamente 380 ppm) e duas apresentavam incremento na concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> (aproximadamente 700 ppm). As plantas foram cultivadas sob essas condições em um período de 180 dias. A partir dos 140 dias (em dezembro de 2014) após a o início da exposição a diferentes concentrações atmosféricas de CO<sub>2</sub> (380 e 700 ppm), as plantas foram submetidas semanalmente às deposições simuladas do material sólido particulado de ferro (MSPFe) em duas concentrações (0 e 2,14 mg cm<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup>) distribuídos uniformemente sobre a superfície foliar. Desta forma, totalizando os tratamentos em esquema fatorial com quatro repetições:

- Plantas expostas à concentração ambiente de CO<sub>2</sub> e sem deposição de MSPFe;
- Plantas expostas à concentração ambiente de CO<sub>2</sub> e com deposição de MSPFe;
- Plantas expostas ao incremento na concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> e sem deposição de MSPFe;
- Plantas expostas ao incremento na concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> e com deposição de MSPFe.

Para a aplicação simulada do MSPFe sobre as plantas, foi utilizada uma câmara de simulação da deposição particulada, conforme proposto por Hirano et al. (1995) e adaptada por Pereira et al. (2009). Semanalmente, oito plantas (quatro sob concentração ambiente de CO<sub>2</sub> e quatro sob incremento nas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico) foram colocados no interior da câmara e submetido à deposição de MSPFe de aproximadamente 15 mg cm<sup>-2</sup>, totalizando cinco aplicações de MSPFe ao longo do experimento. A quantidade de MSPFe depositado sobre as plantas foi medida gravimetricamente por meio de seis placas de Petri, de peso e área conhecidos, colocadas juntamente com as plantas.

## **2.3. Variáveis avaliadas**

### **2.3.1. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a***

Ao longo de 21 dias de deposição do MSPFe foram feitas cinco avaliações das 7h às 12h de trocas gasosas: taxa fotossintética (*A*); condutância estomática (*g<sub>s</sub>*) e transpiração (*E*) com o auxílio de um analisador de gases no infravermelho, modelo LI-6400xt (Li-Cor Inc., Lincoln, Nebraska, EUA). Luz (1500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) foi fornecida por LEDs

presentes na câmara foliar com fluorescência (modelo 6400-40, Li-Cor Inc.), com área de 2 cm<sup>2</sup>. As avaliações foram realizadas com auxílio de sistema de controle de CO<sub>2</sub> (modelo 6400-01, Li-Cor Inc.) com concentração de 400 µmol mol<sup>-1</sup>, com médias de temperatura e umidade do ar de 31°C e 45%, respectivamente.

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 mínima ( $F_0$ ) e fluorescência máxima ( $F_m$ ), utilizando luz de medição (0,15 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e pulso de luz saturante (12000 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), respectivamente. Os valores obtidos foram utilizados para a determinação da eficiência quântica máxima do fotossistema II (PSII;  $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ ) (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 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Após o período de iluminação foi aplicado um pulso de luz saturante, para a determinação e cálculo das variáveis:  $F$  – fluorescência em *steadystate*, antes do pulso de luz saturante;  $F_m'$  – fluorescência máxima do tecido vegetal iluminado;  $\phi_{II} = \Delta F/F_m' = (F_m' - F)/F_m'$  – rendimento quântico efetivo do PSII no tecido vegetal iluminado;  $\phi_{NPQ} = F/F_m' - F/F_m$  – rendimento quântico de dissipação regulada de energia não fotoquímica do PSII (Genty et al., 1996);  $\phi_{NO} = F/F_m - F/F_m'$  – rendimento quântico de dissipação não-regulada de energia não fotoquímica do PSII (Genty et al., 1996);  $qL = (F_m' - F_s) / (F_m' - F_0) \times F_0' / F_s$  – *quenching* fotoquímico, que estima a fração de centros de reação abertos do PSII (Kramer et al., 2004) e  $NPQ = F_m - F_m' / F_m'$  - coeficiente de dissipação não-fotoquímica (Bilger e Björkman, 1990);  $ETR = 0,5 \times I_A \times \phi_{II} \times PAR$  – taxa de transporte de elétrons, em que 0,5 é a proporção de fótons destinado aos dois fotossistemas (Melis et al., 1987) e  $I_A$  é a absorvância foliar.

### 2.3.2. Índices de clorofila

As avaliações dos índices de clorofila (clorofila *total*, clorofila *a*, clorofila *b* e a razão clorofila *a/b*) foram feitas ao longo de 21 dias de deposição do MSPFe com o 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 ferro nos tecidos vegetais**

Ao final do experimento (180 dias), o material vegetal foi dividido em raiz, colmo e folhas, colocados em estufa para secagem a 75°C até atingir massa constante e, então, reduzido a partículas menores que 1mm. Posteriormente foi digerido em solução nítrico-perclórica (3:1), sendo o ferro resultante do extrato mineral, determinado por espectrofotometria de absorção atômica (Kampfinkel et al., 1995).

### **2.3.4. Determinação da composição química do solo**

Para determinação da composição química do solo, foram coletadas amostras compostas de cada tratamento (0-5 cm de profundidade). As mesmas foram enviadas para o laboratório de análise de solo, tecido vegetal e fertilizantes da Universidade Federal de Viçosa para determinação das análises: pH em água e KCl, relação de 1:2,5;  $\text{Ca}^{2+}$  -  $\text{Mg}^{2+}$  -  $\text{Al}^{3+}$  utilizando extrator KCl 1mol/L; somas de bases; capacidade de troca catiônica a pH 7,0; índice de saturação por alumínio; matéria orgânica (MO=C.Org x 1,724 – Walkley-Black; S – extrator fosfato monocálcico em ácido acético; N – N total – digestão sulfúrica – Destilação Kjeldhal; P, Na, K, Fe, Zn, Mn, Cu, Cd, Pb, Ni, Cr – Extrator Mehlich-1; H+Al – Extrator acetato de cálcio 0,5 mol/L – pH 7,0; t – capacidade de troca catiônica efetiva, V – índice de saturação por bases; ISNa – índice de saturação por sódio; P-rem: fósforo remanescente; B: extrator água quente.

**Tabela 1:** Características químicas do solo (0-5 cm de profundidade) ao final do experimento de deposição MSPFe.

Características químicas	Tratamentos			
	Controle - 380ppm	Controle - 700ppm	MSPFe - 380ppm	MSPFe - 700ppm
K (mg/dm <sup>3</sup> )	191	105	178	112
Ca <sup>2+</sup> (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	4,2	3,84	3,52	4,14
Mg <sup>2+</sup> (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	1,49	1,15	1,18	1,28
P (mg/dm <sup>3</sup> )	43,4	27,7	33	35
S (mg/dm <sup>3</sup> )	17,6	19,8	15,9	16,7
Fe (mg/dm <sup>3</sup> )	34,3	40,8	68,2	74,1
B (mg/dm <sup>3</sup> )	0,77	0,66	0,79	0,92
Mn (mg/dm <sup>3</sup> )	38,4	44,7	58,2	48,6
Zn (mg/dm <sup>3</sup> )	6,51	5,99	6,49	7,1
Cu (mg/dm <sup>3</sup> )	1,45	1,53	1,86	1,93
Ni (mg/dm <sup>3</sup> )	0,5	0,9	0,84	0,97
Cd (mg/dm <sup>3</sup> )	0,19	0,16	0,13	0,16
Cr (mg/dm <sup>3</sup> )	0,08	0,47	0,29	0,24
Al <sup>3+</sup> (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0	0	0	0
H+Al (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	3,1	3,7	2,9	3,7
SB (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	6,18	5,56	5,16	5,71
t (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	6,18	5,26	5,16	5,71
T (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	9,28	8,96	8,06	9,41
V (%)	66,6	58,7	64	60,7
m (%)	0	0	0	0
P-Rem (mg/L)	39	39,6	34,4	32,9
pH H <sub>2</sub> O	6	6,09	6,1	5,2
pH KCl	4,99	4,98	5	4,32

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.

### 2.3.5. Determinação dos teores de malonaldeído (MDA)

Os teores de MDA foram estimados ao longo de 21 dias de deposição do MSPFe segundo metodologia proposta por Hodges et al. (1999). 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 10 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 90°C. Após esse tempo os tubos foram colocados em banho de gelo durante 10min. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 10min 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:

$$\{[(A_{523} - A_{600}) - (A_{440} - A_{600}) (MA \text{ de sacarose a } 532 / MA \text{ de sacarose a } 440)] / 157000\} 10^6$$

Sendo A o valor a absorbância, MA a absorbância molar e 157000 o coeficiente de extinção molar (Hodges et al., 1999).

### **2.3.6. Determinação dos teores de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

Os teores de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foram estimados ao longo do período de medição segundo metodologia proposta por Velikova et al. (2000). Foi macerado 0,1g de tecido foliar em nitrogênio líquido em almofariz e pistilo congelado e adicionado 1mL de TCA 1% (ácido tricloroacético). Seguida por centrifugação (Thermo scientific, megafuge 16R) por 15 min a 12.000g a 4°C. Posteriormente, a 0,250 mL do sobrenadante foram adicionados 0,5mL de solução de fosfato de potássio 10mM, pH 7,0; 0,250mL 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 390nm.

O teor de peróxido de hidrogênio foi obtido com auxílio de curva padrão (Velikova et al., 2000).

## **2.4. Avaliações morfológicas**

Ao final do experimento (180 dias) foi realizada análises de área foliar de cada unidade experimental com o auxílio do medidor portátil de Área Foliar (LI 3000 C, Li-Cor Inc., EUA).

A altura da parte aérea foi determinada com auxílio de régua milimetrada. Foram realizadas contagem do número de folhas e número de perfílios. Após secagem das plantas em estufa com circulação de ar a 75°C, durante 72 horas, também foi determinada a massa seca da raiz, parte aérea (folha + bainha e colmo) com o auxílio de uma balança analítica de precisão.

## **2.5. Caracterização estrutural em microscopia de luz**

Ao final do experimento, 40 dias após início da deposição de MSPFe foram coletadas amostras da terceira folha completamente expandida de *P. densum*, aparentemente com ausência de sintomatologia. As amostras foram fixadas em solução de FAA 70 (formaldeído 37%, ácido acético glacial e etanol 70% 1:1:18 v/v) (Johansen, 1940), por 48 horas, após lavagem prévia em água deionizada para a remoção do MSPFe depositado na superfície foliar. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em série etílica e incluídas em historresina Leica (Leica Microsystems Inc., Heidelberg, Germany), de acordo com a recomendação do fabricante. Cortes transversais das folhas com 5 µm de espessura foram obtidos em micrótomo rotativo (modelo Hyax M40, ZEISS, Germany), corados com azul de toluidina pH 6,8 em tampão fosfato 0,1 M (O'Brien et al., 1964) e montados em Entelan<sup>®</sup>. A captura de imagens foi realizada em fotomicroscópio (modelo BX41 TF, Olympus Optical, Tokyo, Japão), equipado com uma câmera digital (modelo SC 30, Olympus Soft Imaging Solutions GmbH, Munster, Germany).

Para a confirmação da ocorrência de amido e fibras na lâmina foliar de *P. densum* foram empregados testes histoquímicos a fresco com os reagentes lugol e floroglucina acidificada (Johansen, 1940), respectivamente, após secção das folhas em micrótomo de mesa (KEN-A-VISION).

## **2.6. Delineamento experimental e Análise estatística**

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 2x2x7, sendo duas concentrações de CO<sub>2</sub> (380 e 700 ppm), duas concentrações de MSPFe (0 e 2,14 mg cm<sup>-2</sup>dia<sup>-1</sup>) e cinco períodos de avaliação. Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a teste de média (Tukey  $P < 0,05$ ) utilizando o programa estatístico R. Os dados de transpiração (E), eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm) e quenching fotoquímico (qL) foram transformados em base log para que as pressuposições fossem atendidas. Os gráficos foram feitos em função da análise estatística.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Variáveis fisiológicas

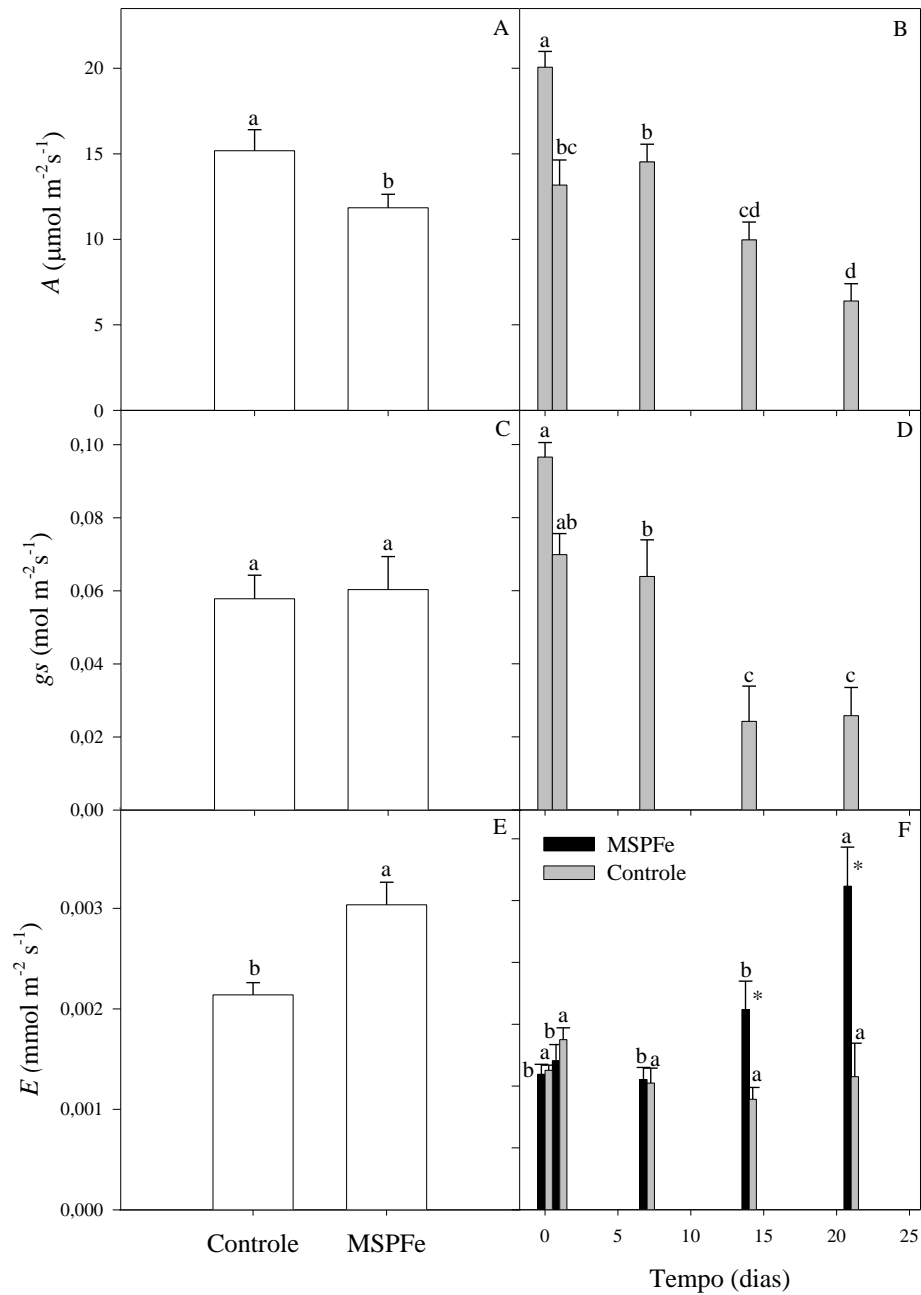
A exposição das plantas de *P. densum* ao MSPFe causou redução significativa somente nos valores de fotossíntese (*A*), independentemente do tempo de exposição (Fig. 1A e B). O MSPFe não alterou significativamente os valores de condutância estomática (Fig. 1C). Houve redução nos valores de fotossíntese e condutância estomática ao longo do tempo, independentemente da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> e/ou deposição de MSPFe (Quadro 1) (Fig. 1B e D).

No geral, as plantas expostas ao MSPFe, apresentaram os maiores valores de transpiração (Fig. 1E), principalmente a partir do décimo quarto dia (Fig. 1F).

**Quadro 1:** Significância da anova para trocas gasosas em *P. densum* submetidas a deposição foliar de duas concentrações de MSPFe (0 e 2,14 mg cm<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup> em média) e duas concentrações de CO<sub>2</sub> (380 e 700 ppm).

Fontes de variação	Variáveis		
	<i>A</i>	<i>g<sub>s</sub></i>	<i>E</i>
<b>Bloco</b>	0,0198	0,0114	0,0153
<b>MSPFe</b>	0,0000	0,7644	0,0000
<b>CO<sub>2</sub></b>	0,1191	0,3870	0,0067
<b>Tempo</b>	0,0000	0,0000	0,0000
<b>MSPFe x CO<sub>2</sub></b>	0,5702	0,9516	0,4360
<b>MSPFe x Tempo</b>	0,3916	0,5774	0,0000
<b>CO<sub>2</sub> x Tempo</b>	0,9035	0,7368	0,2271
<b>MSPFe x CO<sub>2</sub> x Tempo</b>	0,6250	0,9025	0,5354

Legenda: (*A*) fotossíntese, (*g<sub>s</sub>*) condutância estomática e (*E*) transpiração.

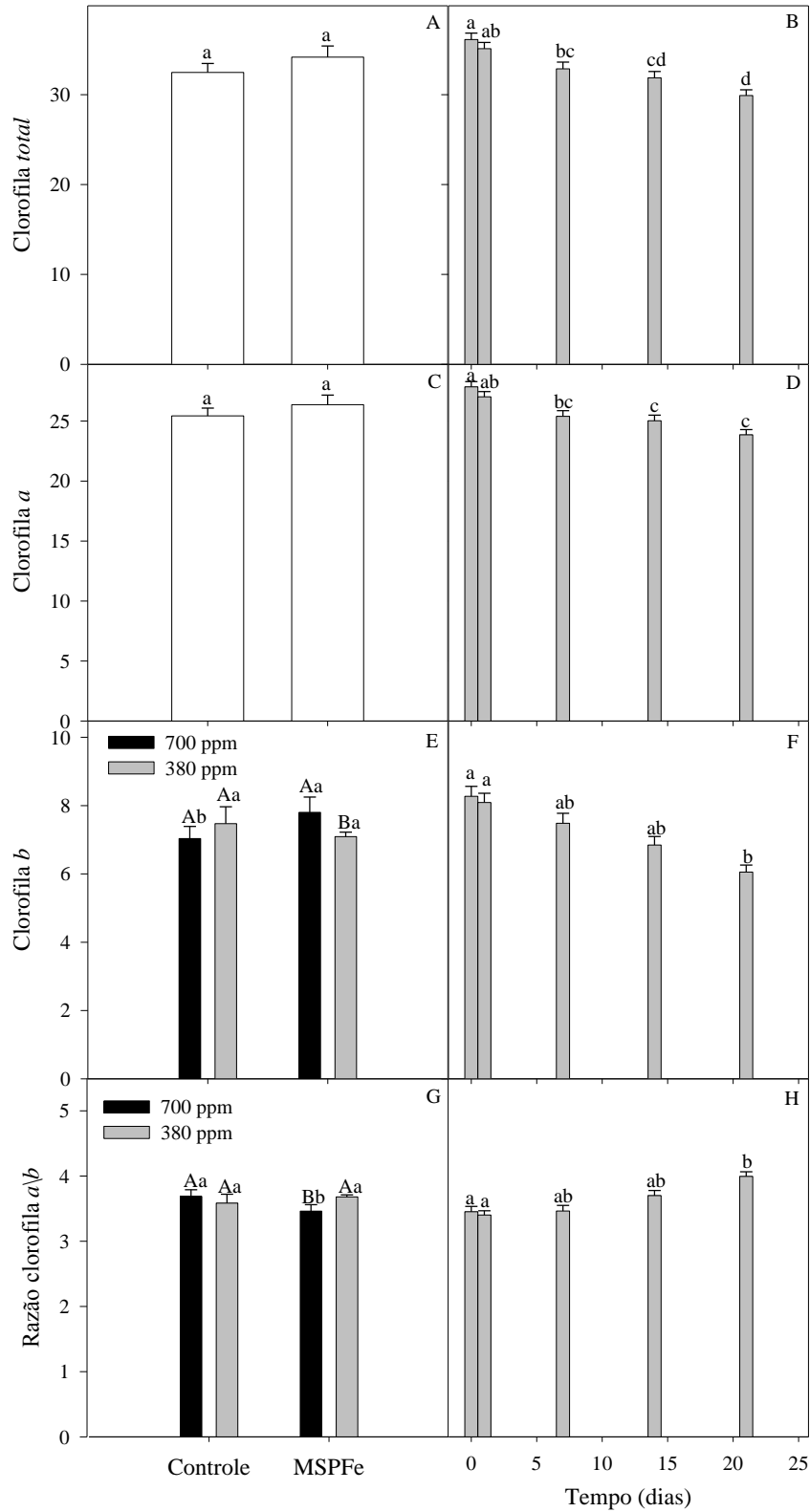


**Figura 1:** Fotossíntese (A), condutância estomática ( $g_s$ ) e transpiração ( $E$ ) em plantas de *P. densum* expostas ao MSPFe cultivadas sob elevada (700ppm) ou concentração ambiente (380 ppm) de CO<sub>2</sub>. As barras representam as médias  $\pm$  erro padrão de quatro repetições. Letras maiúsculas comparam as concentrações de CO<sub>2</sub>, letras minúsculas comparam a presença ou ausência do MSPFe e os períodos de medições pelo teste Tukey ( $p < 0.05$ ). Em F, o asterisco indica interação significativa ( $p < 0.05$ ) entre os tratamentos com MSPFe ao longo do tempo. Os dados foram agrupados conforme a significância da ANOVA.

Não foram observadas alterações nos índices de clorofila *a* e clorofila *total* em função da aplicação de MSPFe e/ou de diferentes [CO<sub>2</sub>] (Fig. 2A e C), sendo observado redução em seus valores ao longo do período de avaliação (Fig. 2B e D). Para os índices de clorofila *b* e razão clorofila *a/b*, foi observado interação significativa entre CO<sub>2</sub> e MSPFe, sendo constatados aumento nos índices de clorofila *b* e redução na razão clorofila *a/b* para as plantas cultivadas em concentrações elevadas de CO<sub>2</sub> e com exposição ao MSPFe (Quadro 2) (Fig. 2E e G). Também houve redução nos índices de clorofila *b* e aumento na razão clorofila *a/b* ao longo do tempo (Fig. 2F e H).

**Quadro 2:** Significância da anova para índices de clorofila em *P. densum* submetidas ao MSPFe duas concentrações de (0 e 2,14 mg cm<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup> em média) e duas concentrações de CO<sub>2</sub> (380 e 700 ppm).

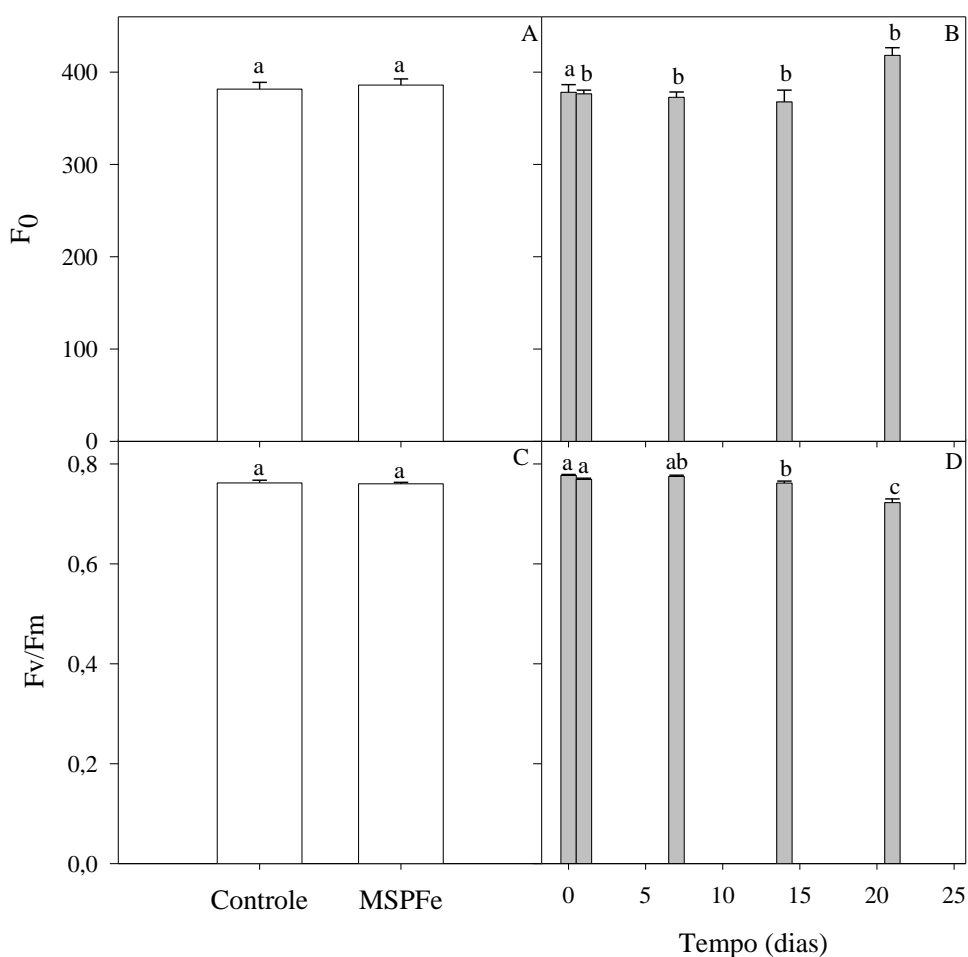
Fontes de variação	Variáveis			
	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila <i>total</i>	Razão clorofila <i>a/b</i>
<b>Bloco</b>	0,3016	0,0931	0,1961	0,1573
<b>MSPFe</b>	0,4357	0,4076	0,4154	0,3329
<b>CO<sub>2</sub></b>	0,7276	0,5600	0,6583	0,3949
<b>Tempo</b>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
<b>MSPFe x CO<sub>2</sub></b>	0,1441	0,0161	0,0651	0,0214
<b>MSPFe x Tempo</b>	0,4031	0,6631	0,4762	0,5861
<b>CO<sub>2</sub> x Tempo</b>	0,9423	0,8895	0,9245	0,9169
<b>MSPFe x CO<sub>2</sub> x Tempo</b>	0,5058	0,5410	0,5101	0,5528



**Figura 2:** Índices de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila *total* e razão clorofila *a/b* em plantas de *P. densum* expostas ao MSPFe e cultivadas sob elevada (700 ppm) ou concentração ambiente (380 ppm) de CO<sub>2</sub>. As barras representam as médias ± erro

padrão de quatro repetições. Letras maiúsculas comparam as concentrações de CO<sub>2</sub> e letras minúsculas comparam a presença ou ausência do MSPFe e os períodos de medições pelo teste Tukey ( $p < 0.05$ ). Os dados foram agrupados conforme a significância da ANOVA.

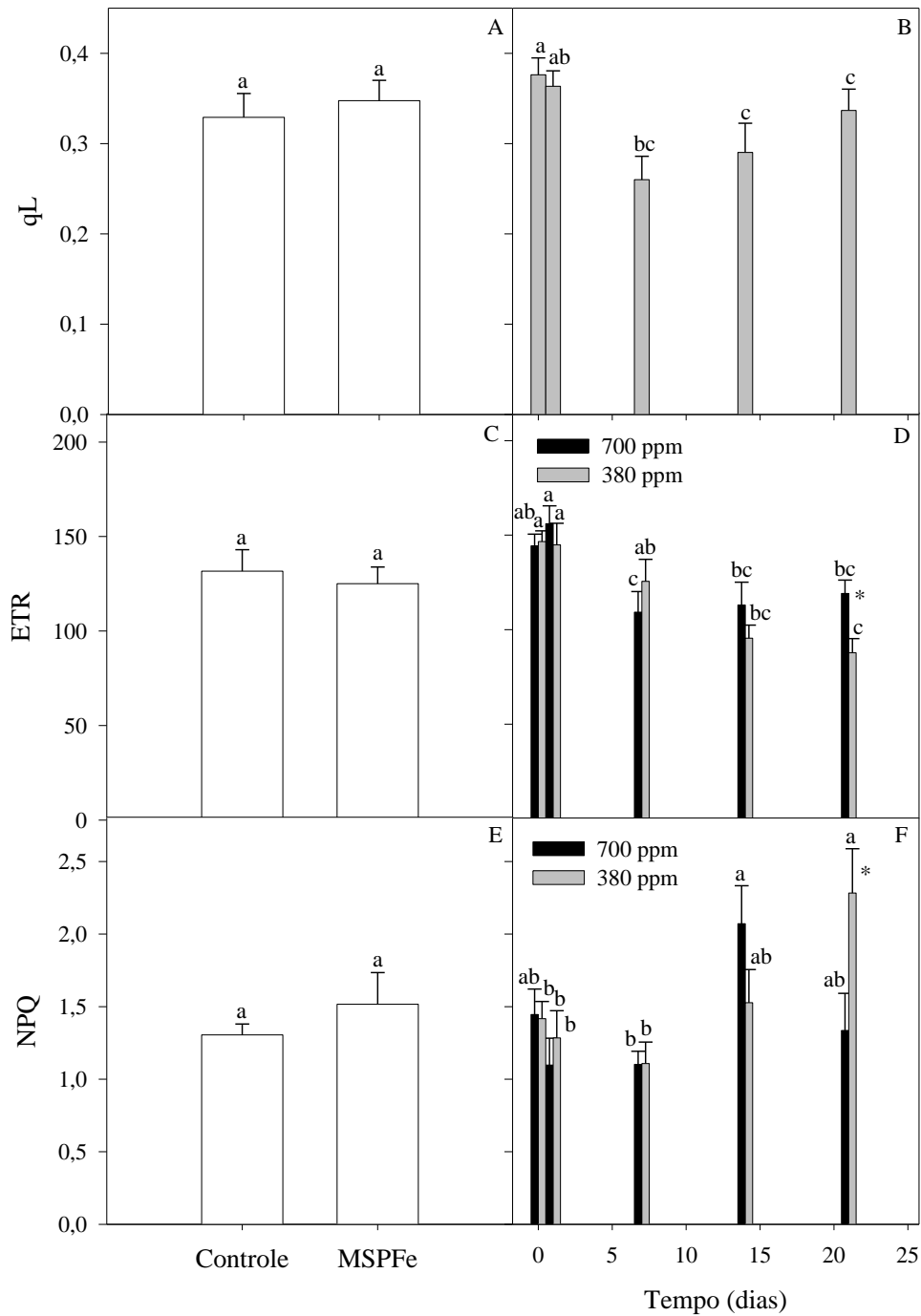
Os valores de fluorescência inicial ( $F_0$ ) e eficiência quântica máxima do PSII ( $F_v/F_m$ ) não diferiram em função da exposição ao MSPFe ou das distintas concentrações de CO<sub>2</sub> (Fig. 3A e C) (Quadro 3). Entretanto foi observado aumentos nos valores de  $F_0$  e redução nos valores de  $F_v/F_m$  ao longo do tempo (Fig. 3 C e D).



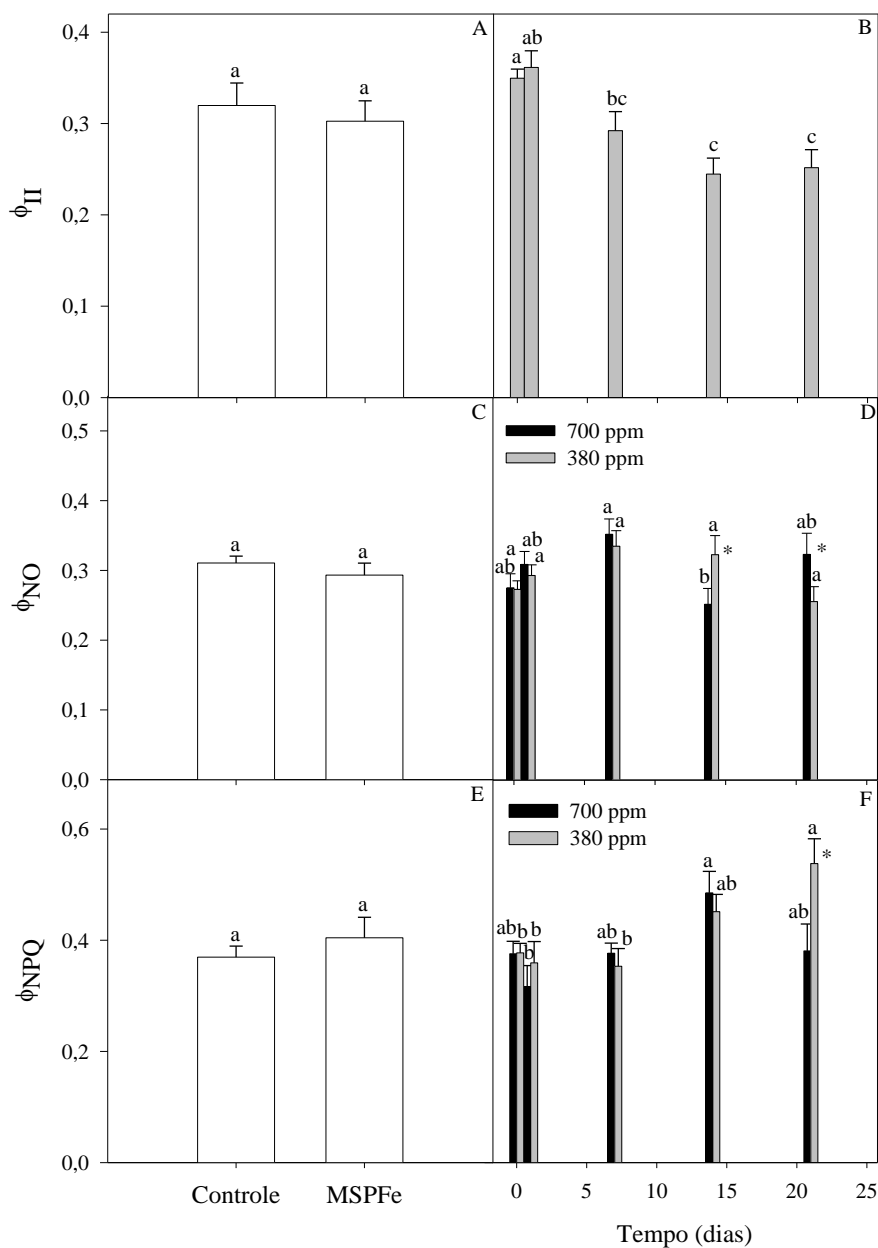
**Figura 3:** Fluorescência mínima ( $F_0$ ) e eficiência quântica máxima do PSII ( $F_v/F_m$ ) de plantas de *P. densum* expostas ao MSPFe e cultivadas sob elevada (700 ppm) ou concentração ambiente (380 ppm) de CO<sub>2</sub>. As barras representam as médias  $\pm$  erro padrão de quatro repetições. Letras minúsculas comparam a presença ou ausência do MSPFe (em A e C) e os períodos de medições (em B e D) pelo teste Tukey ( $p < 0.05$ ). Os dados foram agrupados conforme a significância da ANOVA.

Não foram observadas diferenças significativas em função da exposição ao MSPFe para os valores de *quenching* fotoquímico do FSII ( $q_L$ ), taxa de transporte de elétrons (ETR) e coeficiente de dissipação não-fotoquímica (NPQ) (Fig. 4A, C e E) (Quadro 3). Entretanto, considerando o efeito isolado do tempo, houve redução nos valores de  $q_L$  e NPQ até o sétimo dia e posterior aumento nas duas últimas avaliações (14 e 21 dias) (Fig. 4B e F). Já para a ETR e o NPQ, foi observado interação entre as diferentes concentrações de  $CO_2$  ao longo do tempo, sendo que aos 21 dias, as plantas cultivadas em concentração ambiente de  $CO_2$  apresentaram os maiores valores de NPQ e os menores valores de ETR (Fig. 4D e F). Também foi observado que houve redução nos valores de ETR ao longo do tempo, independentemente do tratamento (Fig. 4D).

Não foi observada diferença significativa em relação à deposição do MSPFe para o rendimento quântico efetivo do PSII ( $\phi_{II}$ ), rendimento quântico de dissipação não-regulada de energia não-fotoquímica do FSII ( $\phi_{NO}$ ) e rendimento quântico de dissipação regulada de energia não-fotoquímica do FSII ( $\phi_{NPQ}$ ) (Fig. 5A, C e E) (Quadro 3). Entretanto, houve redução nos valores de  $\phi_{II}$  ao longo do tempo independentemente do MSPFe ou das concentrações de  $CO_2$  (Fig 5B). Também foi observada interação significativa entre as distintas concentrações de  $CO_2$  atmosférico (380 e 700 ppm) ao longo do tempo para  $\phi_{NO}$  e  $\phi_{NPQ}$  (Fig. 5D e F). Aos 14 dias, as plantas cultivadas em concentração ambiente de  $CO_2$ , apresentaram os maiores valores de  $\phi_{NO}$  (Fig. 5D). Aos 21 dias, as plantas cultivadas sob incremento na concentração atmosférica de  $CO_2$  tiveram os valores mais elevados de  $\phi_{NO}$  e os menores valores de  $\phi_{NPQ}$  (Fig. 5D e F).



**Figura 4:** *Quenching* fotoquímico do FSII (qL), taxa aparente de transporte de elétrons (ETR), *quenching* não fotoquímico (NPQ) de plantas de *P. densum* expostas ao MSPFe e cultivadas sob elevada (700 ppm) ou concentração ambiente (380 ppm) de CO<sub>2</sub>. As barras representam as médias ± erro padrão de quatro repetições. Letras minúsculas comparam a presença ou ausência do MSPFe e os períodos de medições pelo teste Tukey (p < 0.05). Em F, o asterisco indica interação significativa (p < 0.05) entre o MSPFe ao longo do tempo. Os dados foram agrupados conforme a significância da ANOVA.



**Figura 5:** Rendimento quântico efetivo do PSII ( $\phi_{II}$ ), rendimento quântico de dissipação regulada de energia não-fotoquímica do FSII ( $\phi_{NPQ}$ ), rendimento quântico de dissipação não-regulada de energia não-fotoquímica do FSII ( $\phi_{NO}$ ) em plantas de *P. densum* expostas ao MSPFe e cultivadas sob elevada (700 ppm) ou concentração ambiente (380 ppm) de CO<sub>2</sub>. As barras representam as médias  $\pm$  erro padrão de quatro repetições. Letras minúsculas comparam a presença ou ausência do MSPFe e os períodos de medições pelo teste Tukey ( $p < 0.05$ ). Em D e F, o asterisco indica interação significativa ( $p < 0.05$ ) entre o MSPFe ao longo do tempo. Os dados foram agrupados conforme a significância da ANOVA.

**Quadro 3:** Significância da anova para trocas gasosas e índices de clorofila em *P. densum* submetidas ao MSPFe duas concentrações de (0 e 2,14 mg cm<sup>-2</sup>dia<sup>-1</sup> em média) e duas concentrações de CO<sub>2</sub> (380 e 700 ppm).

Fontes de variação	Variáveis							
	F <sub>0</sub>	Fv/Fm	Φ <sub>II</sub>	Φ <sub>NO</sub>	Φ <sub>NPQ</sub>	qL	NPQ	ETR
<b>Bloco</b>	0,1549	0,0036	0,0005	0,6256	0,0616	0,0013	0,2439	0,0000
<b>MSPFe</b>	0,2553	0,7102	0,6080	0,3276	0,3439	0,8205	0,3002	0,5797
<b>CO<sub>2</sub></b>	0,7774	0,9398	0,1135	0,6356	0,1826	0,1023	0,3751	0,1028
<b>Tempo</b>	0,0006	0,0000	0,0000	0,0200	0,0004	0,0000	0,0009	0,0000
<b>MSPFe x CO<sub>2</sub></b>	0,0878	0,8601	0,4740	0,7489	0,5040	0,6649	0,5340	0,4399
<b>MSPFe x Tempo</b>	0,9502	0,0502	0,4078	0,1239	0,3773	0,2907	0,1357	0,3293
<b>CO<sub>2</sub> x Tempo</b>	0,3259	0,7353	0,0631	0,0341	0,0431	0,0780	0,0104	0,0406
<b>MSPFe x CO<sub>2</sub> x Tempo</b>	0,9956	0,0956	0,7346	0,1416	0,7156	0,1533	0,4270	0,5110

Legenda: (F<sub>0</sub>)fluorescência mínima, (Fv/Fm) eficiência quântica máxima do fotossistema II, (qL) *quenching* fotoquímico do FSII, (ETR) taxa aparente de transporte de elétrons, (NPQ) *quenching* não fotoquímico, (Φ<sub>II</sub>) rendimento quântico do efetivo do PSII, (Φ<sub>NPQ</sub>) rendimento quântico de dissipação regulada de energia não-fotoquímica do FSII, (Φ<sub>NO</sub>) rendimento quântico de dissipação não-regulada de energia não-fotoquímica do FSII.

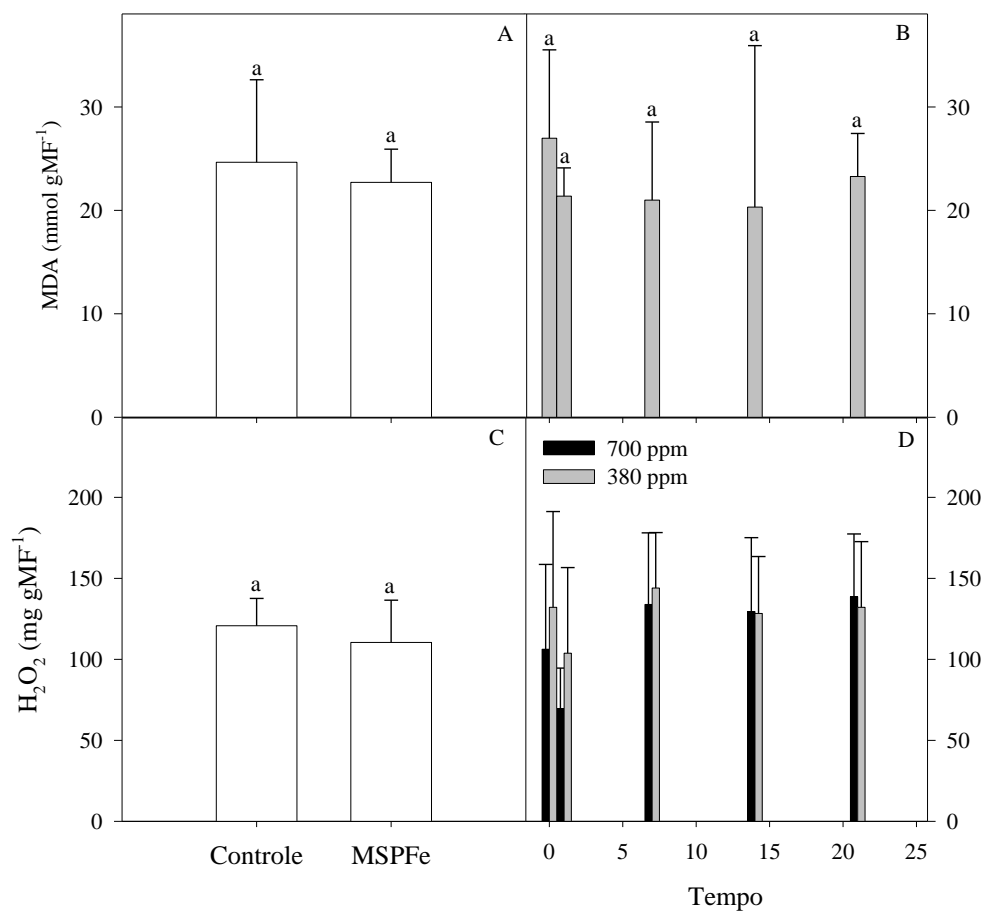
Não foram observadas alterações significativas nos valores de MDA presentes nas plantas em função do MSPFe e do incremento da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub>(Quadro 4) (Fig. 6A e B).

Para os teores de peróxido de hidrogênio nas folhas, foi observado interação tripla entre o MSPFe, CO<sub>2</sub> e o tempo de exposição. Entretanto, o MSPFe ou CO<sub>2</sub> isoladamente não influenciaram nos resultados (Fig. 6C). No início do experimento, antes da deposição simulada de MSPFe, as plantas sob concentração ambiente de CO<sub>2</sub> apresentaram os maiores teores de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, diferindo das plantas cultivadas por 180 dias sob concentração elevada de CO<sub>2</sub>. Também foi observado que as plantas cultivadas sob incremento na concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> e ausência de deposição de MSPFe diferiram das demais aos 14 dias após os tratamentos, apresentando maiores valores.

**Quadro 4:** Significância da anova para teores de malonaldeído e peróxido em *P. densum* submetidas de (0 e 2,14 mg cm<sup>-2</sup>dia<sup>-1</sup> em média) e duas concentrações de CO<sub>2</sub> (380 e 700 ppm).

Fontes de variação	Variáveis	
	MDA	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
<b>Bloco</b>	0,3122	0,9306
<b>MSPFe</b>	0,2988	0,8789
<b>CO<sub>2</sub></b>	0,0864	0,1838
<b>Tempo</b>	0,4680	0,0053
<b>MSPFe x CO<sub>2</sub></b>	0,3466	0,3437
<b>MSPFe x Tempo</b>	0,5231	0,0791
<b>CO<sub>2</sub> x Tempo</b>	0,4376	0,5940
<b>MSPFe x CO<sub>2</sub> x Tempo</b>	0,2446	0,0345

Legenda:(MDA) teor de malonaldeído e (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) teor de peróxido de hidrogênio.



**Figura 6:** Concentração de malonaldeído (MDA) e peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em folhas de *P. densum* expostas ao MSPFe e cultivadas sob elevada (700 ppm) ou concentração ambiente (380 ppm) de CO<sub>2</sub>. As barras representam as médias ± erro padrão de quatro repetições. Letras minúsculas comparam a presença ou ausência do MSPFe e os períodos de medições pelo teste Tukey (p < 0.05). Os dados foram agrupados conforme a significância da ANOVA.

### 3.2. Teor de ferro nos tecidos

A deposição de MSPFe em plantas de *P. densum* ao longo de 21 dias, resultou em aumento significativo no teor de ferro nas folhas e colmo em aproximadamente 17 e 8 vezes, respectivamente, em plantas sob deposição do MSPFe, quando comparadas às plantas que não foram expostas ao MSPFe, independentemente das [CO<sub>2</sub>] (Tabela 1).

### 3.3. Variáveis morfológicas

A aplicação de MSPFe sobre a superfície foliar das plantas não resultou em alterações significativas nas variáveis morfológicas avaliadas. O incremento na

concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> resultou em aumento significativo somente na área foliar total (AFT) em *P.densum* (Tab. 2).

**Tabela 1:** Teor de ferro nas folhas, colmo e raiz em plantas de *P. densum* expostas à deposição de MSPFe e cultivadas sob elevada (700 ppm) ou concentração ambiente (380 ppm) de CO<sub>2</sub>

		Teor de ferro		
	CO <sub>2</sub> (ppm)	Folhas	Colmo	Raiz
<b>MSPFe</b>	700	3068,74 ± 878,76	2496,11 ± 865,99	17683,38 ± 1998,93
	380	3485,96 ± 2087,76	881,65 ± 22,46	18706,13 ± 1474,50
<b>Controle</b>	700	131,9 ± 8,30	137,68 ± 29,84	18618,38 ± 2949,01
	380	243,44 ± 37,02	282,56 ± 67,27	19764,0 ± 882,12
<i>Análise variância</i>				
	CO <sub>2</sub>	0,8087	0,0989	0,3659
	MSPFe	0,0172	0,0049	0,4043
	CO <sub>2</sub> x MSPFe	0,8886	0,0551	0,9581

Os dados são médias e erro padrão de quatro repetições.

**Tabela 2:** Número de folhas (NF), número de perfilhos (NP), altura da parte aérea (PA), peso da matéria seca das folhas + bainha (PSFB), peso da matéria seca dos colmos (PSC), peso da matéria seca da raiz (PSR) e área foliar total (AFT) em plantas de *P. densum* expostas à deposição de MSPFe e cultivadas sob elevada (700 ppm) ou concentração ambiente (380 ppm) de CO<sub>2</sub>.

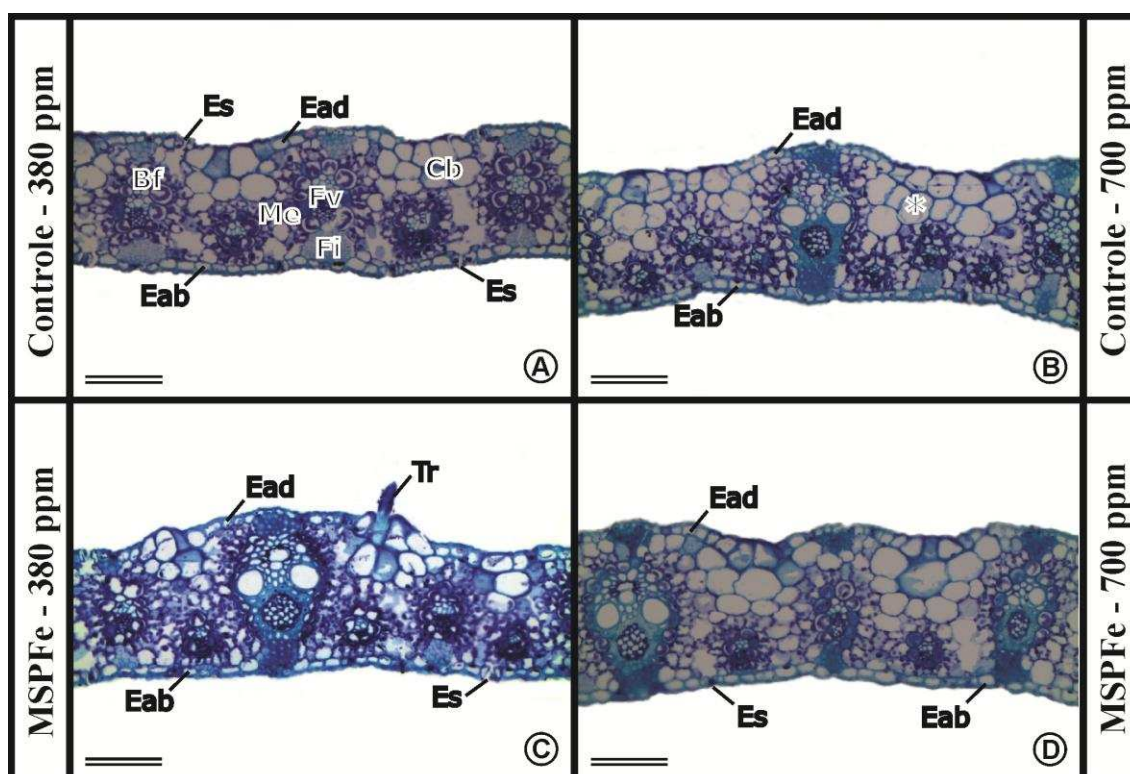
	CO <sub>2</sub> (ppm)	NF	NP	PA (cm)	PSFB (g)	PSC (g)	PSR (g)	AFT (cm <sup>2</sup> )
<b>MSPFe</b>	700	103,75 ± 7,98	17,75 ± 1,18	57,06 ± 2,65	66,16 ± 8,08	15,39 ± 3,23	79,49 ± 3,21	2497,39 ± 413,44
	380	107,75 ± 8,78	18,75 ± 0,85	65,81 ± 14,04	52,83 ± 2,34	16,85 ± 1,31	120,35 ± 11,32	2018,31 ± 76,45
<b>Controle</b>	700	107,75 ± 4,13	15,5 ± 1,19	68,85 ± 5,10	58,15 ± 5,29	15,74 ± 2,14	87,28 ± 17,27	2930,84 ± 501,73
	380	87,5 ± 8,17	17,75 ± 1,44	61,54 ± 2,90	51,46 ± 4,79	17,64 ± 2,78	100,76 ± 21,71	1652,88 ± 166,48
<i>Análise variância</i>								
CO <sub>2</sub>		0,2575	0,1409	0,9238	0,1405	0,5174	0,1370	0,0256
MSPFe		0,2575	0,2668	0,6198	0,4684	0,8243	0,7313	0,9199
CO <sub>2</sub> x MSPFe		0,1047	0,7542	0,3005	0,6053	0,9311	0,4320	0,2556

Os dados são médias e erro padrão de quatro repetições.

### 3.4. Caracterização estrutural em microscopia de luz e sintomatologia visual após a deposição do MSPFe e incremento de CO<sub>2</sub>

As plantas de *P. densum* apresentaram folhas com epiderme uniestratificada, com células buliformes agrupadas na epiderme da face adaxial da folha. A espécie apresentou anatomia de planta C<sub>4</sub>, tipo Kranz (com uma camada de células parenquimáticas na bainha do feixe) e feixe vascular de tamanhos variados. Em ambas as faces da folha, foram observadas fibras ao redor dos feixes vasculares (Fig. 7A). Foi observado retração do protoplasto em algumas células buliformes em todos os tratamentos (Fig. 7B). *P. densum* possui folhas anfiestomáticas com a presença de tricomas em ambas as faces e células buliformes volumosas. (Fig. 7A e C).

Não foram observados sintomas visuais de toxidez por ferro (bronzamento) nas folhas de *P. densum*, não sendo verificado danos estruturais em função do MSPFe e/ou incremento da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub>, ou seja, as mesmas permaneceram intactas após aplicação dos tratamentos (Fig. 7B e D).



**Figura 7:** Secções transversais da lâmina foliar de *P. densum* (A-D) após cultivas sob os tratamentos: controle e concentração ambiente de CO<sub>2</sub> - 380 ppm (A); controle com

incremento na concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> – 700 ppm (B); deposição do MSPFe e concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> – 380 ppm (C); deposição do MSPFe e incremento na concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> – 700 ppm (D), após 22 dias de exposição ao MSPFe (0 e 2,14 mg cm<sup>-2</sup>dia<sup>-1</sup> em média ). Legenda: (Ead) Face adaxial da folha, (Eab) Face abaxial da folha, (Es) estômato, (Tr) tricoma tector, (Bf) bainha do feixe, (Cb) células buliformes, (Me) mesofilo, (Fi) fibras, (Fv) feixe vascular e (\*) retração do protoplasma. Barras 100 µm (A-D).

#### 4. DISCUSSÃO

Num cenário de mudanças climáticas, a combinação de elevadas [CO<sub>2</sub>] e alta disponibilidade de ferro em ambiente degradado pela mineração podem induzir limitações nas repostas morfofisiológicas e moleculares das plantas com alteração na regulação de genes, proteínas e metabólitos, acarretando mudanças na fotossíntese, crescimento, composição dos aminoácidos, açúcares e amido, entre outros processos (Ahuja et al., 2010). Foi relatado que elevadas [CO<sub>2</sub>] aumentam a disponibilidade de ferro para plantas em caso de deficiência deste mineral (Jin et al., 2009), o que em ambientes enriquecidos em ferro (MSPFe), pode favorecer ainda mais a absorção excessiva, acarretando toxidez. Entretanto, existem plantas que apresentam mecanismos eficientes, capazes de tolerar altas concentrações de ferro em seus tecidos, através da remobilização e armazenamento do metal, mantendo-o em homeostase (Adamski et al., 2011).

A ausência de sintomas visuais ou alterações fisiológicas e estruturais em *P. densum* em função do MSPFe indicam eficiente mecanismo de tolerância ao poluente, uma vez que o acúmulo de ferro nos tecidos aéreos das plantas submetidas à deposição de MSPFe atingiu ao longo do experimento, níveis acima de 500 mg Kg<sup>-1</sup> de MS, considerado crítico para toxidez por Fe (Marschner, 1995; Dobermann e Fairhurst, 2000; Pugh et al., 2002). Estudos realizados com *P. densum* (dados não publicados) e com plantas do mesmo gênero *P. urvillei*, mostraram que ambas também apresentaram tolerância ao estresse por excesso de ferro em solução nutritiva, permitindo o acúmulo de concentrações consideradas fitotóxicas de Fe em seus tecidos, sem grandes evidências de sintomas morfofisiológicos (Araújo et al., 2014).

O ferro apesar de ser um elemento essencial e de participar da síntese de diversos componentes do aparato fotossintético (Briat e Lobréaux, 1997; Briat et al., 2015),

quando em excesso nos tecidos das plantas pode desencadear estresse oxidativo, de maneira a aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) (Becana et al., 1998; Fang et al., 2001; Souza-Santos et al., 2001). Uma vez que os íons ferrosos ( $\text{Fe}^{+2}$ ) encontram-se em excesso na célula, os mesmos possuem a capacidade de catalisar a decomposição do peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ao radical hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ), que apresenta alta reatividade, podendo danificar o DNA da célula, e promover a oxidação tanto de lipídeos quanto de proteínas, provocando danos aos tecidos das plantas (Becana et al., 1998; Tsai e Huang, 2006).

As EROS são formadas naturalmente na atividade metabólica das plantas, sinalizando mudanças no ambiente, na defesa a patógenos, na expressão gênica, na morte celular programada, no desenvolvimento e no crescimento (Mittler, 2002). Porém, o estresse oxidativo com a superprodução de EROS pode reduzir a taxa fotossintética (Mishra e Dubey, 2005; Pereira et al., 2009). Entretanto, neste trabalho, as análises de MDA e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) mostraram que não houve estresse oxidativo resultante da toxidez por Fe. Provavelmente *P. densum* possui mecanismo eficiente para eliminação das EROS de forma a não causar danos severos às plantas. Dentre estes, existem mecanismos enzimáticos (Vansuyt et al., 1997; Fang et al., 2001) que minimizam os efeitos fitotóxicos de EROS (Schutzendubel e Polle, 2012), como as enzimas dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX) (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), glutathione reduzida,  $\alpha$ -tocoferóis, ácido ascórbico, carotenóides, ácido úrico, ácido lipóico e ubiquinol (Edge et al., 1997; Becana et al., 1998; Krinsky e Yeum, 2003).

A ausência de sintomas visíveis ocorre quando o sistema antioxidativo da planta é eficiente na eliminação das EROS antes que atinjam maiores projeções (Noctor e Foyer 1998, Bray et al., 2000), como observado por outros autores (Klumpp, 1998; Moraes et al., 2000) em estudos com poluentes.

Mesmo sem a ocorrência de injúrias visuais, algumas espécies que acumulam altas concentrações de poluentes em seus tecidos (Arndt et al., 1995) podem apresentar danos teciduais ainda não visíveis. As plantas de *P. densum* não apresentaram danos estruturais nas folhas devido ao excesso de ferro nos tecidos, entretanto, *Paspalum urvillei* e *Setaria parviflora*, submetidas a concentrações elevadas de ferro em solução

nutritiva apresentaram desarranjo no formato, tamanho e organização das células bulbiformes e retração do protoplasto (Araújo et al., 2014), reforçando que *P. densum* apresenta algum mecanismo de resistência capaz de evitar danos estruturais decorrentes ao excesso de ferro em seus tecidos.

A primeira via de contato entre a planta e poluentes particulados, é através dos órgãos assimiladores, principalmente a folha em que a absorção do poluente se dá via estômato ou cutícula (Watmough et al., 1999; Lau e Lucas, 2001). A deposição de material particulado pode acarretar abrasão, aquecimento radioativo, reduzir a assimilação do fluxo de fótons e CO<sub>2</sub> que chega aos tecidos foliares, alterando o microclima das folhas (Grantz et al., 2003, Pereira et al., 2009). De acordo com equação obtida por Pereira (2009), a proporção de radiação bloqueada pela deposição de 2,14 mg cm<sup>-2</sup>dia<sup>-1</sup> em média de MSPFe chega à 55,45%, sendo a redução no fluxo de fótons em função da deposição do MSPFe sobre a superfície foliar pode ser indicada como a principal responsável pela queda da fotossíntese.

O aumento da transpiração das plantas após deposição do MSPFe pode ser considerada estratégia para minimizar o efeito do superaquecimento das plantas em consequência do poluente (Fig. 1E e F). Desta forma, houve regulação da temperatura das plantas com efeito de minimizar danos severos. Altas temperaturas afetam os processos bioquímicos e a integridade das membranas dos cloroplastos, além de comprometer a atividade da rubisco e o transporte de elétrons, eliminando o suprimento do poder redutor. Todos esses fatores associados levam a um decréscimo na fotossíntese (Santos e Carlesso, 1998).

As plantas de *P. densum*, mesmo com deposição do MSPFe e consequente redução na taxa fotossintética, não apresentaram redução na matéria seca, sendo observado apenas incremento de área foliar em plantas cultivadas sob elevadas [CO<sub>2</sub>] (Tab. 2). Estudos mostram que a elevada concentração de CO<sub>2</sub> aumenta a taxa de crescimento, com incremento de biomassa e aumento da área foliar em plantas C<sub>3</sub> (Morison e Gifford, 1984). Para as plantas C<sub>4</sub> o CO<sub>2</sub> não é um fator limitante na produção de biomassa, por apresentarem mecanismo bioquímico de concentração de CO<sub>2</sub> na bainha do feixe vascular (Bowes, 1993). Entretanto, resultados contraditórios mostram que algumas espécies C<sub>4</sub> (Ziska e Bunce, 1999; Ghannoum et al., 2001) apresentam respostas positivas com aumento da fotossíntese e crescimento, quando expostas à atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> (Souza et al., 2008).

Estudos realizados em concentrações elevadas de CO<sub>2</sub> em longo prazo mostraram que um dos fatores que limitou o maior incremento de biomassa nas plantas foram o déficit de nitrogênio e o tamanho do vaso (Stitt, 1991), o que pode ter ocorrido no presente experimento. Plantas com metabolismo C<sub>3</sub> ou C<sub>4</sub>, quando submetidas à elevada concentração de CO<sub>2</sub> apresentaram redução nos teores de nitrogênio (N) nas folhas, aliada ao aumento da temperatura (Reich et al., 2006; Ellsworth et al., 2004), considerando que a demanda por nutrientes aumenta.

A clorofila *a* é o principal pigmento utilizado na etapa fotoquímica da fotossíntese, pois constitui o centro de reação do fotossistema, enquanto a clorofila *b* atua no complexo antena coletor luz, auxiliando na absorção e transferência de energia para o FSII (Streit et al., 2005). As plantas mantidas em elevada [CO<sub>2</sub>] em geral apresentam maior capacidade de utilização da energia luminosa (Wullchleger et al., 1992). Reid et al., (1991), observaram que o aumento dos índices de clorofila nas folhas aumenta a capacidade de absorção de luz, em diferentes comprimentos de onda nos picos da fotossíntese. As plantas de *P. densum* cultivadas sob incremento de CO<sub>2</sub> e deposição de MSPFe, demonstram maior investimento na formação do aparato coletor de luz (clorofila *b*) para o processo fotossintético. Scalon et al., (2002) afirmam que o aumento do teor de clorofila *b* nas folhas é uma característica importante, porque a clorofila *b* capta energia de outros comprimentos de onda e a transfere para a clorofila *a*, que efetivamente atua nas reações fotoquímicas da fotossíntese. Em adição, o acréscimo nos teores de clorofila *b* indica que há um investimento na formação do complexo antena.

A prevenção da degradação da clorofila é comumente relacionada com a manutenção da homeostase do ferro nos tecidos, principalmente quando as plantas são submetidas a concentrações elevadas de ferro (Pereira et al., 2013). Porém ao longo do tempo, foi observado redução nos teores de clorofilas, provavelmente em função da senescência foliar, acarretando redução na assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (Lim et al., 2007). A elevada concentração de CO<sub>2</sub> também reduz a disponibilidade de N e/ou eleva a concentração de carbono na biomassa, resultando em menor teor de N na folha e consequentemente nos teores de clorofila, levando a um *feedback* negativo na capacidade fotossintética (Reich et al., 2006).

A tolerância ao excesso de ferro encontrado nos tecidos foliares de *P. densum* também é confirmada pelas variáveis de fluorescência da clorofila *a*, que não foram influenciadas pela deposição de MSPFe. Alterações na eficiência fotoquímica, indicados pelas variáveis de fluorescência da clorofila *a* são importantes marcadores de

estresse em plantas (Bjorkmane Demmig, 1987). Quando ocorre toxidez severa por excesso de ferro, são observados danos aos complexos fotossintéticos através de redução nos valores da eficiência quântica do PSII ( $F_v/F_m$ ), 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; Castro, 2010). Porém, isso não foi observado neste estudo. O aumento nos valores de  $F_0$  ao longo do tempo (Fig. 3A e B) indica diminuição na capacidade de transferência da energia do complexo antena para os centros de reações (Baker e Rosenqvist, 2004), podendo estar relacionado com a queda nos índices de clorofila e redução dos valores de fotossíntese ao longo do tempo, independente da aplicação do MSPFe ou dos níveis de  $CO_2$ .

A redução e posterior aumento do quenching fotoquímico (qL), o qual estima a fração de centro de reações abertos no PSII (Klughammer e Schreiber, 2008), indica que mesmo que os centro de reações estejam abertos, os elétrons não foram canalizados para as reações fotoquímicas, mas sendo a energia dissipada por mecanismos não fotoquímicos, como evidenciado pelo aumento de NPQ, principalmente nas plantas sob concentração ambiente de  $CO_2$ .

Embora a deposição de MSPFe não tenha afetado a etapa fotoquímica nas plantas de *P. densum*, o aumento na dissipação do excesso de energia luminosa absorvida, em função das diferentes concentrações de  $CO_2$  atmosférico, foi realizada pelos rendimentos quânticos regulados ( $\phi_{NPQ}$ ) e não regulado ( $\phi_{NO}$ ) de energia, em detrimento ao rendimento quântico de conversão fotoquímica de energia ( $\phi_{II}$ ), diretamente relacionado à ETR. A diminuição nos valores de  $\phi_{II}$ , foi acompanhada pelo aumento de  $\phi_{NPQ}$  e  $\phi_{NO}$ , uma vez que estes são mecanismos dissipadores de energia competitivos entre si (Eskling et al., 1997). A alta concentração de  $CO_2$  e conseqüentemente elevação da temperatura da câmara onde as plantas se encontravam, pode ter contribuído para a dissipação do excesso de energia principalmente na forma não regulada ( $\phi_{NO}$ ), em função do aquecimento das mesmas. Os valores de  $\phi_{NPQ}$  corroboraram com os resultados de NPQ (Fig. 4E e F), que mostram que plantas cultivadas sob concentração ambiente de  $CO_2$  apresentam maior eficiência na dissipação de energia não fotoquímica, estando associado ao ciclo das xantofilas e à dissipação na forma de calor (Baker, 2008). O ciclo das xantofilas é ativado pelo bombeamento de prótons para o lúmen que resulta na criação da diferença de potencial eletroquímico transmembrana. Essa diferença de potencial entre o estroma e o lúmen, ativa o ciclo das xantofilas, onde a

violaxantina é convertida a zeaxantina e o excesso de energia é dissipado na forma de calor, atuando na proteção do aparelho fotossintético contra a superexcitação e subsequente dano no centro de reação do FSII (Baker, 2008; Pereira et al., 2013). Isso mostra que as plantas sob concentração ambiente de CO<sub>2</sub> apresentaram maior eficiência na dissipação do excesso de energia, quando comparadas com as plantas cultivadas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub>, o que pode ser um problema para as espécies C<sub>4</sub> em cenários futuros de mudanças climáticas.

## 5. CONCLUSÕES

As plantas de *P. densum* acumularam níveis de ferro acima dos considerados fitotóxicos após exposição ao MSPFe, sem apresentar sintomas visuais e anatômicos de toxidez por Fe.

A diminuição na taxa fotossintética ocorreu em função da redução do fluxo de fótons pela deposição do MSPFe sobre as folhas.

*P. densum* possui eficiente forma de dissipação do excesso de energia luminosa de maneira a evitar danos fotoinibitórios em condição de estresse por MSPFe, entretanto o aumento na concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico pode impactar o mecanismo de dissipação regulada de energia.

*P. densum* apresenta um eficiente mecanismo na eliminação de EROS de forma a não causar danos severos às plantas, como indicado pelos teores de MDA e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

*P. densum* pode ser considerada uma planta que possui mecanismos de resistência e com alto potencial para revegetação de ambientes com concentrações elevadas de ferro e sujeitos à deposição particulada, mesmo em futuros cenários de mudanças climáticas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMSKI, J.M.; PETERS, J.A.; DANIELOSKI, R.; BACARIN, M.A. 2011. Excess iron-induced changes in the photosynthetic characteristics of sweet potato. *Journal Plant Physiol.* 168, 2056-2062.
- AHUJA, I.; DE VOS, R. C.; BONES, A. M.; HALL, R. D. 2010. Plant molecular stress responses face climate change. *Trends Plant Sci.* 15, 664–674.
- ARAÚJO, T.O.; FREITAS-SILVA, L.; SANTANA, B. V. N.; KUKI, K. N.; PEREIRA, E. G.; AZEVEDO, A. A.; SILVA, L. C. 2014. Tolerance to iron accumulation and its effects on mineral composition and growth of two grass species. *Environ Sci Pollut Res.* 21, 2777-2784.
- ARNDT, U.; FLORES, F; WEINSTEIN, L. 1995. Efeitos do flúor sobre as plantas: diagnose de danos na vegetação do Brasil. Editora UFRGS, Porto Alegre.
- BAKER, N. R., ROSENQVIST, E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany.* 55, 1607-1621.
- BAKER, N. R. 2008. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. *Annual Review of Plant Biology.* 59, 89-113.
- BECANA, M.; MORAN, J.F.; ITURBE-ORMAETXE, I. 1998. Iron-dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. *Plant and Soil.* 201, 137-147.
- BILGER, W.; BJÖRKMAN, O. 1990. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hederacanariensis*. *Photosynthesis Research.* 25, 173-185.
- BJORKMAN, O.; DEMMIG, B. 1987. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta.* 170, 489-504.
- BOWES, G. 1993. Facing the Inevitable: Plants and Increasing Atmospheric CO<sub>2</sub>. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* 44, 309-332.
- BRAY, E. A., BAILEY-SENESE, J.; WERETILNY, K.E. 2000. Responses in abiotic stress. *In*: B. B. Buchanan, W. Gruissen; R.L. Jones (eds). *Biochemistry and molecular biology of plants.* American Society of Plant Physiologist, New York. 1158-1203.
- BRIAT, J. F.; DUBOS, C.; GAYMARD, F. 2015. Iron nutrition, biomass production, and plant product quality. *Trends Plant Sci.* 20, 33-40.
- BRIAT, J. F.; LOBRÉAUX, S. 1997. Iron Transport and storage in plants. *Trends in Plant Science.* 2, 187-193.

- CASTRO, L. N. 2010. Avaliação ecofisiológica do impacto causado pelo areosol marinho e pela deposição de ferro particulado em *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Viçosa, MG.
- CHATURVEDI, N.; AHMED, MD. J.; DHAL, N. K. 2014. Effects of iron ore tailings on growth and physiological activities of *Tagetes patula* L. *Journal of Soils and Sediments*.14, 721-730.
- CHEMALE JR. F.; TAKEHARA, L. 2013. Minério de ferro: Geologia e geometalurgia. *Revista Escola de Minas. Ouro Preto*. 66, 412-415.
- DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL – DNPM. 2008. Disponível em: [www.dnpm.gov.br](http://www.dnpm.gov.br). acesso em: 13 de agosto de 2015.
- DOBERMANN, A.; FAIRHURST, T. 2000. Toxicidad de hierro en arroz. In: Dobermann, A.; Fairhurst, T. (Eds), *Rice: nutrient disorders and nutrient management*. Potash and Phosphate Institute and International Rice Research Institute, 1-4.
- DOMINGOS, M.; BOUROTTE, C.; KLUMPP, A.; KLUMPP, G.; FORTI, M.C. 2002. Impactos de poluição atmosférica sobre remanescentes florestais. *In: D.C. Bicudo, M.C. Forti & E.M. Bicudo (orgs.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo*. Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, São Paulo, 221-249.
- EDGE, R.; MCGARVEY, D.J.; TRUSCOTT, T.G. 1997. The carotenoids as antioxidants – a review. *Journal of Photochemistry and Photobiology*.41, 189-200.
- ELLSWORTH, D. S.; REICH, P. B.; NAUMBURG, E. S.; KOCHS, G. W.; KUBISKE, M. E; SMITH, S. D. 2004. Photosynthesis, carboxylation and leaf nitrogen responses of 16 species to elevated CO<sub>2</sub> enrichment experiments in forest, grassland and desert. *Global Change Biology*.10, 2121-2138.
- ESKLING, M.; ARVIDSSON, P. O.; AKERLUND, H. E. 1997. The xanthophyll cycle, its regulation and components. *Physiologia Plantarum*.100, 806-816.
- FANG, W.; WANG, J.; LIN, C.; KAO, C. 2001. Iron induction of lipid peroxidation and effects on antioxidative enzyme activities in rice leaves. *Plant Growth Regulation*.35, 75-80.
- 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, March 31 to April 3, 1996, University of Sheffield, Department of Molecular Biology and Biotechnology, Western Bank, Sheffield, UK, Abstract no. 28.
- GHANNOUM, O.; VON CAEMMERER, S. & CONROY, J. P. 2001. Plant water use efficiency of 17 Australian NAD-ME and NADP-ME C-4 grasses at ambient and

elevated CO<sub>2</sub> partial pressure. Australian Journal of Plant Physiology.28, 1207-1217.

GOMES, MARIA JUDITH I. R. 1995. Estudos taxonômicos no gênero *Paspalum L.*, grupos “Virgata” e “Quadrifaria” no Brasil. 1995. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas, SP.

GRANTZ, D. A., GARNER, J. H. B., JOHNSON, D. W. 2003. Ecological effects of particulate matter. Environmental International. 29,213-239.

HIRANO, T.; KIYOTA, M.; AIGA, I. 1995. Physical effects of dust on leaf physiology of cucumber and kidney bean plants. Environmental Pollution.89, 255-261.

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

IBRAM, INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO. Informações e Análises da Economia Mineral Brasileira. 7. ed. Belo Horizonte: [s. n.], 2012. 67p.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=312600&search=minas-gerais|florestal|infograficos:-informacoes-completas>> Acesso em 20 de setembro de 2015.

INMET, Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/>> Acesso em 20 de setembro de 2015.

IPCC, Intergovernmental Panel on Climate Change. Climate Change 2014: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Cambridge University Press: Cambridge, 32. Disponível em: <<http://www.ipcc.ch/>>. Acesso em 10 de setembro de 2015.

JIN, C. W.; DU, S. T.; CHEN, W. W.; LI, G. X.; ZHANG, Y. S.; ZHENG, S. J. 2009. Elevated Carbon Dioxide Improves Plant Iron Nutrition Through Enhancing The Iron-deficiency-induced Responses Under Iron-limited Conditions In Tomato. Plant Physiology. 150, 272-280.

JOHANSEN, D.A., Plant microtechnique. 5th ed. New York: McGraw-Hill Book Company Inc.; 1940.

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

KAMPFENKEL, K.; MONTAGU, M. V.; INZÉ, D. 1995. Effects of Iron Excess on *Nicotiana Plumbagnifolia* Plants: Implications to Oxidative Stress. Plant Physiology. 107, 725-735.

- KLUGHAMMER, C.; SCHREIBER, U. 2008. Complementary PS II quantum yields calculator from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method PAM Application notes.1, 27-35.
- KLUMPP, A.; DOMINGOS, M.; MORAES, R. M.; KLUMPP, G. 1998. Effects of complex air pollution on tree species of the Atlantic Rain Forest near Cubatão, Brazil. *Chemosphere*. 36, 989–994.
- KOSLOWSKI, T.T.; KRAMER, P. J.; PALLARDY, S.G. 1991. The physiological ecology of wood plants. Academic Press, Inc., San Diego.
- KRAMER, D. M.; JOHNSON, G.; KIRATS, O.; EDWARDS, G. E. 2004. New fluorescence parameters for the determination of  $Q_A$  redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis Research*. 79, 209-218.
- KRINSKY, N.I.; YEUM, K.J. 2003. Carotenoid–radical interactions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 305, 754-760.
- KUKI, K. N.; OLIVA, M.A. COSTA, A. C. 2009. The simulated effects of iron dust and acidity during the early stages of establishment of two coastal plant species. *Water, Air and Soil Pollution*. 196, 287-295.
- LAU, O. W.; LUK, S. F. 2001. Leaves of *Bauhinia blakeana* indicators of atmospheric pollution in Hong Kong. *Atmos Environ*. 3, 3113-20.
- LIEBENBERG, D.; CLAASSENS, S.; VAN RENSBURG, L. 2013. Insights and Lessons Learned From the Long-term Rehabilitation of an Iron Ore Mine. *International Journal of Environmental Research*. 7, 633-644.
- LIM, P.O.; KIM, H. J.; NAM, H. G. 2007. Leaf Senescence. *Annual Review of Plant Biology*. 58, 115-36.
- MALCOVÁ, R.; ALBRECHTOVÁ, J.; VOSÁTKA, M. 2001. 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*. 18, 129-142.
- MARSCHNER, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2. Ed. New York: Academic Press. 889p.
- MELIS, A.; SPANGFORT, M.; ANDERSSON, B. 1987. Light-absorption and electron transport balance between photosystem II and photosystem I in spinach chloroplasts. *Photochemistry and Photobiology*. 45, 129-136.
- MICHALAK, A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*. 15, 523-530.

- MISHRA, S.; DUBEY, R.S. 2005. Heavy metal toxicity induced alterations in photosynthetic metabolism in plants. *Cap 44. In: Pessaraki. M. (ed.) Handbook of Photosynthesis. 2 ed. 862 p.*
- MITTLER, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci. 7, 405-410.*
- MORAES, R. M.; DELLITI, B.C.; DE MORAES, J.A.V.P. 2000. Fotossíntese líquida e crescimento de *Tibouchina pulchra* Cogn. nas proximidades de indústrias petroquímicas em Cubatão, SP. *Hoehnea. 27, 77-85.*
- MORISON, J. I. L.; GIFFORD, R. M. 1984. Plant growth and water use with limited water supply in high CO<sub>2</sub> concentrations. I. Leaf area, water use and transpiration. *Functional Plant Biology. 11, 361-374.*
- NOCTOR, G.; FOYER, C.H. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 49, 249-279.*
- OLIVEIRA, C. R. M.; OLIVA, M. A.; PEREIRA, E. G. 2007. Efeito do material particulado de ferro no teor de pigmentos de *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Revista Brasileira de Biociências. 5, 681-683.*
- O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. *Protoplasma. 59, 368-373*
- PEREIRA, E. G. 2009. Efeito tóxicos do ferro: alterações fisiológicas e morfológicas em plantas cultivadas e de restinga. Tese de doutorado. Universidade Federal de Viçosa, MG.
- PEREIRA, E. G.; OLIVA, M. A.; KUKI, K. N.; CAMBRAIA, J. 2009. Photosynthetic changes and oxidative stress caused by iron ore dust deposition in the tropical CAM tree *Clusia hilariana*. *Trees. 23, 277-285.*
- PEREIRA, E. G.; OLIVA, M. A.; ROSADO-SOUZA, L.; MENDES, G. C.; COLARES, D. S.; STOPATO, C. H.; ALMEIDA, A. M. 2013. Iron excess affects rice photosynthesis through stomatal and non-stomatal limitations. *Plant Sci. 201-202, 81-92.*
- PUGH, R. E.; DICK, D. G.; FREDEEN, A. L. 2002. 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, 273-279.*
- RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science. 180, 169-181.*
- REICH, P. B.; HOBBIIE, E. A., LEE, E. S.; ELLSWORTH, D. S. 2006. Nitrogen limitation constrains sustainability of ecosystem response to CO<sub>2</sub>, *Nature. 440, 922-925.*

- REID, D.M.; BEALL, F.D.; PHARIS, R.P. 1991. Environmental cues in plant growth and development. *Plant Physiology—A Treatise*. 10, 65-181.
- SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. 1998. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. 2, 287-294.
- SCHUTZENDUBEL, A.; POLLE, A. 2002. Plants responses to abiotic stressas: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of Experimental Botany*. 53, 1351-1365.
- SCALON, S.D.P.; MUSSURY, R.M.; RIGONI, M.R.; VERALDO, F. 2002. Crescimento inicial de mudas de espécies florestais nativas sobdiferentes níveis de sombreamento. *Revista árvore*. 26, 1-5.
- SILVA, G. P.; FONTES, M. P. F.; COSTA, L. M.; VENEGAS, V. H. A. 2006. 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.
- SILVA, J. B. L.; FERREIRA, P.A.; PEREIRA, E. G.; COSTA, L. C.; MIRANDA, G. V. 2012. Development of experimental structure and influence of high CO<sub>2</sub> concentration in maize crop. *Eng. Agric., Jaboticabal*. 32, 306-314.
- SOUZA, A. P.; GASPAR, M.; SILVA, E. A.; ULIAN, E. C.; WACLAWOVSKY, A. J.; NISHIYAMA, M. Y. JR. 2008. Elevated CO<sub>2</sub> increases photosynthesis, biomass and productivity, and modifies gene expression in sugarcane. *Plant, Cell & Environment*. 31, 1116-1127.
- SOUZA-SANTOS, P.; RAMOS, R.S.; FERREIRA, S.T.; CARVALHO-ALVES, P.C. 2001. Iron induced oxidative damage of corn root plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase. *BiochimicaetBiophysicaActa*. 1512, 357-366.
- SREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W. D.; HECKTHEUER, L. H. H. 2005. The chlorophylls. *Ciência Rural*. 35, 748-755.
- STITT, M. Rising CO<sub>2</sub> levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. *Plant, Cell & Environment*, v. 14, n. 8, p. 741- 762, 1991.
- SUH, H.; KIM, C. S.; LEE, J.; JUNG, J. 2002. Photodynamic effect of iron excess on photosystem II function in pea plants. *Photochemistry and Photobiology*. 75, 513-518.
- TSAI, T.; HUANG, H. 2006. Effects of iron excess on cell viability and mitogen-activated protein kinase activation in rice roots. *PhysiologiaPlantarum*. 127, 583–592.

- VANSUYT, G.; LOPEZ, F.; INZÉ, D.; BRIAT, J.F.; FOURCROY, P. 1997. Iron triggers a rapid induction of ascorbate peroxidase gene expression in *Brassic napus*. FEBS Letter.410, 1195-1200.
- VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. 2000. Oxidative stress and some antioxidant system in acid rain treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. Plant Sci. 151, 59–66.
- ZISKA, L. H & BUNCE, J. A. 1999. Effect of elevated carbon dioxide concentration at night on the growth and gas exchange of selected C<sub>4</sub>species. Aust. J. Plant Physiol. 26, 71-77.
- WATMOUGH, S. A.; HUTCHINSON, T. C.; EVANS, R. D. 1999. The distribution of <sup>67</sup>Zn and <sup>210</sup>Pb applied to white spruce foliage at ambient concentrations under different pH regimes. Environ Exp Bot. 41, 83-92.
- WULLSCHLEGER, S.D.; NORBY, R.J.; HENDRIX, D.L.1992. Carbon exchange rates, chlorophyll content, and carbohydrate status of two forest tree species exposed to carbon dioxide enrichment. Tree Physiology. 10,21-31.

## CAPITULO II

### ESTRESSORES ABIÓTICOS LIMITANTES NO ESTABELECIMENTO DE PLANTAS EM ÁREA DEGRADADA POR MINERAÇÃO DE FERRO

#### RESUMO

Durante a exploração do minério de ferro ocorrem grandes modificações no ambiente natural, resultando em limitações ao estabelecimento de plantas no processo de revegetação. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar as respostas fisiológicas das espécies presentes em ambiente degradado pela deposição de estéréis de mineração por ferro e em campo ferruginoso próximo, a fim de se identificar os principais estressores abióticos que limitam a colonização desse ambiente e selecionar marcadores fisiológicos de resistência. O trabalho foi desenvolvido na mina Retiro das Almas, município de Ouro Preto, MG. Em julho de 2015 (estação seca), foram selecionados dois ambientes: pilha de estéril e campo ferruginoso. Foram delimitados 20 quadrantes por ambiente e selecionado quatro espécies de plantas em cada local. Na pilha de estéril foram selecionadas: *Andropogon bicornis* L., *Melinos minutiflora* P. Beauv., *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC e *Baccharis reticularia* DC. No campo ferruginoso, além de *A. satureioides* e *B. reticularia*, foram selecionadas *Paspalum guttatum* Trin. e *Echinolaena inflexa* (Poir.) Chase. Os maiores valores de clorofila *b* e clorofila *total*, ocorreram no campo ferruginoso, que apresentou também menores valores de *quenching* fotoquímico (qL) e coeficiente de dissipação não-fotoquímico (NPQ). As plantas ocorrentes na pilha de estéril apresentaram os maiores valores de dissipação não regulada de energia ( $\phi_{NO}$ ). Não houve diferença entre as distintas áreas para os valores de fluorescência máxima ( $F_0$ ), eficiência quântica máxima do FSII ( $F_v/F_m$ ), rendimento quântico efetivo do PSII ( $\phi_{II}$ ), dissipação regulada de energia ( $\phi_{NPQ}$ ), taxa de transporte de elétrons (ETR). Considerando os resultados da análise de solo, foi possível inferir que o excesso de ferro e demais metais pesados não são os principais fatores limitantes para o estabelecimento das espécies na pilha de estéril da mina estudada. As principais limitações podem ser consideradas as baixas concentrações de macronutrientes, principalmente potássio (K) e de matéria orgânica no

solo. As espécies apresentaram efetivo controle dos níveis de  $H_2O_2$  e MDA, que indica eficiente mecanismo na eliminação de EROS ou mecanismos de neutralização dos metais pesados de forma a não causar danos severos às plantas. As espécies *A. satureioides* e *B. reticularia*, por apresentarem grande desempenho fotoquímico (pigmentos fotossintetizantes,  $F_v/F_m$ ,  $\phi_{NPQ}$ , NPQ) mesmo sob elevados teores de metais em seus tecidos (Fe, Mn, Zn, Cu e Cd), podem favorecer a incorporação do ambiente impactado no ecossistema circundante.

**Palavras-chave:** campo ferruginoso, dissipação regulada de energia, mineração de ferro, resistência.

## ABSTRACT

During the exploitation of iron ore there have been major changes in the natural environment, resulting in limitations on the establishment of plants in the revegetation process. In this context, the objective of this study was to evaluate the physiological responses of species in degraded environment by deposition of iron in mining sterile and ferruginous field next, in order to identify the main abiotic stressors that limit the colonization of this environment and select markers physiological resistance. The study was conducted in Retiro mine of Souls, Ouro Preto, MG. July 2015 (dry season) were selecionas two areas: waste dump and ferruginous field. 20 quarters were defined environment and by four species of plants selected at each location. The waste dump were selected: *Andropogon bicornis*L., *Melinos minutiflora*P. Beauv, *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC and *Baccharis reticularia* DC. In ferruginous fields, in addition to *A. satureioides* and *B. reticularia* were selected *Paspalum guttatum* Trin. and *Echinolaena inflexa* (Poir.) Chase. Overall, no significant differences were observed for chlorophyll levels and the ratio of chlorophyll *a/b* between species from different areas. However, the major chlorophyll b values and total chlorophyll, rust occurred in the field, which also had lower photochemical quenching (qL) and dissipation coefficient non-photochemical (NPQ). The occurring plants in sterile cell showed the highest dissipation values unregulated energy ( $\phi_{NO}$ ). There was no difference between the different areas for maximum fluorescence values ( $F_0$ ), maximum quantum efficiency of PSII ( $F_v/F_m$ ), effective quantum yield of PSII ( $\phi_{II}$ ), regulated power dissipation ( $\phi_{NPQ}$ ), transport fee electrons (ETR). The excess iron and other heavy metals are not the main limiting factors for establishing the species in the waste dump of the studied mine. The primary limitations may be considered low concentrations of nutrients, especially potassium (K) and organic matter in the soil. The species showed effective control of  $H_2O_2$  and MDA levels, indicating efficient mechanism in the elimination or neutralization of ROS mechanisms of heavy metals so as not to cause severe damage to plants. The species in common between the two areas, *A. reticularia* and *B. satureioides* for present high performance photochemical (photosynthetic pigments,  $F_v/F_m$ ,  $\phi_{NPQ}$ , NPQ) even under high amounts of metals in their tissues (Fe, Mn, Zn, Cu and Cd) may favor the incorporation of the impacted environment surrounding ecosystem.

**Keywords:** iron mining, ferruginous field strength, regulated power dissipation.

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui 7,1% das reservas mundiais de minério de ferro do mundo e encontra-se em quinto lugar entre os países com maiores jazidas (Araújo et al., 2008). O quadrilátero ferrífero na região Sudeste do País é um local com inúmeras cavas e usinas de beneficiamento de minério de ferro, que apresentam alto potencial para exploração e expansão de novas áreas de extração (DMPM, 2008).

Durante a exploração do minério de ferro ocorrem grandes modificações no ambiente original. Inicialmente, ocorre o decapeamento da área e retirada do material que não apresenta potencial econômico para beneficiamento. Esse material é denominado estéril e é depositado em pilha no entorno da mina. Ao alcançar a rocha matriz, com alto valor econômico, para a retirada do minério de ferro, a mesma é extraída e direcionada para a usina de beneficiamento, onde o material passa por diversos processos que ao fim origina-se pelotas que é agregada comercialmente (Ibama, 1990; Abrahão e Mello, 1998; Silva, 2011). Para a extração do ferro presente na rocha há alto consumo de água e utilização de produtos químicos, gerando volumes altos de resíduos que são depositados em barragens de rejeitos. Tanto a pilha de estéril, quanto as barragens de rejeitos são resíduos da exploração de minério de ferro e modificam, de forma considerável, o ambiente natural, com desmatamento e modificação dos relevos originais (Silva et al., 2006). Além de frequentemente ocorrer contaminação da água pelo ferro (Cordeiro, 2002). Desta forma, além do impacto visual decorrente da abertura da cava, existe também o impacto ambiental em função das mudanças no ambiente natural e expansão de áreas degradadas.

Em ambientes degradados pela atividade de mineração, a colonização a partir da vegetação circundante é baixa e a sucessão natural é lenta (Malcová et al., 2001; Silva et al., 2006), devido a características físicas do substrato, com alta densidade, porosidade e granulometria constituída de partículas finas, principalmente areia, o que confere ao solo, baixa capacidade de retenção de água (Silva et al., 2006). E as características químicas como quantidade reduzida de matéria orgânica e nutrientes, baixo pH e presença de metais pesados (Libenberg et al., 2013), o que limita o estabelecimento de plantas neste ambiente. Poucas espécies de angiospermas (menos 0,2%) são capazes de tolerar e acumular altas concentrações de ferro em seus tecidos (Rascio e Navari-Izzo, 2011).

Algumas plantas são capazes de se desenvolver em ambientes degradados pela mineração de ferro com elevados níveis deste metal e resíduos de outros metais pesados, pois apresentam alguns mecanismos de resistência. Dentre estas, existem plantas hiperacumuladoras, que absorvem concentrações elevadas de metais pesados do solo, translocando-os e acumulando-os na parte aérea, principalmente nas folhas possibilitando altas concentrações do poluente em seus tecidos. As hiperacumuladoras codificam proteínas importante no transporte e homeostase do metal (Hall, 2002). Além disso, Os mecanismos de desintoxicação/sequestrantes em órgãos aéreos de hiperacumuladoras consistem principalmente na complexação de metais pesados com ligantes e/ou em sua remoção do citoplasma metabolicamente ativo, movendo-os para compartimentos inativos, principalmente vacúolos e paredes celulares. Nos vacúolos, os metais são ligados a ácidos orgânicos, que tem o papel de desintoxicantes e são compartimentalizados. A estratégia de evitação envolve mecanismos de aprisionamento em ambiente apoplástico, ligando os metais pesados a ácidos orgânicos e na parede celular (Hall, 2002). Grande parte dos metais pesados absorvidos pela na planta, são mantidos em células das raízes, onde são complexados com os ácidos aminados, ácidos orgânicos ou peptídeos de ligação ou isolados em vacúolos, restringindo enormemente a translocação para os tecidos foliares evitando danos à maquinaria fotossintética (Hall, 2002). As estratégias empregadas variam entre as espécies, e em função do tipo e da intensidade do agente estressor.

Em ambientes degradados por mineração, as plantas estão sujeitas a diversos estresses abióticos, desde altas concentrações de ferro e metais pesados, a déficit nutricional. Isso pode favorecer a absorção excessiva de metais pesados, desencadeando toxidez às plantas (Williams et al., 2000; Pugh et al., 2002; Ducic e Polle, 2005; Broadley et al., 2012), com alterações no processo fotossintético e no acúmulo de biomassa das plantas (Neves et al., 2009; Pereira et al., 2013), principalmente quando associado à déficit hídrico e alta irradiância. Entretanto, existem plantas que mesmo em ambientes degradados pela exploração de ferro, são capazes de sobreviver e colonizar áreas expostas às condições adversas.

O emprego de variáveis fotossintéticas como trocas gasosas, fluorescência da clorofila *ae* teores de clorofila podem fornecer informações seguras, rápidas, quantitativas, não invasivas e não destrutivas de alterações no metabolismo vegetal, previamente à detecção de sintomas visuais (Pereira et al., 2013). Estas informações são fundamentais na compreensão das respostas do vegetal aos estressores e na prospecção

de novas espécies a serem utilizadas na revegetação de áreas impactadas pela mineração. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar as respostas fisiológicas das espécies presentes em ambiente degradado pela deposição de estéréis de mineração por ferro e em campo ferruginoso próximo, a fim de se identificar os principais estressores abióticos que limitam a colonização desse ambiente e selecionar marcadores fisiológicos de resistência.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1. Área de Estudo e implantação do experimento

O experimento foi realizado na mina Retiro das Almas, pertencente à VALE S.A, localizada no município de Ouro Preto-MG(20°25'12,6'' S e 43° 52' 53'' W), altitude 1.199m. Por ser uma antiga cava predatória, esta mina de extração de minério de ferro encontra-se desativada há dez anos. Ao entorno da mina, foram formadas pilhas de estéril, onde ocorreu a tentativa de revegetação com as espécies *Mimosa scabrella* Benth, *Melinis minutiflora*, *Crotalaria* sp., *Sthylosantes* sp. e *Brachiaria* sp. O clima dominante da região, de acordo com a classificação de Köpper é do tipo Cwa, com verão quente e chuvoso e inverno seco e com temperaturas mais baixas. A precipitação média anual da região equivale a 967mm, a temperatura média é de 20,9°C com temperatura média mínima de 15°C e temperatura média máxima a 26°C (INMET, 2015). A área do município se estende por 304,067Km<sup>2</sup> sendo o domínio vegetacional de Mata Atlântica (Ibge, 2015).

Para implantação do experimento foram selecionados dois ambientes na área da mineradora, sendo um na pilha de estéril (PE) e outro no campo ferruginoso (CF) adjacente. No campo ferruginoso e na pilha de estéril foi estabelecida uma área de 50x20 m<sup>2</sup>, onde foram demarcadas quatro parcelas (50x5 m<sup>2</sup>) com cinco subparcelas (2x1 m<sup>2</sup>) por parcela. A distância entre as subparcelas ao longo da parcela foi selecionada aleatoriamente, sendo determinada distância mínima de 5m.

As subparcelas (total de 20 em cada área) foram utilizadas para as determinações de grau de cobertura do solo, abundância de espécies vegetais e análise do solo. Em cada ambiente também foram selecionadas espécies vegetais para as avaliações fisiológicas, conforme descrito a seguir.

**Tabela 1:** Banco de dados de Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) da estação automática A513 de Ouro Branco no período de seca.

Temperatura (°C)		Umidade (%)		Pressão		Rad. (KJm <sup>2</sup> )	Precip. (mm)
Max	Min	Max	Min	Max	Min		
18,31	16,95	73,09	67,3	903,09	902,66	555198,38	0,026

Os dados são médias dos meses de junho, julho e agosto de 2015.

## 2.2. Material Vegetal

Nas áreas selecionadas na pilha de estéril e campo ferruginoso, foram escolhidas quatro espécies herbáceo-arbustivas em função da abundância, sendo duas comuns entre as áreas. Na pilha de estéril foram selecionadas: *Andropogon bicornis* L., *Melnes minutiflora* P. Beauv, *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC e *Baccharis reticularia* DC. No campo ferruginoso, além de *A. satureioides* e *B. reticularia*, foram selecionadas *Paspalum guttatum* Trin. e *Echinolaena inflexa* (Poir.) Chase.

### 2.2.1. Caracterização das espécies

*Melnes minutiflora*, conhecida popularmente como capim-gordura, pertence à família Poaceae (Oliveira, 1974). Nativa da África, esse gênero possui cerca de 15 a 20 espécies (Bogdan, 1977), sendo apenas *M. minutiflora* introduzida no território brasileiro. Essa espécie se caracteriza pela capacidade de adaptação aos mais diversos tipos de solo, possuindo alta produção de sementes férteis. *M. minutiflora* é uma planta perene, herbácea, C<sub>4</sub>. A sua propagação pode ser feita tanto vegetativamente ou por meio de sementes (Bogdan, 1977). Essa espécie é considerada uma invasora extremamente agressiva, capaz de descaracterizar em poucos anos a fitofisionomia nativa (Filgueiras, 1990).

*Echinolaena inflexa*, conhecido popularmente como capim flechinha é uma gramínea pertencente à família Poaceae, nativa do cerrado brasileiro, com ampla distribuição geográfica (Munhoz e Felfiti, 2006), e ocorrência em áreas degradadas e modificadas pelo fogo (Aires, 2009). Possui características adequadas para o uso em recuperação de áreas degradadas, como: alta abundância em diferentes condições edafoclimáticas, alta produção de biomassa (Souza et al., 2005) e rápida taxa de colonização de áreas. *E. inflexa* é uma gramínea que apresenta metabolismo fotossintético do tipo C<sub>3</sub>, perene e pode atingir de 20 a 50 cm de altura, com formação de grandes touceiras. A

pluviosidade possui grande influencia no aumento do número de folhas e biomassa dessa espécie (Silva e Klink, 2001). A produção de suas sementes inicia-se na época chuvosa finalizando na estação seca e sua taxa de germinação é considerada baixa, de 0 a 25% (Giotto, 2010).

*Andropogon bicornis*, conhecido como capim rabo-de-burro pertencente à família Poaceae, é considerado uma espécie nativa das Américas, ocorrente do México até a Argentina. No Brasil, ocorre no Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste (Zanin e Longhi-Wagner, 2006). Sua floração ocorre de dezembro a abril, permanecendo com frutos até julho. A dispersão ocorre via anemocórica. *A. bicornis* é uma espécie que adequada a diferentes condições físicas do solo. É uma espécie herbácea com fundamental importância no início do desenvolvimento da vegetação secundária, desaparecendo nos estágios da capoeira e capoeirão (Citadini-Zanette, 1992).

*Achyrocline satureioides*, conhecida popularmente como marcela, pertencente à família Asteraceae, Gnaphalieae, nativa do Brasil, distribuída nos domínios fitogeográficos do cerrado, mata atlântica e pampa, em vegetações de áreas antrópicas, campo de altitude, campo limpo, campo rupestre e restinga. É uma espécie que apresenta forma de vida de erva e terrícola (Loeuille e Monge, 2014)

*Baccharis reticularia* pertencente à família Asteraceae, apresenta porte arbustivo de 1 a 2 m de altura, ereto e ramificado. Sua distribuição geográfica no Brasil se estende da Bahia a Santa Catarina, sendo encontrada em campo rupestre, campo de altitude, cerrado, mata atlântica e restinga. Essa espécie é fértil durante todo o ano (Barroso, 1976; Oliveira e Marchiori, 2006).

*Paspalum guttatum*, pertencente à família Poaceae, é considerado uma espécie nativa e endêmica do Brasil, ocorrente no Centro-Oeste, Sudeste e Sul, encontradas em domínios de Cerrado e Mata Atlântica em Campos rupestres e cerrado lato sensu. Possui hábito perene e rizomas alongados (Marrone et al., 2004).

## **2.3. Variáveis avaliadas**

### **2.3.1. Fluorescência da clorofila *a***

Foram efetuadas medições das variáveis de fluorescência da clorofila *a*, no período de 10 as 15h, conforme descrito no capítulo 1.

### **2.3.2. Índices de clorofila**

As medidas de clorofila foram feitas conforme descrito no capítulo 1.

### **2.3.3. Determinação dos teores de malonaldeído (MDA)**

Os teores de MDA foram estimados segundo metodologia proposta por Hodges et al., 1999, conforme descrito no capítulo 1.

### **2.3.4. Determinação dos teores de peróxido de hidrogênio H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Os teores de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foram estimados segundo metodologia proposta por Velikova et al., 2000, conforme descrito no capítulo 1.

### **2.3.5. Determinação da composição química do solo**

Para determinação da composição química do solo, foram coletadas uma amostra de cada parcela experimental (totalizando 20 amostras no CF e 20 na PE), com profundidade de 0-5 cm. As amostras foram analisadas conforme descrito no capítulo 1.

### **2.3.6. Análise de elementos minerais nas folhas**

Para a determinação dos elementos minerais nas folhas, foram coletados seis indivíduos de cada espécie e as amostras enviadas para o laboratório de análise de solo, tecido vegetal e fertilizantes da Universidade Federal de Viçosa para determinação das análises: P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Zn, Mn, B, Ni, Pb, Cd, Cr.

### **2.3.7. Cobertura vegetal do solo e diversidade de espécies**

Para a determinação do grau de cobertura vegetal do solo, foram realizadas fotografias de cada parcela utilizando câmara fotográfica (Fujifilm Finepix JX280). Para a captura das imagens em campo a câmara foi acoplada a um tripé de forma que a câmara sempre permanecia perpendicular à parcela fotografada. O posicionamento do tripé foi feito de acordo com a altura que capturasse da melhor forma possível a área de interesse, sendo irrelevantes pequenas inclinações que pudesse ocorrer à medida que mudava o posicionamento do sol. Como a medição da área de uma imagem é feita através da contagem de pixels, para que o posicionamento do tripé não dê interferência, foi utilizada uma circunferência de diâmetro conhecido (8 cm) no solo, como objeto referência (Mendes, 2008). Para trabalhar as imagens foi utilizado o programa Adobe Photoshop CC 2015, onde foi determinada a porcentagem de cobertura vegetal de cada parcela.

Para identificação das espécies existentes nas parcelas nos ambientes de campo ferruginoso e pilha de estéril, foram utilizadas tesouras de poda para coleta da parte aérea e confecção e exsiccatas (as coletas das plantas foram realizadas ao entorno das parcelas). A diversidade foi realizada a partir da contagem do número de espécie em cada ambiente.

A identificação nas espécies foi feita por meio de consulta a especialistas e comparação com exsiccatas do acervo do herbário do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (BHCB), onde as espécies testemunhas foram depositadas.

#### **2.4.Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Todos os dados foram submetidos à análise variância (ANOVA) e a teste de média (Tukey  $P < 0,05$ ), com seis repetições, utilizando o programa estatístico R. Para que fossem seguidas as pressuposições estatísticas os dados de  $\phi_{II}$ , MDA,  $H_2O_2$  (campo ferruginoso);  $H_2O_2$  (pilha de estéril);  $F_0$  (*A. saturoioides*);  $H_2O_2$  (*B. reticularia*); Cu, Cr, Cd, S, B,  $Mg^{2+}$ , t, m, MO, pH KCl, K (análise de solo) foram transformados.

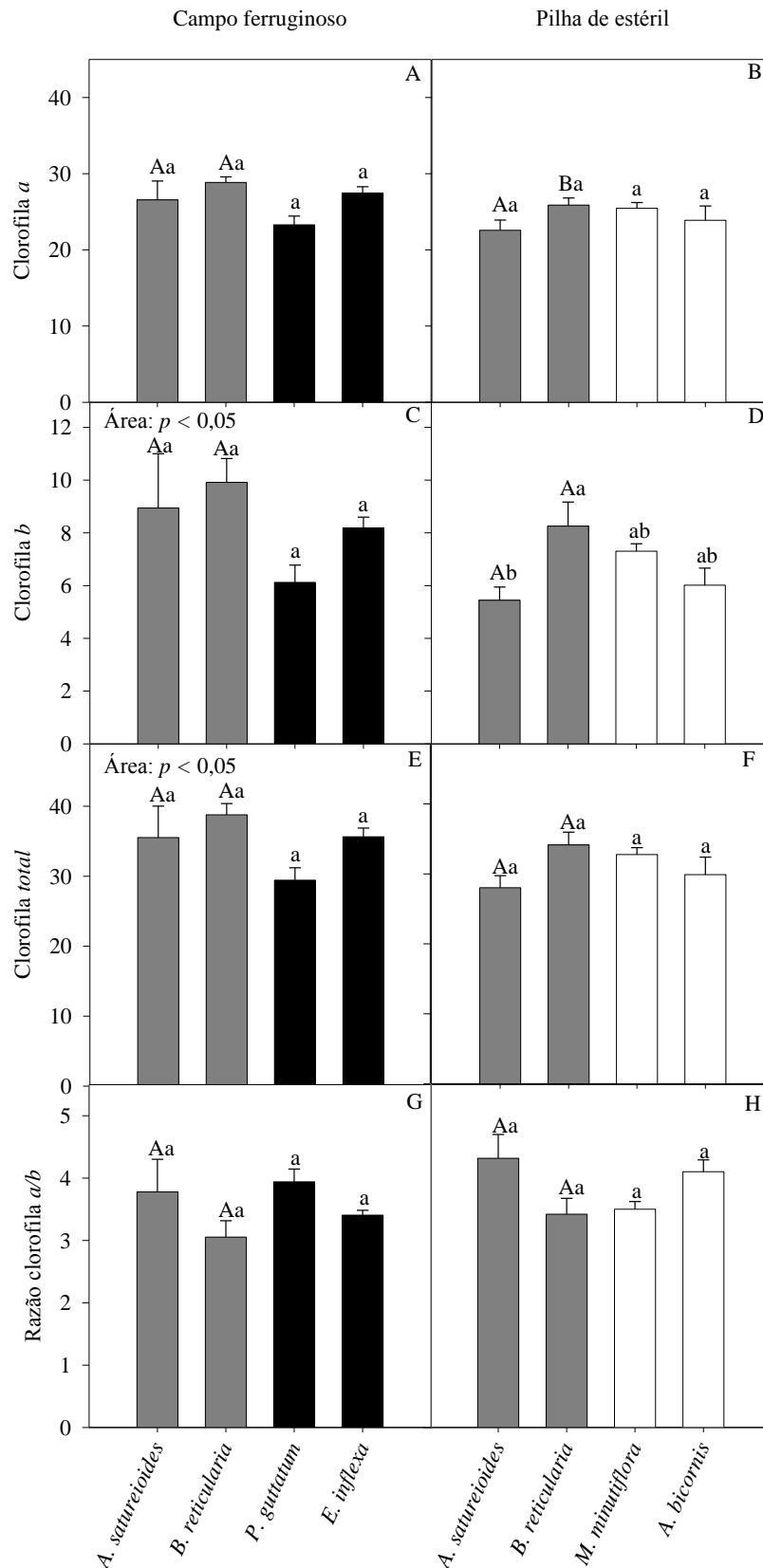
Também foi realizado análise de componentes principais correlacionaram os dados de  $F_0$ ,  $F_v/F_m$ ,  $\phi_{II}$ ,  $\phi_{NPQ}$ ,  $\phi_{NO}$ , qL, NPQ, ETR, clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila *total*, razão clorofila *a/b*, MDA e  $H_2O_2$ , através do programa estatístico R.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Alterações nas variáveis fisiológicas em plantas em resposta ao ambiente degradado por mineração de ferro.

No geral, não foram observadas diferenças significativas para os índices de clorofila *a* e razão clorofila *a/b* entre as distintas áreas. Entretanto, para clorofila *b* e clorofila *total* foram observados os maiores valores para as plantas do campo ferruginoso (Fig. 1).

Não foi observada alteração significativa nos índices de clorofila *a* entre as espécies avaliadas no campo ferruginoso, ou entre as espécies avaliadas na pilha de estéril (Fig. 1A e B). Entretanto, quando se comparou os índices de clorofila *a* presentes em *B. reticularia*, foi observada redução em seus valores em plantas cultivadas na pilha de estéril (Fig. 1A e B). Para os índices de clorofila *b*, não foi observada diferença significativa entre as espécies presentes no campo ferruginoso (Fig. 1C). No entanto, na pilha de estéril *B. reticularia* apresentou os maiores índices de clorofila *b*, em relação à *M. minutiflora*, *A. bicornis* e *A. satureioides* que não diferiram entre si (Fig. 1D). Os índices de clorofila *total* e razão clorofila *a/b* entre as espécies comuns no campo ferruginoso e na pilha de estéril não diferiram significativamente entre si (Fig. 1E, F, G e H).

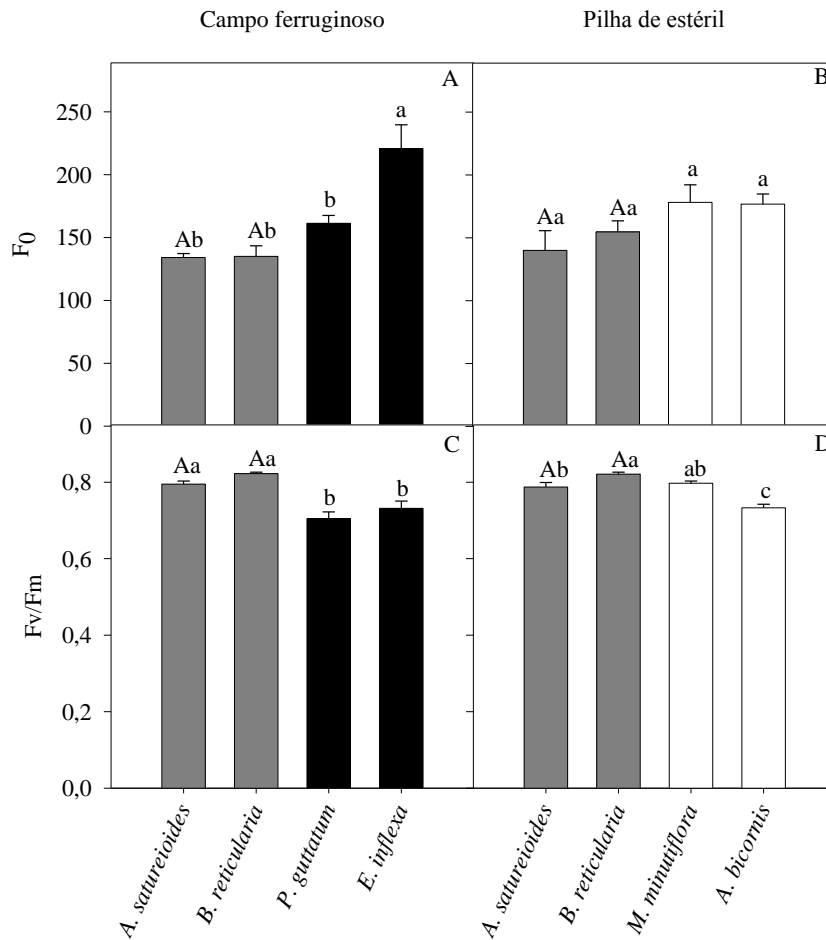


**Figura 1:** Índices de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila *total* e razão clorofila *a/b* em plantas de *A. bicornis*, *M. minutiflora*, *A. saturoioides* e *B. reticularia*, *E. inflexa*, e *P. guttatum*. Colunas pretas representam espécies exclusivas do campo ferruginoso;

colunas brancas representam espécies exclusivas da pilha de estéril; colunas cinzas representam espécies encontradas em ambas as áreas. As barras representam as médias  $\pm$  erro padrão de seis repetições. Letras minúsculas comparam as espécies em cada área distinta e letras maiúsculas comparam as espécies comuns em ambas às áreas pelo teste Tukey ( $p < 0.05$ ).

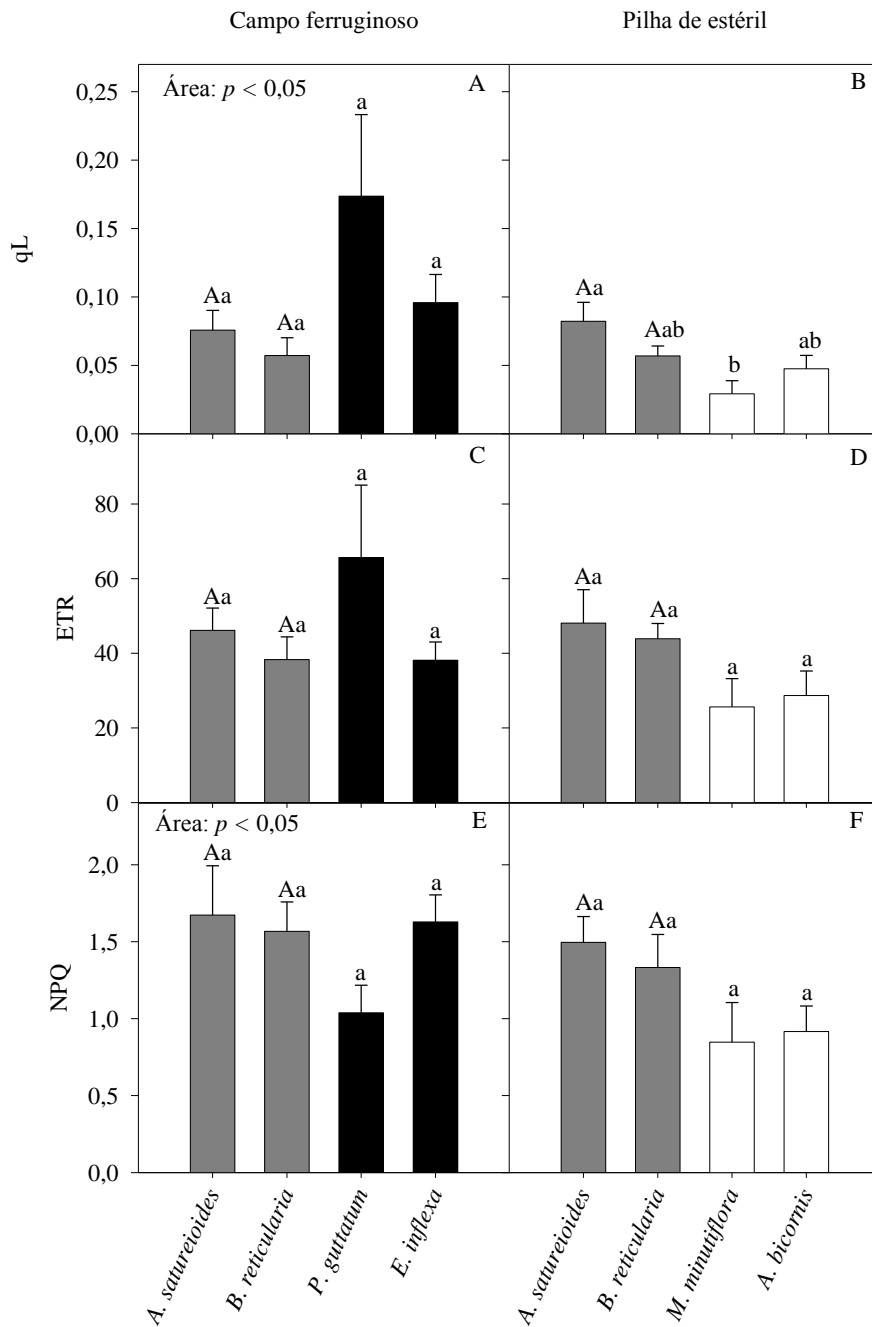
Não foi observada diferença significativa entre as áreas, independente das espécies para os valores de  $F_0$ . Também não foi observado diferença entre as espécies presentes na pilha de estéril (Fig. 2B). Entretanto, no campo ferruginoso *E. inflexa* apresentou os maiores valores, diferenciando das demais espécies avaliadas no local (Fig. 2A).

Não foi observada diferença significativa entre as áreas, independente das espécies para os valores de  $F_v/F_m$ . Entretanto, no campo ferruginoso, as espécies *A. satureioides* e *B. reticularia* apresentaram maiores valores de  $F_v/F_m$ , diferenciando de *P. guttatume* e *E. inflexa* (Fig. 2C). Na pilha de estéril, *A. bicornis* apresentou os menores valores de  $F_v/F_m$ , enquanto *B. reticularia* os maiores (Fig. 2D). Não houve diferença significativa entre as espécies comuns em ambas as áreas para os valores de  $F_0$  e  $F_v/F_m$  (Fig. 2A, B, C e D).



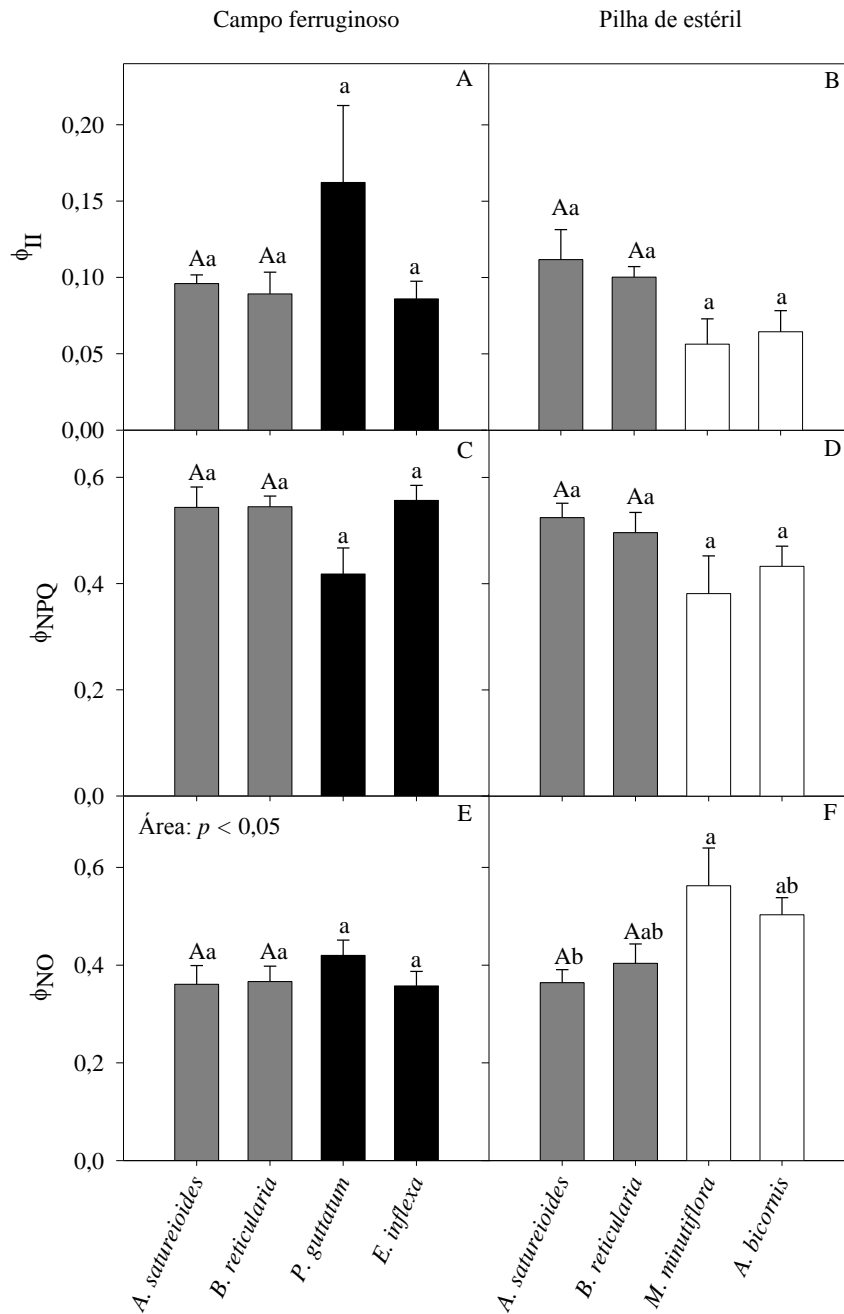
**Figura 2:** Fluorescência mínima ( $F_0$ ) e eficiência quântica máxima do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) de *A. bicornis*, *M. minutiflora*, *A. saturoioides* e *B. reticularia*, *E. inflexa*, e *P. guttatum*. Colunas pretas representam espécies exclusivas do campo ferruginoso; colunas brancas representam espécies exclusivas da pilha de estéril; colunas cinzas representam espécies encontradas em ambas as áreas. As barras representam as médias  $\pm$  erro padrão de seis repetições. Letras minúsculas comparam as espécies em cada área distinta e letras maiúsculas comparam as espécies comuns em ambas as áreas pelo teste Tukey ( $p < 0.05$ ).

Os valores de *quenching* fotoquímico ( $q_L$ ) e coeficiente de dissipação não-fotoquímica (NPQ), no geral, foram maiores no campo ferruginoso em relação a pilha de estéril (Fig. 3). Não foram observadas diferenças significativas entre as espécies comuns no campo ferruginoso e na pilha de estéril para os valores de  $q_L$ , taxa de transporte de elétrons (ETR) e NPQ (Fig. 3). Entretanto, na pilha de estéril *A. saturoioides* apresentou maior  $q_L$ , diferindo significativamente de *M. minutiflora*, com os menores valores (Fig. 3F).



**Figura3:** Quenching fotoquímico (qL), taxa aparente de transporte de elétrons (ETR), quenching não fotoquímico (NPQ) de *A. bicornis*, *M. minutiflora*, *A. saturreioides* e *B. reticularia*, *E. inflexa*, e *P. guttatum*. Colunas pretas representam espécies exclusivas do campo ferruginoso; colunas brancas representam espécies exclusivas da pilha de estéril; colunas cinzas representam espécies encontradas em ambas as áreas. As barras representam as médias  $\pm$  erro padrão de seis repetições. Letras minúsculas comparam as espécies em cada área distinta e letras maiúsculas comparam as espécies comuns em ambas às áreas pelo teste Tukey ( $p < 0.05$ ).

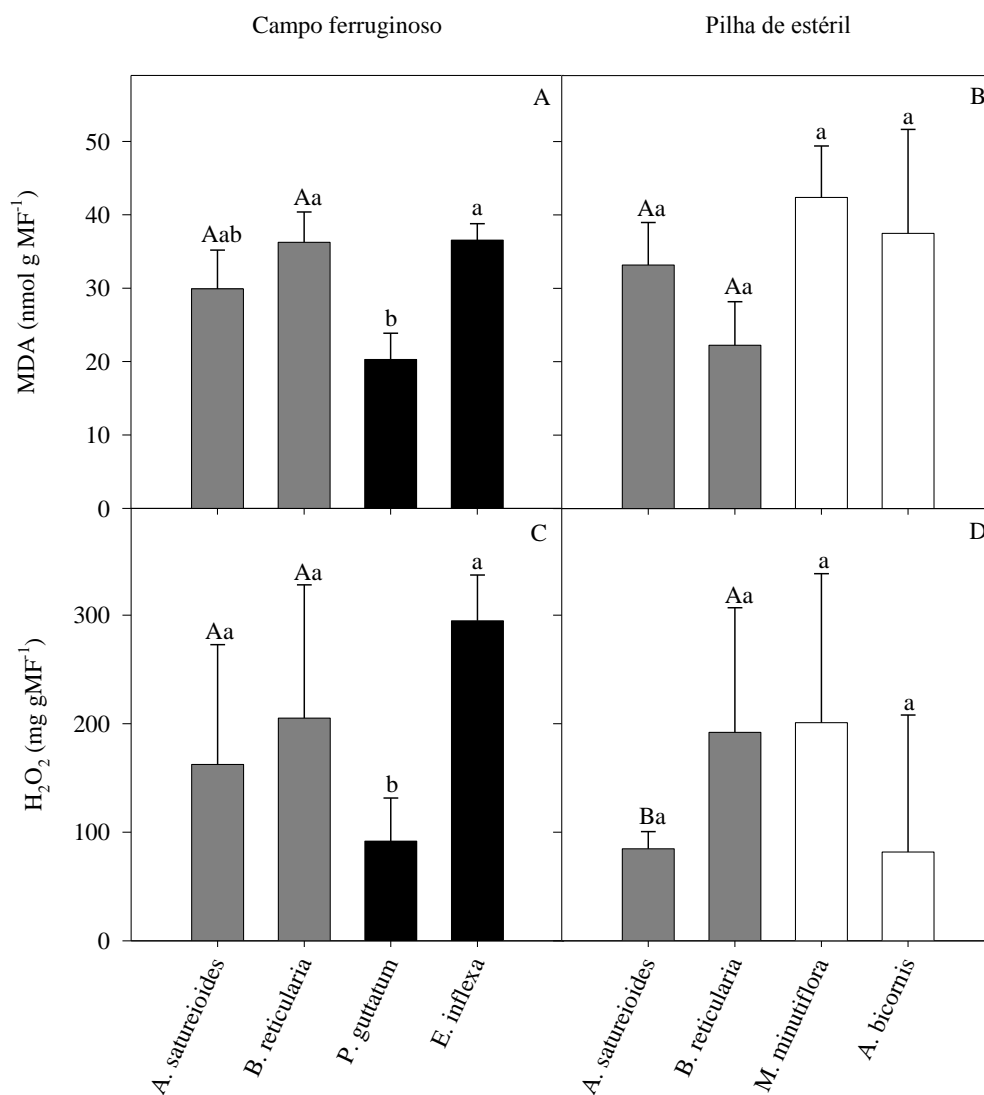
Os valores de rendimento quântico efetivo do PSII ( $\phi_{II}$ ), rendimento quântico de dissipação não-regulada de energia não-fotoquímica do FSII ( $\phi_{NO}$ ), rendimento quântico de dissipação regulada de energia não-fotoquímica do FSII ( $\phi_{NPQ}$ ) (Fig. 4) não diferiram significativamente entre as espécies comuns na pilha de estéril e no campo ferruginoso. Apenas *M. minutiflora* apresentou os maiores valores de  $\phi_{NO}$  entre as plantas da pilha de estéril (Fig. 4F).



**Figura 4:** Rendimento quântico do efetivo do PSII ( $\phi_{II}$ ), rendimento quântico de dissipação regulada de energia não-fotoquímica do FSII ( $\phi_{NPQ}$ ), rendimento quântico de

dissipação não-regulada de energia não-fotoquímica do FSII ( $\phi_{NO}$ ) de *A. bicornis*, *M. minutiflora*, *A. saturoioides* e *B. reticularia*, *E. inflexa* e *P. guttatum*. Colunas pretas representam espécies exclusivas do campo ferruginoso; colunas brancas representam espécies exclusivas da pilha de estéril; colunas cinzas representam espécies encontradas em ambas as áreas. As barras representam as médias  $\pm$  erro padrão de seis repetições. Letras minúsculas comparam as espécies em cada área distinta e letras maiúsculas comparam as espécies comuns em ambas às áreas pelo teste Tukey ( $p < 0.05$ ).

Os teores de malonaldeído (MDA) e peróxido ( $H_2O_2$ ), no geral, não apresentaram diferença significativa entre as áreas de campo ferruginoso e pilha de estéril (Fig. 5). No entanto, *P. guttatum* apresentou os menores valores de MDA entre as espécies presentes no campo ferruginoso (Fig. 5A). Na pilha de estéril não houve diferença significativa entre as espécies (Fig. 5B). Em relação às espécies comuns em ambas as áreas, as mesmas não apresentaram diferença significativa (Fig. 5). *P. guttatum* apresentou os menores teores de  $H_2O_2$ , diferenciando significativamente das demais espécies presentes no campo ferruginoso (Fig. 5C). Na pilha de estéril não houve diferenças significativas entre as espécies (Fig. 5D). Entretanto, *A. saturoioides* apresentou menores valores de peróxido na pilha de estéril, quando comparada ao campo ferruginoso (Fig. 5C e D).



**Figura 5:** Conteúdo de malonaldeído (MDA) e de peróxido (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em plantas de *A. bicornis*, *M. minutiflora*, *A. saturoioides* e *B. reticularia*, *E. inflexa*, e *P. guttatum*. Colunas pretas representam espécies exclusivas do campo ferruginoso; colunas brancas representam espécies exclusivas da pilha de estéril; colunas cinzas representam espécies encontradas em ambas as áreas. As barras representam as médias ± erro padrão de seis repetições. Letras minúsculas comparam as espécies em cada área distinta e letras maiúsculas comparam as espécies comuns em ambas às áreas pelo teste Tukey (p < 0.05).

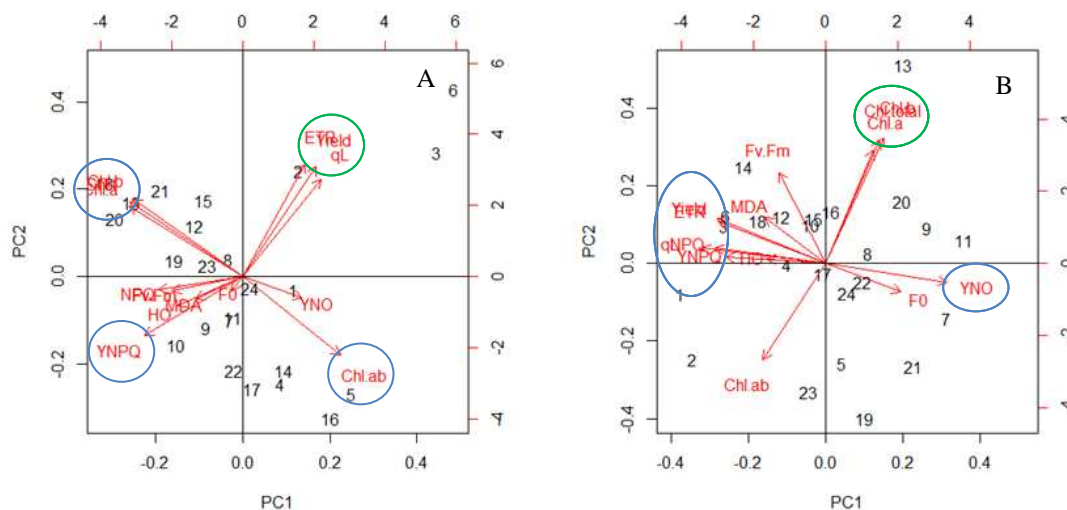
### 3.1.1. Análise de componentes principais

Considerando as análises fisiológicas, foi realizada análise de componentes principais para avaliar a correlação entre as variáveis. No campo ferruginoso, três componentes principais ( $PC_{CF}$ ) explicaram 75,0% da variância dos dados, sendo 34,82% para o  $PC1_{CF}$ , 23,08% para o  $PC2_{CF}$  e 16,77% para o  $PC3_{CF}$  (Tab. 2). O  $PC1_{CF}$  mostrou uma relação entre  $\phi_{NPQ}$  os índices de clorofila *a*, *b* e *total* em detrimento a razão de clorofila *a/b*. O  $PC2_{CF}$  pode ser explicado de acordo com as variáveis relacionadas à efetividade do processo fotossintético: Yield, qL e ETR. O  $PC3_{CF}$  foi explicado apenas pela dissipação não-regulada de energia não fotoquímica do FSII ( $Y_{NO}$ ) (Tab. 2 e Fig. 6).

Para a análise de componentes principais da pilha de estéril ( $PC_{PE}$ ), também foi gerado três componentes, o  $PC1_{PE}$  que explicou 76,27% da variância dos dados, sendo 37,05% para o  $PC1_{PE}$ , 24,58% para o  $PC2_{PE}$  e 14,64% para o  $PC3_{PE}$  (Tab. 3). O  $PC1_{PE}$  mostrou uma correlação entre Yield,  $Y_{NPQ}$ , qL, NPQ e ETR versus  $Y_{NO}$ . O  $PC2_{PE}$  foi explicado pelos índices de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila *total*. E o  $PC3_{PE}$  foi explicado apenas pelo  $Y_{NPQ}$  (Tab. 3 e Fig. 7).

**Tabela 2:** Componentes principais (PC1, PC2 e PC3) das variáveis: fluorescência mínima ( $F_0$ ), eficiência quântica máxima do PSII ( $F_v/F_m$ ), rendimento quântico do efetivo do PSII ( $Yield = \phi_{II}$ ), rendimento quântico de dissipação regulada de energia não-fotoquímica do FSII ( $Y_{NPQ} = \phi_{NPQ}$ ), rendimento quântico de dissipação não-regulada de energia não-fotoquímica do FSII ( $Y_{NO} = \phi_{NO}$ ), quenching fotoquímico (qL), taxa aparente de transporte de elétrons (ETR), quenching não fotoquímico (NPQ), índices de clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), clorofila *total* (Chl *total*), razão clorofila *a/b* (Chl *ab*), conteúdo de malonaldeído (MDA) e peróxido ( $H_2O_2$ ) no campo ferruginoso e pilha de estéril.

Variáveis	CAMPO FERRUGINOSO			PILHA DE ESTÉRIL		
	PC1	PC2	PC3	PC1	PC2	PC3
<b>F0</b>	-0,08	-0,1	0,42	0,53	-0,2	0,6
<b>Fv/Fm</b>	-0,51	-0,1	-0,42	-0,33	0,64	-0,08
<b>Yield</b>	0,53	<b>0,79</b>	0,22	<b>-0,77</b>	0,32	-0,51
<b>YNO</b>	0,42	-0,15	<b>0,79</b>	<b>0,86</b>	-0,13	-0,4
<b>YNPQ</b>	<b>-0,7</b>	-0,43	0,47	<b>-0,71</b>	0,04	<b>0,63</b>
<b>qL</b>	0,56	<b>0,7</b>	0,43	<b>-0,88</b>	0,11	-0,26
<b>NPQ</b>	-0,6	-0,1	0,67	<b>-0,78</b>	0,11	0,56
<b>ETR</b>	0,44	<b>0,8</b>	0,3	<b>-0,77</b>	0,3	-0,51
<b>Chl a</b>	<b>-0,81</b>	0,51	-0,15	0,34	<b>0,8</b>	0,16
<b>Chl b</b>	<b>-0,79</b>	0,51	-0,21	0,41	<b>0,89</b>	0,02
<b>Chl total</b>	<b>-0,81</b>	0,53	-0,18	0,38	<b>0,87</b>	0,12
<b>Chl ab</b>	<b>0,7</b>	-0,56	0,31	-0,45	-0,68	-0,02
<b>MDA</b>	-0,34	-0,16	0,25	-0,43	0,32	0,33
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	-0,47	-0,21	0,35	-0,42	0,03	0,23
Erro padrão	2,21	1,8	1,53	2,28	1,85	1,43
Proporção de variância (%)	34,82	23,08	16,77	37,05	24,58	14,64
Variância acumulada (%)	34,82	57,9	74,67	37,05	61,63	76,27



**Figura 6:** PC1 (azul) versus PC2 (verde) das variáveis: fluorescência mínima ( $F_0$ ), eficiência quântica máxima do PSII ( $F_v/F_m$ ), rendimento quântico do efetivo do PSII ( $Yield = \phi_{II}$ ), rendimento quântico de dissipação regulada de energia não-fotoquímica do FSII ( $Y_{NPQ} = \phi_{NPQ}$ ), rendimento quântico de dissipação não-regulada de energia não-fotoquímica do FSII ( $Y_{NO} = \phi_{NO}$ ), quenching fotoquímico (qL), taxa aparente de

transporte de elétrons (ETR), quenching não fotoquímico (NPQ), índices de clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), clorofila *total* (Chl *total*), razão clorofila *a/b* (Chl *ab*), conteúdo de malonaldeído (MDA) e peróxido (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) avaliadas no campo ferruginoso (A) e pilha de estéril (B).

### 3.2. Avaliações de cobertura vegetal e riqueza de espécies

O campo ferruginoso apresentou 100% de cobertura vegetal em todas as parcelas, enquanto a pilha de estéril apresentou média de 61,70% de cobertura (Tab. 3).

Com relação à riqueza de espécies presentes nas áreas, foi notável que no campo ferruginoso existem maior número de espécies (aproximadamente 49) enquanto que na pilha de estéril existem aproximadamente 20 (todas as espécies estão em fase de identificação), sendo apenas seis comuns em ambas as áreas.

**Tabela 3:** Porcentagem de cobertura do solo (CS) e número de espécies herbáceo-arbustivas nas parcelas em área de campo ferruginoso (20 parcelas) e pilha de estéril (20 parcelas).

Área	CS (%)	Nº Espécies
Campo ferruginoso	100,00 ± 0 a	49 a
Pilha de estéril	61,70 ± 4,67 b	20 b

Os dados são médias e erro padrão de 20 repetições. As letras representam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

### 3.3. Análise de solo e elementos minerais em tecido vegetal

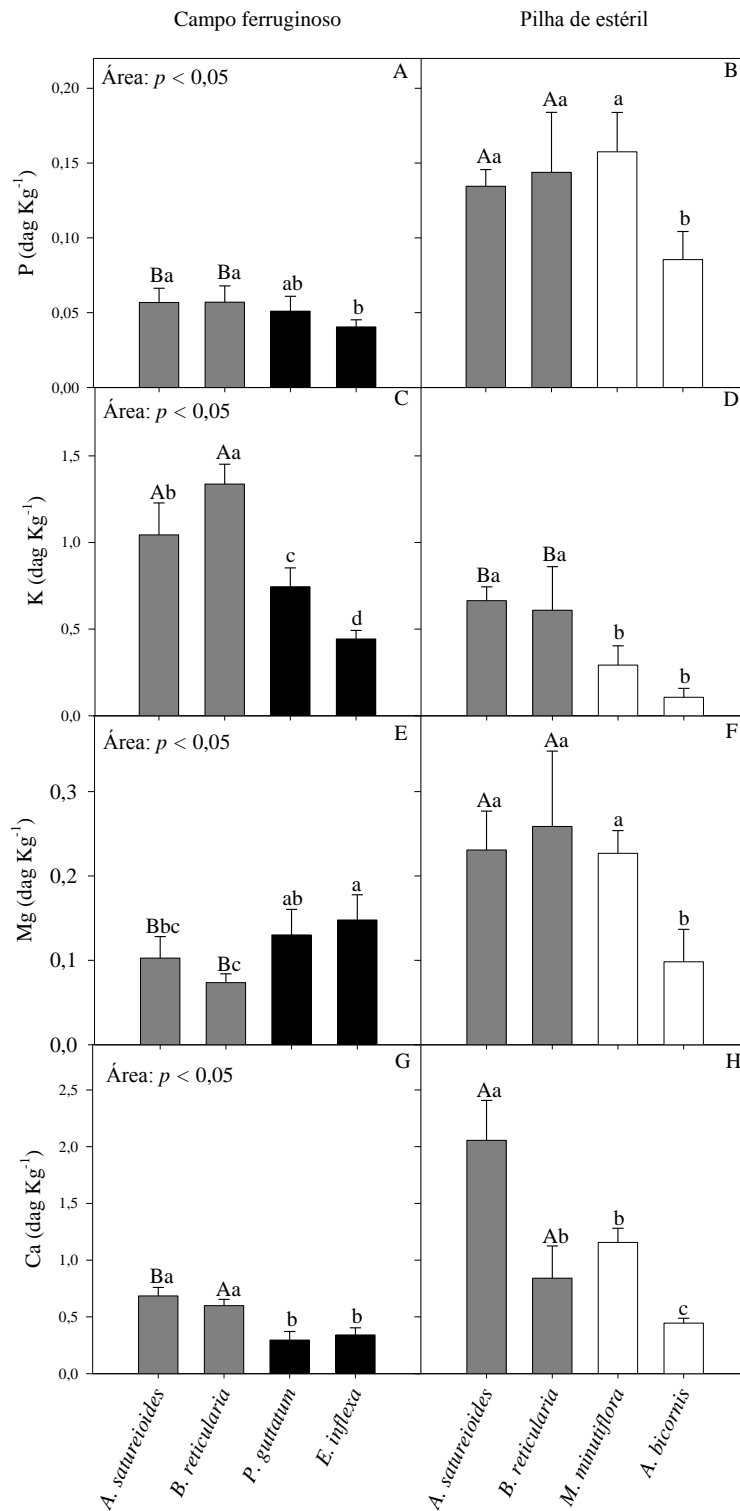
As análises mostraram que o solo do campo ferruginoso apresentou maiores valores de Fe, Cu, S, Cr, Ni, B, Mg<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, H+Al, SB, t, T, m, MO, K, Ca<sup>2+</sup> quando comparado com o solo da pilha de estéril. Já as concentrações de Mn, Cd, P, V, PRem, pH KCl, pH H<sub>2</sub>O, foram maiores na pilha de estéril. Para os valores de Zn não houve diferença significativa entre o solo das duas áreas (Tab. 4).

As análises de elementos minerais no tecido vegetal mostraram que houve diferença significativa entre o ambiente de campo ferruginoso e a pilha de estéril, sendo que P, Ca, Mg, Zn, Mn, Pb, Cd apresentaram maiores valores nas plantas encontradas na pilha de estéril. Os demais elementos, K, S, Cu, Fe, B e Ni, tiveram os maiores teores nas plantas do campo ferruginoso (Fig. 7, 8 e 9).

**Tabela 4:** Características químicas do solo (0-5 cm de profundidade) das parcelas nos ambientes de campo ferruginoso (CF) e pilha de estéril (PE).

	<b>K (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>Ca<sup>2+</sup> (cmol/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>Mg<sup>2+</sup> (cmol/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>P (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>S (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>Fe (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>B (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>Mn (mg/dm<sup>3</sup>)</b>
<b>CF</b>	56,32 ± 3,90 a	1,34 ± 0,11 a	0,27 ± 0,03 a	1,86 ± 0,10 b	27,04 ± 1,14 a	132,29 ± 4,24 a	0,60 ± 0,02 a	94,37 ± 5,36 b
<b>PE</b>	7,5 ± 1,05 b	0,74 ± 0,06 b	0,08 ± 0,01 b	11,61 ± 1,55 a	16,82 ± 0,85 b	34,87 ± 2,18 b	0,31 ± 0,02 b	160,36 ± 13,94 a
	<b>Zn (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>Cu (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>Ni (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>Cd (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>Cr (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>Al<sup>3+</sup> (cmol/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>H+Al (cmol/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>SB (cmol/dm<sup>3</sup>)</b>
<b>CF</b>	2,33 ± 0,11 a	4,01 ± 0,17 a	1,02 ± 0,11 a	0,12 ± 0,02 b	1,11 ± 0,14 a	0,73 ± 0,06 a	7,85 ± 0,16 a	1,76 ± 0,15 a
<b>PE</b>	2,03 ± 0,18 a	1,62 ± 0,24 b	0,52 ± 0,08 b	0,18 ± 0,01 a	0,19 ± 0,08 b	0 ± 0 b	7,85 ± 0,16 a	0,84 ± 0,07 b
	<b>t (cmol/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>T (cmol/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>V (%)</b>	<b>m (%)</b>	<b>P-Rem (mg/L)</b>	<b>MO (dag/Kg)</b>	<b>pH H<sub>2</sub>O</b>	<b>pH KCl</b>
<b>CF</b>	2,49 ± 0,12 a	9,64 ± 0,26 a	17,88 ± 1,1 b	32,56 ± 2,85 a	18,98 ± 0,51 b	4,74 ± 0,83 a	5,10 ± 0,03 b	4,23 ± 0,02 b
<b>PE</b>	0,84 ± 0,07 b	2,32 ± 0,19 b	38,4 ± 3,06 a	0 ± 0 b	46,45 ± 1,12 a	0,53 ± 0,19 b	5,80 ± 0,05 a	5,23 ± 0,08 a

Os dados são médias e erro padrão de 20 repetições. 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.



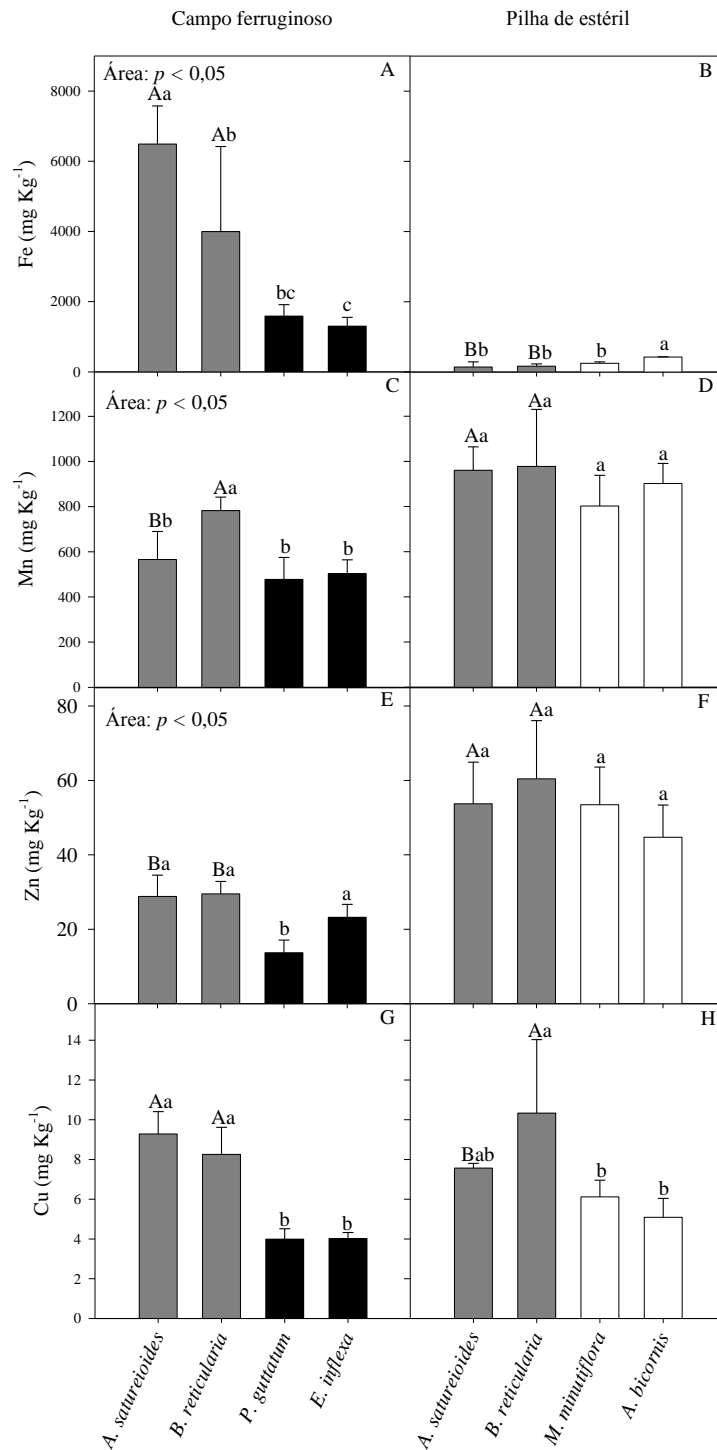
**Figura 7:** Análise de macronutrientes em tecido vegetal em plantas de *A. bicornis*, *M. minutiflora*, *A. satuireioides* e *B. reticularia*, *E. inflexa*, e *P. guttatatum*. Colunas pretas representam espécies exclusivas do campo ferruginoso; colunas brancas representam espécies exclusivas da pilha de estéril; colunas cinzas representam espécies encontradas em ambas as áreas. As barras representam as médias  $\pm$  erro padrão de seis repetições.

Letras minúsculas comparam as espécies em cada área distinta e letras maiúsculas comparam as espécies comuns em ambas às áreas pelo teste Tukey ( $p < 0.05$ ).

As plantas do campo ferruginoso apresentaram maiores de valores de K e Fe e menores valores de P, Ca, Mg, Zn, Mn, Pb, Cd e Cr (Fig. 7 e 8).

Foi observada alteração significativa nos valores de P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, B, Ni, e C entre as espécies avaliadas no campo ferruginoso, ou entre as espécies avaliadas na pilha de estéril (Fig. 7, 8). Entretanto, não houve diferença significativa entre as espécies no campo ferruginoso para os valores de Cd (Fig. 9). Já, para a pilha de estéril, não houve diferença significativa entre as espécies para os valores de Zn e Mn (Fig. 8).

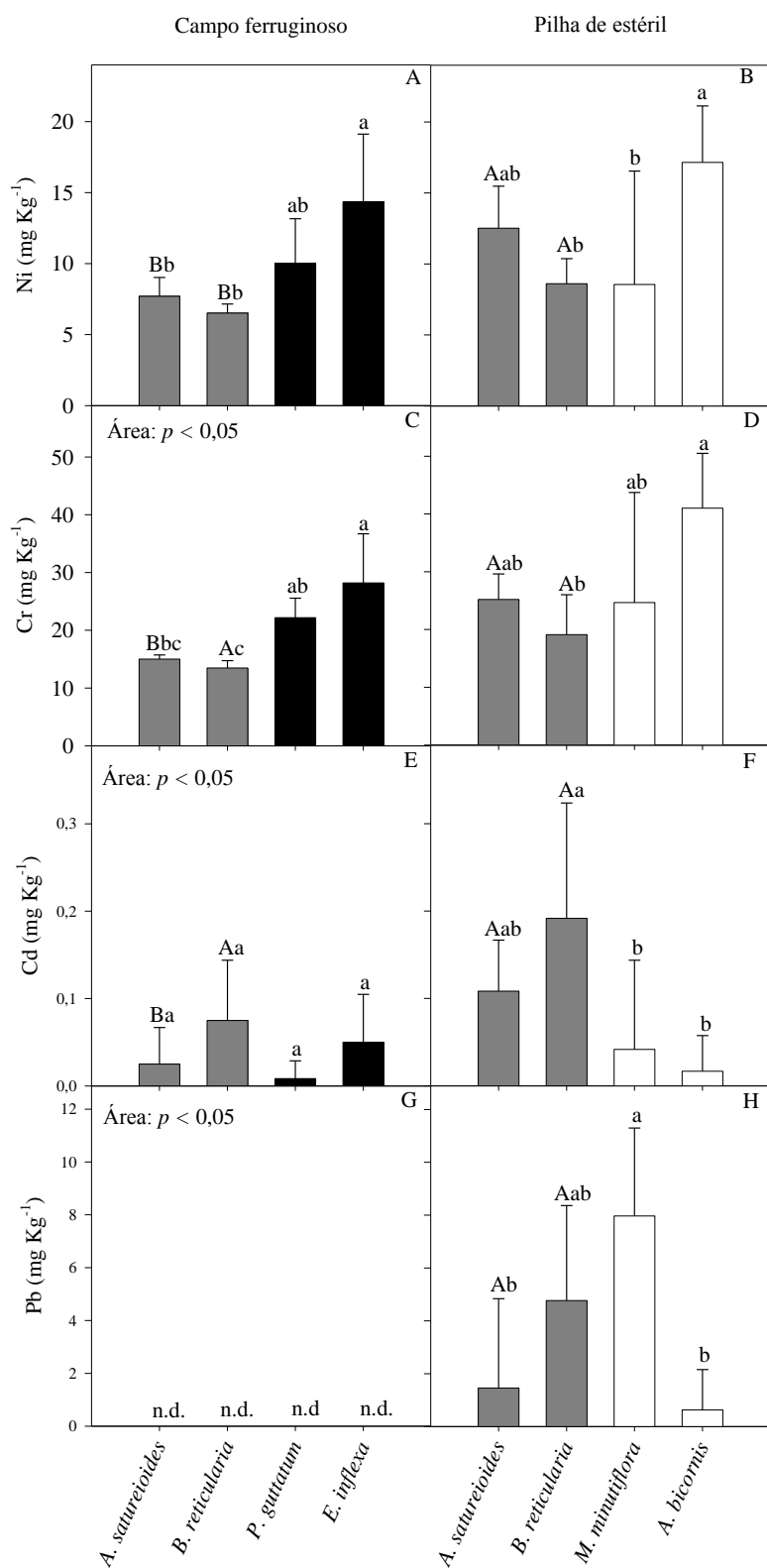
Quando se comparou os valores de K, Fe, presentes em *B. reticularia*, foi observada aumento em plantas cultivadas no campo ferruginoso (Fig. 7 e 8) e na pilha de estéril, também foi houve elevação nos valores de P, Mg, Zn, Ni e Pb (Fig. 7 e 9). Para os valores de K, Cu e Fe em *A. saturoioides* foi observada aumento em plantas cultivadas no campo ferruginoso. Na pilha de estéril, foi observado elevação nos valores de P, Ca, Mg, Zn, Mn, B, Ni, Cd e Cr em plantas de *A. saturoioides* (Fig. 7, 8 e 9).



**Figura 8:** Análise de micronutrientes em tecido vegetal em plantas de *A. bicornis*, *M. minutiflora*, *A. satureioides* e *B. reticularia*, *E. inflexa*, e *P. guttatum*. Colunas pretas representam espécies exclusivas do campo ferruginoso; colunas brancas representam espécies exclusivas da pilha de estéril; colunas cinzas representam espécies encontradas em ambas as áreas. As barras representam as médias  $\pm$  erro padrão de seis repetições. Letras minúsculas comparam as espécies em cada área distinta e letras maiúsculas comparam as espécies comuns em ambas às áreas pelo teste Tukey ( $p < 0.05$ ).

Foi observada diferença significativa entre as espécies nos ambiente de campo ferruginoso e pilha de estéril. As análises de elementos minerais do campo ferruginoso mostraram que, para os elementos P, K e Ca a espécie *E. inflexa* apresentou os menores valores, sendo este último nutriente também menor em *P. guttatum*; para o Mg, *B. reticularia*, apresentou os menores valores; para o S, *E. inflexa* apresentou os maiores valores; para o Cu, *M. minutiflora* e *B. reticularia* absorveram maiores quantidades, enquanto *E. inflexa* e *P. guttatum* absorveram menores proporções; para o Fe, *A. satureioides* foi a espécie com os maiores valores, diferenciando das demais; para o Zn, *P. guttatum* obteve os memores resultados; para o Mn e B, *B. reticularia* foi observado os maiores valores; para Ni e Cr, *E. inflexa* obteve os maiores valores; as plantas do campo ferruginoso não apresentaram Pb em seus tecidos (Fig. 7, 8 e 9).

As análise de elementos minerais da pilha de estéril mostraram que para P, K, Ca, Mg, Cu, B, Pb, Cd *A. bicornis* apresentou os menores resultados; para S e Pb *M. minutiflora* apresentou os maiores resultados e *B. reticularia* os menores; para Fe, Ni e Cr *A. bicornis* apresentou os maiores valores; já para Zn e Mn, não houve diferença significativa entre as espécies na pilha de estéril (Fig. 7, 8 e 9).



**Figura 9:** Análise de metais pesados em tecido vegetal em plantas de *A. bicornis*, *M. minutiflora*, *A. satuireioides* e *B. reticularia*, *E. inflexa*, e *P. guttatum*. Colunas pretas representam espécies exclusivas do campo ferruginoso; colunas brancas representam espécies exclusivas da pilha de estéril; colunas cinzas representam espécies encontradas em ambas as áreas. As barras representam as médias  $\pm$  erro padrão de seis repetições.

Letras minúsculas comparam as espécies em cada área distinta e letras maiúsculas comparam as espécies comuns em ambas às áreas pelo teste Tukey ( $p < 0.05$ ); n.d. significa não detectado.

#### 4. DISCUSSÃO

O ferro, apesar de ser considerado um metal pesado (densidade de  $5 \text{ g cm}^{-3}$ ), é um elemento essencial para o crescimento e desenvolvimento de todas as plantas (Becana et al., 1998; Adamski et al., 2011), responsável por diversas funções, como síntese de pigmentos fotossintéticos, proteínas, DNA, reações redox, entre outras (Briat e Lobléaux, 1997; Jeong e Gerinot, 2009; Hansch e Mendel, 2009, Briat et al., 2015).

O ferro nos campos ferruginosos está associado principalmente à hematita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), goethita ( $\text{FeO}(\text{OH})$ ), magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), minerais com altas concentrações de ferro e responsáveis pela disponibilidade desse elemento no ambiente (Messias, 2011; Machado, 2011). Entretanto, o ferro se encontra na forma oxidada, pouco móvel e pouco disponível para as plantas. Porém, em contato com o oxigênio e água, o mesmo passa para a forma solúvel  $\text{Fe}^{2+}$  apresentando maior disponibilidade (Lindsay, 1972). O ferro no substrato (pilha de estéril) não foi o principal fator limitante para o estabelecimento das plantas, pois as mesmas em seu ambiente natural (campo ferruginoso) estão sujeitas a concentrações elevadas desse elemento no substrato. As plantas presentes no campo ferruginoso absorveram concentrações de Fe acima da considerada fitotóxica ( $500 \text{ mg Kg}^{-1}$  na matéria seca) (Marschener et al., 1995), sendo 45 vezes mais do que o absorvido pelas plantas da pilha de estéril.

As condições litológicas e estruturais dos campos ferruginosos exercem influência sobre a evolução do relevo e também sobre a distribuição e características dos solos. Os solos sobre as formações ferríferas, em geral são rasos, ácidos e de baixa fertilidade, com baixa capacidade de retenção de água e com alta concentração de ferro oxidado (Schaefer et al., 2008; Carvalho Filho, 2008). Essas características são agravadas quando se avalia as condições da pilhas de estéril no presente trabalho, que apesar de ter menores concentrações de alguns metais pesados, apresentou um solo mais pobre e raso, onde a lixiviação é acentuada e a disponibilidade de água para as plantas é reduzida (Silva et al., 2006), com baixa concentração de matéria orgânica e macronutrientes, além de possuir maiores níveis Mn e Cd e ser mais compacta. As absorção pelas plantas presentes na pilha de estéril de concentrações elevadas de metais

como Zn e Mn, além de metais pesados como Pb, Cd e Cr podem ser considerados limitantes do estabelecimento das espécies vegetais estudadas neste ambiente, além de baixas concentrações de K. A menor cobertura vegetal presente na pilha de estéril, favorece a erosão e o aumento da temperatura desse substrato, prejudicando o estabelecimento e crescimento das plantas. Trindade e colaboradores, (1997) constataram que a adição de fontes de nutrientes em estéreis ou rejeitos de mineração é muito importante para o desenvolvimento das plantas no processo de revegetação, devido à pobreza da maioria desses materiais.

Trabalhos realizados avaliando áreas de pilha estéril e rejeito, mostraram a abundante presença de areia, que possui alta condutividade hidráulica, favorece a percolação rápida da água, podendo acarretar problemas de déficit hídrico para as plantas e maior lixiviação dos nutrientes (Silva et al., 2006). Isso pode ser um fator determinante para o estabelecimento das espécies vegetais, que encontra um ambiente com baixa disponibilidade de macronutrientes e água, o que é um agravante para a germinação das sementes e desenvolvimento das plantas (Villela, 1998).

O pH também está diretamente relacionado com a disponibilidade do nutriente para as raízes das plantas, existindo uma faixa ótima entre 5,5 a 6,5 para a absorção de todos os nutrientes (Lucas & Davis, 1961). O menor pH (em torno de 5,1) encontrado no solo do campo ferruginoso avaliado no presente trabalho favoreceu, no geral, a disponibilidade de micronutrientes, mas também dos metais pesados presentes no solo. Entretanto, muitas das espécies vegetais encontradas nos campos ferruginosos são endêmicas e restritas as condições ambientais locais (Alves e Kolbek, 1994). De forma contraditória, mesmo com valores de pH da pilha de estéril entre a faixa ótima para absorção dos nutrientes, devido a característica intrínseca de lixiviação acentuada, ocorre a dissolução dos nutrientes e os mesmos são carregados na água de drenagem, sendo seus conteúdos reduzidos no solo.

Neste trabalho, o fato das amostras de solo do campo ferruginoso apresentarem maiores concentrações de metais pesados, inclusive o ferro, do que o encontrado na pilha de estéril, comprova que este também pode ser considerado um ambiente que apresenta características adversas ao estabelecimento de plantas (Vincent et al., 2004). Além de altas concentrações de metais pesados, principalmente o ferro (Teixeira e Lemos-Filho, 2002), outros fatores limitantes como, altas irradiâncias e estresse hídrico indicam uma estreita relação entre o solo e as plantas que colonizam esses ambientes (Vincent et al., 2004). O baixo teor de matéria orgânica (MO) nos campos ferruginosos

também é um fator comumente relatado na literatura (Teixeira e Lemos-Filho, 2002, Vincent et al., 2002, Libengerg et al., 2013). No entanto, na área estudada o campo ferruginoso possui valores consideráveis de MO, devido ao solo ser coberto por gramíneas.

As gramíneas possuem um papel importante no incremento de MO no solo e funcionam como cobertura, reduzindo de forma considerável a erosão e melhoram as características físicas e químicas do solo (Bayer e Mielniczuk, 1997, 1999). Em solos com baixa fertilidade, a matéria orgânica se torna fundamental para o estabelecimento das espécies, pois o maior conteúdo de MO no solo reduz as perdas por lixiviação, com isso há maior disponibilidade de nutrientes para as plantas, influencia na capacidade de troca catiônica e na complexação de elementos tóxicos e micronutrientes (Bayer e Mielniczuk, 1999; 2008; Silva et al., 2006).

Proporções significativas de Mn, Fe, Cu e Zn foram encontradas na fração residual de solo tropical e estiveram associadas aos óxidos de Mn e óxidos amorfos e cristalinos de Fe, através da extração de frações solúvel, trocável, ligada a matéria orgânica, associadas aos óxidos de Mn, ligados aos óxidos de Fe mal cristalizados, associada aos óxidos de Fe cristalino e residual (Silveira et al., 2006). Os óxidos de Fe e Mn podem reter quantidade substanciais de metais e desempenhar papel importante no controle da mobilidade do metal pesado no ambiente (Silveira et al., 2006; Yu et al., 2004). Entretanto a maioria dos procedimentos de fracionamento é incapaz de extrair todo o metal ligado aos óxidos de Fe e Mn, subestimando a associação do metal com os óxidos (Silveira et al., 2006). A metodologia utilizada para análise de metais pesados, Mehlich-I (ácidos fortes), remove os metais da solução do solo, dos sítios de troca e parte daqueles complexados ou adsorvidos (Embrapa, 1999), por isso são observados elevados valores neste estudo. Apesar do relativo sucesso do Mehlich I como extrator para metais pesados, esse pode superestimar os teores lábeis, devido principalmente, à dissolução de metais associados a carbonatos presentes no solo. Segundo Mattiazzo, Berton e Cruz (2001), umas das principais críticas aos extratores químicos é que estes não estimam as reações que ocorrem próximas as raízes, principalmente na região da rizosfera, condição que varia muito dentre as espécies.

Estresses abióticos como excesso de luminosidade e temperatura, déficit hídrico e altas concentrações de metais pesados como os encontrado nesse estudo (Fe, Pb, Cu, Cr, Cd, Ni, Mn e Zn) favorecem a formação de espécies reativas de oxigênio (EROS), pois

favorece a formação de radical hidroxila (OH<sup>\*</sup>) (Guerinot e Yi, 1994; Becana et al., 1998) e superóxido (O<sub>2</sub><sup>\*</sup>) (Marschener et al., 1995).

O ferro, apesar de ser um micronutriente que participa de processos vitais, quando encontrado em elevadas proporções no ambiente, pode ser absorvido em excesso (acima de 500 mgKg<sup>-1</sup> na matéria seca) podendo acarretar em toxidez às plantas (Williams et al., 2000; Ducic e Polle, 2005; Pugh et al., 2002; Broadley et al., 2012). Por isso, a revegetação natural e sucessão nestes ambientes é um processo lento e difícil (Malcováet al., 2001; Silva et al., 2006), em função das características físicas do substrato, do baixo conteúdo de matéria orgânica e de nutrientes, da presença de metais pesados (Liebenberg et al. 2013), de alta lixiviação, baixa retenção de água, entre outros fatores. Entretanto, existem algumas espécies de plantas que apresentam mecanismos de resistência que as permitam sobreviver nesses ambientes, dispõem de estratégias de exclusão, acúmulo e ou quelação do mineral (Rout et al., 2015) de forma a não causar danos às plantas. Isso foi observado nas espécies no ambiente de campo ferruginoso, *A. satureioides* e *B. reticularia*, *P. guttatum* e *E. inflexa*, que apesar de ter acumulado concentrações de Fe acima do considerado fitotóxicas para as plantas, não apresentaram estresse oxidativo resultante da toxidez por Fe, o que foi evidenciado pelos valores de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e MDA. Essas espécies apresentam um eficiente mecanismo enzimático de combate das espécies reativas de oxigênio (EROS), não permitindo danos em seu metabolismo.

As EROS são formadas naturalmente no metabolismo das plantas, atuando como sinalizadores de mudanças ambientais, defesa contra patógenos, expressão gênica e morte celular programada (Mittler, 2002). O MDA é um subproduto da peroxidação lipídica que ocorre quando há formação de EROS. Os valores mais baixos de MDA do que de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, mostram que houve peroxidação lipídica, porém as plantas, em ambas as áreas, apresentam mecanismos eficiente no combate de EROS e detoxificação.

Existem alguns mecanismos enzimáticos e não enzimáticos (Vansuytet al., 1997; Fang et al., 2001) que minimizam esses efeitos fitotóxicos, (Schutzendubel e Polle, 2012), como a dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX) (Becana et al., 1998). Também existem componentes não enzimáticos sintetizados pelas plantas que podem atuar como moléculas antioxidantes com finalidade de quelar os metais pesados, como por exemplo, os componentes fenólicos, cujo acúmulo nos tecidos está relacionado a altas concentrações de metais e à produção de EROS (Jung et al., 2003; Michalak, 2006) e os compostos orgânicos como a

glutathione reduzida,  $\alpha$ -tocoferóis, ácido ascórbico, carotenóides, ácido úrico, ácido lipóico e ubiquinol que (Edge et al., 1997; Becana et al., 1998; Krinsky e Yeum, 2003) fazem parte do sistema não enzimático para a neutralização de EROS.

As plantas capazes de colonizar ambientes degradados possuem mecanismos de sobrevivência incluindo modificações anatômicas, morfológicas e fisiológicas. Esses mecanismos podem ser desenvolvidos em virtude dos ambientes em que essas espécies estão sujeitas, como elevadas amplitudes térmicas e hídricas (Santos, 2010) e presença de poluentes. Muitas das espécies que são encontradas no campo ferruginoso não colonizam a pilha de estéril, pois a presença dessas características é crucial para o estabelecimento de espécies em ambientes adversos.

A maior disponibilidade de ferro no campo ferruginoso pode ter contribuído para os maiores valores de clorofila, uma vez que este elemento participa da síntese desse pigmento. A prevenção da degradação da clorofila é comumente relacionada com a manutenção da homeostase do ferro nos tecidos, principalmente quando as plantas são submetidas a concentrações elevadas de ferro (Pereira et al., 2013). A análise componente principal realizada para o campo ferruginoso corroborou com o exposto, pois correlacionando o  $CP1_{CF}$  com o  $CP2_{CF}$  pode-se perceber que existe uma relação entre os pigmentos fotossintetizantes com as variáveis fotoquímicas do FSII, em que as clorofilas estão diretamente relacionadas ao ETR, qL,  $\phi_{II}$  e  $\phi_{NPQ}$ . Considerando o  $CP1_{CF}$  o fato de que os índices de clorofila e  $\phi_{NPQ}$  explicam 34,82% dos dados (Tab. 2 e Fig. 6), comprovam que os pigmentos fotossintetizantes e a dissipação do excesso de energia não-fotoquímica de forma regulada estão diretamente relacionados com o estabelecimento das espécies na pilha de estéril. Conforme indicado pelo  $CP2_{CF}$ , o rendimento quântico efetivo ( $\phi_{II}$ ) está diretamente relacionado com a taxa de transporte de elétrons (ETR) e o quenching fotoquímico (qL), explicando 23,08 % dos dados. Plantas com menor  $\phi_{II}$ , geralmente apresenta menor ETR, pois são variáveis relacionadas. Porém a redução de  $\phi_{II}$  não ocorreu em função do ETR ou qL, mas sim em função de outros processos de dissipação de energia. A dissipação do excesso de energia não-fotoquímica de forma não regulada explica 16,77% dos dados, conforme o  $CP3_{CF}$ . O incremento na  $\phi_{NO}$  ocorre quando as plantas não apresentam mecanismo eficiente da dissipação do excesso de energia de forma regulada, podendo comprometer o estabelecimento das mesmas em ambientes com intensos agentes estressores. Entretanto, as plantas do campo ferruginoso foram capazes de dissipar o excesso de

energia principalmente de forma regulada, minimizando os danos ao aparato fotossintético sob alta irradiância. Isso corrobora com os valores de NPQ, estando associado ao ciclo das xantofilas e a dissipação na forma de calor (Baker, 2008). O ciclo das xantofilas é ativado pelo bombeamento de prótons para o lúmen que resulta na criação da diferença de potencial eletroquímico transmembrana. Esse processo, a violaxantina é convertida a zeaxantina, dissipando o excesso de energia na forma de calor, protegendo o aparelho fotossintético contra a superexcitação e subsequente dano no centro de reação do FSII (Baker, 2008; Pereira et al., 2013), uma vez que os ambientes em que essas plantas se encontram apresenta alta irradiância.

Nas espécies encontradas na pilha de estéril a maior dissipação ocorreu principalmente de forma não-regulada ( $\phi_{NO}$ ), o que pode estar associada à menor disponibilidade de nutrientes nessa área, comprometendo a síntese de carotenóides e consequente redução da eficiência na dissipação de forma regulada. A perda de eficiência na dissipação de energia de forma regulada pode levar a formação de EROS, devido ao excesso de energia incidente e consequente formação de clorofila tripleto (Pereira, 2009). Na pilha de estéril, os maiores valores de  $\phi$  por *M. minutiflora* estão relacionados ao menor qL. Algumas espécies evitam danos aos complexos fotoquímicos reduzindo a proporção de centro de reações e clorofilas, em respostas a altas irradiância (Noguchi, 2002).

A maior dissipação de energia de forma não regulada ( $\phi_{NO}$ ) nas plantas presentes na pilha de estéril foi evidenciada pela análise de componentes principais, em que o CP1<sub>PE</sub> mostrou relação entre  $\phi_{NPQ}$ , NPQ, qL, ETR e  $\phi_{II}$  em detrimento ao  $\phi_{NO}$ . A diminuição nos valores de  $\phi_{II}$ , foi acompanhada pelo aumento de  $\phi_{NPQ}$  e  $\phi_{NO}$ , uma vez que estas variáveis são competitivas entre si (Eskling et al., 1997). A correlação entre CP1<sub>PE</sub>, CP2<sub>PE</sub> e CP3<sub>PE</sub> mostra que assim como a análise de componentes principais para o campo ferruginoso, a efetividade da etapa fotoquímica da fotossíntese está relacionada aos parâmetros de fluorescência e clorofila e reforça que na pilha de estéril o principal meio de dissipação do excesso de energia foi de forma não regulada  $\phi_{NO}$ . Isso indica uma estreita relação entre os parâmetros relacionados à canalização da energia para processos fotossintéticos e efetividade da fotossíntese, em detrimento dissipação não-regulada de energia não-fotoquímica do FSII.

É comumente encontrado em trabalhos relacionados com toxidez por ferro e outros metais, alteração na etapa fotoquímica da fotossíntese, com redução nos valores de

eficiência quântica de PSII ( $F_v/F_m$ ), taxa de transporte de elétrons (ETR) e aumento de fluorescência inicial ( $F_0$ ), elevando a dissipação não fotoquímica do excesso de energia luminosa ( $\phi_{NPQ}$  e  $\phi_{NO}$ ) (Suh et al., 2002; Pereira, 2009; Castro, 2010). Os resultados dessa pesquisa mostraram que mesmo espécies encontradas apenas no campo ferruginoso, como *E. inflexa* apresentou aumento no  $F_0$  e redução em  $F_v/F_m$ , da mesma forma a espécie *A. bicornis*, estabelecida na pilha de estéril reduziu os valores de  $F_v/F_m$ . As espécies *A. satureioidese B. reticularia*, comuns aos dois ambientes (pilha de estéril e campo ferruginoso), apresentam mecanismo eficiente na dissipação do excesso de energia luminosa, de forma a não causar danos severos no metabolismo fotossintético. As plantas que vivem nestes ambientes estão sujeitas a altas concentrações de metais em seus tecidos, indiferentemente se encontradas no campo ferruginoso ou pilha de estéril, desta forma, apresentam mecanismos eficientes no controle dos metais pesados existente no solo e em seus tecidos. Em função de altas concentrações de metais pesados no solo, as plantas podem apresentar ecótipos com alta capacidade de reter metais pesados em seus tecidos (Teixeira e Lemos-Filho, 1998; Vincent, 2004).

## 5. CONCLUSÃO

O ferro e o excesso de Pb, Cr e Cd não são os principais fatores limitantes para o estabelecimento das espécies na pilha de estéril adjacente ao campo ferruginoso, e sim, baixas concentrações de macronutrientes e de matéria orgânica no solo.

As plantas apresentam eficientes mecanismos de resistência, capazes de tolerar concentrações elevadas de metais em seus tecidos e sobreviver com elevadas concentrações de metais presentes no solo.

As espécies do campo ferruginoso e pilha de estéril apresentaram dissipação regulada ( $\phi_{NPQ}$ ) e não regulada de energia ( $\phi_{NO}$ ), respectivamente, em função das condições do solo em que se encontravam.

As espécies apresentaram efetivo controle dos níveis de  $H_2O_2$  e MDA, que indica eficiente mecanismo na eliminação de EROS ou mecanismos de neutralização dos metais pesados de forma a não causar danos severos às plantas.

As espécies em comuns entre as duas áreas, *A. satureioides* e *B. reticularia*, por apresentarem maior desempenho fotoquímico (pigmentos fotossintetizantes,  $F_v/F_m$ ,  $\phi_{NPQ}$ , NPQ) mesmo sob elevados teores de metais em seus tecidos (Fe, Mn, Zn,

Cu e Cd) podem favorecer a incorporação do ambiente impactado no ecossistema circundante.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHÃO, W. A. P.; MELLO, J. W. V. 1998. Fundamentos de pedologia e geologia de interesse no processo de recuperação de uma área degradada. 15, 26.
- ADAMSKI, J.M.; PETERS, J.A; DANIELOSKI, R.; BACARIN, M.A. 2011.Excess iron-induced changes in the photosynthetic characteristics of sweet potato. *Journal Plant Physiol.* 168, 2056-2062.
- AIRES, F. S. 2009. Desenvolvimento de técnicas de manejo, sem uso de agentesquímicos, no controle da espécie invasora *Melinis minutiflora* P. Beauv. (capimcordura) para aplicação de áreas de campo sujo. Dissertação de mestrado.Universidade de Brasília, DF.
- ALVES, R. V.; KOLBEK, J. 1994. Plant Species Endemism in Savanna Vegetation on Table Mountains (Campo Rupestre) in Brazil. *Plant Ecology.* 133, 125-139.
- ARAÚJO, D. M.; YOSHIDA, M. I.; CARVALHO, C. F.; STAPELFELDT, F. 2008.Reciclagem de minas na flotação de minério de ferro. *Revista Escola de Minas.* 61, 455-460.
- ARAÚJO,T. O. 2012. Efeito do ferro em *Setaria parviflora* (POIR) Kerguelen e *Paspalum urvillei* Steudel (Poaceae). Dissertação mestrado. Universidade Federal de Viçosa, MG.
- BAKER, N. R. 2008. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. *Annual Review of Plant Biology.* 59, 89-113
- BARROSO, G. M. 1976. Compositae – Subtribo Baccharidinae Hoffman – Estudo das espécies ocorrentes no Brasil. *Rodriguésia.*27, 3-273.
- BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In: SANTOS, G.A. e CAMARGO, F.A.O., 1999. Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais. Genesis, Porto Alegre, 9-26.
- BAYER, C. e MIELNICZUK, J. 1997. Nitrogênio total de um solo submetido a diferentes métodos de preparo e sistemas de cultura. *R. Bras. Ci. Solo.* 21, 235-239.
- BECANA, M.; MORAN, J. F.; ITURBE-ORMAETXE, I. 1998. Iron-dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. *Plant and Soil.* 201, 137-147.
- BILGER, W.; BJÖRKMAN, O. 1990. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence

and photosynthesis in leaves of *Hederacanariensis*. *Photosynthesis Research*. 25, 173-185.

BOGDAN, A. V. Tropical pasture and folder plants. 1977. New Yoth, Longman, 475.

BRAY, E. A., BAILEY-SENES, J. & WERETILNY, K. E. 2000. Responses in abiotic stress. *In*: B. B. Buchanan, W. Gruissen e R.L. Jones (eds). *Biochemistry and molecular biology of plants*. American Society of Plant Physiologist, New York. 1158-1203.

BRIAT, J. F.; DUBOS, C.; GAYMARD, F. 2015. Iron nutrition, biomass production, and plant product quality. *Trends Plant Sci*. 20,33-40.

BRIAT, J. F.; LOBRÉAUX, S. 1997. Iron Transport and storage in plants. *Trends in Plant Science*. 2, 187-193.

BROADLEY, M; BROWN, P; ÇAKMAK, I; RENGEL, Z; ZHAO, F. 2012. Function of nutrients: Micronutrients. *In*: Marschner P (ed) *Mineral nutrition of higher plants*, 3rd edn. Academic Press, San Diego. 191-248.

CARVALHO FILHO, A. 2008. Solos e ambientes do quadrilátero ferrífero (MG) a aptidão silvicultural dos tabuleiros costeiros. Tese de doutorado da Universidade Federal de Lavras, MG.

CASTRO, L. N. 2010. Avaliação ecofisiológica do impacto causado pelo areosol marinho e pela deposição de ferro particulado em *Eugenia uniflora* L. (*Myrtaceae*). Dissertação de mestrado da Universidade Federal de Viçosa, MG.

CITADINI ZANETTE, V.; BOFF V. P. 1992. Levantamento florístico em áreas minerárias a céu aberto na região carbonífera de Santa Catarina, Brasil. Fepema. Florianópolis: Secretaria de estado da tecnologia, Energia e Meio Ambiente, 158.

CORDEIRO, E. A. 2002. Influência do tratamento de água ferruginosa no desempenho de sistema de irrigação por gotejamento. Universidade Federal de Lavras, 92.

DNPM, DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL. 2008. Disponível em: [www.dnpm.gov.br](http://www.dnpm.gov.br). acesso em: 13 de agosto de 2015.

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

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

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). Sistema brasileiro de classificação de solos. – Rio de Janeiro: EMBRAPA-SPI, 2009.

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

- FANG, W.; WANG, J.; LIN, C.; KAO, C. 2001. Iron induction of lipid peroxidation and effects on antioxidative enzyme activities in rice leaves. *Plant Growth Regulation*. 35, 75-80.
- FILGUEIRAS, T. S. Africanas no Brasil. 1990. Gramíneas introduzidas da África. *Cadernos de Geociências*. 5, 57-63.
- GENTY, B., HARBINSON, J., CAILLY, A. L., RIZZA, F. 1996. Fate of excitation at PS II in leaves: the non-photochemical side. Presented at The Third BBSRC Robert Hill Symposium on Photosynthesis, March 31 to April 3, 1996, University of Sheffield, Department of Molecular Biology and Biotechnology, Western Bank, Sheffield, UK, Abstract no. 28.
- GIOTTO, A. C. 2010. Avaliação do desenvolvimento dos componentes arbóreos e herbáceos na recuperação de áreas degradadas na bacia do Ribeirão do Gama, Distrito Federal. Dissertação de mestrado em Engenharia Florestal. Universidade de Brasília, Brasília, DF.
- GUERINOT, M. L.; YI, Y. 1994. Iron: Nutritious, noxious, and not readily available. *Plant Physiology*. 104, 815-820.
- HALL, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*. 53, 1-11.
- HÄNSCH, R.; MENDEL, R. R. 2009. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology*. 12, 259-266.
- HODGES, D. M.; DELONG, J. M.; FORNEY, F.; PRANGE, R. K. 1999. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*. 207, 604-611.
- IBAMA, INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE. 1990. Manual de recuperação de áreas degradadas pela mineração: técnicas de revegetação. Ibama, Brasília. 96p.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=312600&se arch=minas-gerais|florestal|infograficos:-informacoes-completas>> Acesso em 28 de dezembro de 2015.
- INMET, Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/>> Acesso em 28 de dezembro de 2015.
- JEONG, J.; GUERINOT, M. L. 2009. Homing in on iron homeostasis in plants. *Trends in Plant Science*. 14, 10-1016.

- JUNG, C.; MAEDER, V.; FUNK, F.; FREY, B.; STICHER, H.; FROSSARD, E. 2003. Release of phenols from *Lupinus albus* L. roots exposed to Cu and their possible role in Cu detoxification. *Plant and Soil*. 252, 301–312.
- KITAJIMA, M., BUTTER, W. L. 1975. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymo quinone. *Biochimica et Biophysica Acta*. 376, 105-115.
- KLUMPP, A.; DOMINGOS, M.; MORAES, R. M.; KLUMPP, G. 1998. Effects of complex air pollution on tree species of the Atlantic Rain Forest near Cubatão, Brazil. *Chemosphere*. 36, 989–994.
- KRINSKY, N.I.; YEUM, K.J. 2003. Carotenoid–radical interactions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 305, 754-760.
- LOEUILLE, B. & MONGE, M. 2014. *Achyrocline*. In: Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available at . Access on 8 June 2014.
- LIEBENBERG, D.; CLAASSENS, S.; VAN RENSBURG, L. 2013. Insights and lessons learned from the long-term rehabilitation of an iron ore mine. *International Journal of Environmental Research*. 7, 633-644.
- LINDSAY, W. L. 1972. Inorganic phase equilibria of micronutrients in soils. *Soil Science*. 41-57.
- LUCAS, R. E.; DAVIS, J. F. 1961. Relationships between pH values of organic soils and availabilities of 12 plant nutrients. *Soil Science*. 92, 177-182.
- MACHADO, N. A. M. 2011. Metodologias alternativas para a facilitação da restauração de área de canga degradadas pela extração de bauxita. Tese de mestrado. Contribuições à Ciência da Terra, Universidade Federal de Ouro Preto, MG. 297p.
- MALCOVÁ, R.; ALBRECHTOVÁ, J.; VOSÁTKA, M. 2001. 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*. 18, 129-142.
- MARRONE, O.; DENHAM, S. S.; ZULOAGA, F. O. 2004. Revisión Taxonómica del Género *Paspalum* Grupo *Eriantha* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 91, 225-246.
- MARSCHNER, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London. Second ed. 889p.
- MATTIAZZO, M. E.; BERTON, R. S.; CRUZ, M. C. P. Disponibilidade e avaliação de metais pesados potencialmente tóxicos. In: Ferreira, M. E. (Ed). *Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura*. Jaboticabal: Cnpq; Fapesp; Potafos. 2001. 213-234.

- MELIS, A.; SPANGFORT, M.; ANDERSSON, B. 1987. Light-absorption and electron transport balance between photosystem II and photosystem I in spinach chloroplasts. *Photochemistry and Photobiology*. 45, 129-136.
- MENDES, J. D. C. 2008. Estimando cobertura vegetal por análise de imagens. Universidade Federal de Lavras, MG.
- MESSIAS, M. C. T. B. 2011. Fatores ambientais condicionantes da diversidade florística em campos rupestres quartzíticos e ferruginosos no Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais. Tese de doutorado. *Contribuições à Ciência da Terra*. 27, 44. UFOP. Ouro Preto, MG.
- MICHALAK, A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*. 15, 523-530.
- MITTLER, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci*. 7, 405-410.
- MORAES, R. M.; DELLITI, B. C.; DE MORAES, J. A. V. P. 2000. Fotossíntese líquida e crescimento de *Tibouchina pulchra* Cogn. nas proximidades de indústrias petroquímicas em Cubatão, SP. *Hoehnea*. 27, 77-85.
- MUNHOZ, C. B. R. E FELFILI, J. M. 2006. Fitossociologia de estrato herbáceo-subarbustivo de uma área de campo sujo no Distrito Federal, Brasil. *Acta Botânica Brasil*. 20, 671-685.
- NEVES, N. R.; OLIVA, M. A.; CENTENO, D. C.; COSTA, A. C.; RIBAS, R. F.; PEREIRA, E. G. 2009. 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*. 407, 3740-3745.
- NOCTOR, G. & FOYER, C. H. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 49, 249-279.
- NOGUCHI, T. 2002. Dual role of triplet localization on the accessory chlorophyll in the photosystem II reaction Center: Photoprotection and photodamage of the D1 protein. *Plant Cell Physiol*. 43, 1112-1116.
- OLIVEIRA, E. M. P.; BLUMENSCHNEIN, A. 1974. Distribuição geográfica e taxonômica do capim-gordura (*Melinis minutiflora* Beauv.). Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Relatório Científico nº 8. Piracicaba – SP.
- OLIVEIRA, E. M. P. 1974. Distribuição geográfica e taxonômica do capim-gordura (*Melinis minutiflora* Beauv.). Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo.

- OLIVEIRA, A. S.; MARCHIORI, J.N.C. 2006. O gênero *Baccharis* L. (Asteraceae - Astereae) no sul do Brasil 1. Seção *Cylindricae* Heering, série *Cylindricae* (Heering) Giuliano. *Balduinia*.7, 1-36.
- PEREIRA, E. G. 2009. Efeito tóxicos do ferro: alterações fisiológicas e morfológicas em plantas cultivadas e de restinga. Tese de doutorado: Universidade Federal de Viçosa, 117p.
- PEREIRA, E. G.; OLIVA, M. A.; ROSADO-SOUZA, L.; MENDES, G. C.; COLARES, D. S.; STOPATO, C. H.; ALMEIDA, A. M. 2013. Iron excess affects rice photosynthesis through stomatal and non-stomatal limitations. *Plant Sci.* 201-202, 81-92.
- PORTO, M. L.; SILVA, M. F. F. 1989. Tipos de vegetação metalófila em áreas da Serra de Carajás e de Minas Gerais. *Acta botânica brasílica*. 3, 13-21.
- PUGH, R. E.; DICK, D. G.; FREDEEN, A. L. 2002. 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, 273-279.
- RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*.180, 169-181.
- ROUT, J. R.; BEHERA, S.; KESHARI, N.; RAM, S. S.; BHAR, S.; CHAKRABORTY, A.; SUDARSHAN, M.; SAHOO, S. L. 2015. Effect of iron stress on *Withaniasomnifera* L.: antioxidant enzyme response and nutrient elemental uptake of in vitro grown plants. *Ecotoxicology*.24, 401-413.
- SANTOS, L. M. 2010. Restauração de campos ferruginosos mediante resgate de flora e uso de topsoil no quadrilátero ferrífero, Minas Gerais. Tese de doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais, MG.
- SCHAEFER, C. E. G. R. 2008. Solos desenvolvidos sobre canga ferruginosa no Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais. Simpósio Afloramentos Ferruginosos no Quadrilátero Ferrífero: Biodiversidade, conservação e perspectivas de Sustentabilidade. Belo Horizonte, 109-121.
- SCHUTZENDUBEL, A.; POLLE, A. 2002. Plants responses to abiotic stressas: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of Experimental Botany*. 53, 1351-1365.
- SILVA A. D.; KLINK, C. A. 2001. Dinâmica de foliação e perfilhamento de duas gramíneas C4 e uma C3 nativas do Cerrado. *Revista Brasileira de Botânica*. 24,441-446.
- SILVA, G. P.; FONTES, M. P. F.; COSTA, L. M.; VENEGAS, V. H. A. 2006. 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.

- SILVEIRA, M. L. A.; ALLEONI, L. R. F.; O'CONNOR, G. A.; CHANG, A. C. 2006. Heavy metal sequential extraction methods – A modification for tropical soils. *Chemosphere*, Oxford. 64, 1929-1938.
- SOUZA, A.; MORAES, M. G.; RIBEIRO, R. C. L. F. 2005. Gramíneas do cerrado: carboidratos não-estruturais e aspectos ecofisiológicos. *Acta Botânica Brasílica*.19, 81-90.
- SUH, H.; KIM, C. S.; LEE, J.; JUNG, J. 2002. Photodynamic effect of iron excess on photosystem II function in pea plants. *Photochemistry and Photobiology*. 75, 513-518.
- TEIXEIRA, W. A.; LEMOS FILHO, J. P. 2002. Fatores edáficos e a colonização de espécies lenhosas em uma cava de mineração de ferro em Itabirito, Minas Gerais. *Revista Árvore*, Viçosa. 26, 25-33.
- TRINDADE, A. V.; DIAS, A. C. P.; JUCKSCH, I. 1997. Efeito de resíduos urbanos e de fungos micorrízicos arbusculares no crescimento de capim gordura *Melinis minutiflora* e cedro *Cedrela fissilis* em rejeito de mineração. *Revista Árvore*. 21, 575-582.
- VANSUYT, G.; LOPEZ, F.; INZÉ, D.; BRIAT, J.F.; FOURCROY, P. 1997. Iron triggers a rapid induction of ascorbate peroxidase gene expression in *Brassic napus*. *FEBS Letter*. 410, 1195-1200.
- VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. 2000. Oxidative stress and some antioxidant system in acid rain treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci*. 151, 59–66.
- VILLELA, F. A. Water relations in seed biology. 1998. *Scientia Agricola*. 5, 98-01.
- VINCENT, R. C. 2004. Florística, fitossociologia e relação entre a vegetação e o solo em área de campos ferruginosos no Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, SP.
- YU, S.; HE, Z. L.; HUANG, C. Y.; CHEN, G. C.; CALVERT, D. V. 2004. Copper fractionation and extractability in two contaminated variable charge soils. *Geoderma*, Amsterdam. 123, 163-175.
- WILLIAMS, L.E.; PITTMAN, J.K.; HALL, J.L. 2000. Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants. *Biochim Biophys Acta Rev Biomembr*. 1465, 104-126.
- ZANIN, A.; LONGHI-WAGNER, H. M. 2003. Taxonomic novelties in *Andropogon* L. (Poaceae:Andropogoneae) for Brazil. *Novon*.13, 368-375.
- ZANIN, A.; LONGHI-WAGNER, H. M. 2006. Sinopse do gênero *Andropogon* L. (Poaceae-Andropogoneae) no Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*29, 289-299.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As plantas de *P. densum* acumularam níveis de ferro acima dos considerados fitotóxicos após exposição ao MSPFe, sem apresentar sintomas visuais e anatômicos de toxidez por Fe, sendo necessário em pesquisas futuras avaliar aspectos ultraestruturais em função da deposição do MSPFe.

*P. densum* pode ser considerada uma planta que possui mecanismos de resistência e com alto potencial para revegetação de ambientes com concentrações elevadas de ferro e sujeitos à deposição particulada, mesmo em futuros cenários de mudanças climáticas. Assim como as espécies *A. bicornis*, *A. satureioides* e *B. reticularia*, que são capazes de tolerar concentrações elevadas de metais em seus tecidos e sobreviver com elevadas concentrações de metais presentes no solo. Os mecanismos de resistência apresentados pelas espécies estudadas precisam ser investigados em novas pesquisas.

As espécies estudadas apresentaram efetivo controle dos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e MDA, que indica eficiente mecanismo na eliminação de EROS ou mecanismos de neutralização dos metais pesados de forma a não causar danos severos às plantas. Através de análise de enzimas, a ser realizado em pesquisa futuras, pode-se conhecer o mecanismo que as espécies possuem no combate às EROS.

As espécies em comuns no campo ferruginoso e na pilha de estéril, *A. satureioides* e *B. reticularia*, por apresentarem maior desempenho fotoquímico, mesmo sob elevados teores de metais em seus tecidos, podem favorecer a incorporação do ambiente impactado no ecossistema circundante.