

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO**  
**DA NATUREZA**

**Íris Batista Gorne**

**Análises químicas, bioquímicas e ecofisiológicas em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.)  
cultivadas em rejeitos de minério de ferro da barragem de Fundão**

Juiz de Fora

2024

**Íris Batista Gorne**

**Análises químicas, bioquímicas e ecofisiológicas em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.)  
cultivadas em rejeitos de minério de ferro da barragem de Fundão**

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Ciências Biológicas da Universidade Federal de  
Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção  
do título de Mestre em Biodiversidade e  
Conservação da Natureza

**Orientador: Dr. Paulo Henrique Pereira Peixoto**

**Coorientadora: Dr<sup>a</sup>. Edimar Aparecida Filomeno Fontes**

Juiz de Fora

2024

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Batista Gorne, Íris .

Análises químicas, bioquímicas e ecofisiológicas em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) cultivadas em rejeitos de minério de ferro da barragem de Fundão / Íris Batista Gorne. -- 2024.

102 f.

Orientador: Paulo Henrique Pereira Peixoto

Coorientadora: Edimar Aparecida Filomeno Fontes

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, 2024.

1. Segurança Alimentar. 2. Agricultura Familiar. 3. Metais Pesados. 4. Fisiologia Vegetal. 5. Ecofisiologia. I. Henrique Pereira Peixoto, Paulo, orient. II. Aparecida Filomeno Fontes, Edimar, coorient. III. Título.

**Íris Batista Gorne**

**Análises químicas, bioquímicas e ecofisiológicas em plantas de alface (*Lactuca sativa L.*) cultivadas em rejeitos de minério de ferro da Barragem de Fundão**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Conservação da Natureza. Área de concentração: Comportamento, Ecologia e Sistemática.

Aprovada em 19 de fevereiro de 2024.

**BANCA EXAMINADORA**

**Prof. Dr. Paulo Henrique Pereira Peixoto** - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

**Profa. Dra. Edimar Aparecida Filomeno Fontes** - Coorientadora

Universidade Federal de Viçosa

**Prof. Dr. Cristiano Ferrara de Resende**

Universidade Federal de Juiz de Fora

**Prof. Dr. Leandro Elias Morais**

Instituto Federal de Minas Gerais - Campus Ouro Branco

Juiz de Fora, 08/01/2024.



Documento assinado eletronicamente por **Paulo Henrique Pereira Peixoto, Professor(a)**, em 19/02/2024, às 12:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Edimar Aparecida Filomeno Fontes, Usuário Externo**, em 19/02/2024, às 13:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cristiano Ferrara de Resende, Usuário Externo**, em 19/02/2024, às 16:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Leandro Elias Morais, Usuário Externo**, em 20/02/2024, às 13:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Uffj ([www2.ufff.br/SEI](http://www2.ufff.br/SEI)) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1654208** e o código CRC **FE9B603E**.

---

Dedico este trabalho aos meus pais, avó, irmã e padrinho que sempre foram uma fortaleza e fonte de inspiração para mim.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, à Deus e aos Orixás que me guiam e protegem a minha caminhada.

À minha família que sempre esteve ao meu lado me apoiando e fazendo de tudo para que eu realizasse e alcançasse os meus sonhos. E ao meu amor, por me incentivar a concluir essa etapa da minha vida.

Ao professor Paulo Henrique Pereira Peixoto o meu muito obrigado pela oportunidade e dedicação em me orientar e compartilhar tanto conhecimento! A minha experiência em trabalhar no Laboratório de Fisiologia Vegetal foi extremamente enriquecedora e com certeza sempre levarei em minha trajetória.

À professora Ana Carolina Mezzonato Pires por ter sido meu braço direito nas análises da minha pesquisa, sem a sua ajuda não seria possível! Agradeço imensamente por todos os conselhos, apoio e pela amizade. Aprendi muito com você.

Aos colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal que me auxiliaram na execução do meu trabalho, o meu muito obrigado.

À professora Edimar Aparecida Filomeno Fontes por toda a colaboração e disponibilidade em auxiliar no desenvolvimento das análises químicas.

Aos professores, alunos e técnicos do PGG em Biodiversidade e Conservação da Natureza e ao Instituto de Ciências Biológicas da UFJF por todo o aprendizado e apoio.

Aos produtores rurais, Dinho e Carla, da Vila Almeida, localizada no Bairro Linhares de Juiz de Fora – MG, por compartilharem seus conhecimentos que foram essenciais para o sucesso da montagem dos experimentos com a planta de alface.

À CAPES e à FAPEMIG que auxiliaram a realização dos levantamentos dos dados originais.

À Universidade Federal de Juiz de Fora pela oportunidade de realizar a minha pesquisa e me capacitar como profissional.

E a todos que de alguma maneira contribuíram com o desenvolvimento do meu trabalho e apoio emocional, os meus sinceros agradecimentos.

“[...] Se as pessoas não tiverem vínculos profundos com sua memória ancestral, com as referências que dão sustentação a uma identidade, vão ficar loucas neste mundo maluco que compartilhamos.” Ailton Krenak

## RESUMO

O rompimento da Barragem de Fundão, pertencente às Companhias Samarco/Vale/BHP, no município de Mariana, MG, causou impactos socioambientais e econômicos imensuráveis, trazendo ao Rio Doce grande quantidade de rejeitos, resíduos responsáveis por alterar significativamente as concentrações normais de sólidos totais e de metais pesados nos ambientes terrestres e aquáticos. Por conseguinte, sem o apoio e suporte adequados, a população afetada continua produzindo seus alimentos nas áreas acometidas pela deposição do rejeito. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos de diferentes concentrações de rejeito de minério de ferro da barragem de Fundão sobre alguns parâmetros ecofisiológicos e sobre a composição bioquímica e nutricional de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.). As plantas foram obtidas a partir da germinação de sementes e, posteriormente, ao atingirem tamanho uniforme, foram transplantadas para vasos de 2,8 litros contendo concentrações de 0, 25, 50, 75 e 100% de rejeitos de minério de ferro da barragem de Fundão, sendo 0% (substrato fértil) correspondente ao tratamento controle e 100 ao tratamento com rejeito. Após 40-50 dias de cultivo sob condições controladas, as amostras das plantas coletadas foram analisadas quanto à presença de metais pesados e elementos essenciais. Paralelamente, foram avaliados os teores de proteínas solúveis totais e as atividades enzimáticas específicas da SOD, CAT e POD; as trocas gasosas e a fluorescência da clorofila *a*; e atividade antioxidante (DPPH) das plantas. Além disso, foram determinados outros parâmetros bioquímicos, como a composição dos pigmentos fotossintéticos e de alguns metabólitos (carboidratos e prolina); além de análises químicas (Vitaminas A e C). Nos experimentos foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com três repetições por tratamento. Os resultados foram submetidos às análises de variâncias (ANOVA) pelo teste F ( $P \leq 0,05$ ) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ). No tratamento contendo 25% de rejeito não houve diferenças significantes no que tange ao crescimento, desenvolvimento, composição mineral e de vitaminas, resultados que indicam que, até essa proporção, o rejeito de minério de ferro não causou impactos prejudiciais severos/significativos em termos de produtividade e composição nutricional nas plantas de alface. No tratamento 50% de rejeito, efeitos prejudiciais ocasionados nas plantas foram percebidos sobre alguns parâmetros, mas, ainda assim, com impactos menores e possíveis de serem mitigados com a adubação e correção na estrutura do substrato. Para as proporções 75% e 100% observaram-se impactos expressivos, principalmente no que tange ao crescimento (MF e MS). Porém, não foram encontrados nas plantas elementos que

ocasionassem riscos de toxicidade para a saúde humana pelo seu consumo. Em contraste, observou-se uma deficiência nutricional como consequência da menor translocação de elementos essenciais para as folhas (parte aérea). Os resultados encontrados são satisfatórios ao se considerar a segurança alimentar e nutricional da população que convive e consome alimentos produzidos nos locais afetados pelo rejeito de minério de ferro, nos quais não encontramos riscos e/ou prejuízos para a saúde humana. Além disso, indicam a possibilidade de manutenção da agricultura familiar nos locais afetados, atividade que desempenha papel econômico importante na produção de alimentos.

Palavras-chave: Segurança Alimentar. Agricultura Familiar. Metais Pesados. Fisiologia Vegetal. Ecofisiologia.

## ABSTRACT

The rupture of the Fundão Dam, owned by Samarco/Vale/BHP companies, in the municipality of Mariana, MG, caused immeasurable socio-environmental and economic impacts, releasing a large amount of tailings into the Doce River. These residues significantly altered the normal concentrations of total solids and heavy metals in terrestrial and aquatic environments. Consequently, without proper support, the affected population continues to produce food in areas affected by the tailings deposition. Therefore, the aim of this study was to assess the effects of different concentrations of iron ore tailings from the Fundão Dam on some eco-physiological parameters and the biochemical and nutritional composition of lettuce plants (*Lactuca sativa* L.). Plants were obtained from seed germination and, when reaching uniform size, transplanted into 2.8-liter pots containing concentrations of 0, 25, 50, 75, and 100% of Fundão Dam iron ore tailings. The 0% concentration (fertile substrate) corresponded to the control treatment, and 100% to the tailings treatment. After 40-50 days of cultivation under controlled conditions, plant samples were analyzed for the presence of heavy metals and essential elements. Additionally, total soluble protein levels, specific enzymatic activities of SOD, CAT, and POD, gas exchange, chlorophyll a fluorescence, and plant antioxidant activity (DPPH) were evaluated. Other biochemical parameters, such as the composition of photosynthetic pigments and certain metabolites (carbohydrates and proline), as well as nutritional analyses (Vitamins A and C), were also determined. The experimental design used was a completely randomized design (CRD), with three replicates per treatment. The results were subjected to analysis of variance (ANOVA) by the F-test ( $P \leq 0.05$ ), and means were compared using the Scott-Knott test ( $P \leq 0.05$ ). In the treatment containing 25% tailings, there were no significant differences in terms of growth, development, mineral composition, and vitamins. This suggests that, up to this proportion, iron ore tailings did not cause severe/significant adverse impacts on lettuce productivity and nutritional composition. In the 50% tailings treatment, detrimental effects on seedlings were observed in some parameters, but with minor impacts that could potentially be mitigated with fertilization and substrate correction. At proportions of 75% and 100%, significant impacts were observed, particularly in terms of development (fresh and dry mass). However, no elements were found in the plants that posed risks of toxicity to human health through consumption. On the contrary, a nutritional deficiency was observed as a result of reduced translocation of essential elements to the leaves (aerial part). The results are satisfactory when considering the food and nutritional security of

the population that lives in and consumes food produced in areas affected by iron ore tailings. No risks or damages to human health were found. Additionally, the findings indicate the possibility of maintaining family farming in affected areas, which plays a crucial economic role in food production.

Keywords: Food Security. Family farming. Heavy metals. Plant Physiology. Ecophysiology.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Temperatura e umidade relativa do ar na região de Juiz de Fora, MG, durante a condução dos experimentos.....30
- Figura 2.** Muda de uma planta de alface após 20 dias de germinação (A). Distribuição aleatorizada dos vasos com os diferentes tratamentos em casa de vegetação (B). Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro). .....32
- Figura 3.** Conteúdo de massa fresca e massa seca em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Massa fresca da parte aérea (a), massa fresca da raiz (b), massa seca da parte aérea (c) e massa seca da raiz (d). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Proporções volumétricas de rejeito. 47
- Figura 4.** Vasos de plantas de alface cultivadas em diferentes concentrações de rejeito após 60 dias de cultivo, da esquerda para direita, da menor para maior concentração de rejeito (0 – 100%). Vista frontal (A). Vista superior (B). Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. **Fonte:** Autora, 2021.....48
- Figura 5.** Análises nutricionais nos substratos em pré-cultivo. Valores nitrogênio (a), fósforo (b), potássio (c), ferro (d), manganês (e), magnésio (f), cálcio (g), cromo (h), chumbo (i), níquel (j), cádmio (k), fósforo remanescente (l), capacidade de troca catiônica efetiva (m), capacidade de troca catiônica a pH 7,0 (n), índice de saturação de bases (o), soma de bases (p), matéria orgânica (q) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. .....53
- Figura 6.** Análises nutricionais nos substratos em pós-cultivo. Valores nitrogênio (a), fósforo (b), potássio (c), ferro (d), manganês (e), magnésio (f), cálcio (g), cromo (h), chumbo (i), níquel (j), cádmio (k), fósforo remanescente (l), capacidade de troca catiônica efetiva (m), capacidade de troca catiônica a pH 7,0 (n), índice de saturação de bases (o), soma de bases (p), matéria orgânica (q) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por

mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. ..... 55

**Figura 7.** Análise física nos substratos realizada em pré-cultivo. Areia grossa (a), areia fina (b), silte (ADA), argila (d), densidade de partículas (e) e densidade do solo (f) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. ..... 56

**Figura 8.** Análise dos teores de vitamina C em plantas de alface em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. ..... 60

**Figura 9.** Teores de vitamina A em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. ..... 61

**Figura 10.** Análise da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. ..... 61

**Figura 11.** Conteúdos de elementos minerais em folhas de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Teores de nitrogênio (a), fósforo (b), potássio (c), ferro (d), manganês (e), cálcio (f), magnésio (g), zinco (h) e cobre (i). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de

probabilidade. Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. ..... 63

**Figura 12.** Conteúdo de elementos minerais em raízes de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Teores de nitrogênio (a), fósforo (b), potássio (c), ferro (d), manganês (e), cálcio (f), magnésio (g), zinco (h), níquel (i), cobre (j), chumbo (k) e cromo (l). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. ..... 67

**Figura 13.** Pigmentos fotossintéticos em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Teores de clorofila *a* (a), clorofila *b* (b), carotenóides totais (c), clorofilas totais (d), razão clorofila *a*/clorofila *b* (e) e razão clorofila total/carotenóides totais (f). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. ..... 71

**Figura 14.** Conteúdo de prolina em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. ..... 74

**Figura 15.** Conteúdo de CST (a), amido (b) e índice SPAD (c) em folhas de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). As médias com mesmas letras não diferem entre si pelas análises de variâncias (ANOVA), pelo teste P (Teste de Post Hoc de Scott Knott), a 5% de probabilidade; n=3. Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. ..... 98

**Figura 16.** Atividade das enzimas catalase (a), peroxidase (b), polifenoloxidase (c), da superóxido dismutase (d), conteúdo de peróxido de hidrogênio (e), geração de ânion superóxido (g), índice de peroxidação lipídica (h), prolina (h) e acúmulo de fenóis solúveis (i) em folhas de

plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). As médias com mesmas letras não diferem entre si pelas análises de variâncias (ANOVA) pelo teste P (Teste de Post Hoc de Scott Knott), a 5% de probabilidade; n=3. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. ..... 99

**Figura 18.** Análises de trocas gasosas em folhas de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Taxas de fotossíntese líquida (a), condutância estomática ao vapor de água (b), concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (c), taxa transpiratória (d), eficiência no uso da água (e), eficiência intrínseca no uso da água (f), eficiência de carboxilação (g), rendimento quântico efetivo do transporte elétrons do PSII (h), coeficiente de extinção fotoquímico (i), taxa aparente de transporte de elétrons (j) e taxa de respiração no escuro (k) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). As médias com mesmas letras não diferem entre si pelas análises de variâncias (ANOVA) pelo teste F (Teste de Post Hoc de Scott Knott), a 5% de probabilidade; n=3. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. ..... 102

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Composição dos tratamentos (0, 25, 50, 75 e 100%), em termos de proporção de substrato fértil e rejeito de minério de ferro da barragem de Fundão, utilizados para o preenchimento dos vasos utilizados nos experimentos. ....	32
<b>Tabela 2.</b> Caracterização química dos substratos utilizados no experimento em pré-cultivo. ....	85
<b>Tabela 3.</b> Caracterização química dos substratos utilizados no experimento em pós-cultivo com plantas de alface ( <i>Lactuca sativa</i> L.).....	87
<b>Tabela 4.</b> Caracterização granulometria (física) dos substratos utilizados no experimento em pré-cultivo.....	89
<b>Tabela 5.</b> Nutrientes foliares em alface ( <i>Lactuca sativa</i> L.) cultivadas em diferentes proporções de rejeito de minério de ferro. ....	90
<b>Tabela 6.</b> Nutrientes em raízes de alface ( <i>Lactuca sativa</i> L.) cultivadas em diferentes proporções de rejeito de minério de ferro.....	92
<b>Tabela 7.</b> Análises físicas, químicas e bioquímicas em plantas de alface ( <i>Lactuca sativa</i> L.) cultivadas em diferentes proporções de rejeito de minério de ferro.....	94
<b>Tabela 8.</b> Fluorescência da clorofila a. ....	96
<b>Tabela 9.</b> Análises de trocas gasosas em folhas de plantas de alface ( <i>Lactuca sativa</i> L.) cultivadas em diferentes proporções de rejeito de minério de ferro.....	97

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

A – Absorbância

A – Taxas de fotossíntese líquida

A/Ci – Eficiência de carboxilação

ADA – Argila dispersa em água

AGE – Ácido gálico equivalente no material analisado

ANOVA – Análises de variâncias

AF – Área foliar

Al – Alumínio

APX – Ascorbato peroxidase

B – Boro

BSA – Albumina de soro bovino

C – Carbono

C – Concentração

CAT – Catalase

Ca – Cálcio

Cd – Cádmi

Ci – Concentração intercelular de CO<sub>2</sub>

Ci/Ca – Relação entre as concentrações interna e externa de carbono

Cl *a* – Clorofila *a*

Cl *b* – Clorofila *b*

Cl total – Clorofila total

Cm – Centímetro

CO<sub>2</sub> – Gás carbônico

Cr – Cromo

CRA – Conteúdo relativo de água

CST – Açúcares solúveis totais

Cu – Cobre

Cwa – Clima mesotérmico

CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O – Sulfato de cobre pentahidratado

DCPIP – 2,6-diclorofenol indofenol

DEBOT-ICB – Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas

DEGEO-ICH – Departamento de Geografia do Instituto de Ciências Humanas

Dp – Densidade de partículas

DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazina

Ds – Densidade do solo

DMSO – Dimetilsulfóxido

E – Taxa transpiratória

EC50 – Concentração do fármaco que induz metade do efeito máximo

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

EROs – Espécies reativas de oxigênio

ETR – Taxa aparente de transporte de elétrons

EU – Equivalente de umidade

EUA – Eficiência no uso da água

EUA int – Eficiência intrínseca no uso da água

Fe – Ferro

Fig. – Figura

Fm – Fluorescência máxima

Fo – Fluorescência inicial

Fo/Fm – Produção quântica basal dos processos não fotoquímicos no fotossistema II

Fv – Fluorescência variável

Fv/Fo – Eficiência máxima do processo fotoquímico no PSII

Fv/Fm – Rendimento quântico máximo do PSII

g – Grama

gs – Condutância estomática ao vapor de água

h – Hora

H + Al – Acidez potencial

HClO<sub>4</sub> – Ácido perclórico

H<sub>2</sub>O – Água

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – Peróxido de hidrogênio

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – Ácido sulfúrico

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia

IRGA – Analisador de gases no infravermelho portátil

ISNa – Índice de saturação por sódio

K – Potássio

KI – Iodeto de potássio  
KOH – Hidróxido de potássio  
L – Litro  
Laep – Laboratórios Avançados de Experimentação de Plantas  
M – Índice de saturação de alumínio  
M – Molar  
MDA – Dialdeído malônico  
MET – Metionina  
MF – Massa fresca  
Mg – Magnésio  
Min – Minutos  
mg – Miligrama  
mL – Mililitros  
mM – Milimolar  
Mn – Manganês  
Mmol – Milimol  
MO – Matéria orgânica  
MS – Massa seca  
N – Nitrogênio  
n° – Número  
Na – Sódio  
Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> – Carbonato de sódio  
NaN<sub>3</sub> – Azida de sódio  
Ni – Níquel  
NBT – Cloreto de nitrotetrazólio azul  
Nm – Nanômetro  
O<sub>2</sub> – Gás oxigênio  
OH• – Radical hidroxila  
O<sub>2</sub>•- – Ânion superóxido  
P – Fósforo  
p – Parte  
Pb – Chumbo  
pH - Potencial hidrogeniônico

PI total – Índice de performance total  
PMSF – Fluoreto de fenilmentilsulfônico  
POX – Peroxidase  
PPO – Polifenoloxidase  
P-rem – Fósforo remanescente  
PRO – Prolina  
PVPP – Polivinilpirrolidona  
qP – Coeficiente de extinção fotoquímico  
Rd – Taxa de respiração no escuro  
Rpm – Rotações por minuto  
S – Enxofre  
SB – Soma de bases trocáveis (SB)  
SOD – Superóxido dismutase  
SPAD – Soil Plant Analysis Development  
T – Capacidade de troca catiônica a pH 7,0  
t – Capacidade de troca catiônica efetiva  
TBA – Ácido tiobarbitúrico  
TCA – Ácido tricloroacético  
UFJF – Universidade Federal de Juiz de Fora  
UFV – Universidade Federal de Viçosa  
v – Volume  
V – Índice de saturação de bases  
W – Watts  
X – Vezes  
Zn – Zinco  
 $\Psi_w$  – Potencial hídrico  
 $\mu\text{g}$  – Micrograma  
 $\mu\text{L}$  – Microlitros  
 $\mu\text{M}$  – Micromol  
 $^{\circ}\text{C}$  – Grau Celsius  
% – Porcentagem  
 $\Phi\text{PSII}$  – Rendimento quântico efetivo do transporte elétrons do PSII

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	24
<b>1.1 Objetivo Geral</b> .....	28
<b>1.2 Objetivos Específicos</b> .....	28
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	30
<b>2.2 Localização da área de pesquisa e condições climáticas</b> .....	30
<b>2.2 Material vegetal e condições de cultivo</b> .....	31
<b>2.3 Conteúdo de massa fresca e massa seca</b> .....	33
<b>2.4 Análises do Solo</b> .....	34
2.4.1 Fertilidade dos substratos .....	34
2.4.2 Granulometria dos Substratos .....	34
<b>2.5 Análises Nutricionais</b> .....	34
2.5.1 Vitamina C .....	34
2.5.2 Vitamina A .....	35
2.5.3 Determinação Antioxidante Total pela Captura do Radical Livre DPPH.....	36
2.5.4 Nutrientes foliares e nas raízes.....	37
<b>2.6 Fotossíntese e seus produtos</b> .....	37
2.6.1 Conteúdos de carboidratos solúveis totais e amido.....	37
2.6.3 Determinação do índice SPAD e dos teores de pigmentos fotossintéticos da fluorescência da clorofila <i>a</i> e da fotossíntese.....	38
2.6.4 Fluorescência da clorofila <i>a</i> .....	39
2.6.5 Análises de trocas gasosas.....	40
<b>2.7 Análises bioquímicas</b> .....	40
2.7.1 Atividade enzimática.....	40
2.7.2 Conteúdo de Proteínas Solúveis Totais.....	42
2.7.3 Metabolismo oxidativo (Espécies Reativas de Oxigênio - EROs) e outros metabólitos .....	43
2.7.4 Metabólitos.....	44
<b>2.8 Análise estatística</b> .....	45
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	45
<b>4.1 Conteúdo de massa fresca e massa seca</b> .....	45
<b>3.2 Análises do Solo</b> .....	49
3.2.1 Fertilidade dos substratos .....	49
3.2.2 Granulometria dos Substratos .....	55

<b>3.3 Análises Químicas</b> .....	59
3.3.1 Vitamina C .....	60
3.3.2 Vitamina A .....	60
3.3.3 Atividade Antioxidante Total pela Captura do Radical Livre DPPH .....	61
3.3.4 Nutrientes foliares e das raízes.....	62
<b>3.4 Fotossíntese</b> .....	70
3.4.1 Análises de pigmentos fotossintéticos.....	70
3.4.2 Análises fotossintéticas .....	72
<b>3.5 Análises bioquímicas</b> .....	73
3.5.1 Prolina .....	73
3.5.2 Análises bioquímicas.....	74
<b>4 CONCLUSÃO</b> .....	75
<b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	76
<b>APÊNDICE I</b> .....	85
<b>APÊNDICE II</b> .....	98

## 1 INTRODUÇÃO

Em 5 de novembro de 2015, ocorreu o rompimento da Barragem de Fundão, de propriedade das Companhias Samarco/Vale/BHP, no município de Mariana, MG. O desastre resultou em impactos socioambientais e econômicos incalculáveis, despejando no Rio Doce aproximadamente 55 milhões de metros cúbicos de rejeitos de mineração de ferro, armazenados no reservatório do Fundão, ocasionando o galgamento da barragem de Santarém e a formação de uma avalanche de rejeitos e água. Essa massa percorreu 663 km de destruição ao longo do Rio Doce, atingindo diversas comunidades e desembocando no Oceano Atlântico. O rompimento afetou tanto afluentes quanto áreas de cultivo, alterando de maneira significativa suas concentrações normais de sólidos totais em suspensão e metais pesados dissolvidos (Andrade et al., 2018; Fernandes et al., 2016). De acordo com dados divulgados pelo Movimento dos Atingidos por Barragens (MAB), a empresa Renova declara ter indenizado 80 mil indivíduos afetados pelo evento. Entretanto, estimativas do MAB sugerem que aproximadamente um milhão de pessoas foram impactadas pelo rompimento da barragem (Brasil de Fato, 2023).

Devido à exploração de ouro (Au), ferro (Fe) e à mineração de alumínio (Al), a região é reconhecida como um Quadrilátero Ferrífero, o que resultou em um enriquecimento de metais e conjuntos de minérios nos sedimentos do rio (Silva et al., 2018; Coelho et al., 2020). Além disso, a composição química do solo impactado, enriquecida em elementos metálicos, impactou o estabelecimento e desenvolvimento de espécies vegetais utilizadas em práticas de reflorestamento ou para fins econômicos (Coelho et al., 2020). A análise do rejeito evidenciou a presença de metais como Arsênio (As), Cobre (Cu), Zinco (Zn), Chumbo (Pb), Manganês (Mn), Cromo (Cr), Cobalto (Co) e Níquel (Ni). Embora não tenham atingido concentrações potencialmente tóxicas, a sedimentação da lama sobre o solo e o revolvimento do fundo dos rios podem ter colocado novamente em suspensão sedimentos contendo metais pesados, contribuindo para a disseminação desses elementos ao longo do trajeto da lama (EMBRAPA, 2015; Hatje et al., 2017; Queiroz et al., 2018).

Esse desastre ambiental, considerado o maior no setor de mineração global, teve grandes repercussões no âmbito da Saúde Pública, comprometendo a qualidade dos ecossistemas aquáticos e terrestres, bem como afetando adversamente a saúde e o bem-estar das comunidades

locais (Heller, 2019). A população enfrentou alterações em sua rotina, fonte de renda e exposição diária a contaminantes, representando riscos e agravos à saúde. No entanto, a população não recebeu suporte adequado para permanecer nos locais afetados, sendo compelida a conviver com as mudanças ocorridas. Apesar da recomendação de evitar contato com os rejeitos, a agricultura representa uma das principais atividades produtivas e fonte de alimentação para a população dos municípios afetados (Vitória et al., 2019).

Diante desse contexto, a população continua a produzir alimentos nas áreas impactadas pela deposição do rejeito. No entanto, há poucos estudos que investigam os riscos em longo prazo associados ao consumo dos alimentos produzidos nesses locais. Diversas pesquisas apontam importantes associações de metais pesados, presentes no rejeito, com doenças infecciosas, respiratórias e relacionadas ao trato gastrointestinal, além de um possível desenvolvimento de doenças crônicas devido à exposição a altas concentrações de toxinas (ABRASCO, 2020).

Análises realizadas em amostras de rejeito coletadas no fundo do antigo lago da UHE Risoleta Neves (Candonga), em Santa Cruz do Escalvado, MG, e submetidas à avaliação pelo Laboratório de Fisiologia Vegetal – UFJF, revelaram a presença excessiva de elementos metálicos, como ferro (Fe) e manganês (Mn) (Freitas et al., 2023). Embora esses elementos sejam essenciais tanto para as atividades metabólicas das plantas quanto para a saúde humana, em concentrações elevadas, podem ocasionar efeitos potencialmente tóxicos (Andrade et al., 2018; Etesami, 2018). O consumo humano acima dos Limites Superiores Toleráveis de Ingestão (UL), índices que determinam o limite máximo tolerável da ingestão diária de nutrientes de forma segura, pode ocasionar efeitos prejudiciais à saúde (FAO/WHO/UNU, (2011); Abe-Matsumoto, 2015). Nas plantas, esses elementos podem provocar prejuízos na absorção e distribuição de nutrientes, bem como em suas funções metabólicas, causando desequilíbrio nutricional e comprometimento no desenvolvimento em termos da fotossíntese e biomassa (Andrade et al., 2018; Etesami, 2018).

A eventual redução na biodisponibilidade de micronutrientes, compreendendo vitaminas e minerais fundamentais para o bem-estar humano, pode resultar em deficiências nutricionais, uma vez que não se alcança a Ingestão Dietética de Referência (DRI) (National Research Council (US), 1989). A DRI refere-se à quantidade diária necessária de nutrientes para satisfazer as exigências fisiológicas do organismo, como estabelecido por Abe-Matsumoto em 2015. A insuficiência na obtenção adequada desses micronutrientes cruciais pode

desencadear desequilíbrios nutricionais, comprometendo assim a saúde e o funcionamento eficiente dos processos metabólicos e fisiológicos no corpo humano. Esse cenário destaca a importância crítica da manutenção de níveis apropriados de micronutrientes na dieta diária, a fim de assegurar um estado nutricional adequado e prevenir potenciais complicações associadas à carência de vitaminas e minerais.

A alface, sendo a principal hortaliça folhosa consumida pelos brasileiros, destaca-se por sua comercialização e consumo prevalentes, principalmente na forma *in natura*. Cultivada em condições de agricultura familiar, conforme indicado por Sala & Costa (2005), essa hortaliça é reconhecida por suas características organolépticas distintas, proporcionando fácil aceitação devido ao sabor suave e à textura crocante. Além disso, é relevante ressaltar que a alface não apenas atende às preferências culinárias, mas também contribui significativamente para a ingestão de vitaminas, minerais e fibras, como apontado pelo TACO (2011). Essa combinação de qualidades torna a alface uma escolha nutricional valiosa e uma peça fundamental na dieta cotidiana dos brasileiros, reforçando sua importância não apenas como alimento, mas como um componente essencial da culinária e da alimentação saudável.

No contexto socioeconômico, a produção da cultura de alface desempenha um papel crucial para os agricultores, especialmente aqueles envolvidos na agricultura familiar. A comercialização efetiva da alface proporciona oportunidades econômicas e sustentabilidade para esses produtores, contribuindo para a subsistência de comunidades rurais. Além disso, o cultivo da alface gera empregos locais, promovendo o desenvolvimento socioeconômico em áreas rurais (Monchelato & Fernandes, 2022). A demanda consistente por alface no mercado fortalece a base financeira dos agricultores, consolidando a importância socioeconômica dessa hortaliça na produção agrícola, destacando seu papel vital na segurança alimentar e no bem-estar das comunidades agrícolas.

Este estudo propôs avaliar os impactos de diferentes proporções de rejeito de minério de ferro da barragem de Fundão em plantas de alface. Para tanto, análises químicas e físicas do substrato foram fundamentais para entender a composição nutricional e mineralógica dos substratos utilizados nos tratamentos, fornecendo informações essenciais sobre a presença e concentração dos metais pesados. Além disso, a avaliação dos parâmetros nutricionais, vitaminas, minerais e capacidade antioxidante nas plantas demandou análises bioquímicas detalhadas para quantificar os efeitos do rejeito na qualidade nutricional e crescimento das plantas de alface.

Para compreender os efeitos ecofisiológicos, as análises de fluorescência da clorofila *a* e de trocas gasosas de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O são fundamentais. Essas análises são ferramentas sensíveis para detectar alterações no aparelho fotossintético induzidas por estresses, proporcionando compreensão sobre a saúde e a eficiência fotossintética das plantas. O uso de analisador de fotossíntese, fluorômetro e clorofilômetro portáteis, como o *IRGA, Handy Pea* e o *SPAD-502*, podem fornecer medidas instantâneas, não destrutivas, eficientes da fotossíntese, trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a* e dos pigmentos fotossintéticos, contribuindo para a avaliação da resposta das plantas aos diferentes tratamentos (Ahammed et al., 2018; Porcar-Castell et al., 2014).

Adjuntamente, estudos a respeito dos mecanismos de defesa enzimáticos e não enzimáticos em plantas, têm sido promissores e contribuem para investigar a citototoxicidade das espécies reativas de oxigênio (EROs). As EROs representam uma classe de moléculas altamente reativas, caracterizadas por átomos de oxigênio com elétrons desemparelhados, conferindo-lhes uma natureza instável propensa a interações vigorosas no ambiente celular. Principais entre essas EROs estão o oxigênio singleto (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), superóxido (O<sub>2</sub>•-), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e radical hidroxila (•OH). Essas moléculas são intrinsecamente produzidas durante o metabolismo aeróbico em organelas celulares como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos, desempenhando papéis cruciais como mensageiros em vias de sinalização celular (Huang et al., 2019).

Em condições normais, as plantas desenvolveram sistemas de defesa antioxidantes, envolvendo enzimas como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase, juntamente com pequenas moléculas antioxidantes, como glutationa e ácido ascórbico. Esses componentes colaboram na desintoxicação das EROs, mantendo o equilíbrio redox celular (Dinakar et al., 2011). Contudo, sob estresse ambiental, como altas temperaturas, seca, salinidade ou ataques patogênicos, dentre outros, a produção de EROs pode superar a capacidade antioxidante, levando ao estresse oxidativo (Sharma et al., 2012). Esse desequilíbrio pode causar danos a biomoléculas essenciais, incluindo DNA, proteínas e lipídios, resultando em efeitos adversos como morte celular e comprometimento do desenvolvimento normal das plantas.

Por fim, a investigação dos efeitos específicos do rejeito nas plantas exige uma abordagem abrangente que integre análises químicas, bioquímicas e ecofisiológicas, as quais possibilitam a identificação de concentrações críticas dos elementos tóxicos, elucidando os

níveis em que esses elementos começam a causar danos às plantas. Em conjunto, essas análises formam uma base sólida para a compreensão e estabelecimento de medidas mitigadoras dos impactos socioambientais decorrentes do desastre da barragem de Fundão.

Considerando os efeitos prejudiciais no crescimento e desenvolvimento das plantas quando expostas a contaminantes, como metais pesados em excesso, hipotetizou-se que o crescimento e as alterações na composição química e bioquímica de plantas de alface cultivadas em substratos contendo rejeitos de minério de ferro seriam prejudicados devido ao aumento dos teores de elementos metálicos. Portanto, pretendeu-se, neste estudo, avaliar quais efeitos químicos, bioquímicos e ecofisiológicos ocorrem em plantas de alface cultivadas na presença de rejeitos de minério de ferro da barragem de Fundão, de modo a considerar os possíveis riscos à saúde humana.

### **1.1 Objetivo Geral**

Avaliar os efeitos de diferentes proporções de rejeito de minério de ferro da barragem de Fundão sobre parâmetros ecofisiológicos, composição química e bioquímica de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.).

### **1.2 Objetivos Específicos**

- a) Avaliar o conteúdo de minerais e a composição física dos substratos utilizados nos tratamentos;
- b) Quantificar os parâmetros nutricionais, vitaminas, minerais e capacidade antioxidante nas plantas dos diferentes tratamentos;
- c) Analisar a atividade fotossintética e a composição de pigmentos fotossintéticos, a atividade de enzimas antioxidantes e a produção de radicais livres e metabólitos em plantas de alface submetidas a diferentes proporções de rejeito;
- d) Verificar se há a presença de elementos essenciais metálicos em excesso nos preparados de solo, partes aéreas e raízes das plantas;

- e) Identificar quais efeitos ocorrem nas plantas quando submetidas ao rejeito e, se houver respostas diferenciais, determinar a partir de quais concentrações os efeitos se manifestam;

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

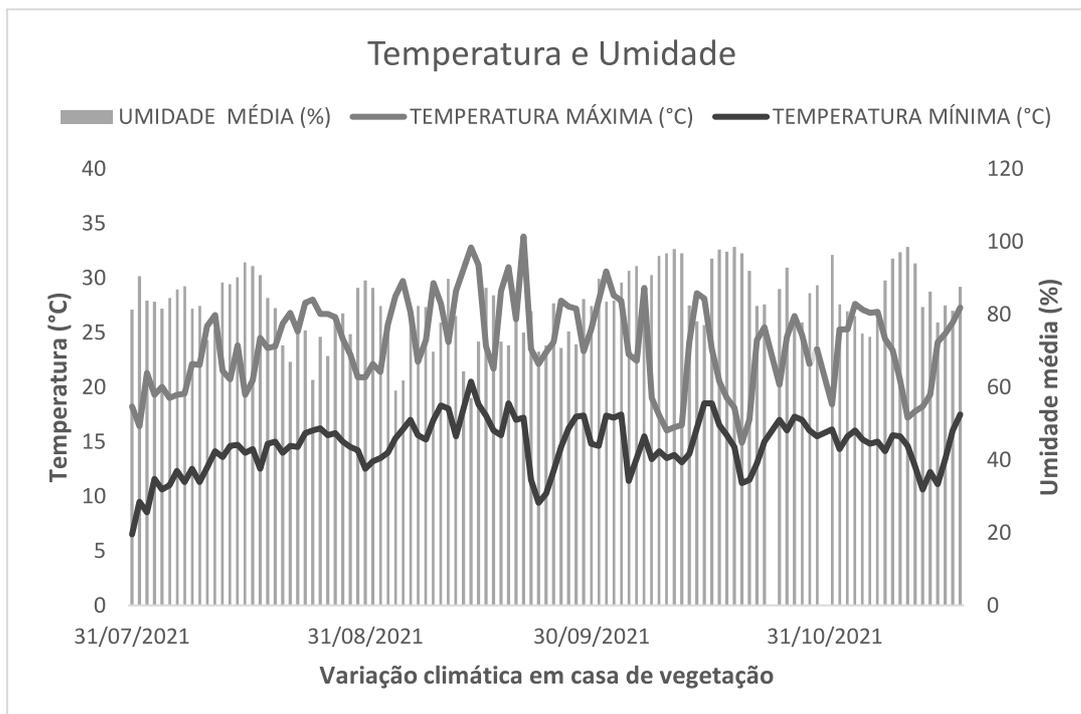
### 2.2 Localização da área de pesquisa e condições climáticas

Os cultivos de alface crespa foram montados e conduzidos em casa de vegetação não-climatizada, coberta com teto de policarbonato e aberta nas laterais, localizada na Estação Experimental de Cultivo e Manutenção de Plantas do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas (DBOT - ICB) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), no período de julho a novembro de 2020. Totalizaram-se três montagens de experimentos em períodos com intervalos de 20 dias entre eles. Após 60 dias de cada montagem experimental, análises laboratoriais, bem como análises nutricionais, bioquímicas e ecofisiológicas foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Vegetal do DBOT - ICB. Os locais mencionados localizam-se em Juiz de Fora, MG, (21°46'48.9"S 43°22'25.6"W, 970 m de altitude) e pertencem à UFJF, cuja região possui clima Cwa (mesotérmico), com verão chuvoso e quente e inverno mais frio, com menor presença de chuvas, de acordo com a Classificação de W. Köppen (DEGEO - ICH / UFJF, 2009).

O primeiro experimento foi montado entre 31/07/2021 e 28/09/2021. No período experimental, a temperatura variou de 7 a 33 °C, com média de 20 °C; a umidade relativa do ar variou de 57 a 94%, com média de 75,5%. O segundo experimento foi realizado no mesmo local, entre os dias 23/08/2021 e 21/10/2021. Nesse período experimental, a temperatura variou de 9 a 33 °C, com média de 21 °C; a umidade relativa do ar variou de 98 a 57%, com média de 77,5%. O terceiro experimento foi montado no período entre 18/09/2021 a 16/11/2021. No último período experimental, a temperatura variou de 9 a 33 °C, com média de 21 °C; a umidade relativa do ar variou de 69 a 98%, com média de 83,5%.

Os dados climatológicos foram obtidos do site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) (<https://bdmep.inmet.gov.br/>). As referências históricas de Juiz de Fora são provenientes da Estação Climatológica da UFJF, coletadas pelo Laboratório de Climatologia e Análise Ambiental do Departamento de Geografia do Instituto de Ciências Humanas (DEGEO – ICH).

**Figura 1.** Temperatura e umidade relativa do ar na região de Juiz de Fora, MG, durante a condução dos experimentos.



Fonte: Autora, 2022.

## 2.2 Material vegetal e condições de cultivo

As plantas de alface crespa (*Lactuca sativa* L. var. *crispa*), do tipo Grand Rapid, utilizadas nos estudos foram obtidas a partir de mudas produzidas após germinação de sementes de alface comerciais previamente esterilizadas e acondicionadas em sementeiras com substrato vegetal produzido por compostagem. As mudas de alface, de aproximadamente 7-8 cm, foram transplantadas 20 dias após a germinação das sementes, para vasos de 2,8 litros e submetidas às proporções volumétricas de 0, 25, 50, 75 e 100% de rejeitos de minério de ferro da barragem de Fundão, sob condições controladas em casa de vegetação localizada nos Laboratórios Avançados de Experimentação de Plantas (Laep-UFJF), sendo 0% correspondente ao tratamento controle e 100% ao tratamento com rejeito puro (Tabela 1).

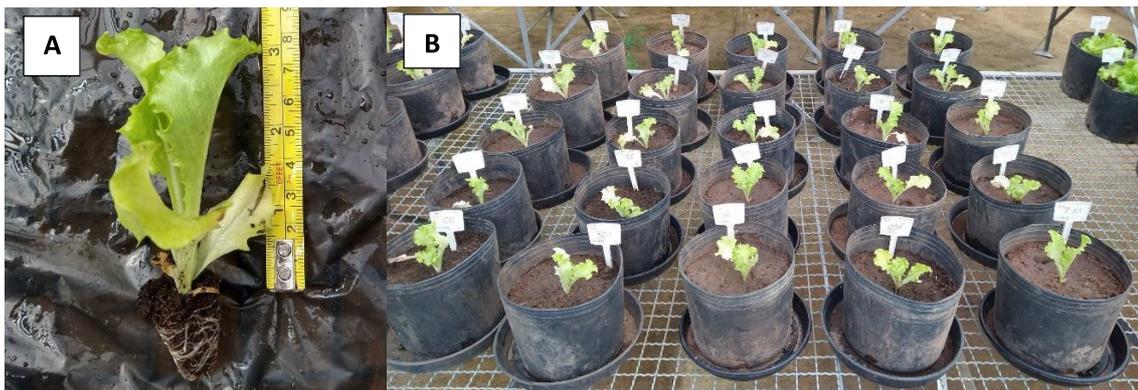
Os substratos foram preparados a partir do rejeito de minério de ferro coletado após a dragagem do fundo do lago da Usina Hidrelétrica Risoleta Neves (Candonga), localizada em Santa Cruz do Escalvado, MG e da mistura desse material com um substrato fértil (solo:areia:esterco bovino curtido; 3/2/1; v/v/v/). Os vasos com os diferentes tratamentos foram distribuídos de forma aleatorizada, a fim de mitigar as possíveis interferências físicas locais no crescimento das plantas. A irrigação foi manual, realizada diariamente com auxílio de *becker*, no período das 07 às 08 horas da manhã, durante todo o experimento.

**Tabela 1.** Composição dos tratamentos (0, 25, 50, 75 e 100%), em termos de proporção de substrato fértil e rejeito de minério de ferro da barragem de Fundão, utilizados para o preenchimento dos vasos utilizados nos experimentos.

Tratamento	Substrato Fértil (%)	Rejeito de minério de ferro (%)
0	100	0
25	75	25
50	50	50
75	25	75
100	0	100

Fonte: Autora, 2022.

**Figura 2.** Muda de uma planta de alface após 20 dias de germinação (A). Distribuição aleatorizada dos vasos com os diferentes tratamentos em casa de vegetação (B). Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro).



Fonte: Autora, 2021.

Após 60 dias de crescimento, os vasos das plantas de alface produzidas em diferentes substratos em casa de vegetação foram transferidos para o Laboratório de Fisiologia Vegetal da UFJF para que as análises destrutivas (químicas e bioquímicas) ocorressem de forma imediata após a retirada das folhas, mitigando possíveis estresses fisiológicos ocasionados pela coleta. De cada tratamento, foram escolhidos aleatoriamente três vasos dos cinco produzidos, sendo as análises realizadas em três repetições, ou seja, três indivíduos diferentes por tratamento e em três réplicas, correspondendo à triplicata das análises em cada indivíduo (3x3).

Todas as análises foram realizadas em folhas das plantas de alface completamente expandidas, na 2ª ou 3ª folha, a partir da roseta central. Discos foliares, obtidos do terço médio da lâmina foliar e sem sinais de problemas fitossanitários, foram coletados e imediatamente utilizados para as análises laboratoriais.

Para abranger todas as análises propostas neste trabalho foram realizadas três montagens dos experimentos. A primeira montagem destinou-se à coleta integral das partes aéreas, raízes e substrato para serem analisadas em termos de produtividade (massa seca e fresca), assim como para envio ao Laboratório de Análises de Rotina de Solo e de Planta do Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), a fim de realizar análises no que tange à granulometria e fertilidade dos substratos, além do conteúdo de nutrientes foliares e das raízes. A segunda montagem foi dirigida às análises ecofisiológicas (não destrutivas) e bioquímicas (destrutivas). Por fim, a terceira montagem foi destinada às análises nutricionais de vitaminas A e C, as quais necessitaram de um maior conteúdo de tecido vegetal para serem realizadas.

No presente manuscrito as metodologias utilizadas nos experimentos foram organizadas em quatro seções. A primeira foi direcionada à apresentação das metodologias das análises do solo no que tange fertilidade, granulometria dos substratos e quanto aos níveis dos elementos metálicos essenciais e de elementos potencialmente tóxicos. Já na segunda, foram apresentados os métodos utilizados nas análises nutricionais, pela determinação do conteúdo de vitaminas nas folhas e nutrientes foliares e das raízes, além da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH e quanto aos níveis dos elementos metálicos essenciais e elementos potencialmente tóxicos. A terceira seção apresenta as metodologias de estudo da fotossíntese, incluindo à análise dos conteúdos de massa fresca e massa seca, carboidratos solúveis totais e amido, índice SPAD e análises de pigmentos fotossintéticos, fluorescência da clorofila e análises de trocas gasosas. Por fim, a quarta seção apresenta as metodologias usadas nas análises bioquímicas, com a determinação do conteúdo de proteínas, atividade enzimática específica, extração enzimática, metabolismo oxidativo (Espécies Reativas de Oxigênio – EROs) e substratos das enzimas.

### **2.3 Conteúdo de massa fresca e massa seca**

Para a obtenção das amostras de massas frescas e secas, a parte aérea das plantas foram submetidas à lavagem com água deionizada, já as raízes foram separadas e lavadas com HCl a  $10 \text{ mmol L}^{-1}$  por aproximadamente 30 segundos, voltando-se a lavá-las em água destilada novamente (Ferrandon & Chamel, 1988). Ambas as partes foram secas com papel absorvente e em seguida pesadas, para quantificar às suas respectivas massas frescas. A massa seca foi obtida pela pesagem das amostras após secagem em estufa com circulação de ar a  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  até atingirem massas constantes. Os resultados foram expressos em gramas.

## **2.4 Análises do Solo**

### **2.4.1 Fertilidade dos substratos**

Visando à determinação da granulometria e da composição de nutrientes, antes da instalação dos experimentos, três amostras dos cinco substratos utilizados foram coletadas aleatoriamente. Os teores de potássio (K), fósforo (P), zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn) e cobre (Cu) foram obtidos após a extração com solução Mehlich 1 (HCl 0,05 M + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,0125 M); nitrogênio (N) foi obtido por digestão sulfúrica – destilação Kjeldhal; os minerais cálcio (Ca), magnésio (Mg) e alumínio (Al) foram extraídos com solução de KCl 1M; para extração do boro (B), foi utilizada água quente; o enxofre (S) foi extraído com fosfato monocálcio em ácido acético; a acidez potencial (H + Al) foi determinada através do pH em solução tampão SMP. Outros atributos determinados foram: sódio (Na), nitrogênio (N), níquel (Ni), cromo (Cr), cádmio (Cd), chumbo (Pb), pH em água (1:2,5), soma de bases trocáveis (SB), capacidade de troca catiônica a pH 7,0 (T), capacidade de troca catiônica efetiva (t), índice de saturação de bases (V), índice de saturação de alumínio (M), índice de saturação por sódio (ISNa), matéria orgânica (M.O.; obtida através da oxidação por Na<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 4N + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10N) e fósforo remanescente (P-rem). Todas as análises foram realizadas pelo Laboratório de Análises de Rotina de Solo e de Planta do Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), conforme metodologia proposta por Silva (2009).

### **2.4.2 Granulometria dos Substratos**

A caracterização física dos substratos foi determinada pela granulometria (areia grossa, areia fina, argila e silte) e pelas análises: da argila dispersa em água (ADA), equivalente de umidade (EU), densidade de partículas (Dp), densidade do solo (Ds) (Texeira et al., 2017).

## **2.5 Análises Nutricionais**

### **2.5.1 Vitamina C**

O conteúdo de vitamina C foi determinado utilizando a metodologia proposta por Dinesh et al. (2015), com modificações. Alíquotas de 3,4 g de massa fresca (MF) de cada

amostra dos tratamentos foram maceradas com auxílio de nitrogênio líquido (N<sub>2</sub>) e homogeneizadas com 15 mL de ácido oxálico a 4%. Após filtragem em quatro camadas de gaze, o extrato foi centrifugado a 10.000 x g por 15 min a 4 °C, e seu volume completado para 17 mL de ácido oxálico a 4%.

O teor de vitamina C das amostras dos tratamentos foi determinado pelo método de titulação com 2,6-diclorofenol indofenol (DCPIP), conforme descrito por Rao & Deshpande (2006). Em um balão de 50 mL foram pipetados 5 mL da solução padrão de trabalho de ácido ascórbico (100µg/5mL) e 10 mL de ácido oxálico a 4%. O conteúdo do frasco foi titulado contra a solução corante (preparada com 800 mL de uma solução composta por 168 mg de bicarbonato de sódio, 208 mg de 2,6-diclorofenol indofenol e completada para 800 mL com água destilada (p/p/v)) (V<sub>1</sub>) até o aparecimento de uma coloração rosa pálida que persistiu por alguns minutos. Foram titulados de forma semelhante 5 mL do extrato dos tratamentos contra a solução de corante (V<sub>2</sub>). O teor de vitamina C presente nas amostras foi determinado usando a fórmula:

$$\text{Quantidade de conteúdo ascórbico (mg/100g)} = \frac{100 \times V_2 \times 17 \times 100}{V_1 \times MF \times 5}$$

Onde:

100 = µg de ácido ascórbico padrão tomado para titulação

V<sub>1</sub> = Volume de corante consumido por 500 µg de ácido ascórbico padrão

V<sub>2</sub> = Volume de corante consumido por 5 mL de amostra de teste

17 = Corresponde ao volume total do extrato

100 = Teor de ácido ascórbico/100g da amostra

MF = Massa da amostra retirada para extração (≅ 3,4 g)

5 = Volume da amostra de teste retirada para titulação

O conteúdo de vitamina C foi expresso em termos do teor de vitamina C, em mg por 100g de massa foliar (mg/100g).

### 2.5.2 Vitamina A

Para determinação do conteúdo de vitamina A nas amostras dos diferentes tratamentos foi utilizada a metodologia proposta por Rutkowski & Grzegorzcyk (2007). A extração foi

obtida pela maceração de 1,5 g de massa fresca com N<sub>2</sub> líquido e 8 mL de água deionizada (Braga, 2016). Após a solubilização, os homogenatos foram centrifugados a 10.000g por 15 min a 4°C. Em tubo de ensaio rosqueável foram adicionados 1 mL do sobrenadante e 1 mL da solução de KOH a 1M em etanol 90%, sob agitação em vórtex. A mistura foi incubada em a 60 °C por 20 min e a reação foi interrompida em banho de gelo. Então, foi adicionado 1 mL de xileno à solução com agitação em vórtex por 1 min. Em seguida, após as amostras serem centrifugadas à 1500 x g durante 10 min e separadas em duas fases, todo o extrato da camada superior foi coletado e sendo a sua absorbância (A<sub>1</sub>) lida em cubeta de quartzo a 335 nm, sendo o espectrofotômetro zerado com xileno. Após a primeira leitura, os extratos foram transferidos para tubos de ensaios e irradiados com luz ultravioleta por 30 min. Posteriormente, foi realizada a leitura da segunda absorbância (A<sub>2</sub>), também 335 nm.

A concentração (C<sub>x</sub>) da vitamina A (µM) nos extratos analisados foi determinada utilizando-se a fórmula:

$$C_x = (A_1 - A_2) \cdot 22,23$$

Onde:

22,23 - Multiplicador concebido com base no coeficiente de absorção de uma solução de vitamina A a 1% (na forma de retinol) em xileno a 335 nm mantido em uma cubeta de medição com espessura = 1 cm.

Os resultados foram expressos em termos do teor de vitamina A nos tecidos foliares de alface (µg/100g).

### **2.5.3 Determinação Antioxidante Total pela Captura do Radical Livre DPPH**

A atividade antioxidante total, estimada pela captura do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazina (DPPH), foi determinada utilizando-se a metodologia proposta por Brand-Wiliams et al. (1995), com modificações sugeridas por Sánchez-Moreno et al. (1998) e Rufino et al. (2007). Inicialmente, alíquotas de 2 g de massa foliar fresca de cada tratamento foram maceradas com auxílio de nitrogênio (N<sub>2</sub>) líquido e 10 mL de metanol a 80%, de acordo com Parida et al. (2018). As extrações foram reservadas ao abrigo da luz por 1 h a 5°C em tubos rosqueáveis e, posteriormente, centrifugadas a 10.000 g x por 15 min a 4°C.

Foram preparadas três diferentes diluições, em triplicata, a partir dos extratos obtidos, sendo equivalentes a 2 g (100 µL de extrato), 1,5 g (75 µL de extrato + 25 µL de metanol a 80%) e 1,0 g (50 µL de extrato + 50 µL de metanol a 80%) de massa foliar. Na ausência de luz, foi adicionada uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição do extrato em 3,9 mL do radical DPPH a 0,06 mM (preparado em álcool metílico (m/v)), sendo a solução homogeneizada em agitador de tubos. Foi utilizado como solução controle 0,1 mL de metanol a 80% com 3,9 mL do radical DPPH a 0,06 mM preparado em álcool metílico (m/v). As soluções foram lidas em espectrofotômetro a 515 nm após 15 min, tempo pré-estabelecido para a redução total da absorvância até sua estabilização (tempo EC50). A curva padrão foi preparada com solução padrão de DPPH (60 µM) em álcool metílico (m/v). Utilizou-se álcool metílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro. Os cálculos foram realizados conforme proposto por Rufino et al. (2007) e os resultados foram expressos em g MF/ g DPPH.

#### **2.5.4 Nutrientes foliares e nas raízes**

Ao final do experimento, concluído sessenta dias após o estabelecimento das plantas, três amostras de substrato de cada um dos cinco tratamentos (0, 25, 50, 75 e 100% de rejeito) foram coletadas e submetidas às mesmas análises realizadas na montagem dos substratos no Laboratório de Análises de Rotina de Solo e de Planta do Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Os teores de minerais nas folhas e nas raízes foram determinados ao final do experimento. As amostras de folhas foram secas em estufa a 70 °C, até massa constante, conforme descrito no tópico 3.5.1 deste material, as quais foram moídas e submetidas às análises, conforme metodologias específicas. Foram determinados os teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), boro (B), cobre (Cu), manganês (Mn), zinco (Zn), ferro (Fe), sódio (Na), níquel (Ni), cromo (Cr), cádmio (Cd), chumbo (Pb) e carbono (C).

#### **2.6 Fotossíntese e seus produtos**

##### **2.6.1 Conteúdos de carboidratos solúveis totais e amido**

### 2.6.1.1 Carboidratos solúveis totais

Os conteúdos de carboidratos solúveis totais (CST) e os teores de amido foram determinados utilizando a metodologia proposta por DuBois et al. (1956), modificada por Shimizu (2009). Alíquotas de 0,5 g de massa foliar fresca de cada amostra dos tratamentos foram maceradas com auxílio de nitrogênio líquido (N<sub>2</sub>) e homogeneizadas com 5 mL de etanol 80%, sendo incubadas a 90°C por 60 min. Após centrifugação a 3.500 x g, à temperatura ambiente por 10 min, o sobrenadante foi reservado e a extração do precipitado foi repetida por mais duas vezes. O volume dos sobrenadantes foi completado para 14 mL com etanol 80%. Alíquotas de 60 µL por amostra foram coletadas e adicionadas 940 µL de água destilada e 5 mL de antrona 0,2% (preparada em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado). A mistura foi agitada e incubada em banho com água fervente, por 15 min. Após resfriamento, a absorbância foi lida a 620 nm. Para os cálculos, uma curva padrão de glicose a 0,01% foi preparada e os resultados foram expressos em mg de glicose g<sup>-1</sup> de massa foliar fresca.

### 2.6.1.2 Amido

Os conteúdos de amido foram estimados pela extração do *pellet* oriundo da extração dos CST. A cada amostra de *pellet* adicionaram-se 2 mL de água destilada e 3 mL de ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>) a 52%. A mistura foi ressuspensa em vórtex e incubada à temperatura ambiente por 30 min. Após centrifugação (3.500 x g, por 5 min, à temperatura ambiente), o sobrenadante foi coletado e a extração do *pellet* foi repetida mais duas vezes. O volume dos sobrenadantes foi completado para 14 mL com a mistura de água:ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>) a 52% (2:3 mL). Alíquotas de 30 µL dos extratos foram coletadas para as análises, adicionadas a 970 µL de água destilada e 5 mL de antrona 0,2% (preparada em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado). Após agitação, incubação em água fervente (por 15 min) e resfriamento, a absorbância das amostras foi lida a 620 nm. Os resultados foram expressos conforme descrito para os CSTs.

## 2.6.3 Determinação do índice SPAD e dos teores de pigmentos fotossintéticos da fluorescência da clorofila *a* e da fotossíntese

### 2.6.3.1 SPAD

A determinação não destrutiva de clorofilas pelo índice SPAD (Soil Plant Analysis Development), conforme metodologia descrita por León e colaboradores (2007), foi realizada com o auxílio do clorofilômetro Konica Minolta SPAD-502 (Tokyo, Japão) em folhas completamente expandidas, sem sinais de problemas fitossanitários, na 2ª ou 3ª folha a partir da roseta central, de cada planta de alface. As leituras foram realizadas em cinco pontos por folha, para obtenção da média dos dados, obtidas do terço médio da lâmina foliar, sendo expressas em termos do índice SPAD.

### 2.6.3.2 Análises de pigmentos fotossintéticos

Após a obtenção dos índices SPAD, os teores de clorofila *a* (Cl *a*), clorofila *b* (Cl *b*), clorofila total (Cl total), carotenoides totais, razão Cl *a*/ Cl *b* e razão Cl total/ carotenoides totais foram determinados pelo método descrito por Hiscox & Israelstam (1978). Para esta avaliação destrutiva, foram utilizadas as mesmas folhas estudadas nas análises não destrutivas de índice SPAD, fluorescência da clorofila *a* e de trocas gasosas. Para tal, dez discos foliares (área de 0,551 cm<sup>2</sup>), com massa aproximada de 0,1g de massa foliar fresca, foram imersos em 10 mL de DMSO (dimetilsulfóxido). Após agitação em vórtex por 15 segundos, as amostras foram incubadas a 65 °C por 30 min e resfriadas rapidamente. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro Shimadzu UV-1800, nos comprimentos de ondas de 480 nm, 649,1 nm e 665,1 nm, conforme Wellburn (1994). Os resultados foram expressos com base na massa fresca coletada (mg de pigmento g<sup>-1</sup> de massa foliar fresca).

### 2.6.4 Fluorescência da clorofila *a*

A fluorescência da clorofila *a* foi avaliada em folhas completamente expandidas, sem sinais de problemas fitossanitários, na 2ª ou 3ª folha a partir da roseta central, de cada planta de alface. Os tecidos foliares foram aclimatizados no escuro (utilizando-se cliques foliares apropriados), no terço médio da lâmina foliar, por 30 min. Após este intervalo, as amostras foram lidas com auxílio do fluorômetro portátil *Handy PEA* (Hansatech Instruments, UK). Dados de fluorescência inicial (F<sub>o</sub>), fluorescência máxima (F<sub>m</sub>), fluorescência variável (F<sub>v</sub>), rendimento quântico máximo do PSII (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>), produção quântica basal dos processos não fotoquímico no fotossistema II (F<sub>o</sub>/F<sub>m</sub>), eficiência máxima do processo fotoquímico no PSII (F<sub>v</sub>/F<sub>o</sub>), índice de desempenho (PI abs) e índice de performance total (PI total) foram obtidos.

### 2.6.5 Análises de trocas gasosas

As medidas de trocas gasosas foram realizadas no período de 08:00 a 12:00 h nas plantas de alface, transferidas para o laboratório de Fisiologia Vegetal da UFJF, em folhas completamente expandidas, na 2ª ou 3ª folha a partir da roseta central, de cada planta de alface e selecionadas pelo bom estado fitossanitário. A fotossíntese foi medida no terço médio da lâmina foliar, empregando-se um analisador de gases no infravermelho portátil (IRGA), modelo *LI-6400-XT* (*Li-Cor Bioscience, Lincoln, Nebraska, USA*), segundo Gonçalves et al. (2010). Foram avaliadas as taxas de fotossíntese líquida (A), condutância estomática ao vapor de água (gs), taxa transpiratória (E), concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (Ci), eficiência no uso da água (EUA – dada pela razão A/E), eficiência intrínseca no uso da água (EUA int, dada pela razão A/g<sub>s</sub>), relação entre as concentrações interna e externa de carbono (Ci/Ca), eficiência de carboxilação (A/Ci), rendimento quântico efetivo do transporte elétrons do PSII ( $\Phi$ PSII), coeficiente de extinção fotoquímico (qP), taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) e taxa de respiração no escuro (Rd) (Genty et al., 1989).

## 2.7 Análises bioquímicas

### 2.7.1 Atividade enzimática

#### 2.7.1.1 Extração Enzimática

Inicialmente, 0,2 g de massa foliar fresca de cada tratamento foram maceradas com auxílio de nitrogênio líquido (N<sub>2</sub>) na presença de 0,02 g de polivinilpirrolidona (PVPP). Após a obtenção de um pó fino, as amostras de tecido foliar foram homogeneizadas com 10 mL de tampão fosfato de potássio (0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 6,8), acrescido de ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) a 0,1 mmol L<sup>-1</sup> e fluoreto de fenilmentilsulfônico (PMSF) a 1 mmol L<sup>-1</sup> (Peixoto et al. 1999). Os homogenatos foram centrifugados a 10.000 x g por 15 min a 4°C, sendo os sobrenadantes armazenados em tubos tipo Eppendorf (-20°C) e utilizados como fonte de extrato enzimático bruto.

As análises enzimáticas – exceto para polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POX) – e dos radicais livres foram realizadas no dia da extração, pois em testes prévios, a perda da atividade destes analitos foi detectada.

### 2.7.1.2 Catalase

A atividade da catalase (*CAT*, *EC 1.11.1.6*) foi determinada conforme o método descrito por Havir & McHale (1987) pela adição de 100  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático bruto a 2,9 mL de meio de reação constituído de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 12,5  $\text{mmol L}^{-1}$  e tampão de fosfato de potássio 50  $\text{mmol L}^{-1}$ , pH 7,0, a 30 °C. A atividade enzimática foi determinada pela estimativa de consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , considerando o decréscimo na absorbância a 240 nm por 1 min. A atividade da enzima foi calculada usando o coeficiente de extinção molar de 36 ( $\text{mol L}^{-1}$ )  $\text{cm}^{-1}$ , determinado por Anderson et al. (1995). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  proteína.

### 2.7.1.3 Peroxidase

A atividade da peroxidase (*POX*, *EC 1.11.1.7*) foi avaliada de acordo com o método de Kar & Mishra (1976). Alíquotas de 100  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático bruto foram adicionadas a 4,9 mL de uma solução contendo tampão de fosfato de potássio 25  $\text{mmol L}^{-1}$ , pH 6,8, pirogalol 20  $\text{mmol L}^{-1}$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 20  $\text{mmol L}^{-1}$ . A reação foi interrompida pela adição de 0,5 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 5% (v / v), após incubação da solução por 1 min a 25 °C, sendo a absorbância lida a 420 nm, contra o controle, no qual a enzima foi inativada pela adição prévia de 0,5 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 5% (v / v). A atividade da enzima foi calculada usando o coeficiente de extinção molar de 2,47 ( $\text{mmol L}^{-1}$ )  $\text{cm}^{-1}$  e estimada pela determinação da quantidade de purpurogalina formada (Chance e Maehly 1955). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  proteína.

### 2.7.1.4 Polifenoloxidase

A atividade da enzima polifenoloxidase (*PPO*, *EC 1.10.3.2*, *EC 1.10.3.1* e *EC 1.14.18.1*) foi medida usando a mesma metodologia descrita anteriormente para a determinação da POX, segundo Kar & Mishra (1976), porém substituindo o  $\text{H}_2\text{O}_2$  da reação por  $\text{H}_2\text{O}$ . A atividade da enzima foi calculada conforme a descrição para POX. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol mg}^{-1}$  proteína.

### 2.7.1.5 Superóxido dismutase

A atividade da enzima superóxido dismutase (*SOD*, *EC 1.15.1.1*) foi determinada conforme o método descrito por Del Longo e colaboradores (1993), no qual uma unidade de *SOD* corresponde à quantidade de enzima equivalente a promover 50% de inibição na fotorredução do azul de p-nitro tetrazólio (NBT) (Beauchamp & Fridovich, 1971). Aliquotas de 100  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático bruto foram adicionadas a 3,0 mL de uma solução preparada no abrigo da luz constituída de metionina 13 mM, NBT 75  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , EDTA 100  $\text{nmol L}^{-1}$  e riboflavina 2  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , em tampão de fosfato de sódio 50  $\text{mmol L}^{-1}$ , pH 7,8. A reação foi conduzida a 25 °C numa câmara de reação sob rotação dos tubos de ensaio e iluminação de lâmpada fluorescente de 15 W por 10 minutos, mantida no interior de uma caixa revestida com papel alumínio. A produção de formazana azul, resultante da fotorredução do NBT, foi medida pela determinação do incremento na absorvância a 560 nm, subtraído do controle, no qual o extrato enzimático foi mantido no escuro. Os dados foram expressos de acordo com a atividade específica enzimática. Os resultados foram expressos em unidade de *SOD*  $\text{mg}^{-1}$  proteína.

### 2.7.2 Conteúdo de Proteínas Solúveis Totais

A determinação do conteúdo de proteínas solúveis totais nos tecidos foliares foi realizada conforme o método descrito por Lowry e colaboradores (1951). Para tanto, foram utilizados os reagentes: **A**, constituído de 0,5% (m/v) de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em 1% (m/v) de citrato de sódio e **B**, composto de 2% (m/v) de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  em  $\text{NaOH}$  0,1  $\text{mol L}^{-1}$ . O reagente **C** foi preparado pela mistura da proporção de 50:1 (v/v) dos reagentes **B** e **A**. O reagente **D** foi constituído do reagente Folin-Ciocalteu, diluído a 50% (v/v) em água destilada. Em seguida ao preparo dos reagentes, 100  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático bruto foram adicionados de 2,5 mL do reagente **C**. Agitou-se suavemente, deixando a mistura descansar por 10 min à temperatura ambiente. Após esse período, foram adicionados 0,25 mL do reagente **D**, com agitação em vórtex, seguida de repouso por 30 minutos. Em seguida, cada amostra foi lida em espectrofotômetro (BEL-S-2000) a 735 nm, sendo o teor de proteínas determinado pela curva analítica de BSA (albumina de soro bovino; 0,01 g/ 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$ ) como padrão. Os teores de proteínas solúveis totais nas amostras de cada tratamento foram utilizados para se determinar as atividades enzimáticas específicas (conteúdos de enzima  $\text{mg}^{-1}$  de proteína).

### **2.7.3 Metabolismo oxidativo (Espécies Reativas de Oxigênio - EROs) e outros metabólitos**

#### **2.7.3.1 Teor de Peróxido de Hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

O teor de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) foi determinado conforme a metodologia de Alexieva e colaboradores (2001) e Velikova e colaboradores (2000). Foram macerados 0,7 g de massa foliar fresca com auxílio de nitrogênio líquido (N<sub>2</sub>) em 7 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1% (m/v), sendo os homogenatos centrifugados a 12.000 x g por 15 min a 4 °C. A mistura da reação consistiu em alíquotas de 1,0 mL do extrato vegetal, 1,0 mL de tampão K-fosfato a 10 mmol L<sup>-1</sup> e 2,0 mL de iodeto de potássio (KI) a 1 mol L<sup>-1</sup> (m/v em água destilada). O sobrenadante remanescente da centrifugação foi reservado e acondicionado a 4°C para uso posterior na análise de peroxidação de lipídios (MDA).

A reação foi desenvolvida por 1 h no escuro, sendo a absorbância lida em 390 nm. A quantidade de peróxido de hidrogênio foi calculada usando uma curva padrão preparada com estoque padronizado de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (A = 0,436 – 10 mmol L<sup>-1</sup>) a 480 μmol L<sup>-1</sup> (500 μL) e completado com TCA a 0,2% (500 μl). O peróxido de hidrogênio gerado foi medido em espectrofotômetro após a reação com KI. O espectrofotômetro foi zerado com solução a 0,1% de TCA na ausência de extrato foliar. Os resultados foram expressos em μmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> massa foliar fresca.

#### **2.7.3.2 Teor de dialdeído malônico (MDA)**

O teor de dialdeído malônico (MDA) foi determinado de acordo com metodologia descrita por Velikova e colaboradores (2000), pelo teste do ácido tiobarbitúrico (TBA), o qual representa o produto final da peroxidação lipídica nos tecidos das plantas. A extração do material foi realizada utilizando a mesma metodologia descrita anteriormente para a determinação da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Foi adicionado 1,0 mL do sobrenadante em 2 mL de TBA a 0,5% (m/v) preparado em TCA a 20%. A mistura foi incubada em ebulição por 30 min e a reação interrompida colocando os tubos de reação em banho de gelo. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 10.000 × g por 5 min, e a absorbância do sobrenadante foi lida a 532 nm. O valor para absorção não específica a 600 nm foi subtraído. A quantidade de complexo MDA-TBA (pigmento avermelhado) foi calculada a partir do coeficiente de extinção 155 (mmol L<sup>-1</sup>)<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> (Heath & Packer, 1968). O espectrofotômetro foi zerado com o extrator do material

TCA a 0,1%. A quantidade do complexo MDA-TBA foi expressa em  $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa foliar fresca.

### 2.7.3.3 Teor de ânion superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )

A geração de ânion superóxido foi determinada pela redução do cloreto de nitroazul tetrazólio (NBT) de acordo com a metodologia proposta por Doke (1983) com adaptações de Chen et al. (2005). Para tanto, sete discos com área de  $1,07 \text{ cm}^2$  (com aproximadamente  $1,7 \pm 0,02 \text{ g}$  de MF) dos tecidos foliares dos tratamentos, foram rapidamente pesados e imersos imediatamente em 3 mL de uma solução contendo tampão de fosfato de sódio e potássio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$ , 10 mM, pH 7,8), 0,05 % (p/v) NBT e  $10 \text{ mmol L}^{-1} \text{ NaN}_3$ , durante 1 h no abrigo da luz. Em seguida, a mistura foi incubada por 15 min a  $85^\circ\text{C}$  e resfriada rapidamente. A absorbância em 580 nm foi registrada e a redução do NBT foi expressa como um aumento da  $\text{OD}_{580} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

## 2.7.4 Metabólitos

### 2.7.4.1 Prolina

A extração para determinar o conteúdo de prolina foi realizada a partir da maceração de 0,5 g de massa fresca de cada tratamento com  $\text{N}_2$  líquido, seguida da adição de 10 mL de ácido sulfosalicílico a 3% (p/v). Após homogeneização o material foi filtrado em papel Whatman nº 2 (Bates et al., 1973).

O conteúdo de prolina foi obtido segundo a metodologia descrita por Bates et al. (1973), na qual para cada amostra dos tratamentos, foram adicionados 2 mL do filtrado, 2 mL de ninhidrina ácida, preparada com 150 mL de uma solução composta por 90 mL de ácido acético, 60 mL de ácido fosfórico a  $6 \text{ mol L}^{-1}$  e 3,75 g de ninhidrina (v/v/m) e 2 mL de ácido acético. A mistura foi incubada durante uma hora em ebulição. Posteriormente, a reação foi paralisada em banho de gelo. O cromóforo gerado na reação foi extraído com 4 mL de tolueno, sendo este aspirado da fase aquosa superior após agitação em vórtex e separação das fases, após 30 min. A absorbância das amostras foi lida em espectrofotômetro a 520 nm, sendo o conteúdo de prolina determinado por intermédio de uma curva analítica, utilizando-se como padrão solução

de prolina a  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  preparada em ácido sulfosalicílico a 3% (Bates et al., 1973). Os resultados foram expressos em micromol de prolina por grama de massa foliar fresca.

#### 2.7.4.2 Teor de fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado conforme o método descrito por Singleton e Rossi (1965), com modificações. Primeiramente, alíquotas de 0,2 g de tecido foliar fresco de cada amostra dos tratamentos foram maceradas com auxílio de nitrogênio líquido ( $\text{N}_2$ ) em 5 mL de acetona a 80%, de acordo com Faisal et al. (2018). Após a centrifugação a  $2.500 \times g$ , a  $20^\circ\text{C}$  por 10 min, o sobrenadante foi recolhido e o *pellet* foi resuspenso e reextraído por mais duas vezes. O volume dos sobrenadantes foi completado para 14 mL com acetona a 80%.

Alíquotas de 250  $\mu\text{L}$  dos extratos foram adicionadas a 2,75 mL de Folin-Ciocalteu a 3% e agitadas em vórtex por 10 segundos. A solução ficou reservada por 5 minutos ao abrigo de luz. Em seguida, foram adicionadas alíquotas de 250  $\mu\text{L}$  de solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a 10% (m/v) e a mistura ficou reservada por 1h à temperatura ambiente no abrigo da luz. O desenvolvimento de cor azulada é indicativo de presença de fenóis. As soluções foram lidas em espectrofotômetro a 765 nm. Uma curva padrão foi preparada com solução de ácido gálico (200 mg/L) em acetona a 80%, sendo os resultados expressos em termos de ácido gálico equivalente no material analisado – AGE (mg/100g).

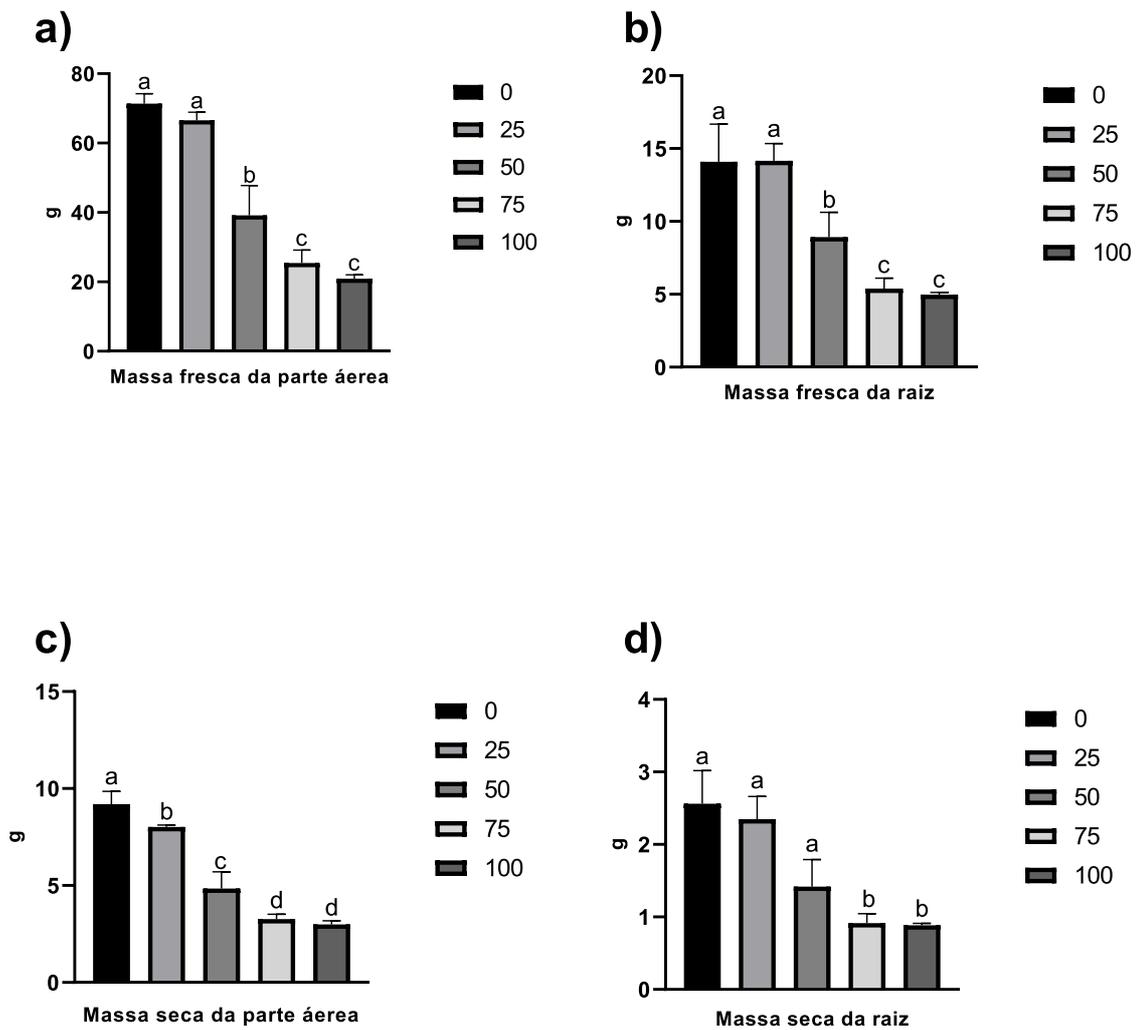
### 2.8 Análise estatística

Nos experimentos foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com três repetições por tratamento ( $n=3$ ). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F ( $P \leq 0,05$ ) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão (EP) e letras minúsculas (a-e) distintas representam grupos de médias diferentes pelo Teste de *Post Hoc* de Scott Knott. As análises foram realizadas no *software* estatístico SISVAR, versão 5.6 (Universidade Federal de Lavras, Brasil) e os gráficos plotados no GraphPad Prism 9 (GraphPad *Software*, CA, EUA).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Conteúdo de massa fresca e massa seca

Em comparação ao controle (0%), as plantas de alface cultivadas nos tratamentos contendo 50%, 75% e 100% de rejeito foram menores ( $P < 0,0001$ ; Fig.3) em termos de massa fresca e massa seca das partes aéreas e raízes. Considerando as MF (g) e MS (g) no tratamento com 100% de rejeito, as plantas foram respectivamente menores em termos de parte aérea em 70,61% e 68,06% e em relação as raízes em 64,87% e 68,57 ( $P < 0,0001$ ; Fig.3). Tais resultados mostraram que o crescimento das plantas de alface foi cerca de 3 (três) vezes menor quando comparados às plantas crescidas em solo fértil (0%). Todavia, o tratamento contendo 75% de rejeito não se diferenciou estatisticamente do tratamento com rejeito puro (100%). Em relação ao tratamento com 25% de rejeito, não foram observadas diferenças, exceto para o parâmetro de massa seca da parte aérea, que foi 13,77% menor quando comparada ao controle ( $F < 0,0001$ ; Fig.3). Esses resultados podem ser observados na Figura 4, que ilustra o menor crescimento das plantas de alface em resposta ao aumento das proporções de rejeito de minério de ferro no substrato.



**Figura 3.** Conteúdo de massa fresca e massa seca em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Massa fresca da parte aérea (a), massa fresca da raiz (b), massa seca da parte aérea (c) e massa seca da raiz (d). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Proporções volumétricas de rejeito.



**Figura 4.** Vasos de plantas de alface cultivadas em diferentes concentrações de rejeito após 60 dias de cultivo, da esquerda para direita, da menor para maior concentração de rejeito (0 – 100%). Vista frontal (A). Vista superior (B). Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. **Fonte:** Autora, 2021.

Assim como observado no presente trabalho, o crescimento das plantas investigadas em outros estudos também foi reduzido quando cultivadas na presença de proporções elevadas de rejeitos de minério de ferro da barragem de Fundão (Cruz, et al. 2020; Esteves, et al. 2020; Cruz, et al. 2021). Cruz e colaboradores (2020) relacionaram o crescimento reduzido das plantas cultivadas nos rejeitos com a limitação nutricional, uma vez que o tratamento controle era muito mais fértil que os rejeitos. No entanto, os autores demonstraram que a adubação suplementar se mostrou eficiente em minimizar os efeitos deletérios ocasionados pelo rejeito, pois esse procedimento aumentou o comprimento da parte aérea das plantas, independentemente do substrato. Em estudo posterior, Cruz et al. (2021) também encontraram menor produção de biomassa em plantas cultivadas em rejeitos fertilizados quando comparados aos solos fertilizados, sendo mais acentuada a diferença em *D. vandellianum*, apresentando 2,6 vezes menor massa seca, enquanto para *B. virgilioides*, essa relação foi inferior 1,5 vezes. Esteves e colaboradores (2020) encontraram menor interferência na germinação e no crescimento inicial em plantas de milho, milheto e sorgo cultivadas na presença de rejeitos de minério de ferro. No

entanto, ocorreram variações em relação aos parâmetros morfofisiológicos entre as espécies ao se tratar do estágio de desenvolvimento. Dentre as espécies estudadas, o milho apresentou maior crescimento e tolerância ao rejeito quando comparado às outras espécies investigadas. O investimento em área foliar, nas três espécies, foi maior comparando com as raízes, muito provavelmente ocasionado pela resistência física do solo ao crescimento radicular (Grzesiak et al. 2016; Andrade et al. 2018; Cruz, et al. 2020).

Já no estudo de Almeida e colaboradores (2022b), não foram encontradas diferenças no cultivo de plantas de rúcula e rabanete, em termos de biomassa seca de órgãos consumíveis (parte aérea e raízes) e no número de folhas, quando cultivadas em rejeitos e no solo. Tal resultado aponta a possibilidade de cultivo dessas espécies nas áreas afetadas pelos rejeitos da barragem de Fundão, assim como foi demonstrado em outro trabalho para plantas de interesse agrícola (Almeida et al., 2022a ).

No presente estudo, o tratamento contendo 25% de rejeito (3:1; solo fértil: rejeito) não afetou significativamente o crescimento da parte aérea e das raízes, sendo esta uma proporção de substrato aceitável visando mitigar os efeitos dos depósitos de rejeitos em áreas com plantações de hortaliças e impactadas pelo rompimento da barragem de Fundão. As plantas de alface cultivadas no tratamento 50% (2:2; solo fértil: rejeito) sofreram efeitos deletérios no crescimento dos órgãos consumíveis, porém em menor impacto quando comparados aos tratamentos 75 e 100%, os quais afetaram em níveis significantes o crescimento das plantas de alface, evidenciados pelas áreas de cobertura aparentes, conforme pode ser observado na figura 4.

## **3.2 Análises do Solo**

### **3.2.1 Fertilidade dos substratos**

As análises da granulometria e da fertilidade dos substratos nos substratos em pré e pós-cultivo seguiram um padrão de resposta nos quais foram observados maiores pH H<sub>2</sub>O tratamento 100% de rejeito quando comparados ao solo fértil (0%) (P<0,001; Fig.5 e Fig.6, respectivamente). Os aumentos ocorreram de forma gradual para todos os tratamentos em relação ao controle (0%), no entanto, o tratamento com 75% de rejeito não diferiu estatisticamente quando comparado ao 100%. As concentrações de N, P e K encontradas

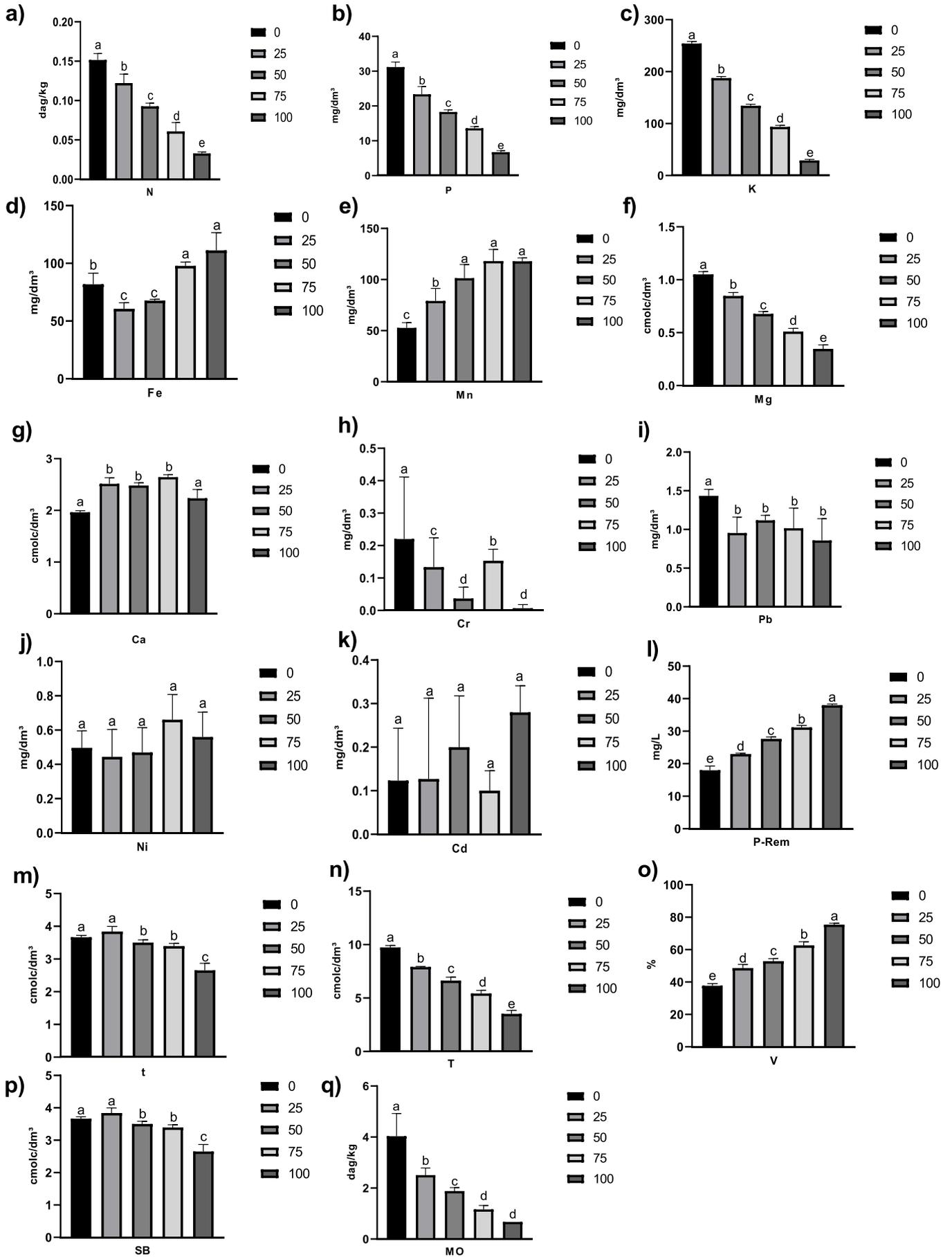
diferiram significativamente entre os tratamentos, sendo o tratamento com rejeito puro (100%) 73,68 %, 78,17% e 88,58% menor em relação ao controle no solo em pré-cultivo ( $P < 0,0001$ ; Fig.5), e 100%, 67,93% e 93,43% no solo pós-cultivo, respectivamente ( $P < 0,0001$ ; 0,0001 e 0,001, respectivamente; Fig.6). A diminuição na concentração desses macronutrientes ocorreu de forma gradual para todos os tratamentos em relação ao controle (0%).

Os tratamentos contendo 25, 50 e 75% de rejeitos mostraram, em média, diferenças 30,46% e 32,75% respectivamente maiores de Ca em comparação ao controle, o qual, todavia, não se diferenciou do 100% de rejeito ( $P < 0,0001$ ; Fig.5 e Fig.6, respectivamente). Em relação ao Mg, o tratamento com rejeito puro foi 68,86% e 69,15 %, respectivamente, menor quando comparados com o controle nos substratos em pré e pós-cultivo seguindo um padrão de diminuição, conforme aumentada a proporção de rejeito ( $P < 0,0001$ ; Fig.5 e Fig.6, respectivamente).

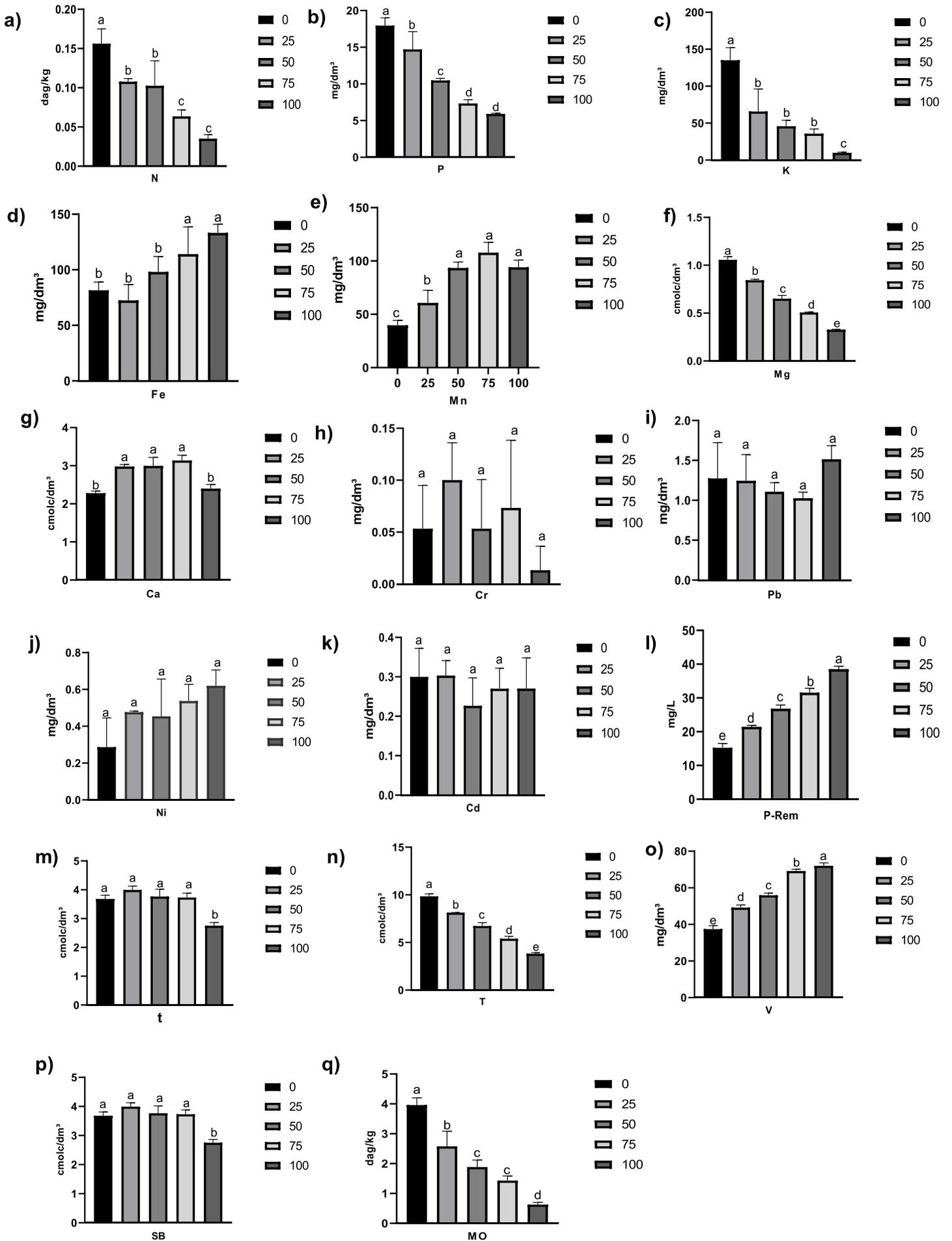
Em pré-cultivo o rejeito puro (100%) apresentou concentrações mais elevadas dos metais Fe, Mn em 24,21% e 111,49% ( $P < 0,0002$  e 0,0001, respectivamente; Fig.5). Todavia, os conteúdos de Cu, Zn, Cr, Pb foram menores em 44,44%, 57,15%, 84,61%, 27,33%, respectivamente quando comparados ao controle ( $P < 0,0001$ ; 0,0001; 0,0001 e 0,044, respectivamente; Fig.5). Em pós-cultivo, os teores de Fe e Mn no rejeito puro apresentaram concentrações maiores em 70,97% e 144,16% ( $P < 0,003$  e 0,0001, respectivamente; Fig.6), mas, para Zn e Cu, as concentrações foram menores em 55,44 % e 40% em relação ao controle ( $P < 0,0001$  e 0,001, respectivamente; Fig.6). Não foram observadas diferenças significativas ( $P > 0,05$ ; Fig.6) nas concentrações de Cr, Ni, Cd e Pb nos diferentes tratamentos. O padrão dessas respostas, em termos de acréscimo ou decréscimo a depender da variável, se repetiu para os tratamentos 25, 50 e 75%, exceto na análise do Fe, nos substratos contendo 25 e 50% de rejeito em pré e pós-cultivo, os quais não se diferenciaram em relação ao controle (0%), apresentando variações inferiores desse metal em relação aos substratos contendo 75 e 100% de rejeitos.

Em termos fertilidade do solo, o tratamento controle (0%) apresentou valores maiores em relação aos parâmetros acidez, SB, t, T, MO em 86,88%, 31,88 %, 31,88 %, 65,81 % ( $p < 0,0001$ ; Fig.5) e 81,84% no solo pré-cultivo e em 82,53%, 25,33%, 25,33 %, 61,73 % e 83,37% maiores no pós-cultivo ( $p < 0,0001$ ; Fig.6), quando comparados ao rejeito puro (100%). No entanto, para as medidas de V e P-Rem, os valores encontrados foram menores em 101,86% e 104,86% no rejeito puro (100%) ( $p < 0,0001$ ; Fig.5) e após o cultivo, os substratos foram

menores concentrações em 92,78% e 158,11% ( $p < 0,0001$ ; Fig.6), respectivamente comparados solo fértil (0%).



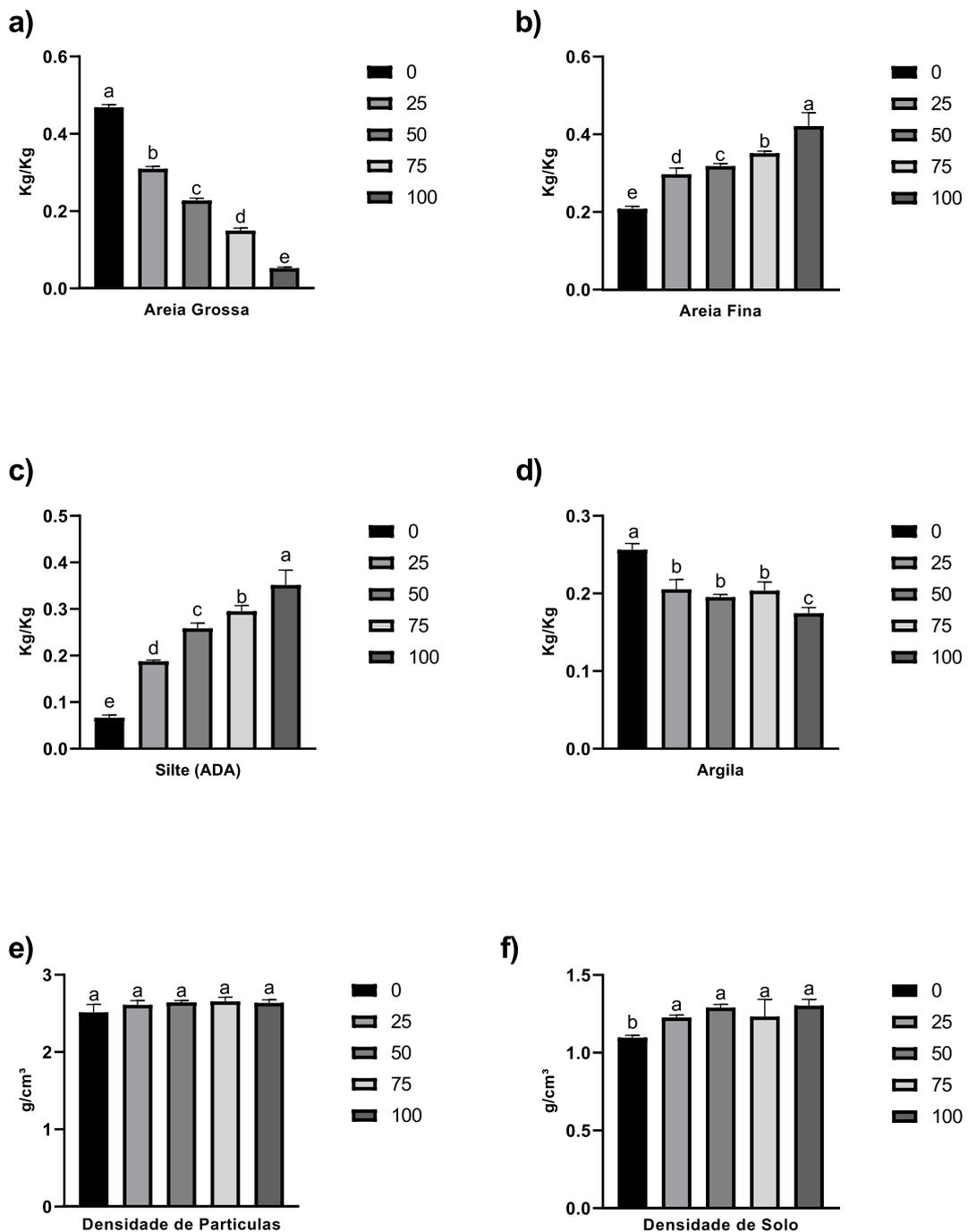
**Figura 5.** Análises nutricionais nos substratos em pré-cultivo. Valores nitrogênio (a), fósforo (b), potássio (c), ferro (d), manganês (e), magnésio (f), cálcio (g), cromo (h), chumbo (i), níquel (j), cádmio (k), fósforo remanescente (l), capacidade de troca catiônica efetiva (m), capacidade de troca catiônica a pH 7,0 (n), índice de saturação de bases (o), soma de bases (p), matéria orgânica (q) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%.



**Figura 6.** Análises nutricionais nos substratos em pós-cultivo. Valores nitrogênio (a), fósforo (b), potássio (c), ferro (d), manganês (e), magnésio (f), cálcio (g), cromo (h), chumbo (i), níquel (j), cádmio (k), fósforo remanescente (l), capacidade de troca catiônica efetiva (m), capacidade de troca catiônica a pH 7,0 (n), índice de saturação de bases (o), soma de bases (p), matéria orgânica (q) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção %) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%.

### 3.2.2 Granulometria dos Substratos

As análises físicas, realizadas antes do cultivo, permitiram classificar os substratos dos tratamentos controle e 25% de rejeito com texturas Franco-Argilo-Arenosa; Franco-Arenosa, para 50% de rejeito; e, por fim, Franca para 75% e 100%. O rejeito puro apresentou maiores concentrações de silte, areia fina e densidade do solo em 467,96%, 92,92% e 19,09%, respectivamente, quando comparado ao controle ( $p < 0,0001$ ;  $0,0001$  e  $P > 0,006$ ; Fig.7). No entanto, os parâmetros de areia grossa e argila foram menores em 88,67% e 32,30% ao comparar o tratamento 100% com o substrato fértil (0%) ( $p < 0,0001$ ; Fig.7). Não houve diferença estatística para a análise da densidade de partículas. O padrão de resposta dos demais tratamentos foi similar, como resultado do aumento na concentração de rejeitos.



**Figura 7.** Análise física nos substratos realizada em pré-cultivo. Areia grossa (a), areia fina (b), silte (ADA), argila (d), densidade de partículas (e) e densidade do solo (f) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro: (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%.

Os parâmetros de capacidade de troca catiônica (CTC) – t e T – foram maiores no solo fértil, assim como encontrados por Cruz e colaboradores (2020). Esses resultados corroboram

com as características físicas dos substratos constituintes dos tratamentos 0% e 25% de rejeito, classificados como franco-argiloso-arenoso e com maiores concentrações de matéria orgânica, respectivamente, os quais possuem, geralmente, elevada capacidade de troca catiônica (T), desempenhando maior potencial de adsorção de nutrientes catiônicos (Guarçoni et al., 2019). No presente estudo observou-se níveis mais elevados dos cátions K e Mg no substrato fértil. Em contrapartida, substratos arenosos, como os encontrados nos tratamentos contendo concentrações mais elevadas de rejeito (75 e 100%), classificados como francos, são mais suscetíveis às perdas de bases por lixiviação, resultando em uma baixa CTC, tanto que a menor soma de bases trocáveis foi encontrada no rejeito puro (100%).

Os autores Segura et al. (2016) relacionaram as características físicas dos rejeitos às partículas muito pequenas e à alta densidade, assim como observados em nosso trabalho, sendo esses fatores limitantes ao crescimento das raízes (Nunes et al. 2016). Cruz e colaboradores (2020) relacionaram o aumento da concentração de areia fina à compactação do solo e, conseqüentemente, ao aumento da resistência mecânica dos substratos ao crescimento radicular das plântulas, assim como também foi observado por Andrade et al. (2018) no crescimento de raízes de arroz. Em contrapartida, a areia grossa melhora a porosidade dos substratos, sendo o aumento da sua proporção nos substratos com adição de rejeito um possível agente mitigador da compactação e, conseqüentemente, facilitação para o desenvolvimento radicular.

Diversos trabalhos corroboram com os resultados encontrados em nosso estudo em relação às características químicas do rejeito, apresentando maiores concentrações dos elementos Fe, Mn, Na e valores de pH quando comparados ao solo fértil (0%) (Segura et al. 2016; Hatje et al. 2017; Andrade et al. 2018; Zago et al. 2019; Esteves et al. 2020; Coelho et al., 2020; Almeida et al. 2022 a), sendo que os minerais Fe e Mn encontraram-se dentro do limite permitido com base no risco à saúde humana (CONAMA, 2009; CETESB, 2014). Em relação aos elementos pesados e potencialmente tóxicos, foi observada a presença de Cr, Ni, Cd e Pb em todos os tratamentos. No entanto, o rejeito puro apresentou menor concentração de todos esses elementos, sendo que, em todos os tratamentos, as concentrações encontraram-se dentro dos limites de toxicidade permitida para plantas (CONAMA, 2009; CETESB, 2014). Portanto, esses dados descartam a possibilidade de que metais pesados presentes nos rejeitos tenham sido responsáveis por ocasionar efeitos nocivos e conseqüente perda de massa fresca às plantas, corroborando com os resultados encontrados nos trabalhos de Cruz et al. (2020) e Segura et al. (2016). Esses autores associaram os efeitos prejudiciais do rejeito a sua baixa fertilidade (T e t),

ou seja, quanto maior concentração do rejeito no substrato, menor o crescimento da parte aérea e das raízes das plantas.

O empobrecimento dos substratos em termos de matéria orgânica (MO), ocasionados pelo acréscimo de rejeito a partir de 25%, assim como relatado nos trabalhos de SEDRU, 2016; Andrade et al., 2018; Esteves et al., 2020, associados ao baixo teor de argila, presentes nesses tratamentos, desfavorece a disponibilidade de partículas carregadas negativamente para adsorção catiônica quando comparadas ao controle. Além disso, o aumento do teor de silte, observado nos substratos a partir da adição de 25% de rejeito, causam, devido à agregação das partículas, prejuízos a sua estrutura, favorecendo a compactação desses substratos. Esses relatos corroboram com os nossos resultados referentes à análise da densidade dos substratos, nos quais as maiores densidades foram observadas em todos os tratamentos contendo rejeitos em comparação ao controle (0%). Como consequência, tais fatores causaram a extração de nutrientes, como Fe, Mn e Zn, absorvidos pelas plantas cultivadas nos substratos contendo concentrações acima de 25% de rejeito. Cruz e colaboradores (2020) também encontraram em seus resultados esse padrão de resposta e constataram que a adição de fertilizante não mitigou esses prejuízos quando comparados proporcionalmente ao solo fértil fertilizado. Portanto, essas características, no que tange à compactação e ao empobrecimento do solo, justificam os prejuízos no crescimento radicular a partir do tratamento 50% de rejeitos. Quando comparadas às análises em pré-cultivo, o aumento observado na quantidade de MO em todos os tratamentos (exceto para o rejeito puro) nas análises dos substratos realizada em pós-cultivo, pode ser atribuída ao desenvolvimento das raízes das plantas de alface nos substratos contendo até 75% de rejeitos. Todavia, tal resposta não foi observada na presença de rejeito puro (100%), pois esse substrato apresentou limitação expressiva no crescimento do sistema radicular das plantas de alface.

Cruz et al. (2020) associaram as maiores concentrações do fósforo e concentrações semelhantes de nitrogênio e potássio presentes em plântulas cultivadas no rejeito adubado utilizadas em seu trabalho ao igual ou maior acúmulo de biomassa da parte aérea, mesmo com maiores concentrações de Mn, encontradas em algumas espécies. No entanto, em nosso trabalho, em termos de Mn, encontramos resultados inversos, no qual foi evidenciado menor acúmulo de Mn nas partes aéreas nos tratamentos com concentrações de rejeito (25%, 50%, 75% e 100%; Fig.11). No entanto, nós encontramos respostas semelhantes para os macronutrientes, nos quais o P foi maior, K similar e N menor em plantas cultivadas no substrato fértil quando comparados ao rejeito. Essas respostas, todavia, mostraram correlação com o acúmulo de biomassa nas

plantas cultivadas nos substratos contendo rejeito, sendo nesses tratamentos encontrados tanto menor crescimento das raízes quanto acúmulo de biomassa nas partes aéreas. Portanto, reforça-se a sugestão de que com a composição pobre do rejeito, em termos de nutrientes, e a estrutura física prejudicial ao desenvolvimento das plantas analisadas, devido à alta densidade do solo, a qual demonstra compactação, comprometeu o crescimento das raízes (Coelho et al., 2020).

Além disso, o fósforo, quando se liga à MO, torna-se solúvel e o solo argiloso contribui para aumentar a capacidade da sua fixação, portanto, quanto maiores forem as concentrações de MO e argila, maior será a disponibilidade de P solúvel, diminuindo, conseqüentemente, o conteúdo de P-rem, corroborando com os resultados encontrados nos substratos avaliados no presente estudo, nos quais a relação entre MO e argila com o P-rem foi inversamente proporcional, quando aumentada a concentração de rejeito.

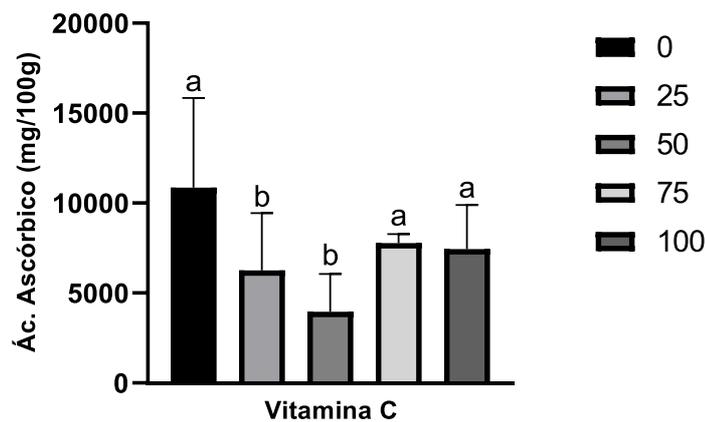
Quando comparado ao substrato fértil, o aumento do pH observado nos substratos contendo rejeito reduz a disponibilidade de Fe e Mn para absorção pelas plantas, posto que esses metais são complexados na forma de óxidos com o aumento do pH (Esteves et al., 2020a; Bertoncini & Mattiazzo, 1999). A matéria orgânica é um componente importante para a retenção de metais (Silveira et al. 2002), pois, de acordo com Stevenson (1994), esta relação ocorre devido à sua conformação e à afluência de grupos fenólicos e carboxílicos. Tal reação gera sítios de adsorção, os quais atuam via ligação iônica e/ou como agente quelante na solução do solo, sendo esses grupos (fenólicos e carboxílicos) capazes de manter o metal em solução, favorecer o transporte ou torná-lo indisponível pela precipitação do complexo formado (Stevenson, 1994). Portanto, às variações de pH do substrato ocasionam efeitos na solubilidade dos micronutrientes, devido à sua extrema sensibilidade por esse fator (Esteves et al., 2020b). Segundo Lindsay (1979), o aumento do pH em uma unidade pode reduzir a solubilidade do ferro em até 1.000 vezes e a do manganês em até 100 vezes (Esteves et al., 2020b; Lindsay, 1979).

Sob a perspectiva ambiental, tratando-se de locais que sofreram com o acúmulo da deposição de rejeitos, as contínuas associações químicas e biológicas nos processos de oxirredução podem aumentar a biodisponibilidade e bioacumulação dos elementos metálicos em longo prazo, possivelmente levando à contaminação crônica, o que indica a necessidade de monitoramento das áreas impactadas em longo prazo (Coelho et al. 2020).

### **3.3 Análises Químicas**

### 3.3.1 Vitamina C

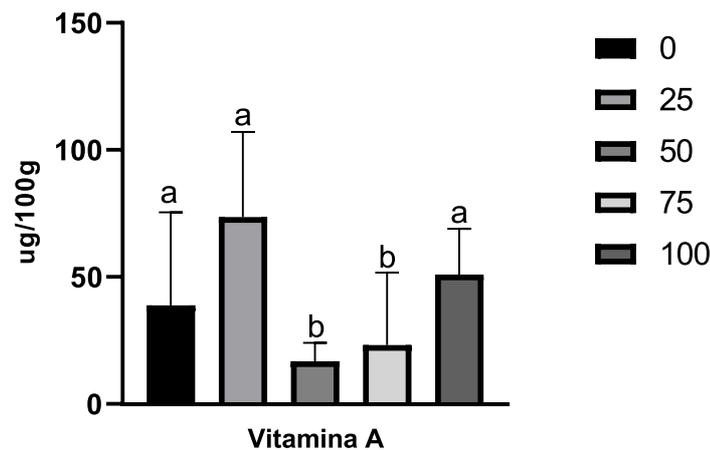
As concentrações de vitamina C nas plantas de *Lactuca sativa* L. cultivadas em substrato contendo 25% e 50% de rejeito foram, em média, 63,83% menores quando comparadas ao controle (0%), e apesar de os tratamentos 75 e 100% não terem apontado diferença estatística, também apresentaram menores conteúdos de vitamina C que no controle ( $P < 0,02$ ; Fig.8).



**Figura 8.** Análise dos teores de vitamina C em plantas de alface em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média ( $n = 3$ ). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%.

### 3.3.2 Vitamina A

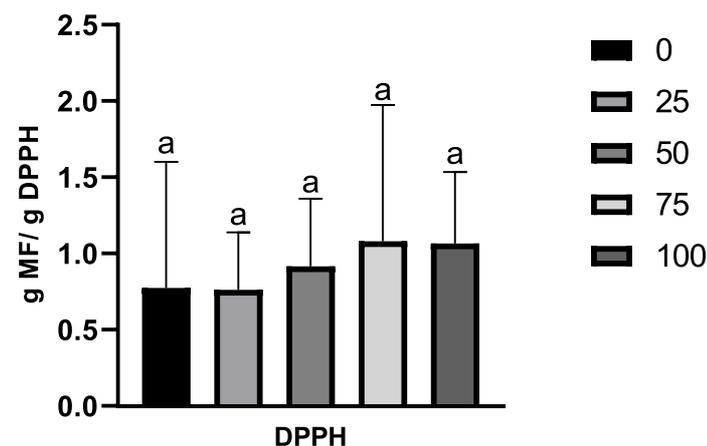
Em termos de vitamina A, as plantas de alface cultivadas nos tratamentos 50 e 75% apresentaram, em média, 51,54% menor conteúdo quando comparadas ao controle (0%), sendo que este não se diferenciou estatisticamente dos tratamentos contendo 25 e 100% de rejeitos ( $P < 0,02$ ; Fig.9).



**Figura 9.** Teores de vitamina A em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%.

### 3.3.3 Atividade Antioxidante Total pela Captura do Radical Livre DPPH

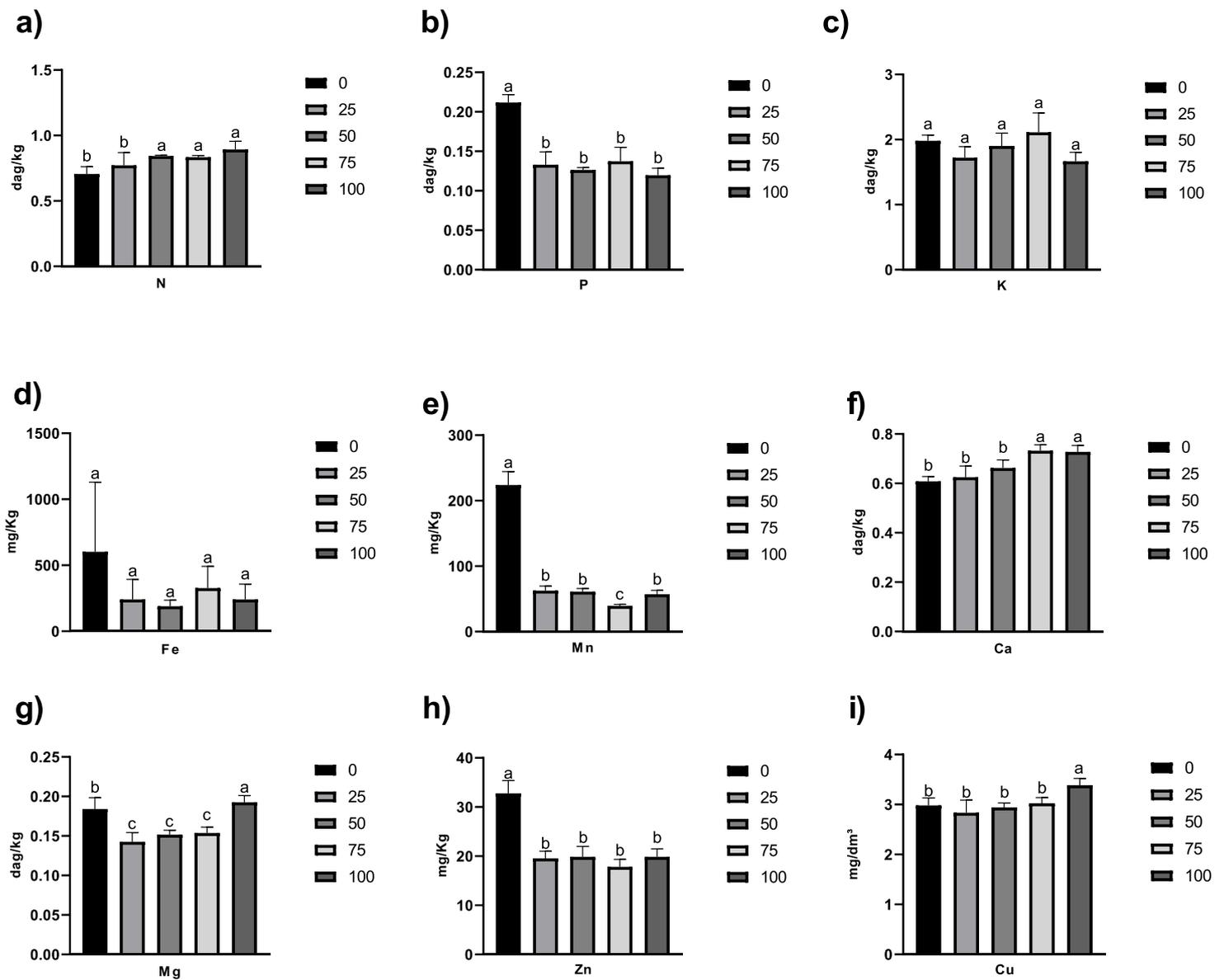
A atividade antioxidante total (considerando a determinação do radical livre DPPH) não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ( $P < 0,046$ ; Fig. 10). Esses resultados indicam que, mesmo com a exposição drástica ao rejeito, as plantas de alface utilizadas em nosso estudo não perderam capacidade e o potencial antioxidante.



**Figura 10.** Análise da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%.

### 3.3.4 Nutrientes foliares e das raízes

As partes aéreas das plantas de *Lactuca sativa* L. cultivadas na presença de rejeito puro (100%) apresentaram, em comparação ao controle (0%), aumentos nos conteúdos de Ca, Mg, N e Cu em 20,23%, 7,10%, 23,94% e 7,10% ( $P < 0,001$ ; 0,0004; 0,022; e 0,015, respectivamente; Fig. 11). Em contraste, para Mn, Zn, P, foram encontrados acúmulos menores, em 74,05%, 37,16% e 42,38%, respectivamente em relação ao controle ( $P < 0,000$ ; 0,0001; 0,0001; Fig. 11). Não foram encontradas diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos para o K e Fe e também não foram detectadas as presenças de Ni, Pb, Cr e C, descartando a hipótese de que esses metais pesados teriam influências deletérias no crescimento das plantas de alface.



**Figura 11.** Conteúdos de elementos minerais em folhas de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Teores de nitrogênio (a), fósforo (b), potássio (c), ferro (d), manganês (e), cálcio (f), magnésio (g), zinco (h) e cobre (i). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%.

Em relação aos macronutrientes NPK, as plantas cultivadas na presença de rejeitos apresentaram maiores concentrações do N, menores de P e não se diferenciaram no K. Ocorreu a elevação nos níveis de Ca, Mg e Cu, mas as concentrações de Mn e Zn foram menores. Os tratamentos com adição de rejeito mantiveram um padrão de resposta, se diferenciando pouco entre eles. No entanto, todos se diferenciaram do tratamento controle nas análises em que houve

diferenças estatísticas. No trabalho de Cruz e colaboradores (2021) não foram encontradas diferenças nas concentrações de N, P, K, Ca e Mg na parte aérea das plântulas *B. virgilioides* e *D. vandellianum*, com exceção do Mg, cultivadas na presença de rejeitos e em solos fertilizados. No entanto, em ambos os trabalhos, a composição nutricional das plântulas investigadas não foi suficiente para reverter o efeito negativo da adição do rejeito no crescimento da parte aérea das plantas. Não foram detectados metais tóxicos como Pb, Cd, Cr e Ni em nenhuma das plantas de alface analisadas no presente estudo, corroborando os resultados obtidos por Coelho et al. (2020), Cruz et al. (2021) e Almeida et al. (2022a).

Como comentado anteriormente, atribuímos às características físicas e químicas desfavoráveis dos substratos contendo rejeitos de minério de ferro ao menor crescimento das plantas de alface. O ferro desempenha um papel central nas reações redox (Guerinot e Yi, 1994), sendo encontrado em componentes de proteínas, catalisando reações redoxes em processos fundamentais, como fotossíntese, respiração, metabolismo de nitrogênio, biossíntese hormonal e defesa contra patógenos (Hänsch e Mendel, 2009; Nagajyoti et al., 2010). O ferro também exerce uma importante função no desenvolvimento de cloroplastos e biossíntese de clorofila e faz parte de vários complexos na cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese (Hell & Stephan, 2003; Nagajyoti et al., 2010). Por se apresentarem em concentrações mais baixas nas plantas cultivadas em concentrações elevadas de rejeito, podemos considerar que esse fator, associado às limitações físicas e nutricionais dos substratos contendo rejeito, contribuiu para o menor crescimento da parte aérea das plantas. Portanto, os resultados demonstram que, mesmo assegurando os níveis de nutrientes importantes para as plantas (N, K, Ca, Mg e Cu), mesmo com adição de solo fértil, a partir da concentração de 50% nos tratamentos contendo rejeito, os efeitos negativos desse resíduo de minério de ferro no crescimento das plantas não foram revertidos.

Almeida et al. (2022a) observaram que embora concentrações elevadas de Fe, Mn e Na tenham sido encontradas no rejeito de minério de ferro, esses acúmulos não afetaram o crescimento de plantas de feijão, milho e crotalária, sendo que as suas respectivas concentrações variaram entre as espécies e tratamentos quando produzidas em solos férteis e sobre rejeitos.

No trabalho de Almeida e colaboradores (2022a), os rejeitos ocasionaram efeitos deletérios ao crescimento, resultando em menor massa seca do caule em plantas de braquiária, sendo que elas acumularam baixas concentrações de metais, diferente dos resultados encontrados para as demais plantas estudadas. No entanto, esse resultado corrobora com o nosso

estudo em plantas de alface, apontando um baixo risco de magnificação desses metais na cadeia alimentar (Ahmad et al., 2013), indicando o uso dessa espécie como pastagem na região afetada pelos rejeitos da barragem de Fundão.

De acordo com os resultados encontrados em nosso estudo, consideramos improvável para a saúde humana o risco de contaminação por metais pesados como consequência do consumo de plantas de alface cultivadas em áreas impactadas pelos rejeitos de minério de ferro da barragem de Fundão. Embora Almeida e colaboradores (2022) tenham relatado concentrações elevadas de Fe e Mn na parte aérea de plantas de feijão e milho cultivados sobre rejeitos da barragem de Fundão, eles observaram uma baixa translocação desses elementos para os grãos, aspecto também relatado para o trigo (Bose e Bhattacharyya, 2008), encontrando-se dentro dos limites críticos para o consumo humano (WHO, 1996; FAO/WHO, 2011). Esses resultados podem estar relacionados a mecanismos metabólicos de defesa das plantas contra concentrações elevadas de elementos ao nível celular/metabólico e, para além, corroboram com os nossos resultados, sugerindo que esses elementos não são um fator de risco à saúde humana pelo excesso do consumo de metais pesados, se tratando das plantas relatadas.

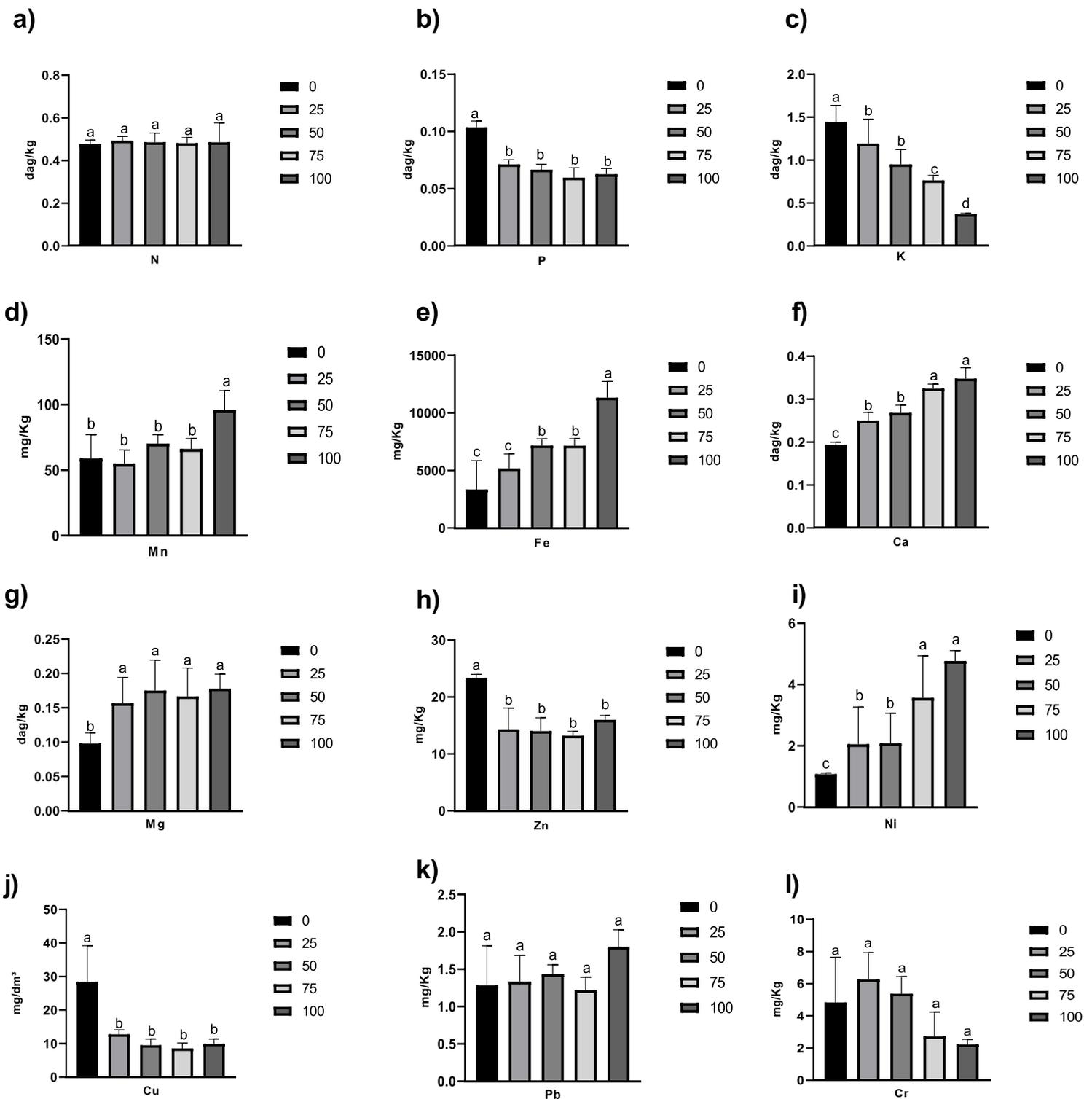
Outras espécies de hortaliças (rúcula e raízes tuberosas de rabanete), estudadas por Almeida e colaboradores (2022b) também não acumularam metais em níveis potencialmente tóxicos quando produzidas em rejeito. No entanto, apresentaram menores teores de P para ambas as espécies, corroborando com os nossos resultados com plantas de alface cultivadas sobre rejeitos. Diferente dos resultados encontrados por Coelho et al. (2020), Cruz et al. (2020) e Almeida et al. (2022a), as plantas de alface produzidas em proporções mais altas de rejeito tiveram menores teores de Fe e Mn, fato que pode ser resultado da formação de placas de ferro nas raízes, condição que possivelmente contribuiu como barreira para a redução na absorção desses metais encontrados em excesso nos tratamentos contendo rejeito. Esse mecanismo é o mais amplamente relacionado na discussão do acúmulo desses elementos nas raízes em solos contendo concentrações elevadas de ferro (Ferreira et al., 2022).

Mesmo sendo encontrados em quantidades elevadas por Almeida et al. (2022a), os elementos Zn, Al, B e Cu acumulados em brotos de rúcula e raízes tuberosas de rabanete cultivados em rejeitos, não ultrapassaram os limites permitidos para o consumo humano (WHO, 1996). No estudo de Almeida et al. (2022a) também foi verificado baixo risco à saúde dos consumidores de culturas de grãos e de espécies forrageiras produzidas nos rejeitos de minério de ferro da barragem de Fundão, considerando-se os metais pesados. Portanto, esses estudos, também corroboram com os nossos resultados e refutam a hipótese de que alimentos produzidos

sobre os rejeitos de minério de ferro da barragem de Fundão veiculam metais pesados em níveis tóxicos à saúde humana.

Mesmo apresentando concentrações baixas, em termos de metais pesados, havia a preocupação de que o rejeito pudesse interferir na absorção de nutrientes essenciais para as plantas, afetando o seu crescimento e, possivelmente, a saúde humana, podendo ocasionar hipovitaminoses e deficiência de minerais na população que consome esses alimentos. No entanto, nossos resultados demonstram que não há esse cenário e que as plantas produzidas no rejeito puro não se diferenciaram em termos dos conteúdos de vitaminas A e C em relação às cultivadas sobre substrato fértil (0%), apresentando, em contraste maior capacidade antioxidante ( $P < 0,046$ ). Esses resultados, provavelmente, ocorreram devido às plantas terem se crescido menos, em relação ao crescimento da parte aérea e, por isso, terem aumentado o potencial antioxidante, tornando as suas folhas mais bioativas.

Nas raízes das plantas de alface cultivadas no tratamento com 100% de rejeito foram encontradas concentrações menores dos macronutrientes P e K em 38,61% e 74,52% ( $P < 0,0001$ ; 0,0002; Fig. 12) e para os metais Cu e Zn, em 68,43% e 31,03% ( $P < 0,003$ ; 0,0008; Fig. 12). Em relação ao Ca, Fe, Ni, Mn e Mg, as respostas ao rejeito puro foram diferentes, apresentando maiores concentrações em 70,05%, 402,95%, 334,57%, 91,90% e 81,81%, respectivamente comparados ao solo fértil ( $P < 0,0001$ ; 0,0007; 0,004; 0,018;  $P > 0,0849$ ; Fig. 12). Embora não tenham sido encontradas diferenças estatísticas ( $P < 0,05$ ), o metal Pb apresentou maior valor em 45,83% e o Cr menor valor em 132,91%, quando comparados às plantas cultivadas no tratamento 100% às do controle. Por sua vez, não foi encontrada diferença estatística ( $P > 0,05$ ) em relação ao N quando comparadas as raízes cultivadas em substrato fértil com aquelas de plantas crescidas na presença do rejeito.



**Figura 12.** Conteúdo de elementos minerais em raízes de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Teores de nitrogênio (a), fósforo (b), potássio (c), ferro (d), manganês (e), cálcio (f), magnésio (g), zinco (h), níquel (i), cobre (j), chumbo (k) e cromo (l). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%.

Ao contrário dos resultados encontrados por Cruz e colaboradores (2020), as plantas de alface cultivadas na presença de rejeito apresentaram menores concentrações de Fe e Mn nos tecidos foliares quando comparados ao controle. Esses elementos foram encontrados em maiores concentrações tanto no substrato quanto nas raízes em resposta ao aumento na concentração de rejeito nos substratos. Essas diferenças podem ser justificadas pela formação de placas de ferro nas raízes, as quais se desenvolvem nas superfícies radiculares em resposta ao processo de oxidação do metal em contato com o oxigênio presentes nas raízes. Ferreira e colaboradores (2022) sugerem que tanto a formação quanto a ação das placas de ferro são específicas, pois foram encontradas diferentes respostas em plantas produzidas em rejeitos de minério de ferro da barragem de Fundão. Em *T. domingensis*, a placa de ferro teve atuação de tampão e foi fonte para absorção de ferro, mas em *H. tiliaceus*, a placa de ferro atuou como barreira contra o acúmulo desse metal na parte aérea, assim como pode ter ocorrido em nosso trabalho nas plantas estudadas.

As plantas de alface cultivadas nos tratamentos contendo concentrações de rejeito a partir de 50% apresentaram menor crescimento mento das partes aéreas e raízes. No entanto, no trabalho de Cruz e colaboradores (2020) não foi encontrada diferença significativa, ou muito baixa (3-10%), no comprimento das raízes das espécies cultivadas nos rejeitos. Cruz e colaboradores (2020) demonstraram em seu estudo que a fertilização aumentou significativamente a incorporação de biomassa, área foliar e altura das espécies arbóreas estudadas, *P. dubium*, *C. antisiphilitica*, *H. heptaphylluse* *H. impetiginosus*, exceto para *A. Polycephala*, em relação ao comprimento da parte aérea quando comparadas aos rejeitos não fertilizados, atribuindo a limitação do crescimento à falta de nutrientes essenciais para o desenvolvimento das plantas. Além de afetar a produção de biomassa total, foi verificado que mudas de todas as espécies alocaram maior biomassa para as raízes quando cultivadas em rejeitos sem adubação e para a parte aérea quando cultivadas em rejeitos adubados.

Andrade et al. (2018) também atribuíram à deficiência nutricional as alterações induzidas em plantas de arroz cultivadas em diferentes concentrações de rejeitos e não à toxicidade por algum metal pesado, corroborando com os nossos resultados, que implicam à composição física e nutricional dos substratos, os prejuízos no desenvolvimento das raízes e, conseqüentemente, da parte aérea, em plantas cultivadas na presença de rejeitos, a partir do tratamento 50%.

O impacto dos rejeitos na fertilidade do solo para a vegetação da região afetada é constatado ao se observar que mudas de espécies arbóreas investiram mais em folhas quando expostas ao substrato fértil (Cruz et al., 2020). Reduções no crescimento do sistema radicular foram observadas por Esteves et al. (2020) em plantas de duas espécies (Esteves et al., 2020), fato que pode estar relacionado à resistência física dos rejeitos, uma vez que os principais danos são relacionados à diminuição do número, comprimento e espessura das raízes (Grzesiak et al., 2016).

A ausência de metais pesados em níveis tóxicos nos rejeitos, verificada a partir das análises dos substratos, permite descartar a hipótese da associação desses elementos ao prejuízo no crescimento na parte aérea e das raízes das plantas de alface (CONAMA, 2009; CETESB, 2014). Como abordado anteriormente, associamos também o menor desenvolvimento das plantas às características físicas dos tratamentos com rejeito, em termos de maior compactação, a qual afeta diretamente o crescimento radicular e, conseqüentemente, o crescimento das plantas de alface cultivadas nesses substratos. Esses resultados corroboram as respostas encontradas por Cruz et al. (2020) e Segura et al. (2016), evidenciando o empobrecimento químico dos rejeitos em relação ao tratamento controle (0%) que, portanto, são menos férteis.

Segundo Cruz et al. (2020) os rejeitos de minério de ferro liberados pelo rompimento da barragem de Fundão interferem no crescimento de espécies vegetais nativas da Mata Atlântica. O crescimento reduzido das plantas foi associado à limitação nutricional, causada pela baixa disponibilidade de nutrientes, baixo teor de matéria orgânica e baixa CTC dos rejeitos. Esses efeitos deletérios foram revertidos com a adubação, logo, é indicado que se utilize fertilizantes em locais que visem o melhor crescimento inicial e desenvolvimento de espécies de plantas nativas. No estudo de Esteves e colaboradores (2020), os impactos negativos do aumento das proporções de rejeitos no crescimento das raízes foram evidentes, os quais também associaram essas respostas às características físicas dos rejeitos e indicaram a ocorrência de resistência do substrato, posto que a dinâmica morfológica das raízes foi alterada, bem como o crescimento e acúmulo de biomassa.

Em plantas de *B. decumbens* produzidas em rejeito da barragem de Fundão o Fe foi acumulado principalmente nas raízes, indicando uma estratégia de evitar a translocação do elemento para a parte aérea ou uma reduzida capacidade de translocá-lo. A biomagnificação na cadeia alimentar é minimizada com a compartimentalização de elementos potencialmente tóxicos nas raízes, uma vez que, em muitos casos, o tecido foliar é o órgão das plantas mais

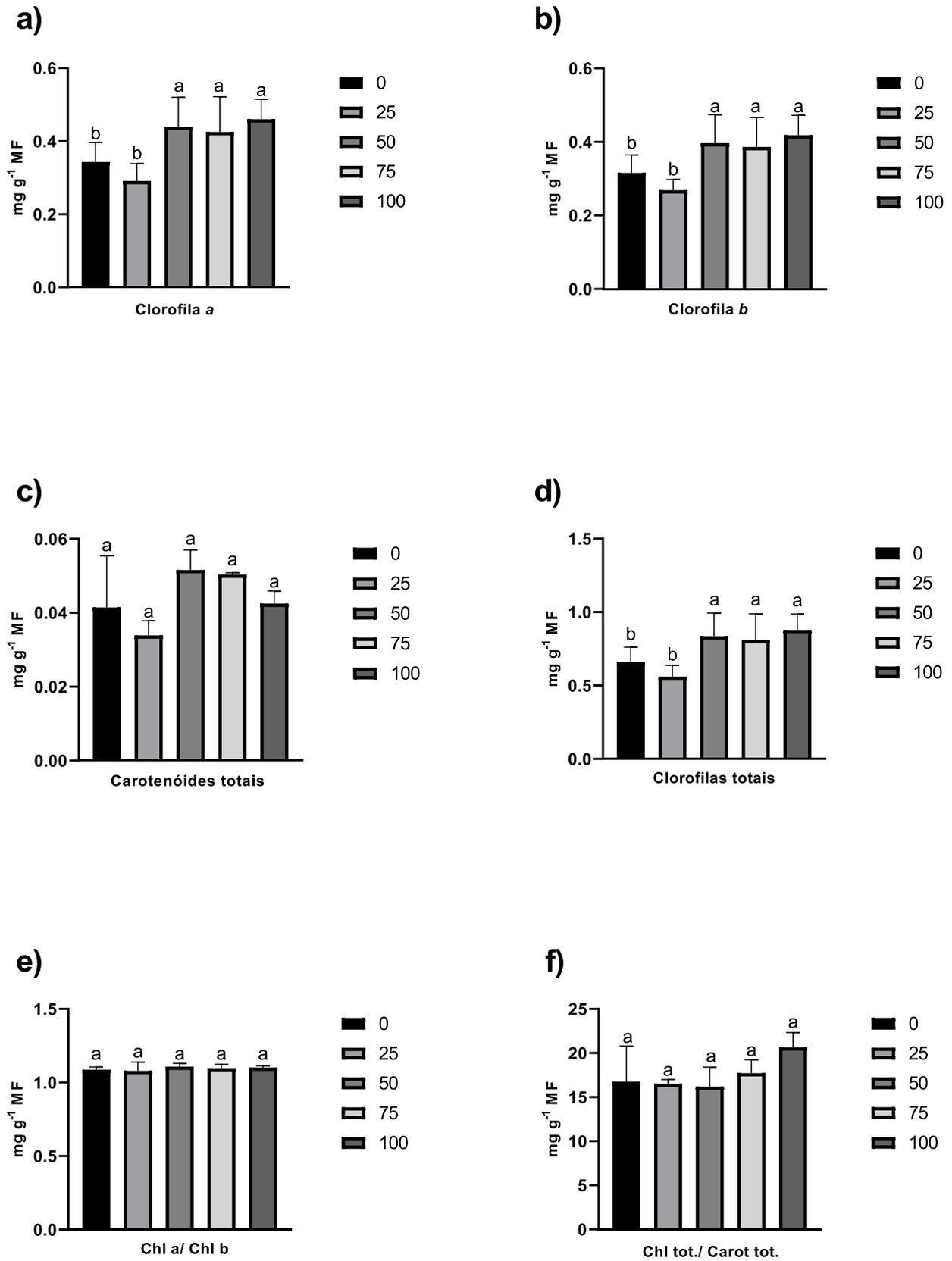
consumido (Coelho et al., 2020). Em várias espécies o sistema radicular acumulou maiores concentrações de Fe em relação à parte aérea (Santana et al., 2014; Cruz et al., 2020).

Em nossos estudos, nós deduzimos que o tratamento correspondente a 25% (3:1; solo fértil: rejeito puro) é o limite máximo para que os efeitos negativos dos rejeitos não se manifestem nas plantas. Esse nível de rejeito pode ser considerado aceitável para o cultivo de vegetais, pelo menos para alface e talvez outras hortaliças, especialmente quando o substrato puder ser enriquecido com a adição de fertilizantes NPK, conforme sugerido no trabalho de Cruz e colaboradores (2020). Essa abordagem, que envolve a utilização de fertilizantes em uma mistura com até 50% de rejeito na produção agrícola, mostra-se eficaz na redução dos efeitos prejudiciais do rejeito, promovendo, assim, um crescimento saudável das plantas cultivadas nessas condições desafiadoras. Segundo Cruz et al. (2021), a fertilização dos rejeitos resultou em um aumento significativo no crescimento das plantas. O equilíbrio e a oferta adequada de macro e micronutrientes são condições vitais para atuação nos processos metabólicos, fisiológicos e de desenvolvimento das plantas.

### **3.4 Fotossíntese**

#### **3.4.1 Análises de pigmentos fotossintéticos**

Em termos do conteúdo de pigmentos fotossintéticos, plantas cultivadas no tratamento com 100% de rejeito apresentaram 25,71% maior concentração de Clorofila a, 25% maior de Clorofila b e 26,86% maior de Clorofilas Totais quando comparadas às plantas de tratamento controle (0%) ( $P > 0,061$ ;  $P > 0,063$ ;  $P > 0,061$ , respectivamente; Fig. 13). Todavia, não houve diferença estatística entre as plantas dos tratamentos 50%, 75% e 100%, sendo, este último, o de que apresentou maior concentração.



**Figura 13.** Pigmentos fotossintéticos em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Teores de clorofila a (a), clorofila b (b),

carotenóides totais (c), clorofilas totais (d), razão clorofila a/clorofila b (e) e razão clorofila total/carotenóides totais (f). Barras = desvio padrão da média (n = 3). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%.

### 3.4.2 Análises fotossintéticas

Não foram encontradas diferenças significativas para os seguintes parâmetros, relacionados à fotossíntese: carboidratos solúveis totais, amido, fluorescência da clorofila, análises de trocas gasosas. Os gráficos e tabelas referentes a esses parâmetros encontram-se no Anexo I (tab. 6; tab. 7; tab. 8; fig. 14; fig. 15; fig. 25; e fig. 26).

No trabalho de Almeida e colaboradores (2022a) também não foram observadas diferenças significativas entre as espécies analisadas quando cultivadas no rejeito ou no solo fértil em relação aos parâmetros de pigmentos fotossintéticos e para os valores de eficiência fotoquímica ( $F_v / F_m$ ). No entanto, plantas de crotalária cultivadas em rejeito apresentaram maior conteúdo de clorofila *b* e maior razão clorofila / carotenóide. Em milho, a relação  $F_v / F_m$  foi maior quando comparadas àquelas da mesma espécie produzidas no solo fértil. Da mesma forma, em nosso estudo, plantas de alface cultivadas nas concentrações de 50%, 75% e 100% de rejeito apresentaram maiores conteúdos de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides totais. Alguns estudos relacionam o excesso de Fe com a diminuição do teor de clorofila nas plantas (Xing et al., 2010; Pereira et al., 2013; Xu et al., 2015). Em relação a fluorescência da clorofila *a* testados em nosso estudo, não foram encontradas diferenças significativas, assim como no trabalho de Cruz et al. (2021), no qual as duas espécies estudadas, *Bowdichia virgilioides* e *Dictyoloma vandellianumas*, não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos ao se analisar a eficiência fotoquímica máxima do PSII ( $F_v/F_m$ ). Tais trabalhos corroboram com os autores Cruz et al. (2020), Esteves et al. (2020) e Almeida et al. (2022b), os quais também não observaram diferenças significativas entre os tratamentos para a relação  $F_v/F_m$  nas espécies analisadas em seus estudos.

Assim como em nosso trabalho, Almeida et al. (2022b) não detectaram diferenças significativas em relação aos parâmetros de trocas gasosas nas plantas estudadas, rúcula e rúcula, exceto para a taxa de transpiração (E), a qual foi maior em plantas de rúcula cultivadas em rejeitos em comparação com aquelas cultivadas no solo. Já Esteves et al. (2020), evidenciaram taxas fotossintéticas e condutâncias estomáticas maiores em sorgo sob rejeitos,

quando comparado ao solo fértil. As demais espécies, milho e milheto, apresentaram taxas menores em relação a essa variável, podendo indicar maior tolerância do sorgo aos rejeitos.

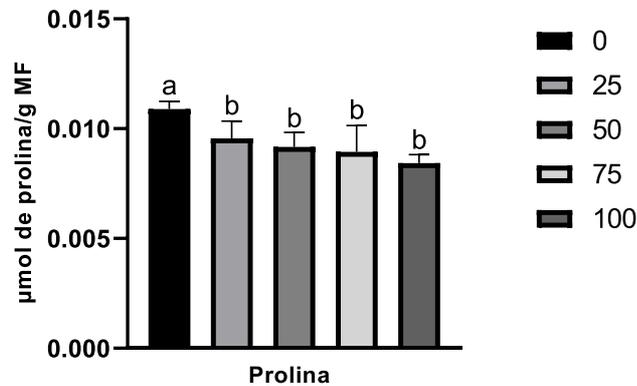
Todavia, segundo os autores, esses resultados podem estar apenas relacionados a um ajuste no aparato fotossintético, ao considerar que houve diminuição do teor relativo de clorofilas em plantas de sorgo. Ao se tratar das plantas de milho, ocorreu diminuição da condutância estomática e da taxa de transpiração sob rejeitos de minério de ferro, contribuindo para a economia de água mostrada na eficiência do uso da água (EUA), sem diminuir a fotossíntese, apresentando maior eficiência bioquímica (não estomática). O milho foi o mais eficiente no acúmulo de biomassa seca da parte aérea em resposta ao aumento na proporção de rejeitos, podendo estar relacionado à manutenção da eficiência fotossintética e ao aumento do índice SPAD nessa espécie (Lin et al., 2010; Almeida et al., 2022b).

Os resultados das análises fotossintéticas sugerem que, embora as plantas de alface cultivadas em solo fértil e as cultivadas no rejeito, apresentem diferenças em termos de crescimento de biomassa, não há uma distinção significativa em relação às análises fotossintéticas entre as duas condições de cultivo. Especula-se que o aumento na quantidade de nitrogênio disponível, essencial para processos metabólicos como a produção de proteínas e clorofila, possa influenciar positivamente a taxa fotossintética das plantas, mesmo em situações onde há menor crescimento de biomassa. Portanto, apesar de não haver discrepâncias evidentes nas análises fotossintéticas entre as plantas cultivadas em diferentes substratos, os resultados indicam possíveis limitações no desenvolvimento associadas ao substrato do rejeito de lama, apesar do potencial impacto do teor de nitrogênio na fotossíntese. É relevante destacar que, nas análises de solo, foi observado um menor conteúdo de nitrogênio no rejeito em comparação ao solo fértil, o que sugere uma disponibilidade limitada deste nutriente no substrato do rejeito. No entanto, contrariamente, nas análises de nutrientes dos tecidos foliares, as alfaces produzidas no rejeito apresentaram maior conteúdo de nitrogênio, possivelmente indicando uma capacidade das plantas em utilizar de forma mais eficiente o nitrogênio disponível no rejeito para seu crescimento e metabolismo.

### **3.5 Análises bioquímicas**

#### **3.5.1 Prolina**

O conteúdo de prolina foi 20% maior em plantas de alface produzidas no substrato fértil (0%) em comparação ao rejeito puro (100%) ( $P < 0,021$ ; Fig.14), que por sua vez, não diferiu dos demais tratamentos contendo rejeitos de minério de ferro.



**Figura 14.** Conteúdo de prolina em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média ( $n = 3$ ). Para cada parâmetro avaliado, as médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%.

Este resultado indica que a capacidade osmoprotetora nas plantas de alface cultivadas no substrato fértil se apresentou superior aos demais tratamentos contendo rejeitos. Essa resposta pode estar associada ao maior crescimento das raízes dessas plantas, considerando que o substrato fértil não apresentou limitação física e nutricional para o desenvolvimento desse órgão. Portanto, esse aminoácido atuou como protetor às condições de estresses, como escassez hídrica, e pode ter contribuído para um melhor desenvolvimento da parte aérea, mostrando também seu papel importante na estabilização de estruturas celulares e eliminação de radicais livres (Lehmann et al., 2010).

### 3.5.2 Análises bioquímicas

Quando comparados os tratamentos com e sem rejeitos de minério de ferro, não foram detectadas diferenças ( $P > 0,05$ ) tratando-se das enzimas primárias de avaliação do metabolismo oxidativo (CAT, POD, POL e SOD) assim como em relação aos seus respectivos radicais livres ( $O_2^-$ ) e espécies reativas de oxigênio ( $H_2O_2$ ), fenóis e peroxidação de lipídios (conteúdo de MDA-TBA).

Muito provavelmente não houve aumento das repostas enzimáticas do estresse oxidativo, pois como relatado, não foram acumulados metais pesados e nem elementos metálicos essenciais nas plantas de alface cultivadas na presença de rejeitos de minério de ferro. As plantas, provavelmente foram protegidas dos efeitos desses elementos por diferentes mecanismos de defesa, como a formação de placas de ferro nas raízes, assim como pelas características físicas e químicas dos substratos, os quais atuaram como barreira/ limitação para absorção em excesso desses elementos pelas plantas, limitando a toxidez e, conseqüentemente, a ativação das respostas do metabolismo oxidativo. Por outro lado, a ausência de diferenças também pode estar relacionada a cultivar de alface escolhida. Devido ao conteúdo elevado de água em sua composição, a sensibilidade na detecção das atividades das enzimas e das ROS podem ser reduzidas.

#### **4 CONCLUSÃO**

No tratamento contendo 25% de rejeitos de minério de ferro não houve diferenças estatísticas e/ou significantes no que tange ao crescimento, desenvolvimento, composição mineral e de vitaminas, resultados que indicam que, até essa proporção de rejeito, não há impactos prejudiciais/ severos/ significativos em termos de produtividade e composição nutricional para as plantas de alface e na segurança alimentar e nutricional para humanos. No tratamento 50%, perceberam-se efeitos prejudiciais ocasionados nas plantas sobre alguns parâmetros, mas ainda assim com impactos menores e possíveis de serem mitigados com a adubação e correção do substrato. Para as proporções 75% e 100% observaram-se expressivo impacto, principalmente quando se considerou o desenvolvimento (MF e MS) de plantas de alface. Porém, não foram encontrados nas plantas parâmetros que ocasionassem riscos de toxicidade para a saúde humana. Todavia, os resultados indicam a ocorrência de deficiência de alguns elementos essenciais, devido à menor translocação para as folhas (parte comestível).

No que tange à segurança alimentar e nutricional da população que convive e consome alimentos produzidos em locais afetados com os rejeitos de minério de ferro da barragem de Fundão, os resultados encontrados no presente estudo são satisfatórios, não indicando riscos e/ou prejuízos para a saúde humana. Adicionalmente, os resultados encontrados anuem pela manutenção da agricultura familiar local, atividade que desempenha papel econômico importante na produção de alimentos, principalmente relacionados à produção de hortaliças. Estudos como o nosso, associados a outros que vêm sendo produzidos, trazem não somente

embasamentos para o consumo de forma segura de alimentos como, também, estratégias para minimizar os impactos da perda na produtividade agrícola, devido ao comprometimento da estrutura física e perda de nutrientes no solo da região devido à presença do rejeito de minério de ferro. Entretanto, estudos de longo prazo associados ao consumo de alimentos produzidos em locais afetados por rompimentos de barragens tornam-se necessários para que sejam desenvolvidas políticas públicas direcionadas à segurança alimentar da população que sofre com desastres ambientais, como foi o caso do rompimento da Barragem de Fundão em Mariana – MG.

### **AGRADECIMENTOS**

Este trabalho recebeu apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG; projeto CRA - APQ-01187-16, Chamada 04/2016 - Tecnologias para a Recuperação da Bacia do Rio Doce) da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). A primeira autora recebeu bolsa de estudos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Agradecemos também ao Instituto de Ciências Biológicas e ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, da Universidade Federal de Juiz de Fora.

### **5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Abe-Matsumoto, L. T., Sampaio, G. R., & Bastos, D. H. M. (2015). Suplementos vitamínicos e/ou minerais: regulamentação, consumo e implicações à saúde. *Cadernos de Saúde Pública*, 31(7), 1371–1380. <https://doi.org/10.1590/0102-311x00177814>

ABRASCO (2020). Nota técnica sobre o rigor científico nas metodologias de avaliação de risco à saúde humana em Mariana. ABRASCO. Publicado em: 13 de abril de 2020.

Ahmad, K., Shaheen, M., & Khan, Z. I. (2013). Heavy metals contamination of soil and fodder: a possible risk to livestock. *Science Technology and Development* (Islamabad), 32(2), 140–148.  
<https://inis.iaea.org/search/searchsinglerecord.aspx?recordsFor=SingleRecord&RN=47009188>

Ahammed, G. J., Xu, W., Liu, A., & Chen, S. (2018). COMT1 silencing aggravates heat stress-induced reduction in photosynthesis by decreasing chlorophyll content, photosystem II activity, and electron transport efficiency in tomato. *Frontiers in Plant Science*, 9.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00998>

- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., & Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell & Environment*, 24(12), 1337–1344. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>
- Almeida, H. A., Guernica, J. S., Custódio, I. G., Karam, D., & Souza, Q. G. (2022a). Productivity and food safety of grain crops and forage species grown in iron ore tailings. *Journal of Food Composition and Analysis*, 105, 104198–104198. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104198>
- Almeida, H. A., Della Torre, F., & Souza, Q. G. (2022b). Cultivating vegetables in tailings from the Fundão dam collapse: metal accumulation and risks to food safety. *Environmental Monitoring and Assessment*, 194(6). <https://doi.org/10.1007/s10661-022-10060-5>
- Anderson, M. D., Prasad, T. K., & Stewart, C. R. (1995). Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiology*, 109(4), 1247–1257. <https://doi.org/10.1104/pp.109.4.1247>
- Andrade, G. F., Paniz, F. P., Martins, A. C., Rocha, B. A., da Silva Lobato, A. K., Rodrigues, J. L., Cardoso-Gustavson, P., Masuda, H. P., & Batista, B. L. (2018). Agricultural use of Samarco's spilled mud assessed by rice cultivation: A promising residue use? *Chemosphere*, 193, 892–902. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.099>
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205–207. <https://doi.org/10.1007/bf00018060>
- Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44(1), 276–287. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)
- Bertoncini, E. I., & Mattiazzi, M. E. (1999). Lixiviação de metais pesados em solos tratados com lodo de esgoto. *Revista Brasileira de Ciência Do Solo*, 23(3), 737–744. <https://doi.org/10.1590/s0100-06831999000300029>
- Bose, S., & Bhattacharyya, A. K. (2008). Heavy metal accumulation in wheat plant grown in soil amended with industrial sludge. *Chemosphere*, 70(7), 1264–1272. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.07.062>
- Braga, T. R. (2016). Efeito de pré-tratamentos: desidratação osmótica assistida com ultrassom e luz ultravioleta pulsada na secagem e qualidade da manga. *Repositorio.ufc.br*. <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/19456>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/s0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/s0023-6438(95)80008-5)
- Brasil de Fato (2023). Oito anos após rompimento de barragem em Mariana, atingidos do Rio Doce ainda sofrem sem diálogo e reparação. Disponível em: <https://www.brasildefato.com.br/2023/11/11/oito-anos-apos-rompimento-de-barragem-em->

mariana-atingidos-do-rio-doce-ainda-sofrem-sem-dialogo-e-reparacao#:~:text=Segundo%20ela%2C%20a%20Renova%20afirma,n%C3%A3o%20foi%20impactado%20pelo%20crime>. Acesso em: 01 de mar. de 2024.

CETESB (2014). Guia Técnico Ambiental de Curtumes. 2. ed. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/tecnologia-ambiental/camaras/guiaP+Lcurtumes-2-ed-CA-couros.pdf>>. Acesso em: 8 jan. 2023.

Chance, B., & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*, 764–775. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(55\)02300-8](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(55)02300-8)

Chen, L. S., Qi, Y. P., & Liu, X. H. (2005). Effects of aluminum on light energy utilization and photoprotective systems in citrus leaves. *Annals of Botany*, 96(1), 35-41. <https://doi.org/10.1093/aob/mci145>

Coelho, D.G., Marinato, C.S., Paiva, L., Monteiro, H., Silva, Henrique, P., & Alves, J. (2020). Evaluation of metals in soil and tissues of economic-interest plants grown in sites affected by the fundão dam failure in Mariana, Brazil. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 16(5), 596–607. <https://doi.org/10.1002/ieam.4253>

CONAMA (2009). Resolução n. 420, de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Conselho Nacional do Meio Ambiente, Ministério do Meio Ambiente. *Diário Oficial da União*, 249, Brasil

Cruz, F.V.S., Gomes, M.P., Bicalho, E.M., Della Torre, F., Garcia, Q.S. (2020). Does Samarco's spilled mud impair the growth of native trees of the Atlantic Rainforest?. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 189, 110021–110021. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110021>

Cruz, F. V. da S., Gomes, M. P., Bicalho, E. M., & Garcia, Q. S. (2022). Fertilization assures mineral nutrition but does not overcome the effects of Fe accumulation in plants grown in iron ore tailings. *Environmental Science and Pollution Research International*, 29(12), 18047–18062. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16989-3>

DEGEO - ICH / UFJF (2009). Laboratório de climatologia geográfica e análise ambiental. *Estação Climatológica Principal de Juiz de Fora*; Centro de Pesquisas Sociais / Anuário 2009.

Del Longo, O. T. et al (1993). Antioxidant defences under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. *Plant and Cell Physiology*, v. 34, n. 7, p. 1023–1028. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078515>

Dinakar, C., Djilianov, D., & Bartels, D. (2012). Photosynthesis in desiccation tolerant plants: Energy metabolism and antioxidative stress defense. *Plant Science*, 182, 29–41. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.01.018>

- Dinesh, B., Yadav, B., Reddy, R. D., Padma, A. S., & Sukumaran, M. K. (2015). Determination of ascorbic acid content in some Indian spices. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(8), 864-868.
- Doke, N. (1983). Involvement of superoxide anion generation in the hypersensitive response of potato tuber tissues to infection with an incompatible race of *Phytophthora infestans* and to the hyphal wall components. *Physiological Plant Pathology*, 23(3), 345–357. [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(83\)90019-x](https://doi.org/10.1016/0048-4059(83)90019-x)
- DuBois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.
- EMBRAPA. (2015). Relatório: Avaliação dos impactos causados ao solo pelo rompimento de barragem de rejeito de mineração em Mariana, MG: Apoio ao plano de recuperação agropecuária. *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária*, 2015. [https://www.agenciaminas.mg.gov.br/ckeditor\\_assets/attachments/770/relatorio\\_final\\_ft\\_03\\_02\\_2016\\_15h5min.pdf](https://www.agenciaminas.mg.gov.br/ckeditor_assets/attachments/770/relatorio_final_ft_03_02_2016_15h5min.pdf)
- Esteves, G.F., Bressanin, L.A., de Souza, K.R.D., da Silva, A.B., Mantovani, J.R., Marques, D.M., Magalhães, P.C., Pasqual, M., de Souza, T.C. (2020). Do tailings from the Mariana, MG (Brazil), disaster affect the initial development of millet, maize, and sorghum? *Environmental Science and Pollution Research*, 27(31), 38662–38673. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10013-w>
- Etesami, H. (2018). Bacterial mediated alleviation of heavy metal stress and decreased accumulation of metals in plant tissues: Mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147, 175–191. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.08.032>
- Faisal, S., Mujtaba, S. M., Asma, & Mahboob, W. (2019). Polyethylene glycol mediated osmotic stress impacts on growth and biochemical aspects of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 22(3), 213–223. <https://doi.org/10.1007/s12892-018-0166-0>
- FAO/WHO/UNU. (2001). Human energy requirements. *Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation*. (2001). <https://www.fao.org/3/y5686e/y5686e.pdf>
- FAO/WHO. (2011). Working document for Information and use in discussion related to contaminants and toxins in the GSCTFF. *Jt. FAO/WHO Food Stand. Program Codex Commision Contaminant Foods*, pp. 1–90.
- Ferrandon, M., & Chamel, A. R. (1988). Cuticular retention, foliar absorption and translocation of Fe, Mn and Zn supplied in organic and inorganic form. *Journal of Plant Nutrition*, 11(3), 247–263. <https://doi.org/10.1080/01904168809363800>
- Fernandes, G. W., Goulart, F. F., Ranieri, B. D., Coelho, M. S., Dales, K., Boesche, N., Soares-Filho, B. (2016). Deep into the mud: ecological and socio-economic impacts of the dam breach in Mariana, Brazil. - *Portal Embrapa*. (n.d.). From <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1062840/deep-into-the-mud-ecological-and-socio-economic-impacts-of-the-dam-breach-in-mariana-brazil>

Ferreira, A. D., Queiroz, H. M., Otero, X. L., Barcellos, D., Bernardino, Â. F., & Ferreira, T. O. (2022). Iron hazard in an impacted estuary: Contrasting controls of plants and implications to phytoremediation. *Journal of Hazardous Materials*, 428, 128216. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128216>

Freitas, J. C. E., Resende, C. F., Pimenta, M. P., Frattini, L. M., Reis, P. R. C., Miranda, J. B., Silva, J. C. J., Evangelista, D. C., Nery, F. C. & Peixoto, P. H. P. (2023). Assessing the ecophysiological effects of iron mining tailings on velvet bean: implications for growth limitations based on mineral composition and physicochemical properties of tailings-soil substrates. *Brazilian Journal of Botany*, 46(3), 715–729. <https://doi.org/10.1007/s40415-023-00911-x>

Genty, B., Briantais, J.-M., Baker, N. R. (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, v. 990, n. 1, p. 87–92. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(89\)80016-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9)

Gonçalves, E. R., Ferreira, V. M., Silva, J. V., Endres, L., Barbosa, T. P., & de, W. (2010). Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola E Ambiental*, 14(4), 378–386. <https://doi.org/10.1590/s1415-43662010000400006>

Grzesiak, M. T., P. Szczyrek, Rut, G., Agnieszka Ostrowska, Hura, K., Rzepka, A., Hura, T., & Grzesiak, S. (2014). Interspecific differences in tolerance to soil compaction, drought and waterlogging stresses among maize and triticale genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 201(5), 330–343. <https://doi.org/10.1111/jac.12104>

Guarçoni, A., Favarato, L.F., STIPP, S.R; CASARIN, V. (2019). Manejo da fertilidade do solo para uma produção agropecuária mais sustentável. *Incaper em Revista*, v. 10, p. 22-42.

Guerinot, M. L., & Yi, Y. (1994). Iron: nutritious, noxious, and not readily available. *Plant Physiology*, 104(3), 815–820. <https://doi.org/10.1104/pp.104.3.815>

Hänsch, R., & Mendel, R. R. (2009). Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3), 259–266. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.05.006>

Hatje, V., Pedreira, R. M. A., de Rezende, C. E., Schettini, C. A. F., de Souza, G. C., Marin, D. C., & Hackspacher, P. C. (2017). The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11143-x>

Havir, E. A., & McHale, N. A. (1987). Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology*, 84(2), 450–455. <https://doi.org/10.1104/pp.84.2.450>

Heath, R.L., & Packer, L. (1968) Photoperoxidation in Isolated Chloroplasts: I. Kinetics and Stoichiometry of Fatty Acid Peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)

Hell, R., & Stephan, U. W. (2003). Iron uptake, trafficking and homeostasis in plants. *Planta*, 216(4), 541–551. <https://doi.org/10.1007/s00425-002-0920-4>

Heller, L. (2019). Desastres de mineração e saúde pública no Brasil: lições (não) aprendidas. *Cadernos de Saúde Pública*, 35(5). <https://doi.org/10.1590/0102-311x00073619>

Hiscox, J. D., & Israelstam, G. F. (1978). A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany*, 57(12), 1332–1334. <https://doi.org/10.1139/b79-163>

Huang, H., Ullah, F., Zhou, D.-X., Yi, M., & Zhao, Y. (2019). Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. *Frontiers in Plant Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00800>

Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57(2), 315–319. doi:10.1104/pp.57.2.315.

Lehmann, S., Funck, D., Szabados, L., & Rentsch, D. (2010). Proline metabolism and transport in plant development. *Amino Acids*, 39(4), 949–962. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0525-3>

León, A. P., Viña, S. Z., Frezza, D., Chaves, A., & Chiesa, A. (2007). Estimation of Chlorophyll Contents by Correlations between SPAD-502 Meter and Chroma Meter in Butterhead Lettuce. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 38(19–20), 2877–2885. <https://doi.org/10.1080/00103620701663115>

Lin, F. F., Qiu, L. F., Deng, J. S., Shi, Y. Y., Chen, L. S., & Wang, K. (2010). Investigation of SPAD meter-based indices for estimating rice nitrogen status. *Computers and Electronics in Agriculture*, 71, S60–S65. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2009.09.006>

Lindsay, W.L. (1979) Chemical equilibrium in soils. John Wiley & Sons, New York. - References - *Scientific Research Publishing*. (n.d.). [www.scirp.org](http://www.scirp.org). Retrieved December 20, 2023, from <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1188214>

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275. doi:10.1016/s0021-9258(19)52451-6

Monchelato, V. L. P., & Fernandes, F. M. (2022). Adubação orgânica e mineral na produção do alface. *Revista AgroFIB*, 2. <https://doi.org/10.59237/agrofib.v2i.574>

Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & Srekanth, T. V. M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 8(3), 199–216. <https://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8>

National Research Council (US) Subcommittee on the Tenth Edition of the Recommended Dietary Allowances. (1989). Recommended Dietary Allowances: 10th Edition. In *PubMed*. National Academies Press (US). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25144070/>

- Nunes, J.A.S, Bonfim-Silva, E.M., da Silva, T.JA. (2016) Bulk density and water tensions in the soil on corn root production. *Rev Bras Eng Agrícola e Ambient* 20:357–363. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v20n4p357-363>
- Parida, A. K., Kumari, A., Panda, A., Rangani, J., & Agarwal, P. K. (2018). Photosynthetic pigments, betalains, proteins, sugars, and minerals during *Salicornia brachiata* senescence. *Biologia Plantarum*, 62(2), 343–352. <https://doi.org/10.1007/s10535-017-0764-1>
- Peixoto, P.H.P., Cambraia, J., Sant’Anna, R., Mosquim, P.R., Moreira, M.A. (1999). Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 11(3):137-143
- Porcar-Castell, A., Tyystjärvi, E., Atherton, J., van der Tol, C., Flexas, J., Pfündel, E. E., Moreno, J., Frankenberg, C., & Berry, J. A. (2014). Linking chlorophyll a fluorescence to photosynthesis for remote sensing applications: mechanisms and challenges. *Journal of Experimental Botany*, 65(15), 4065–4095. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru191>
- Queiroz, H. M., Gabriel Nuto Nóbrega, Tiago Miguel Ferreira, Almeida, L. S., Romero, T. B., Sandra Tédde Santaella, Bernardino, A. F., & Xosé Luis Otero. (2018). The Samarco mine tailing disaster: A possible time-bomb for heavy metals contamination? *Science of the Total Environment*, 637-638, 498–506. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.370>
- Rao, B., & Deshpande, V. (2006): *Experimental biochemistry*. Tunbridge Wells, Kent: Anshan.
- Rufino, M. D. S. M., Alves, R. E., de Brito, E. S., de Moraes, S. M., Sampaio, C. D. G., Pérez-Jimenez, J., & Saura-Calixto, F. D. (2007). Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. *Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)*.
- Rutkowski, M., & Grzegorzczak, K. (2007). Modifications of spectrophotometric methods for antioxidative vitamins determination convenient in analytic practice. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6(3), 17-28.
- Sala, F. C., & Costa, C. P. da. (2012). Retrospectiva e tendência da alfacultura brasileira. *Horticultura Brasileira*, 30(2), 187–194. <https://doi.org/10.1590/s0102-05362012000200002>
- Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., & Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2), 270-276.
- Santana, B. V. N., Araújo, T. O., Andrade, G. C., et al. (2014). Leaf morphoanatomy of species tolerant to excess iron and evaluation of their phytoextraction potential. *Environmental Science and Pollution Research*, 21: 2550–2562
- SEDRO (2016). Minas Gerais. Secretaria de Estado de Desenvolvimento Regional, Política Urbana e Gestão Metropolitana. Relatório: avaliação dos efeitos e desdobramentos do rompimento da Barragem de Fundão em Mariana-MG. *Belo Horizonte: Sedru*; 2016. 289 p.

- Segura, F. R., Nunes E.A., Paniz, F.P., Paulelli, A.C.C., Rodrigues, G.B., Braga, G.Ú.L., dos Reis Pedreira Filho, W., Barbosa, F.Jr, Cerchiaro, G., Silva, F.F., Batista, B.L. (2016) Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). *Environ Pollut* 218:813–825. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.005>
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 2012, 1–26. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>
- Shimizu, E. S. C (2009). Aspectos fisiológicos e bioquímicos relacionados à quebra de dormência física em sementes de paricá [*Schizolobium parahyba var. amazonicum* (Huber ex Ducken) Barneby]. (Masters Dissertation). *Universidade Federal Rural da Amazônia*.
- Silva, F. C. (2009). Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. *Embrapa Informação Tecnológica*, Brasília.
- Silva D.C., Bellato, C. R., Marques Neto, J. D. O., Fontes, M. P. (2018). Trace elements in river waters and sediments before and after a mining dam breach (Bento Rodrigues, Brazil). *Química Nova* 41:857-866. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170252>
- Silveira, M. L., Ferracciú, R., Antonio, & José Carlos Casagrande. (2002). Copper adsorption in oxidic soils after removal of organic matter and iron oxides. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 33(19-20), 3581–3592. <https://doi.org/10.1081/css-120015907>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>
- Stevenson, F. J. (1994). Humus chemistry genesis, composition, reactions. John Wiley & Sons, New York, 496 p. - References - *Scientific Research Publishing*. (n.d.). [Www.scirp.org](http://www.scirp.org). Retrieved December 20, 2023, from <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=2690546>
- TACO (2011). Tabela brasileira de Composição de Alimentos. 4ª edição. rev. e ampl., 2011. *NEPA-UNICAMP*.
- Teixeira, P. C., Donagemma, G. K., Fontana, A., Teixeira, W. G. (2017). Manual de métodos de análise de solo. 3 ed. revista e ampliada. Brasília: *Embrapa*, 573p.
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151(1), 59-66. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1)
- Vitória, F. C. da, Bandini, B., Silva, E. R. da, & Almeida, J. R. (2019). Desastre ambiental da barragem de Fundão, Mariana, MG - análise de impactos socioambientais. *Revista Internacional de Ciências*, 9(3), 2–15. <https://doi.org/10.12957/ric.2019.40296>
- Wellburn, A. R. (1994). The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J Plant Physiol*, 144, 307-313. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)

Wettasinghe, M., & Shahidi, F. (1999). Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(5), 1801–1812. <https://doi.org/10.1021/jf9810416>

WHO (1996). Trace elements in human nutrition and health. World Health Organization, Geneva. - References - *Scientific Research Publishing*. (n.d.). [Www.scirp.org](http://www.scirp.org). Retrieved December 20, 2023, from <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1534467>

Xing, W., Li, D., & Liu, G. (2010). Antioxidative responses of *Elodea nuttallii* (Planch.) H. St. John to short-term iron exposure. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(10-11), 873–878. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.006>

Xu, S., Lin, D., Sun, H., Yang, X., & Zhang, X. (2015). Excess iron alters the fatty acid composition of chloroplast membrane and decreases the photosynthesis rate: a study in hydroponic pea seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(10). <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1969-6>

Zago, V. C. P., das Dores, N. C., & Watts, B. A. (2019). Strategy for phytomanagement in an area affected by iron ore dam rupture: A study case in Minas Gerais State, Brazil. *Environmental Pollution*, 249, 1029–1037. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.060>

## APÊNDICE I

**Tabela 2.** Caracterização química dos substratos utilizados no experimento em pré-cultivo.

VARIÁVEIS	TRATAMENTOS					Estatística
	0%	25%	50%	75%	100%	Teste P*
<b>pH</b>	5,2 ± 0,06 <sup>a</sup>	5,6 ± 0,02 <sup>b</sup>	6,0 ± 0,01 <sup>c</sup>	6,4 ± 0,01 <sup>d</sup>	6,4 ± 0,01 <sup>d</sup>	<0,001
<b>P</b>	30,7 ± 0,84 <sup>a</sup>	24,1 ± 1,29 <sup>b</sup>	18,2 ± 0,34 <sup>c</sup>	13,7 ± 0,29 <sup>d</sup>	6,9 ± 0,25 <sup>e</sup>	<0,0001
<b>K (mg dm<sup>-3</sup>)</b>	254,0 ± 2,30 <sup>a</sup>	187,0 ± 1,76 <sup>b</sup>	135,0 ± 1,76 <sup>c</sup>	93,0 ± 1,76 <sup>d</sup>	29,0 ± 1,15 <sup>e</sup>	<0,0001
<b>Ca</b>	1,97 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,56 ± 0,06 <sup>b</sup>	2,5 ± 0,03 <sup>b</sup>	2,66 ± 0,02 <sup>b</sup>	2,14 ± 0,09 <sup>a</sup>	<0,0001
<b>Mg</b>	1,06 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,86 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,69 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,51 ± 0,01 <sup>d</sup>	0,33 ± 0,01 <sup>e</sup>	<0,0001
<b>Acidez (H + Al)</b>	6,1 ± 0,14 <sup>a</sup>	4,0 ± 0,12 <sup>b</sup>	3,1 ± 0,14 <sup>c</sup>	1,9 ± 0,13 <sup>d</sup>	0,8 ± 0,006 <sup>e</sup>	<0,0001
<b>sB (V)</b>	3,67 ± 0,03 <sup>a</sup>	3,9 ± 0,09 <sup>a</sup>	3,5 ± 0,04 <sup>b</sup>	3,4 ± 0,04 <sup>b</sup>	2,5 ± 0,12 <sup>c</sup>	<0,0001
<b>t</b>	3,67 ± 0,03 <sup>a</sup>	3,9 ± 0,09 <sup>a</sup>	3,5 ± 0,04 <sup>b</sup>	3,4 ± 0,04 <sup>b</sup>	2,5 ± 0,12 <sup>c</sup>	<0,0001
<b>T (cmolc dm<sup>-3</sup>)</b>	9,77 ± 0,11 <sup>a</sup>	7,9 ± 0,02 <sup>b</sup>	6,66 ± 0,18 <sup>c</sup>	5,32 ± 0,17 <sup>d</sup>	3,34 ± 0,19 <sup>e</sup>	<0,0001
<b>V (%)</b>	37,6 ± 0,78 <sup>a</sup>	49,4 ± 1,33 <sup>b</sup>	53,5 ± 0,92 <sup>c</sup>	63,5 ± 1,28 <sup>d</sup>	75,9 ± 0,51 <sup>e</sup>	<0,0001
<b>MO (dag kg<sup>-1</sup>)</b>	3,69 ± 0,51 <sup>a</sup>	2,42 ± 0,16 <sup>b</sup>	1,88 ± 0,07 <sup>c</sup>	1,07 ± 0,09 <sup>d</sup>	0,67 ± 0,00 <sup>d</sup>	<0,0001

<b>P-Rem</b> (mg L <sup>-1</sup> )	18,5 ± 0,74 <sup>a</sup>	23,0 ± 0,14 <sup>b</sup>	27,4 ± 0,33 <sup>c</sup>	31,4 ± 0,37 <sup>d</sup>	37,9 ± 0,23 <sup>e</sup>	<0,0001
<b>Cu</b>	2,7 ± 0,06 <sup>a</sup>	2,3 ± 0,09 <sup>b</sup>	2,0 ± 0,02 <sup>c</sup>	1,9 ± 0,06 <sup>c</sup>	1,5 ± 0,07 <sup>d</sup>	<0,0001
<b>Mn</b>	55,7 ± 2,96 <sup>a</sup>	79,9 ± 7,0 <sup>b</sup>	94,3 ± 7,7 <sup>c</sup>	112,0 ± 6,6 <sup>c</sup>	117,8 ± 1,99 <sup>c</sup>	<0,0001
<b>Fe</b>	82,6 ± 5,6 <sup>a</sup>	62,3 ± 2,98 <sup>b</sup>	67,5 ± 0,6 <sup>b</sup>	99,0 ± 1,9 <sup>c</sup>	102,6 ± 8,9 <sup>c</sup>	<0,0002
<b>Zn</b>	8,45 ± 0,35 <sup>a</sup>	6,44 ± 0,26 <sup>b</sup>	5,35 ± 0,09 <sup>c</sup>	4,97 ± 0,14 <sup>c</sup>	3,62 ± 0,03 <sup>d</sup>	<0,0001
<b>Cr</b>	0,13 ± 0,11 <sup>a</sup>	0,12 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,04 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,15 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,02 ± 0,00 <sup>d</sup>	<0,0001
<b>Ni</b>	0,45 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,51 ± 0,09 <sup>a</sup>	0,51 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,73 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,52 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,394
<b>Cd</b>	0,13 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,04 ± 0,10 <sup>a</sup>	0,23 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,11 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,25 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,371
<b>Pb</b> (mg dm <sup>-3</sup> )	1,39 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,03 ± 0,11 <sup>b</sup>	1,12 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,96 ± 0,14 <sup>b</sup>	1,01 ± 0,16 <sup>b</sup>	0,044
<b>N</b> (dag kg <sup>-1</sup> )	1,14 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,12 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,09 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,06 ± 0,00 <sup>d</sup>	0,03 ± 0,00 <sup>e</sup>	<0,0001

Nota: (\*) Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro: (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. Os dados são mostrados como média ± erro padrão. As médias com mesmas letras (a-e) não diferem entre si pelas análises de variâncias (ANOVA) pelo teste P (Teste de Post Hoc de Scott Knott), a 5% de probabilidade; n=3.

**Tabela 3.** Caracterização química dos substratos utilizados no experimento em pós-cultivo com plantas de alface (*Lactuca sativa* L.).

Variáveis	TRATAMENTOS					ESTATÍSTICA
	0%	25%	50%	75%	100%	Teste P*
<b>pH H<sub>2</sub>O (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	5,5 ± 0,04 <sup>a</sup>	5,8 ± 0,02 <sup>a</sup>	5,9 ± 0,11 <sup>a</sup>	6,3 ± 0,02 <sup>b</sup>	6,3 ± 0,02 <sup>b</sup>	<0,001
<b>P (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	18,4 ± 0,62 <sup>a</sup>	13,5 ± 1,40 <sup>b</sup>	10,3 ± 0,16 <sup>c</sup>	7,4 ± 0,29 <sup>d</sup>	5,9 ± 0,05 <sup>d</sup>	<0,0001
<b>K (mg dm<sup>-3</sup>)</b>	137,0 ± 9,86 <sup>a</sup>	49,0 ± 17,67 <sup>b</sup>	43,0 ± 4,80 <sup>b</sup>	33,0 ± 3,71 <sup>b</sup>	9,0 ± 0,66 <sup>c</sup>	<0,0001
<b>Ca (cmolc/dm<sup>3</sup>)</b>	2,3 ± 0,03 <sup>a</sup>	2,96 ± 0,03 <sup>b</sup>	3,0 ± 0,12 <sup>b</sup>	3,2 ± 0,07 <sup>b</sup>	2,4 ± 0,06 <sup>a</sup>	<0,0001
<b>Mg (cmolc/dm<sup>3</sup>)</b>	1,07 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,85 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,64 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,51 ± 0,00 <sup>d</sup>	0,33 ± 0,00 <sup>e</sup>	<0,0001
<b>Acidez (H + Al)</b>	6,3 ± 0,18 <sup>a</sup>	4,2 ± 0,06 <sup>b</sup>	2,9 ± 0,06 <sup>c</sup>	1,6 ± 0,06 <sup>d</sup>	1,1 ± 0,03 <sup>e</sup>	<0,0001
<b>SB (cmolc/dm<sup>3</sup>)</b>	3,75 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,9 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,8 ± 0,14 <sup>a</sup>	3,7 ± 0,08 <sup>a</sup>	2,8 ± 0,06 <sup>b</sup>	<0,0001
<b>t (cmolc/dm<sup>3</sup>)</b>	3,75 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,9 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,8 ± 0,14 <sup>a</sup>	3,7 ± 0,08 <sup>a</sup>	2,8 ± 0,06 <sup>b</sup>	<0,0001
<b>T (cmolc/dm<sup>3</sup>)</b>	9,93 ± 0,15 <sup>a</sup>	8,1 ± 0,01 <sup>b</sup>	6,7 ± 0,20 <sup>c</sup>	5,37 ± 0,14 <sup>d</sup>	3,8 ± 0,06 <sup>e</sup>	<0,0001
<b>V (%)</b>	37,4 ± 1,09 <sup>a</sup>	48,3 ± 0,88 <sup>b</sup>	56,2 ± 0,71 <sup>c</sup>	69,1 ± 0,57 <sup>d</sup>	72,1 ± 0,92 <sup>e</sup>	<0,0001
<b>MO (dag/kg)</b>	4,03 ± 0,14 <sup>a</sup>	2,69 ± 0,29 <sup>b</sup>	2,02 ± 0,13 <sup>c</sup>	1,34 ± 0,09 <sup>c</sup>	0,67 ± 0,04 <sup>d</sup>	<0,0001
<b>P-Rem (mg/L)</b>	14,8 ± 0,75 <sup>a</sup>	21,3 ± 0,24 <sup>b</sup>	26,6 ± 0,64 <sup>c</sup>	32,1 ± 0,74 <sup>d</sup>	38,2 ± 0,49 <sup>e</sup>	<0,0001
<b>Cu (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	2,5 ± 0,06 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,10 <sup>b</sup>	1,9 ± 0,10 <sup>b</sup>	1,6 ± 0,09 <sup>c</sup>	1,50 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,001

<b>Mn (cmolc/dm<sup>3</sup>)</b>	39,4 ± 2,66 <sup>a</sup>	57,2 ± 6,8 <sup>b</sup>	95,0 ± 3,2 <sup>c</sup>	106,6 ± 5,6 <sup>c</sup>	96,2 ± 3,96 <sup>c</sup>	<0,0001
<b>Fe (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	79,6 ± 4,2 <sup>a</sup>	72,9 ± 8,2 <sup>a</sup>	105,3 ± 8,0 <sup>a</sup>	104,4 ± 14,1 <sup>b</sup>	136,1 ± 4,5 <sup>b</sup>	0,003
<b>Zn (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	7,9 ± 0,12 <sup>a</sup>	5,47 ± 0,17 <sup>b</sup>	5,07 ± 0,23 <sup>c</sup>	4,14 ± 0,21 <sup>d</sup>	3,52 ± 0,09 <sup>e</sup>	<0,0001
<b>Cr (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	0,04 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,09 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,07 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,07 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,04 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,272
<b>Ni (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	0,25 ± 0,09 <sup>a</sup>	0,48 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,55 ± 0,11 <sup>a</sup>	0,55 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,63 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,086
<b>Cd (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	0,32 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,32 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,24 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,3 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,23 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,610
<b>Pb (mg dm<sup>-3</sup>)</b>	1,06 ± 0,25 <sup>a</sup>	1,18 ± 0,19 <sup>a</sup>	1,14 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,01 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,42 ± 0,09 <sup>a</sup>	0,287
<b>N (dag kg<sup>-1</sup>)</b>	0,15 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,11 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,08 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,6 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,03 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,001

Nota: (\*) Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. Os dados são mostrados como média ± erro padrão. As médias com mesmas letras (a-e) não diferem entre si pelas análises de variâncias (ANOVA) pelo teste P (Teste de Post Hoc de Scott Knott), a 5% de probabilidade; n=3.

**Tabela 4.** Caracterização granulometria (física) dos substratos utilizados no experimento em pré-cultivo.

Variáveis	TRATAMENTOS					ESTATÍSTICA
	0%	25%	50%	75%	100%	Teste P
<b>Areia Grossa (kg kg<sup>-1</sup>)</b>	0,468 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,31 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,228 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,151 ± 0,00 <sup>d</sup>	0,053 ± 0,00 <sup>e</sup>	<0,0001
<b>Areia Fina (kg kg<sup>-1</sup>)</b>	0,212 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,293 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,315 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,351 ± 0,00 <sup>d</sup>	0,409 ± 0,00 <sup>e</sup>	<0,0001
<b>Silte (kg kg<sup>-1</sup>)</b>	0,065 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,188 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,265 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,290 ± 0,00 <sup>d</sup>	0,369 ± 0,00 <sup>e</sup>	<0,0001
<b>Argila (kg kg<sup>-1</sup>)</b>	0,26 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,212 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,195 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,208 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,176 ± 0,00 <sup>c</sup>	<0,0001
<b>Classificação</b>	Franco-Argilo- Arenosa	Franco-Argilo- Arenosa	Franco-Arenosa	Franca	Franca	
<b>Tipo de solo</b>	2	2	2	2	2	
<b>Densidade de Partículas (g cm<sup>-3</sup>)</b>	2,47 ± 0,05 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,03 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,67 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,63 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,090
<b>Densidade de Solo (g cm<sup>-3</sup>)</b>	1,1 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,23 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,29 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,27 ± 0,06 <sup>b</sup>	1,31 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,006

Nota: (\*) Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. Os dados são mostrados como média ± erro padrão. As médias com mesmas letras (a-e) não diferem entre si pelas análises de variâncias (ANOVA) pelo teste F (Teste de Post Hoc de Scott Knott), a 5% de probabilidade; n=3.

**Tabela 5.** Nutrientes foliares em alface (*Lactuca sativa* L.) cultivadas em diferentes proporções de rejeito de minério de ferro.

Variáveis	TRATAMENTOS					ESTATÍSTICA
	0%	25%	50%	75%	100%	
<b>N (dag kg<sup>-1</sup>)</b>	0,71 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,82 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,84 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,83 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,88 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,022
<b>P (dag kg<sup>-1</sup>)</b>	0,21 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,13 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,12 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,146 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,121 ± 0,00 <sup>b</sup>	<0,0001
<b>K (dag kg<sup>-1</sup>)</b>	1,93 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,77 ± 0,09 <sup>a</sup>	1,79 ± 0,11 <sup>a</sup>	2,06 ± 0,17 <sup>a</sup>	1,66 ± 0,07 <sup>a</sup>	0,086
<b>Ca (dag kg<sup>-1</sup>)</b>	0,608 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,613 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,671 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,739 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,731 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,001
<b>Mg (dag kg<sup>-1</sup>)</b>	0,183 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,136 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,149 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,157 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,196 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,0004
<b>Cu (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	2,90 ± 0,08 <sup>a</sup>	2,84 ± 0,14 <sup>a</sup>	2,92 ± 0,05 <sup>a</sup>	3,05 ± 0,06 <sup>a</sup>	3,35 ± 0,07 <sup>b</sup>	0,015
<b>Fe (dag kg<sup>-1</sup>)</b>	456,1 ± 304,0 <sup>a</sup>	179,2 ± 87,7 <sup>a</sup>	206,0 ± 26,8 <sup>a</sup>	276,1 ± 95,6 <sup>a</sup>	187,3 ± 66,7 <sup>a</sup>	0,371
<b>Zn (dag kg<sup>-1</sup>)</b>	33,1 ± 1,50 <sup>a</sup>	18,7 ± 0,84 <sup>b</sup>	19,7 ± 1,23 <sup>b</sup>	18,2 ± 0,87 <sup>b</sup>	20,8 ± 0,94 <sup>b</sup>	<0,0001
<b>Mn (dag kg<sup>-1</sup>)</b>	219,7 ± 11,8 <sup>a</sup>	65,0 ± 4,0 <sup>b</sup>	60,5 ± 2,78 <sup>b</sup>	39,8 ± 1,28 <sup>c</sup>	57,0 ± 3,43 <sup>b</sup>	<0,0001
<b>Ni (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	
<b>Pb (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	
<b>Cd (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	
<b>Cr (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	

Nota: (\*) Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. Os dados são mostrados como média  $\pm$  erro padrão. As médias com mesmas letras (a-e) não diferem entre si pelas análises de variâncias (ANOVA) pelo teste F (Teste de Post Hoc de Scott Knott), a 5% de probabilidade; n=3.

**Tabela 6.** Nutrientes em raízes de alface (*Lactuca sativa* L.) cultivadas em diferentes proporções de rejeito de minério de ferro.

Variáveis	TRATAMENTOS					ESTATÍSTICA
	0%	25%	50%	75%	100%	
<b>N (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	0,473 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,498 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,511 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,473 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,461 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,994
<b>P (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	0,101 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,069 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,065 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,058 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,062 ± 0,00 <sup>b</sup>	<0,0001
<b>K (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	1,433 ± 0,11 <sup>a</sup>	1,054 ± 0,16 <sup>b</sup>	0,885 ± 0,09 <sup>b</sup>	0,745 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,365 ± 0,00 <sup>d</sup>	0,0002
<b>Ca (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	0,197 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,25 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,263 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,328 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,335 ± 0,01 <sup>c</sup>	<0,0001
<b>Mg (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	0,099 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,168 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,167 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,149 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,180 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,0849
<b>Cu (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	30,6 ± 6,2 <sup>a</sup>	12,4 ± 0,77 <sup>b</sup>	8,85 ± 1,05 <sup>b</sup>	8,87 ± 0,92 <sup>b</sup>	9,66 ± 0,80 <sup>b</sup>	0,003
<b>Fe (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	2108,8 ±	4964,8 ±	7465,9 ±	7064,6 ±	10606,3 ±	0,0007
	1452,8 <sup>a</sup>	728,7 <sup>a</sup>	339,3 <sup>b</sup>	352,0 <sup>b</sup>	812,9 <sup>c</sup>	
<b>Zn (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	23,2 ± 0,38 <sup>a</sup>	16,2 ± 2,15 <sup>b</sup>	15,3 ± 1,35 <sup>b</sup>	12,9 ± 0,44 <sup>b</sup>	16,0 ± 0,44 <sup>b</sup>	0,0008
<b>Mn (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	51,9 ± 10,5 <sup>a</sup>	58,7 ± 6,0 <sup>a</sup>	68,4 ± 3,9 <sup>a</sup>	63,2 ± 4,55 <sup>a</sup>	99,6 ± 8,6 <sup>b</sup>	0,018
<b>Ni (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	1,07 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,45 ± 0,70 <sup>b</sup>	2,0 ± 0,56 <sup>b</sup>	2,85 ± 0,79 <sup>c</sup>	4,65 ± 0,19 <sup>c</sup>	0,004
<b>Pb (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	1,2 ± 0,30 <sup>a</sup>	1,3 ± 0,20 <sup>a</sup>	1,45 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,2 ± 0,10 <sup>a</sup>	1,75 ± 0,13 <sup>a</sup>	0,254
<b>Cd (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	

<b>Cr (mg.kg<sup>-1</sup>)</b>	5,52 ± 1,62 <sup>a</sup>	6,26 ± 0,96 <sup>a</sup>	5,43 ± 0,61 <sup>a</sup>	2,52 ± 0,87 <sup>a</sup>	2,37 ± 0,17 <sup>a</sup>	0,428
<b>C (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	

---

Nota: (\*) Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro: (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. Os dados são mostrados como média ± erro padrão. As médias com mesmas letras (a-e) não diferem entre si pelas análises de variâncias (ANOVA) pelo teste P (Teste de Post Hoc de Scott Knott), a 5% de probabilidade; n=3.

**Tabela 7.** Análises físicas, químicas e bioquímicas em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) cultivadas em diferentes proporções de rejeito de minério de ferro.

Variáveis	TRATAMENTOS					Estatística Teste P*
	0%	25%	50%	75%	100%	
Parte aérea MF (g)	70,37 ± 1,64 <sup>a</sup>	66,59 ± 1,32 <sup>a</sup>	39,52 ± 4,99 <sup>b</sup>	23,66 ± 2,15 <sup>c</sup>	20,68 ± 0,63 <sup>c</sup>	<0,0001
Raiz MF (g)	14,09 ± 1,48 <sup>a</sup>	14,26 ± 0,68 <sup>a</sup>	9,50 ± 0,97 <sup>b</sup>	5,04 ± 0,40 <sup>c</sup>	4,95 ± 0,09 <sup>c</sup>	<0,0001
Parte aérea MS (g)	9,29 ± 0,38 <sup>a</sup>	8,01 ± 0,06 <sup>b</sup>	5,29 ± 0,49 <sup>c</sup>	3,37 ± 0,15 <sup>d</sup>	3,06 ± 0,11 <sup>d</sup>	0,0001
Raiz MS (g)	2,80 ± 0,26 <sup>a</sup>	2,34 ± 0,18 <sup>a</sup>	1,50 ± 0,21 <sup>a</sup>	0,85 ± 0,07 <sup>b</sup>	0,88 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,0001
CST (mg glicose g <sup>-1</sup> MF)	0,18 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,17 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,17 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,18 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,18 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,045
Amido (mg glicose g <sup>-1</sup> MF)	0,04 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,03 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,03 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,03 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,04 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,275
Clorofila a (mg g <sup>-1</sup> MF)	0,35 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,29 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,42 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,42 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,44 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,061
Clorofila b (mg g <sup>-1</sup> MF)	0,32 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,26 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,37 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,39 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,40 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,063
Carotenoides totais (mg g <sup>-1</sup> MF)	0,04 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,03 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,05 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,05 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,04 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,176
Chl totais (mg g <sup>-1</sup> MF)	0,67 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,55 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,80 ± 0,09 <sup>b</sup>	0,81 ± 0,10 <sup>b</sup>	0,85 ± 0,06 <sup>b</sup>	0,061
Chl a/ Chl b (mg g <sup>-1</sup> MF)	1,09 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,09 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,08 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,10 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,819
Chl total/ Carot. total (mg g <sup>-1</sup> MF)	18,9 ± 2,33 <sup>a</sup>	16,4 ± 0,27 <sup>a</sup>	15,4 ± 1,28 <sup>a</sup>	17,4 ± 0,88 <sup>a</sup>	21,6 ± 0,96 <sup>a</sup>	0,193
SPAD (índice SPAD)	14,6 ± 0,42 <sup>a</sup>	14,3 ± 0,43 <sup>a</sup>	15,6 ± 0,57 <sup>a</sup>	14,4 ± 0,73 <sup>a</sup>	16,3 ± 1,28 <sup>a</sup>	0,641
Prolina (µmol de prolina g MF <sup>-1</sup> )	0,01 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,009 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,009 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,008 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,008 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,021
Proteína SOD (mg PTN g MF <sup>-1</sup> )	0,99 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,03 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,05 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,10 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,00 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,484
SOD (Unidade de SOD mg PTN <sup>-1</sup> )	102,4 ± 5,86 <sup>a</sup>	96,6 ± 1,15 <sup>a</sup>	93,8 ± 4,61 <sup>a</sup>	80,0 ± 9,83 <sup>a</sup>	105,9 ± 3,09 <sup>a</sup>	0,122

<b>Ânion Superóxido (<math>OD_{580} m^{-2} s^{-1}</math>)</b>	1,47 ± 0,14 <sup>a</sup>	1,28 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,48 ± 0,08 <sup>a</sup>	1,58 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,47 ± 0,10 <sup>a</sup>	0,161
<b>Proteína (CAT, POD, POL) (mg PTN g MF<sup>-1</sup>)</b>	1,18 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,92 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,02 ± 0,09 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,15 <sup>a</sup>	1,08 ± 0,15 <sup>a</sup>	0,484
<b>Catalase (<math>\mu mol min^{-1} mg^{-1} prot</math>)</b>	0,08 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,08 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,08 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,06 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,06 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,335
<b>Peróxido de Hidrogênio (<math>H_2O_2</math>) (<math>\mu mol H_2O_2 g MF^{-1}</math>)</b>	4,89 ± 0,23 <sup>a</sup>	4,30 ± 0,16 <sup>a</sup>	5,13 ± 0,34 <sup>a</sup>	4,41 ± 1,62 <sup>a</sup>	5,45 ± 0,25 <sup>a</sup>	0,719
<b>Peroxidase (<math>\mu mol mg^{-1} prot</math>)</b>	0,80 ± 0,07 <sup>a</sup>	0,97 ± 0,11 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,92 ± 0,21 <sup>a</sup>	0,97 ± 0,13 <sup>a</sup>	0,712
<b>Polifenoloxidase (<math>\mu mol mg^{-1} prot</math>)</b>	0,90 ± 0,24 <sup>a</sup>	1,05 ± 0,30 <sup>a</sup>	1,26 ± 0,14 <sup>a</sup>	1,24 ± 0,07 <sup>a</sup>	0,88 ± 0,25 <sup>a</sup>	0,922
<b>Peroxidação lipídica (MDA) (<math>\mu mol MDA-TBA mg^{-1} MF</math>)</b>	0,01 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,01 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,01 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,01 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,01 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,731
<b>Fenol (AGE mg 100 g<sup>-1</sup>)</b>	3,09 ± 0,08 <sup>a</sup>	2,77 ± 0,25 <sup>a</sup>	2,96 ± 0,14 <sup>a</sup>	2,86 ± 0,12 <sup>a</sup>	2,99 ± 0,24 <sup>a</sup>	
<b>DPPH (g MF g DPPH<sup>-1</sup>)</b>	0,32 ± 0,47 <sup>a</sup>	0,76 ± 0,21 <sup>a</sup>	0,73 ± 0,25 <sup>a</sup>	0,60 ± 0,51 <sup>a</sup>	0,88 ± 0,27 <sup>a</sup>	0,046
<b>Vitamina C (ác. ascórbico mg100g<sup>-1</sup>)</b>	12305,8 ± 2871,9 <sup>a</sup>	4493,6 ± 1838,7 <sup>b</sup>	4407,3 ± 1211,9 <sup>b</sup>	7658,3 ± 296 <sup>a</sup>	8324,2 ± 1418 <sup>a</sup>	0,002
<b>Vitamina A (<math>\mu g 100^{-1}</math>)</b>	25,9 ± 21,1 <sup>a</sup>	85,9 ± 19,3 <sup>a</sup>	15,4 ± 4,1 <sup>a</sup>	11,3 ± 16,4 <sup>a</sup>	41,4 ± 10,3 <sup>a</sup>	0,002

Nota: (\*) Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro: (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. Os dados são mostrados como média ± erro padrão. As médias com mesmas letras (a-e) não diferem entre si pelas análises de variâncias (ANOVA) pelo teste P (Teste de Post Hoc de Scott Knott), a 5% de probabilidade; n=3.

**Tabela 8.** Fluorescência da clorofila *a*.

Variável	TRATAMENTO					ESTATÍSTICA
	0%	25%	50%	75%	100%	
<b>Fo</b>	301 ± 30,2 <sup>a</sup>	304 ± 20,0 <sup>a</sup>	409 ± 82,7 <sup>a</sup>	360 ± 16,4 <sup>a</sup>	258 ± 8,17 <sup>a</sup>	0,068
<b>Fm</b>	2232 ± 103,8 <sup>a</sup>	2014 ± 208,3 <sup>a</sup>	2402 ± 220,8 <sup>a</sup>	2394 ± 145,2 <sup>a</sup>	1945 ± 85,1 <sup>a</sup>	0,253
<b>Fv</b>	1863 ± 104,3 <sup>a</sup>	1710 ± 188,8 <sup>a</sup>	1993 ± 138,1 <sup>a</sup>	2047 ± 158,9 <sup>a</sup>	1688 ± 90,6 <sup>a</sup>	0,493
<b>Fo/Fm</b>	0,145 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,140 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,189 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,172 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,125 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,180
<b>Fv/Fm</b>	0,875 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,853 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,830 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,850 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,868 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,179
<b>Fv/Fo</b>	6,4 ± 0,68 <sup>a</sup>	5,9 ± 0,24 <sup>a</sup>	4,70 ± 0,48 <sup>a</sup>	5,36 ± 0,65 <sup>a</sup>	6,54 ± 0,49 <sup>a</sup>	0,164
<b>PI abs</b>	1,69 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,70 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,28 ± 0,25 <sup>a</sup>	1,62 ± 1,17 <sup>a</sup>	0,186
<b>PI total</b>	0,798 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,842 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,432 ± 0,11 <sup>a</sup>	0,582 ± 0,18 <sup>a</sup>	0,786 ± 0,10 <sup>a</sup>	0,149

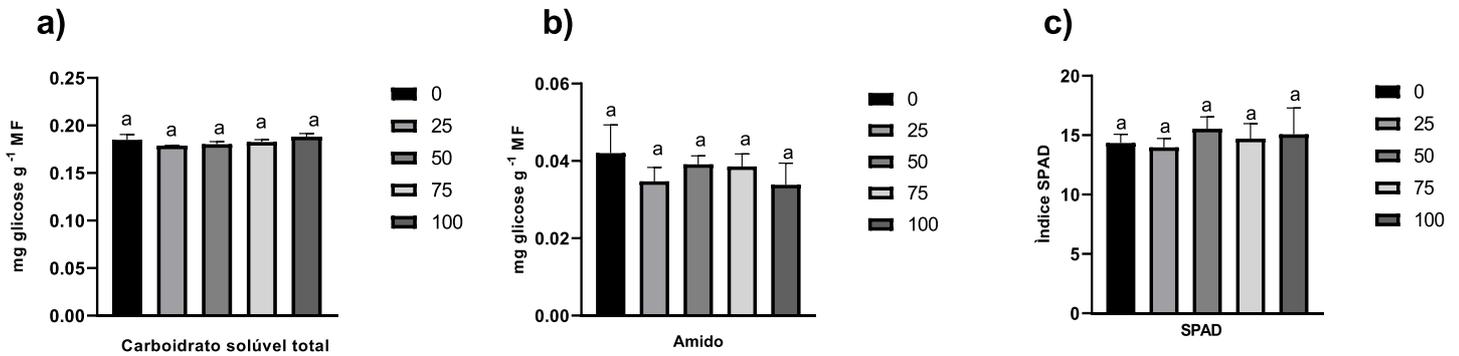
Nota: (\*) Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro: (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. Os dados são mostrados como média ± erro padrão. As médias com mesmas letras (a-e) não diferem entre si pelas análises de variâncias (ANOVA) pelo teste P (Teste de Post Hoc de Scott Knott), a 5% de probabilidade; n=3.

**Tabela 9.** Análises de trocas gasosas em folhas de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) cultivadas em diferentes proporções de rejeito de minério de ferro.

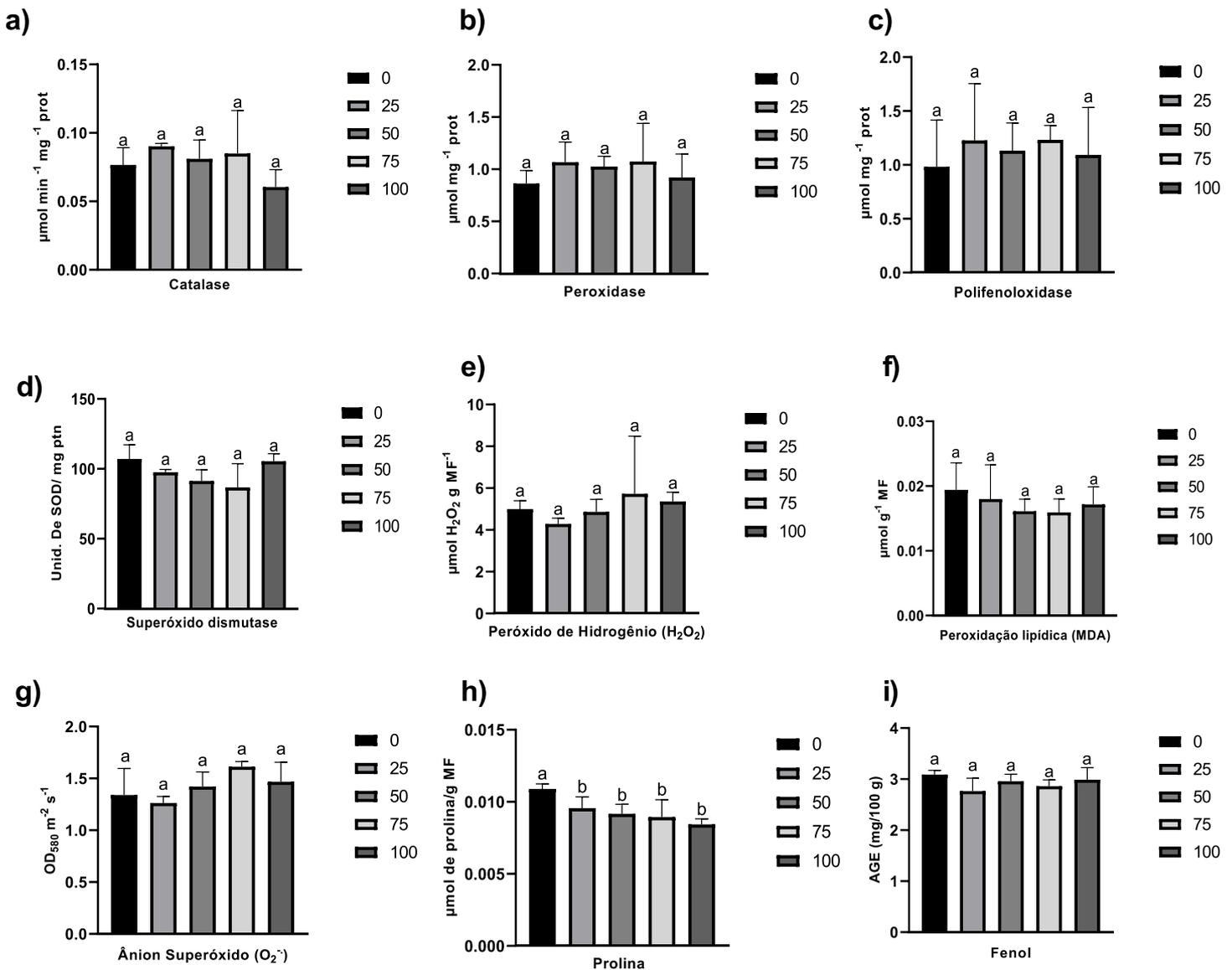
Variável	TRATAMENTO					ESTATÍSTICA
	0%	25%	50%	75%	100%	
A ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	6,56 ± 0,98 <sup>a</sup>	7,03 ± 0,79 <sup>a</sup>	5,44 ± 0,67 <sup>a</sup>	5,51 ± 0,54 <sup>a</sup>	5,62 ± 1,43 <sup>a</sup>	0,341
Gs ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	0,09 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,07 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,06 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,847
Ci ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ )	263,9 ± 2,9 <sup>a</sup>	275,9 ± 7,01 <sup>a</sup>	268,1 ± 14,68 <sup>a</sup>	279,3 ± 10,89 <sup>a</sup>	275,52 ± 12,56 <sup>a</sup>	0,253
E ( $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	0,001 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,001 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,001 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,001 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,000 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,450
EUA ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$ )	5745,2 ± 448,6 <sup>a</sup>	4993,3 ± 186,5 <sup>a</sup>	4780,3 ± 782,4 <sup>a</sup>	5921,9 ± 1679 <sup>a</sup>	6115,4 ± 1631 <sup>a</sup>	0,589
EUAint ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$ )	75,98 ± 1,59 <sup>a</sup>	69,98 ± 4,50 <sup>a</sup>	75,09 ± 9,44 <sup>a</sup>	67,94 ± 6,88 <sup>a</sup>	70,9 ± 8,06 <sup>a</sup>	0,538
A/Ci ( $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	0,02 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,02 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,01 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,01 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,02 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,203
$\Phi\text{PSII}$	0,44 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,44 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,44 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,43 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,46 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,505
qP	0,27 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,38 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,38 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,38 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,34 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,675
ETR ( $\mu\text{mol de elétrons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	65,06 ± 9,28 <sup>a</sup>	73,94 ± 15,6 <sup>a</sup>	73,94 ± 7,67 <sup>a</sup>	73,32 ± 5,44 <sup>a</sup>	73,06 ± 4,18 <sup>a</sup>	0,499
Rd ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	-0,53 ± 0,04 <sup>a</sup>	-0,59 ± 0,04 <sup>a</sup>	-0,48 ± 0,04 <sup>a</sup>	-0,47 ± 0,11 <sup>a</sup>	-0,50 ± 0,06 <sup>a</sup>	

Nota: (\*) Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%. Os dados são mostrados como média ± erro padrão. As médias com mesmas letras (a-e) não diferem entre si pelas análises de variâncias (ANOVA) pelo teste P (Teste de Post Hoc de Scott Knott), a 5% de probabilidade; n=3.

## APÊNDICE II

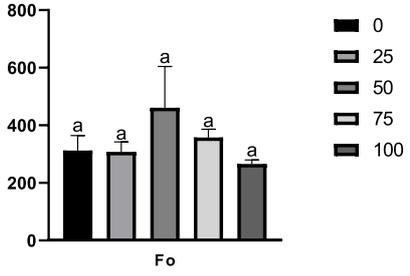


**Figura 15.** Conteúdo de CST (a), amido (b) e índice SPAD (c) em folhas de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). As médias com mesmas letras não diferem entre si pelas análises de variâncias (ANOVA), pelo teste P (Teste de Post Hoc de Scott Knott), a 5% de probabilidade; n=3. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%.

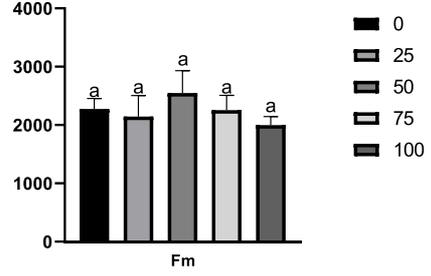


**Figura 166.** Atividade das enzimas *catalase* (a), *peroxidase* (b), *polifenoloxidase* (c), da superóxido dismutase (d), conteúdo de peróxido de hidrogênio (e), geração de ânion superóxido (g), índice de peroxidação lipídica (h), *prolina* (h) e acúmulo de fenóis solúveis (i) em folhas de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). As médias com mesmas letras não diferem entre si pelas análises de variâncias (ANOVA) pelo teste P (Teste de Post Hoc de Scott Knott), a 5% de probabilidade; n=3. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%.

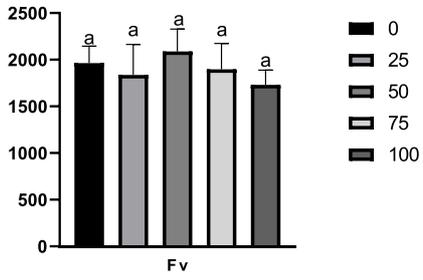
a)



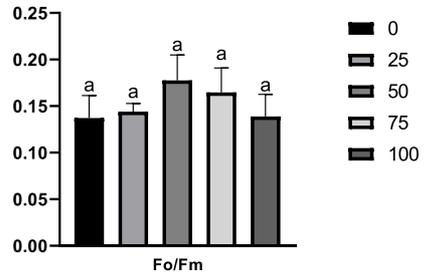
b)



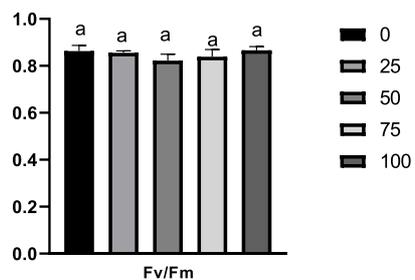
c)



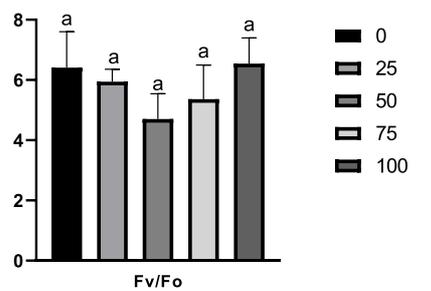
d)



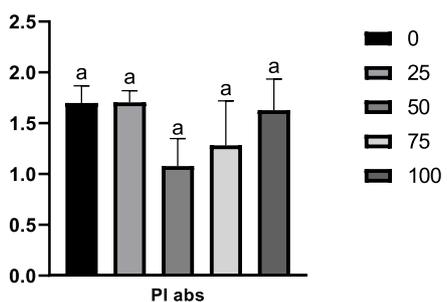
e)



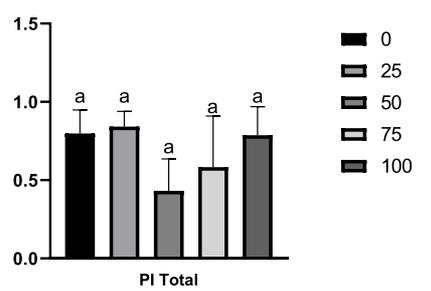
f)



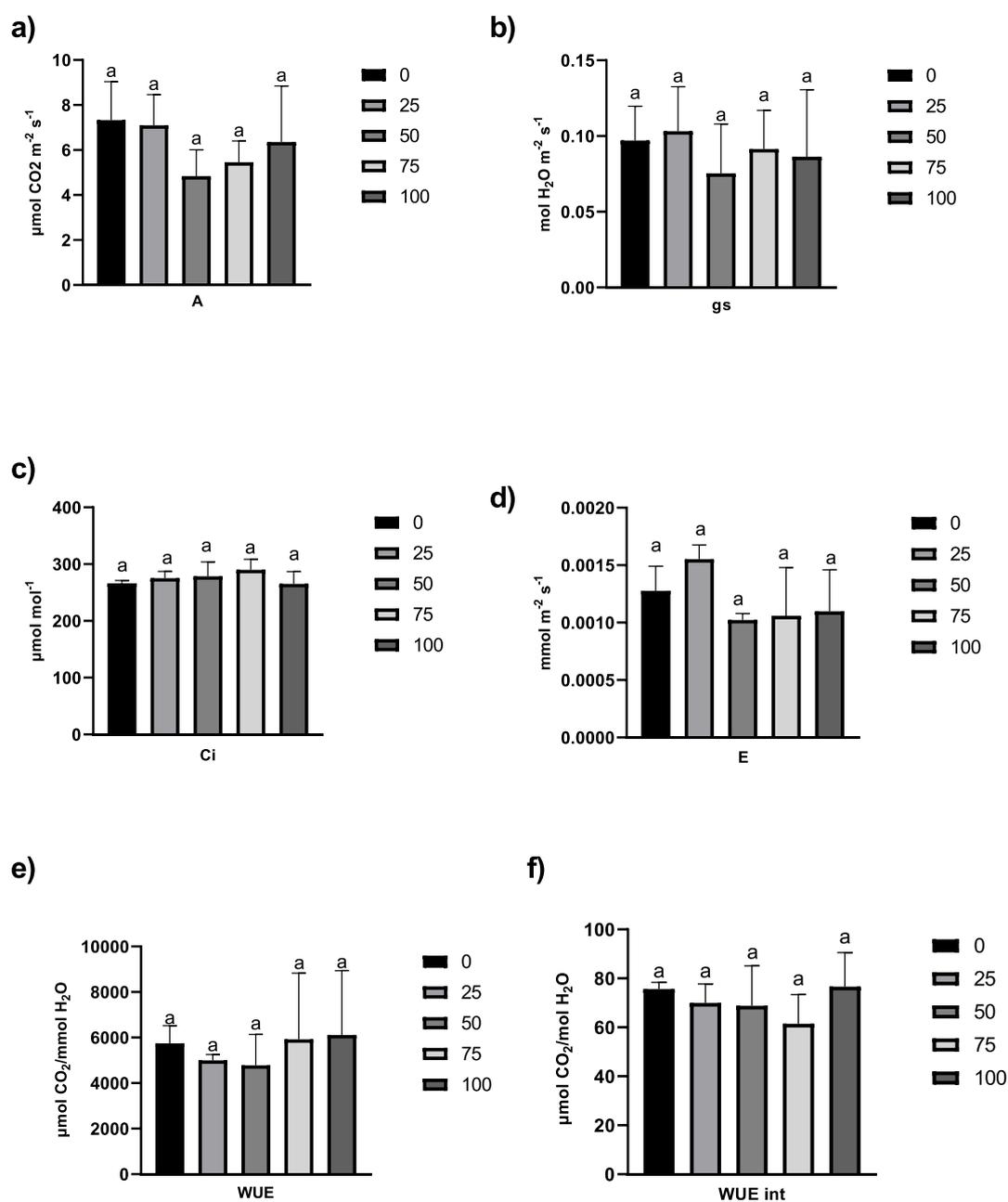
g)

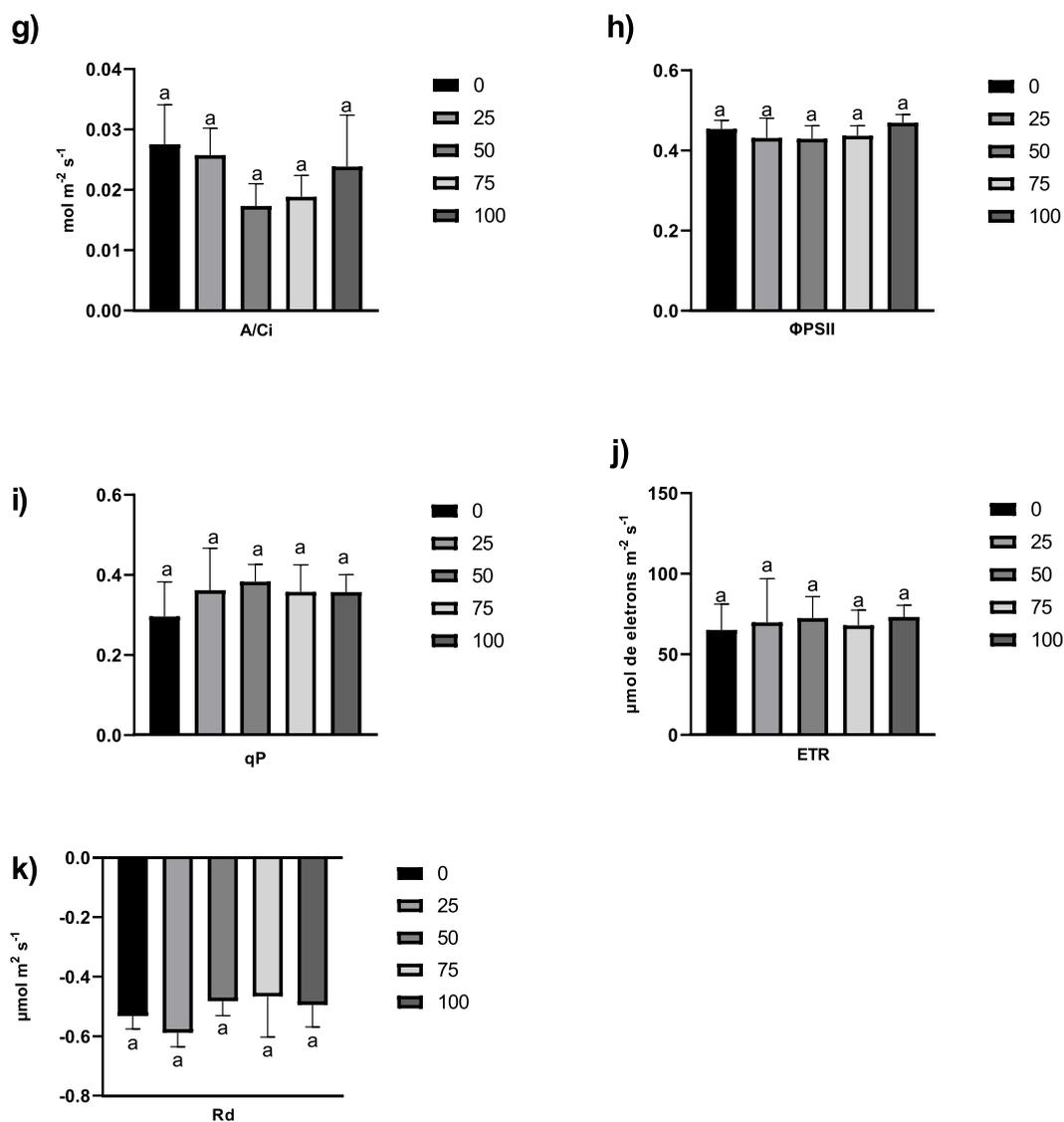


h)



**Figura 17.** Fluorescência da clorofila a em folhas de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Fluorescência inicial (a), fluorescência máxima (b), fluorescência variável (c), produção quântica basal dos processos não fotoquímico no fotossistema II (d), rendimento quântico máximo do PSII (e), eficiência máxima do processo fotoquímico no PSII (f), índice de desempenho (g) e índice de performance total (h) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). As médias com mesmas letras não diferem entre si pelas análises de variâncias (ANOVA) pelo teste F (Teste de Post Hoc de Scott Knott), a 5% de probabilidade; n=3. Tratamentos (proporção (%)) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%.





**Figura 17.** Análises de trocas gasosas em folhas de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Taxas de fotossíntese líquida (a), condutância estomática ao vapor de água (b), concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  (c), taxa transpiratória (d), eficiência no uso da água (e), eficiência intrínseca no uso da água (f), eficiência de carboxilação (g), rendimento quântico efetivo do transporte elétrons do PSII (h), coeficiente de extinção fotoquímico (i), taxa aparente de transporte de elétrons (j) e taxa de respiração no escuro (k) em resposta a diferentes concentrações de rejeitos de minério de ferro (0 a 100%). Barras = desvio padrão da média (n = 3). As médias com mesmas letras não diferem entre si pelas análises de variâncias (ANOVA) pelo teste F (Teste de Post Hoc de Scott Knott), a 5% de probabilidade; n=3. Tratamentos (proporção (%) de solo fértil/rejeito de minério de ferro): (0) 100 e 0%; (25) 75 e 25%; (50) 50 e 50%; (75) 25 e 75%; (100) 0 e 100%.