



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Departamento de Botânica

Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal



UFMG

Alessandra Rondina Fontanesi Gomes

**RECUPERAÇÃO DE MATA CILIAR DA BACIA RIO DOCE ATINGIDA PELO
REJEITO DE FUNDÃO (MARIANA, MG): Remediação de éter amina e sódio.**

Belo Horizonte
2023

Alessandra Rondina Fontanesi Gomes

**RECUPERAÇÃO DE MATA CILIAR DA BACIA RIO DOCE ATINGIDA PELO
REJEITO DE FUNDÃO (MARIANA, MG): Remediação de éter amina e sódio.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientadora: Profr^a. Dra. Maria Rita Scotti Muzzi

Belo Horizonte
2023

043 Gomes, Alessandra Rondina Fontanesi.
Recuperação de mata ciliar da bacia Rio Doce atingida pelo rejeito de fundão
(Mariana, MG): remediação de éter amina e sódio [manuscrito] / Alessandra Rondina
Fontanesi Gomes. – 2023.
67 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Maria Rita Scotti Muzzi.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de
Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.

1. Biologia Vegetal. 2. Meio Ambiente. 3. Florestas. 4. Controle da Contaminação do
Solo. 5. Recuperação e Remediação Ambiental. 6. Nitrogênio. I. Muzzi, Maria Rita
Scotti. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III.
Título.

CDU: 581



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

FOLHA DE APROVAÇÃO

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

DEFESA DE DISSERTAÇÃO

MESTRADO

ALESSANDRA RONDINA FONTANESI GOMES

DATA DA DEFESA: 12/12/2023 NÚMERO DE MATRÍCULA: 2021655207

" RECUPERAÇÃO DE MATA CILIAR DA BACIA RIO DOCE ATINGIDA PELO REJEITO DE FUNDÃO (MARIANA-MG): REMEDIAÇÃO DE ÉTER AMINA E SÓDIO"

Comissão Examinadora

Dra. Maria Rita Scotti Muzzi (UFMG)

Dr. Carlos Henrique Barbosa Santos (UNESP-FCAV)

Dra. Adaises Simone Maciel da Silva (UFMG)

Belo Horizonte, 12 de dezembro de 2023.

Assinatura dos membros da banca examinadora

Assinatura da coordenação



Documento assinado eletronicamente por **Carlos Henrique Barbosa Santos**, Usuário Externo, em 12/12/2023, às 11:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Adaises Simone Maciel da Silva**, Professora do Magistério Superior, em 12/12/2023, às 11:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Rita Scotti Muzzi Marques Leitao**, Professora do Magistério Superior, em 12/12/2023, às 16:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Juliane Karine Ishida**, Coordenador(a), em 12/12/2023, às 16:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2878148** e o código CRC **646066CF**.

Dedico este trabalho às vítimas do rompimento da Barragem de Fundão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente aos meus pais, Marcelo e Sandra, e minha irmã, Amanda, por todo o apoio e amor incondicional. Sem vocês, nada disso seria possível. Agradeço também por me proporcionarem uma educação de qualidade durante toda a minha vida e por me mostrarem desde cedo o valor da educação.

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos à minha orientadora Maria Rita. Este trabalho não teria sido possível sem o seu apoio e orientação valiosos. Sua experiência e dedicação foram fundamentais para o desenvolvimento deste projeto.

Às minhas amigas, que proporcionaram um suporte emocional crucial ao longo desta jornada acadêmica, expresso minha gratidão profunda. Suas palavras de incentivo, amizade e compreensão foram uma fonte constante de motivação.

Ao meu companheiro, Arthur, agradeço por todo o amor e ajuda durante essa trajetória. Seu companheirismo foi fundamental em minhas conquistas.

RESUMO

Em novembro de 2015, o rompimento da Barragem de Fundão em Mariana-MG, da mineradora Samarco, espalhou ao longo da Bacia do Rio Doce aproximadamente 55 milhões de m³ de rejeitos provenientes do beneficiamento de minério de ferro. No processo de beneficiamento, o minério é tratado com éter-amina e sódio. A presença dessas substâncias no rejeito foi confirmada em áreas atingidas, com altos níveis de sódio (média de 70 mg/kg) e éter amina (10-20 mg/kg), associados a um pH elevado (> 8,0). A éter amina no solo é degradada em íons amônia/amônio em condições de baixo pH. Esses íons, em altas concentrações, são tóxicos para plantas nativas e agronômicas sensíveis, causando diversos sintomas de toxicidade, supressão do crescimento, declínio de culturas sensíveis, e morte das plantas. Já a tolerância ao excesso de N-amoniaco derivado da dissociação da éter amina, causa, principalmente, sintomas de toxicidade, como hiper crescimento. O excesso de sódio no solo impacta propriedades como a troca catiônica, permeabilidade e agregação, além de causar estresse hídrico. Este estudo tem por objetivo avaliar a evolução do estabelecimento de uma floresta plantada em área atingida pelo rejeito sob diferentes estratégias de remediação, assim como selecionar procedimentos físico-químicos, biológicos e de fitoremediação, incluindo a indicação de espécies arbóreas adequadas para a recuperação das florestas ripárias atingidas. As áreas desse estudo correspondem à uma área preservada de mata ciliar não atingida pelo rejeito, uma área degradada atingida pelo rejeito sem plantio e uma área experimental atingida pelo rejeito da barragem de Fundão. Na área experimental foram implantados quatro tratamentos: T1 - Remediação física (15 cm na camada superficial) + Matéria Orgânica (MO) antes do transplante + dupla inoculação; T2: Sedimento intacto + MO antes do transplante + dupla inoculação; T3: Remediação física (15 cm na camada superficial) + MO antes do transplante; T4: Sedimento intacto + MO antes do transplante. Os resultados, 12 e 24 meses pós plantio, demonstram que as espécies tolerantes apresentaram um hiper crescimento devido a fito remediação do excesso de amônia no solo, com um aumento de 100% no crescimento após 1 ano de cultivo, o que resultou na redução da concentração de éter amina na área experimental em relação à área degradada. O tratamento que teve as quatro estratégias de remediação implantadas foi o mais eficaz em conferir a diminuição da éter amina e sódio, promover o crescimento das plantas, além do retorno da qualidade e fertilidade do solo.

Palavras-chave: Bioremediação, Fitoremediação, Floresta Atlântica, Floresta Riparia, Nitrogênio.

ABSTRACT

In November 2015, the breach of the Fundão Dam in Mariana, Minas Gerais, Brazil, operated by the mining company Samarco, spread approximately 55 million cubic meters of iron ore processing waste throughout the Rio Doce Basin. In the beneficiation process, the ore is treated with ether-amine and sodium. The presence of these substances in the waste was confirmed in affected areas, with high levels of sodium (average of 70 mg/kg) and ether amine (10-20 mg/kg), associated with an elevated pH (> 8.0). Ether amine in the soil is degraded into ammonia/ammonium ions under low pH conditions. These ions, at high concentrations, are toxic to native and sensitive agronomic plants, causing various symptoms of toxicity, growth suppression, decline in sensitive crops, and plant death. Excess N-ammoniacal derived from the dissociation of ether amine primarily causes symptoms of toxicity such as hypergrowth. Excess sodium in the soil affects properties such as cation exchange, permeability, and aggregation, in addition to causing water stress.

This study aims to evaluate the establishment of a planted forest in an area affected by the waste under different remediation strategies. It also aims to select physical-chemical, biological, and phytoremediation procedures, including the identification of tree species suitable for the recovery of impacted riparian forests. The study areas include an undisturbed riparian forest area not affected by the waste, a degraded area affected by the waste without planting, and an experimental area affected by the waste from the Fundão Dam.

In the experimental area, four treatments were implemented: T1 - Physical remediation (15 cm in the surface layer) + Organic Matter (OM) before transplantation + double inoculation; T2: Intact sediment + OM before transplantation + double inoculation; T3: Physical remediation (15 cm in the surface layer) + OM before transplantation; T4: Intact sediment + OM before transplantation. The results, 12 and 24 months post-planting, demonstrate that tolerant species showed hypergrowth due to the phytoremediation of excess ammonia in the soil, with a 100% growth increase after 1 year of cultivation. This resulted in a reduction of ether amine concentration in the experimental area compared to the degraded area. The treatment with all four remediation strategies implemented proved to be the most effective in reducing ether amine and sodium, promoting plant growth, and restoring soil quality and fertility.

Keywords: Bioremediation, Phytoremediation, Atlantic Forest, Riparian Forest, Nitrogen.

LISTA DE FIGURAS – INTRODUÇÃO

Figura 1 - Assimilação e metabolismo de nitrogênio em plantas (Sakakibara et al. 2006).....	14
Figura 2 - Citocina (CK) e uptake de nitrogênio nas raízes e folhas segundo (Sakakibara et al. 2006).....	17

LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO 1

Figura 1 - A) Localização da Barragem de Fundão (Minas Gerais, Brasil), da cidade de Mariana e do local experimental em Paracatu de Baixo (Gomes et al., 2021). B) Área degradada sem manejo em 2017 antes do plantio em Paracatu de Baixo. C, D e E) Plantio das espécies arbóreas nativas 12 e 24 meses pós-plantio.....	25
Figura 2 - A) Desenho esquemático da área experimental (ES) estabelecido no local experimental usando os tratamentos T1, T2, T3 e T4. B) Desenho esquemático das parcelas estabelecidas na área preservada (PS) e degradada (DS) em Paracatu de Baixo, MG.....	27
Figura 3 - Procedimento de raspagem superficial do sedimento.....	27
Figura 4 - Frequência das plantas (%) distribuídas em Classe de altura (m) nos tratamentos T1, T2, T3 e T4 na área experimental 2, 2 anos pós plantio.....	33
Figura 5 - Mancha de sódio na superfície do sedimento em Paracatu de Baixo (DS, local degradado)	34
Figura 6 - Hipercrecimento de Schizolobium Parahyba aos 3 anos de plantio sobre rejeito da barragem de Fundão.....	37

LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO 2

Figura 1 - Comparação da éter amina no solo (A), sódio (B), amônio (C) e nitrato (D) entre o local preservado (PS), local degradado (DS), T1 (físico, químico, fito e bioremediação), T2 (químico, fito e bioremediação), T3 (físico, químico, fitoremediação) e T4 (químico, fitoremediação) a 1 (2019) e 2 anos após o plantio.....	45
Figura 2 - Esporos de fungos micorrízicos arbusculares (AMF) (setas vermelhas), detritos e partículas de areia observados após a extração de esporos de AMF do solo sob microscopia óptica em A - Local preservado; B - Bolhas de éter amina primárias vistas no local degradado (DS); C - Bolhas de éter amina (setas azuis) e esporos de AMF (setas vermelhas) do local	

experimental (T1) após tratamento de remediação em 2021.....	51
Figura 3 - Comparação das atividades de enzimas do solo de (A) desidrogenase ($\mu\text{g TPF/g}$ de solo seco/24 h), (B) fosfatase ácida (μg de p-nitrofenol/g/h), (C) fosfatase alcalina (μg de p-nitrofenol/g/h) e (D) arilsulfatase (μg de p-nitrofenol/g/h) entre o local preservado (PS), locais degradados (DS), T1 (física, química, fito e biorremediação), T2 (química, fito e biorremediação), T3 (física, química, fitorremediação) e T4 (química, fitorremediação) após 1 (2019) e 2 anos (2021) após o plantio.....	54

LISTA DE TABELAS – CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Análise das alturas médias entre as famílias nos diferentes tratamentos: T1, T2, T3 e T4, 2 anos pós plantio. Valores calculados por Anova e Teste de Tukey ($p \leq 0.05$).....	31
Tabela 2 - Média das alturas por família e por tratamento na área experimental 2, 2 anos pós-plantio.....	32
Tabela 3 - Produção de biomassa (g/plot) das plantas nos tratamentos T1, T2, T3 e T4 em área experimental, 2 anos pós plantio.....	34
Tabela 4 - Análise do Diâmetro à altura do peito (DAP) entre as famílias nos diferentes tratamentos: T1, T2, T3 e T4, 2 anos pós plantio. Valores calculados por Anova e Teste de Tukey ($p \leq 0.05$)	35
Tabela 5 - Análise do volume total com casca (VTCC) famílias nos diferentes tratamentos: T1, T2, T3 e T4, 2 anos pós plantio. Valores calculados por Anova e Teste de Tukey ($p \leq 0.05$).....	36

LISTA DE TABELAS – CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Comparação das propriedades químicas do solo de amostras coletadas um ano (2019) e dois anos (2021) após o transplante nos locais T1 (físico, químico, fito e bioremediação), T2 (químico, fito e bioremediação), T3 (físico, químico, fitoremediação), T4 (químico, fitoremediação), local preservado (PS) e local degradado (DS).....	46
Tabela 2 - Ácido graxo fosfolipídico (PLFA) das comunidades microbianas do solo em T1 (físico, químico, fitorremediação e bioremediação), T2 (químico, fitorremediação e	

bioremediação), T3 (físico, químico, fitorremediação) e T4 (químico, fitorremediação), local preservado (PS) e local degradado (DS).....	48
Tabela 3 - Distribuição das assinaturas de ácido graxo fosfolipídico (PLFA) de bactérias Gram+ encontradas em T1 (físico, químico, fitorremediação e bioremediação), T2 (químico, fitorremediação e bioremediação), T3 (físico, químico, fitorremediação) e T4 (químico, fitorremediação), local preservado (PS) e local degradado (DS).....	49
Tabela 4 - Número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (g/ solo) e teor de glomalina ($\mu\text{g C/g}$ de solo) em solos coletados no local preservado (PS), local degradado (DS), T1 (físico, químico, fitorremediação e bioremediação), T2 (químico, fitorremediação e bioremediação), T3 (físico, químico, fitorremediação) e T4 (químico, fitorremediação), 2 anos após o plantio.....	50
Tabela 5 - Comparação da estabilidade de agregados úmidos (%) entre T1 (física, química, fito e bioremediação), T2 (química, fito e bioremediação), T3 (física, química, fitoremediação) e T4 (química, fitorremediação), área preservada (PS) e a área degradada (DS).....	52

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1. O Desastre e Impacto	12
1.2. Metabolismo do N, Toxicidade do íon Amônio e Fitorremediação.....	13
1.3. Fitorremediação e a família Fabaceae	18
1.4. Sódio, pH e remediação	19
1.5. Biorremediação	20
2. OBJETIVOS	22
2.1. Objetivos gerais	22
2.2. Objetivos específicos	22
CAPÍTULO 1	24
FITOREMEDIÇÃO	24
1. MATERIAL E MÉTODOS	24
1.1. Área de estudo	24
1.2. Desenho experimental.....	26
1.3. Plantio	28
1.4. Análise do crescimento da vegetação	28
1.5. Análise estatística	28
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
CAPÍTULO 2	40
BIOREMEDIÇÃO	40
1. MATERIAL E MÉTODOS	40
1.1. Área de Estudo.....	40
1.2. Desenho experimental.....	40
1.3. Plantio	41
1.4. Inoculação	41
1.5. Análises físicas e químicas de sedimentos e solos	42
1.6. Biomassa microbiana	42
1.7. População de AMF e conteúdo de glomalina	42
1.8. Atividade enzimática	43
1.9. Análise estatística	43
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
3. CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS	57

1. INTRODUÇÃO

1.1. O Desastre e Impacto

A Barragem de Fundão, pertencente a mineradora Samarco, localizada em Mariana, Brasil, rompeu em novembro de 2015, derramando de cerca de 55 milhões de m³ de rejeito tóxico provenientes do beneficiamento de minério de ferro (Cordeiro *et al.*, 2021; Santos *et al.*, 2019). Estima-se que aproximadamente 80% desse material ficaram retidos ao longo de 110 km dos rios Gualaxo do Norte, Carmo e seus afluentes, antes de atingir o Rio Doce (Silva *et al.*, 2016).

O rejeito tem várias limitações biológicas e de fertilidade, que podem restringir o processo de revegetação das áreas afetadas (Borges, 2022). Destacam-se a baixa disponibilidade de nutrientes, pH alcalino, baixos teores de matéria orgânica, baixa atividade microbiana e ausência de estrutura (Batista *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2021; Borges, 2022).

A Barragem de Fundão era utilizada para armazenar os resíduos gerados pelo processo de beneficiamento de minério de ferro realizado pela Samarco, utilizando a técnica de flotação catiônica reversa (Araújo *et al.*, 2005; Samarco, 2013). O processo de beneficiamento de minério realizado pela Samarco, utilizava compostos de éter amina e sódio. A éter amina é uma amina graxa primária altamente eficiente que permite a flotação do minério em pH alcalino atingido com a adição de NaOH. Neste processo, a amina é utilizada como coletor do quartzo e o amido como depressor dos óxidos de ferro (Reis, 2004). Sob essas condições alcalinas (pH > 8,5), as espécies catiônicas e moleculares da amina se tornam estáveis (Araújo *et al.*, 2005; Filipov *et al.*, 2014). As misturas de mono e diaminas são preferencialmente usadas no beneficiamento de minério de ferro (Papini *et al.*, 2001).

Após a ruptura da barragem, Santos *et al.* (2019) comprovaram a presença dessas substâncias no rejeito coletado ao longo da bacia do Rio Doce, onde foram encontrados níveis elevados de sódio - Na (média de 70 mg/kg) e de éter amina (10-20 mg/kg), além de um pH elevado (~8,0). Esses mesmos autores utilizaram análises cromatográficas para confirmar a presença de éter aminas (mono e diaminas) nos sedimentos coletados na zona riparia entre Bento Rodrigues e Barra Longa. Similarmente, Almeida *et al.* (2018) também detectaram a presença de aminas primárias e secundárias e amidas nos sedimentos oriundos da Barragem de Fundão.

As aminas são compostos orgânicos que, quando presentes no ambiente, podem ser degradadas em íons amônia/amônio em pH menor que 8 e também através do processo de mineralização, liberando assim altas concentrações desses íons no solo. As plantas nativas e agronômicas utilizam tanto nitrato (NO_3) como o amônio (NH_4^+) como fonte de nitrogênio, dependendo do estado redox do solo. O NH_4^+ é preferido por plantas sob condições mais ácidas de solo (Haynes, 1986; Haynes e Goh, 1978; Li *et al.*, 2013; Townsend, 1966) e em condições de anaerobiose ou baixo nível redox (Ismunadji e Dijkshoorn, 1971). Ao contrário, sob condições aeróbicas com elevado potencial redox, o que ocorre na maioria dos solos, a NH_4^+ -N é oxidada a NO_3 pelo processo de nitrificação (Zhu e Wen, 1992; Santamaria *et al.*, 1998). Desta forma, a maioria das espécies vegetais utilizam preferencialmente o nitrato (Heberer e Below, 1989) como fonte de nitrogênio. Quando a única fonte é o amônio, comumente as plantas manifestam diferentes níveis de desordem fisiológicas e morfológicas, resultando em clorose, crescimento restrito, baixa absorção de cátions e em alguns casos morte das plantas (Kirkby e Mengel, 1967; Magalhães, IR. e Wilcox, 1984).

Na Bacia do Rio Doce, atingida pelo Rejeito de Fundão, a forma química dominante de nitrogênio foi o amônio derivado da decomposição da éter amina pela acidificação do solo, como mostrado por Scotti *et al.*, (2020) e Gomes *et al.* (2021), pois o processo de nitrificação estava inibido, e os níveis de nitrato encontrados na mata ripária, tanto no trecho entre Bento Rodrigues e Barra Longa (Santos *et al.*, 2019), como na região do Vale do Aço na área agrícola de Ipaba (Fortes *et al.*, 2022) foram extremamente baixos, impossibilitando o desenvolvimento das plantas tanto nativas como agronômica (Fortes *et al.*, 2022).

1.2. Metabolismo do N, Toxicidade do íon Amônio e Fitorremediação

O nitrogênio é um constituinte essencial de aminoácidos, amidas, proteínas, ácidos nucleicos, nucleotídeos, coenzimas, hexoaminas entre outros (Taiz e Geizer, 2017) e como constituinte de enzimas e proteínas, promove a atividade fotossintética e a atividade biossintética global, incluindo a produção de fito hormônios. Na deficiência de nitrogênio ocorre a deficiência do crescimento vegetal e sua baixa disponibilidade causa redução da divisão e expansão celular da área foliar e fotossíntese em consequência da deficiência de produção hormonal (Leghari *et al.*, 2016).

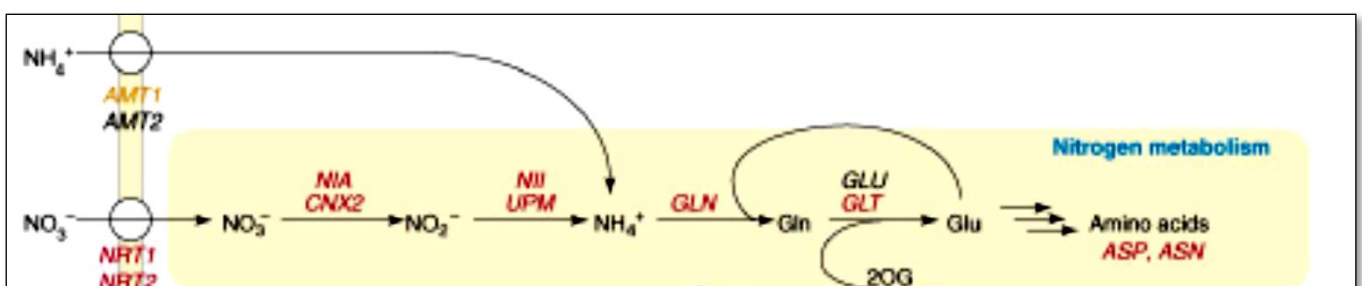
Geralmente, o nitrogênio está disponível para as plantas em uma forma inorgânica, como nitrato, nitrito ou amônia, porém, sob condições naturais, a quantidade de nitrogênio disponível na rizosfera pode flutuar e, muitas vezes, limita a produção das plantas, do

crescimento e desenvolvimento (Sakakibara *et al.*, 2006). Assim, muitas espécies vegetais podem adaptar o seu desenvolvimento a diferentes condições ambientais, alterando a morfologia da planta adulta conforme o estado nutricional do solo, mesmo considerando a mesma espécie vegetal (Sakakibara *et al.*, 2006). Esta adaptação morfológica às mudanças no suprimento de nitrogênio modifica a expressão de genes e conseqüentemente a atividade enzimática e todo o metabolismo, estabelecendo uma rede reguladora e de transdução sensorial eficiente e integrada (Sakakibara *et al.*, 2006).

O íon amônio obtido diretamente pela planta via absorção radicular ou oriundo da redução do nitrato nas raízes é incorporado na forma orgânica para exportação para a parte aérea através do sistema enzimático GS/GOGAT (Figura 1). As enzimas glutamina sintetase (GS) e glutamato sintase (GOGAT) conseqüentemente diminuem o teor de NH_4^+ livre nos tecidos vegetais (Britto e Kronzucker, 2010). A enzima GS catalisa a reação de NH_4^+ com glutamato para formar glutamina e a GOGAT transfere o grupo amida da glutamina para o 2-oxoglutarato, produzindo duas moléculas de glutamato (Mendes *et al.*, 2015).

O amônio pode ser assimilado também por uma rota alternativa que utiliza a enzima glutamato desidrogenase (GDH) em uma reação reversível que desamina o glutamato (Mendes *et al.*, 2015). Essa enzima pode ser encontrada em duas formas, uma nas mitocôndrias e outra nos cloroplastos. No entanto elas não substituem a rota da GS-GOGAT (Mendes *et al.*, 2015). O produto da atuação do ciclo GS/GOGAT, o glutamato, pode servir como substrato para a biossíntese de vários metabólitos nitrogenados, os quais são precursores de proteínas e ácidos nucleicos (Schuller *et al.*, 1986).

Figura 1 - Assimilação e metabolismo do N em plantas (Sakakibara *et al.*, 2006).



Níveis elevados de íons amônia/amônio podem ser prejudiciais tanto para as plantas nativas quanto para as espécies agrônômicas (Santos *et al.*, 2019) e por isso, a amônia absorvida do solo ou produzida no metabolismo intracelular deve ser prontamente assimilada (Sakakibara *et al.*, 2006).

Por outro lado, as aquaporinas vegetais, uma família de transportadores (Kozono *et al.*, 2002), desempenham papel fundamental na regulação hidráulica em raízes e folhas, durante a seca e especialmente em resposta a estresses hídrico (Ishikawa-Sakurai *et al.* 2014; Maurel *et al.*, 2015) como aquele decorrente do excesso de sódio encontrado no sedimento de Fundão. O papel das aquaporinas podem ter sido essenciais para a sobrevivência das plantas crescendo sobre o rejeito. Além de transportar a água, as aquaporinas podem transportar gases dissolvidos, como dióxido de carbono e amônia (Ishikawa-Sakurai *et al.*, 2014; Maurel *et al.*, 2015). Mediante o impacto osmótico promovido pelo sódio, o qual determinou elevado aumento na eletro condutividade do solo (Gomes *et al.*, 2021), a elevação do conteúdo de aquaporinas seria previsível e conseqüentemente um aumento no uptake do íon amônio também ocorreria, propiciando uma série de eventos toxicológicos subsequentes (Britto e Kronzucker, 2001).

A concentração elevada de $[NH_4^+]$ no solo causa um desequilíbrio iônico devido ao aumento do influxo de NH_4^+ em conjunto à um efluxo de cátions para o vacúolo celular. Esse influxo leva à expulsão de íons como cálcio (Ca), magnésio (Mg) e, especialmente o potássio (K) (Gerendas *et al.*, 1997), uma vez que são íons que competem pelos mesmos sítios de absorção (Marschner, 2012). Esse desequilíbrio pode resultar em sintomas de deficiências nutricionais nas plantas (Mendonza-Villareal *et al.*, 2015) e pode restringir o funcionamento celular normal, levando a um declínio no crescimento e até à morte de plantas (Coskun *et al.*, 2013).

O excesso de amônia/amônio intracelularmente também dispersa o gradiente de prótons na transmembrana, que é necessário para o transporte de elétrons na fotossíntese, respiração, cadeia respiratória e para “captura” de metabólitos no vacúolo (Mendes *et al.*, 2015). Causa também o aumento no conteúdo de O_2 e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), induzindo o estresse oxidativo, diminuindo os teores de clorofila (a e b) e de carotenóides (Wang *et al.*, 2010), com conseqüente redução da taxa fotossintética (menor taxa de assimilação de CO_2 , condutância estomática e transpiração) (Alencar, 2017; Wong, 2005), além de alterações do pH intracelular, inibição da respiração da raiz e estimulação da fotorrespiração (Alencar, 2017).

As plantas podem apresentar sintomas visuais de toxicidade por amônio, tais como clorose das folhas (Britto e Kronzucker, 2002), que é uma condição em que as folhas perdem a cor verde e ficam amareladas, comprometendo assim o crescimento das plantas, e levando ao declínio das culturas sensíveis (Kronzucker 2002; Roosta e Schjoerring 2007; Coskun *et al.*, 2013). As plantas submetidas ao excesso de N-amoniaco também apresentam maior

sensibilidade a patógenos, o que se deve à maior suculência foliar, redução da síntese de fitoalexinas e menor conteúdo de silício (Malavolta, 2006).

Um dos mais importantes sintomas de toxicidade pelo excesso de nitrogênio mostrado pelas plantas é o hiper crescimento (Brady e Weil 2007 Britto, 2001; Kronzucker, 2005) das espécies vegetais mais tolerantes à sobrecarga de nitrogênio amoniacal. Na presença de excesso de nitrogênio, as plantas tolerantes exibem um crescimento vegetativo excessivo com estiolamento dos caules e mostram alterações morfológicas foliares em resposta à toxicidade (Brady e Weil 2007). Realmente, as espécies da Mata Atlântica cultivadas sobre o rejeito de Fundão apresentaram diferentes sintomas de toxicidade ao elevado conteúdo de N-amoniacal oriundo da decomposição da éter amina, destacadamente o hiper crescimento. A mobilização do nitrogênio para a parte aérea permitiu a redução ou remediação do mesmo no solo promovida pela fitoremediação (Scotti *et al.*, 2020; Gomes *et al.*, 2021).

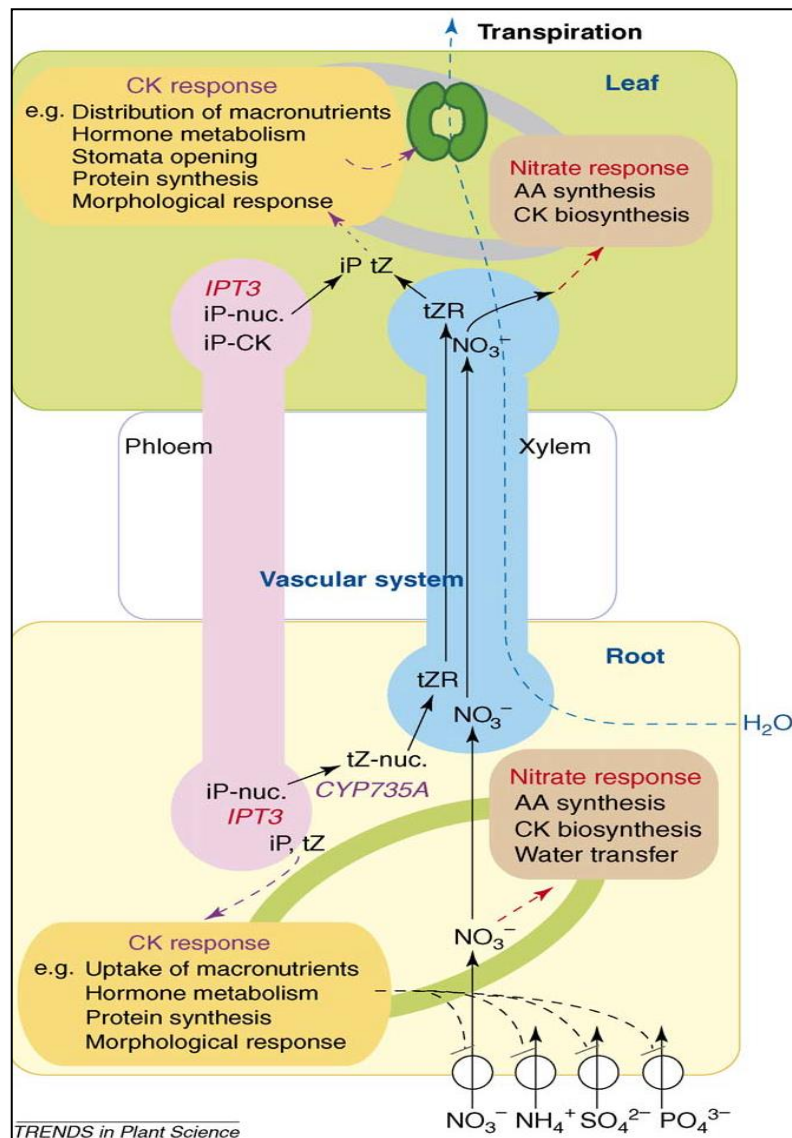
Íons nitrato, aminoácidos e açúcares são os principais compostos nitrogenados envolvidos na sinalização de longo alcance (raiz até a parte aérea e parte aérea até a raiz) pelas plantas (Forde, 2002) para o crescimento da planta. No entanto, parte do sinal de nitrogênio pode ser substituído pelo fito hormônio citocinina como mensageiro local e de longo alcance (Forde, 2002), regulando uma ampla variedade de genes envolvidos no metabolismo, desenvolvimento e aquisição de macronutrientes (Brenner *et al.*, 2005).

A relação entre hormônios e a sinalização do nitrogênio vem sendo comprovada por diferentes autores, não só para a citocinina (CK), mas também o ácido absísico (ABA) e a auxina (Indole-3-ácido-acético – IAA) (Kiba *et al.*, 2011; Pavlíková *et al.*, 2012), também na presença de N-amoniacal. Acredita-se que o alto consumo de carbono pelas raízes durante a assimilação de NH_4^+ aumente sua atividade como receptor de assimilados, possivelmente aumentando a importação de auxinas (Ziegler, 1975; Torrey, 1976 e Gerendás *et al.*, 1997). Considerando também que as pontas das raízes são reconhecidas como um local crucial de acúmulo de citocininas (Torrey, 1976 e Gerendás *et al.*, 1997), é plausível supor que esse processo possa também influenciar o crescimento das partes aéreas das plantas (Wiesler, 1997 e Gerendás *et al.*, 1997).

A citocinina é um fito hormônio que regula a proliferação e diferenciação de células vegetais e tem efeitos pleiotrópicos no crescimento e desenvolvimento celular, tal como atraso da senescência (Gan e Amasino, 1995) e controle da dominância apical (Tanaka *et al.*, 2006). O principal produto da síntese de citocinina é N6-D2- nucleotídeo isopentenil adenina (iP), que é formado por adenosina fosfato-isopenteniltransferase (IPT). Os genes IPT3 e IPT5 respondem

a fontes de nitrogênio, mas são distintamente regulados dependendo da forma química do nitrogênio, do órgão vegetal e do momento da exposição (Figura 2). O IPT3, mais que o IPT5, contribui principalmente para o acúmulo de citocinina nas raízes (Sakakibara *et al.* 2006).

Figura 2 - Citocina (CK) e uptake de Nitrogênio nas raízes e folhas segundo (Sakakibara *et al.* 2006).



O aumento da citocinina (CK) na presença de nitrogênio vem sendo demonstrada por diferentes autores (Takei *et al.*, 2001, 2002, Cline *et al.*, 2006, Sakakibara *et al.*, 2010; Pavlíková *et al.*, 2012), e por isto, este hormônio é considerado como regulador da resposta morfológica, da capacidade de síntese de proteínas e absorção de macronutrientes. Desta forma, o estado nutricional de nitrogênio modula o metabolismo e a movimentação de CK (Pavlíková *et al.*, 2012) e, da mesma forma, as citocininas afetam uma ampla variedade de genes que

codificam enzimas envolvidas em metabolismo de outros hormônios, como auxina e giberelina, metabolismo da trealose e metabolismo do nitrogênio.

Este referencial da literatura embasa o entendimento da resposta de hiper crescimento e alterações morfológicas apresentada pelas plantas tolerantes cultivadas sobre o rejeito contaminado com éter amina e o importante papel da fitoremediação reduzindo assim a concentração de nitrogênio do solo (Scotti *et al.*, 2020, Gomes *et al.*, 2021).

1.3. Fitoremediação e a família Fabaceae

Scotti *et al.*, 2020 e Gomes *et al.*, 2021 mostraram que algumas espécies responderam à toxidez do rejeito. Espécies pertencentes à família Fabaceae, por exemplo, obtiveram mais sucesso no estabelecimento e foram capazes de fito remediar a área experimental atingida pelo rejeito de Fundão, apresentando hiper crescimento concomitantemente com a redução da éter amina no solo (Scotti *et al.*, 2020 e Gomes *et al.*, 2021). A família Fabaceae possui uma longa relação com o nitrogênio e são reconhecidas, em sua maioria, como plantas fixadoras de nitrogênio. Ao considerar os caminhos evolutivos que levaram a diversidade e dominância de leguminosas nos trópicos, McKey (1994) postulou que as simbioses entre leguminosas e rizóbios originalmente evoluíram em um ambiente com pouco nitrogênio disponível. O autor sugere que, em geral, os membros das Fabaceae são plantas exigentes em nitrogênio que mantêm altos níveis de N no tecido foliar, maximizando as taxas fotossintéticas por unidade de área foliar (Crews, 1999).

McKey (1994) ainda afirma que essa alta demanda de N é anterior à evolução das simbioses de fixação de N e sugere que foi especificamente essa estratégia de alta demanda que determinou a pressão seletiva para a evolução das simbioses de fixação de N (Crews, 1999). A simbiose com bactérias do grupo dos rizóbio permite a fixação biológica de N (FBN) atmosférico N_2 , em formas reduzidas de amônio e esse processo ocorre no interior de nódulos radiculares. No interior dos nódulos, o nitrogênio é convertido em amônia (NH_3) pelo complexo de enzimas nitrogenase, que em seguida é convertida em NH_4^+ (Franche *et al.*, 2009; Alencar, 2017). Este último é incorporado a forma orgânica através do sistema GS/GOGAT e em seguida exportado para a parte aérea como amidas ou ureídos através das rotas de assimilação do amônio (Alencar, 2017; Taiz; Zeiger, 2017).

Entre as três subfamílias de leguminosas, a nodulação é mais rara em Caesalpinioideae, seguida pelo clado Mimosoideae e muito comum em Papilionoideae, uma sequência considerada consistente com a ordem em que essas subfamílias evoluíram (Allen e Allen, 1981;

Sprent e James, 2007). As plantas leguminosas foram aquelas que apresentaram predominantemente resposta de hiper crescimento nas áreas contaminadas pelo rejeito de Fundão (Scotti *et al.*, 2020 e Gomes *et al.*, 2021) e, por isso, são espécies capazes de fito remediação do N.

1.4. Sódio, pH e remediação

Além da éter amina, o sódio foi outro contaminante encontrado em altas concentrações no rejeito de Fundão (Santos *et al.*, 2019). A salinidade é altamente estressante para a vegetação e se soma a outras tensões, incluindo escassez de água, deficiências de nutrientes e alcalinidade do solo (Nouri *et al.*, 2017). O excesso de sódio afeta as propriedades do solo (Quirk, 2001) como a capacidade de troca catiônica (CTC), condutividade elétrica, permeabilidade e agregação (Abbas *et al.*, 2013). O excesso de sódio no solo também pode causar inibição do crescimento, senescência e morte de plantas (Halliwell *et al.*, 2001), uma vez que dificulta ou até mesmo impede a absorção da água das plantas pelas raízes (Ashworth, 2007) e conseqüentemente a absorção de nutrientes (Nouri, 2017). Esse estresse hídrico é causado pelo aumento do potencial osmótico externo (Halliwell *et al.* 2001), independentemente do teor total de água no solo, uma vez que ocorre um gradiente de pressão osmótica contrário (Ashworth, 2007) determinando perda de água das plantas as quais apresentam déficit hídrico (Nouri, 2017). As plantas afetadas pelo excesso de Na no solo apresentam sintomas de murcha e também sintomas de encarquilhamento e necrose foliar (Zhu, 2001).

Estudos demonstraram que o pH do solo também tem grande influência sobre a atividade da comunidade de microrganismos do solo. Rietz *et al.*, (2003) mostraram uma diminuição da comunidade microbiana, assim como sua atividade, a qual foi significativamente reduzida pelo aumento da salinidade e da sodicidade no solo.

No rejeito de fundão, Santos *et al.*, (2019) e Gomes *et al.*, (2021) encontraram elevados níveis de sódio (cerca de 50 ppm). A matéria orgânica do solo são substâncias quelantes naturais (Conte *et al.*, 2005) que conseguem sequestrar cátions como o sódio e reduzir o pH do solo (Santibáñez *et al.*, 2008; Gomes *et al.*, 2014). O uso de matéria orgânica para remediar solos com alto teor de sódio tem se mostrado uma das estratégias de remediação mais bem-sucedidas (Wang *et al.*, 2017). Sotti *et al.* (2020) e Gomes *et al.*, (2021) remediaram o excesso de sódio do sedimento de Fundão empregando o uso de matéria orgânica e de suas frações estáveis, denominadas substâncias húmicas (SHs), em área atingida pelo rejeito da barragem de fundão.

1.5. Biorremediação

Outra estratégia de remediação que pode acelerar a descontaminação da éter amina e do sódio é a bioremediação, usando microrganismos que podem degradar, transformar ou reduzir a toxicidade de substâncias contaminantes (Dzionic *et al.*, 2016). As bactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPB) e Fungos micorrizos arbusculares (AMF) se apresentam como uma opção atraente devido a sua capacidade de também disponibilizar nutrientes para plantas (Ramakrishna *et al.*, 2019). Os microrganismos promotores do crescimento atuam também na produção de sideróforos, estimulam a fixação biológica de N₂ e a solubilização de fósforo (Aloo *et al.*, 2019, dos Santos *et al.*, 2020, Yadav *et al.*, 2021). Os fungos micorrízicos através de associações simbióticas com as plantas aumentam o uptake nutricional da planta, ou seja, favorecem a aquisição de nutrientes para as plantas, especialmente aqueles com baixa mobilidade no solo, como o fósforo (P) e zinco (Zn), e recebem em troca carboidratos como fonte de energia (Smith e Read, 1997).

As enzimas microbianas do solo são consideradas indicadores da saúde do solo, uma vez que refletem as mudanças na dinâmica da matéria orgânica do solo (Trasar-Cepeda *et al.*, 2008). Enzimas do solo, como amilase, arilsulfatases, celulase, desidrogenases, glicosidases, fosfatases, proteases e urease, são produzidas principalmente por microrganismos, mas também por plantas e animais (Tabatabai, 1994). Por exemplo, a enzima desidrogenase do solo tem sido considerada um dos melhores indicadores para avaliar as mudanças na qualidade do solo sob impactos ambientais, pois está envolvida na atividade microbiana geral (Rao *et al.*, 2003).

Considerando o alto teor de enxofre encontrado nos rejeitos de barragem (Santos *et al.*, 2019), a atividade da arilsulfatase do solo também pode ser um indicador putativo da mineralização do enxofre (Lipińska *et al.*, 2014). Por outro lado, Scotti *et al.* (2020) observaram uma melhoria do conteúdo de fósforo no sedimento após os procedimentos de remediação, sugerindo a bioestimulação de microrganismos envolvidos no ciclo do fósforo, como fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e microrganismos solubilizadores de fosfato (PSM) (Koide e Kabir, 2000). A atividade de fosfatase na rizosfera pode originar-se tanto das raízes das plantas (Ridge e Rovira, 1971; Shaykh e Roberts, 1974), fungos (Bowen, 1973) quanto de bactérias (Tarafdar e Claassen, 1988). Enquanto as raízes das plantas, bactérias e fungos produzem fosfatase ácida, alguns fungos podem produzir fosfatase alcalina (Tarafdar e Chhonka, 1979), especialmente os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (Gianinazzi-Pearson e Gianinazzi, 1995; Joner *et al.*, 2000). Assim, tais enzimas podem ser usadas de forma confiável para avaliar

a capacidade de mitigação das populações microbianas sobre os impactos do sódio e da éter amina e na melhoria da qualidade dos solos contaminados.

Considerando que a éter amina e o sódio presentes no rejeito da Barragem de Fundão são tóxicos às espécies nativas e agronômicas, é notória a importância em recuperar as áreas atingidas pelo rejeito derramado ao longo da Bacia do Rio Doce. Desta forma, este trabalho visa incrementar as estratégias de remediação química, física e com plantas, incorporando a biorremediação através da inoculação de microrganismos, as quais podem proporcionar a seleção de espécies tolerantes e aptas à remediação do excesso de nitrogênio e de sódio, assim como indicar estratégias capazes de promover a recuperação e reabilitação das matas ciliares da bacia do Rio Doce atingidas pelo rejeito de Fundão.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos gerais

Este trabalho tem como objetivo principal avaliar a eficácia das quatro estratégias de remediação implantadas em área experimental atingida pelo rejeito da barragem de Fundão, sendo elas: 1- Remediação física, 2- Remediação química, 3- Fitoremediação e 4- Bioremediação, através da implantação de quatro tratamentos:

- T1: Remediação física (raspagem de 15 cm na camada superficial) + implantação de Matéria Orgânica (remediação química) antes do transplante (fitoremediação) + dupla inoculação de *Bacillus subtilis* e Fungos micorrízicos (bioremediação);

- T2: Sedimento intacto + implantação de Matéria Orgânica (remediação química) antes do transplante (fitoremediação) + dupla inoculação (bioremediação);

- T3: Remediação física (raspagem 15 cm na camada superficial) + implantação de Matéria Orgânica (remediação química) antes do transplante (fitoremediação);

- T4: Sedimento intacto + implantação de Matéria Orgânica (remediação química) antes do transplante (fitoremediação).

2.2. Objetivos específicos

I - Avaliar a eficácia da fito-remediação (famílias de plantas) em área atingida pelo rejeito, aos 24 meses pós plantio, submetida a 4 diferentes tratamentos (T1, T2, T3 e T4), nos diferentes tratamentos, quanto ao:

- a) crescimento em altura (m),
- b) crescimento em diâmetro (cm),
- c) volume total com casca (cm³) e
- d) produção de biomassa (g/plot).

II - Avaliar a eficácia da bioremediação em área experimental, aos 12 e 24 meses pós plantio, nos diferentes tratamentos (T1, T2, T3 e T4) em relação à área preservada e degradada, quanto a:

- a) Fertilidade do solo;
- b) Conteúdo de sódio, éter amina, amônio e nitrato do solo;
- c) Biomassa microbiana do solo;
- d) Atividade enzimática do solo: dehydrogenase, Arylsulfatase, fosfatase ácida e alcalina;

e) População micorrízica: número de esporos e produção de glomalina.

CAPÍTULO 1

FITOREMEDIÇÃO

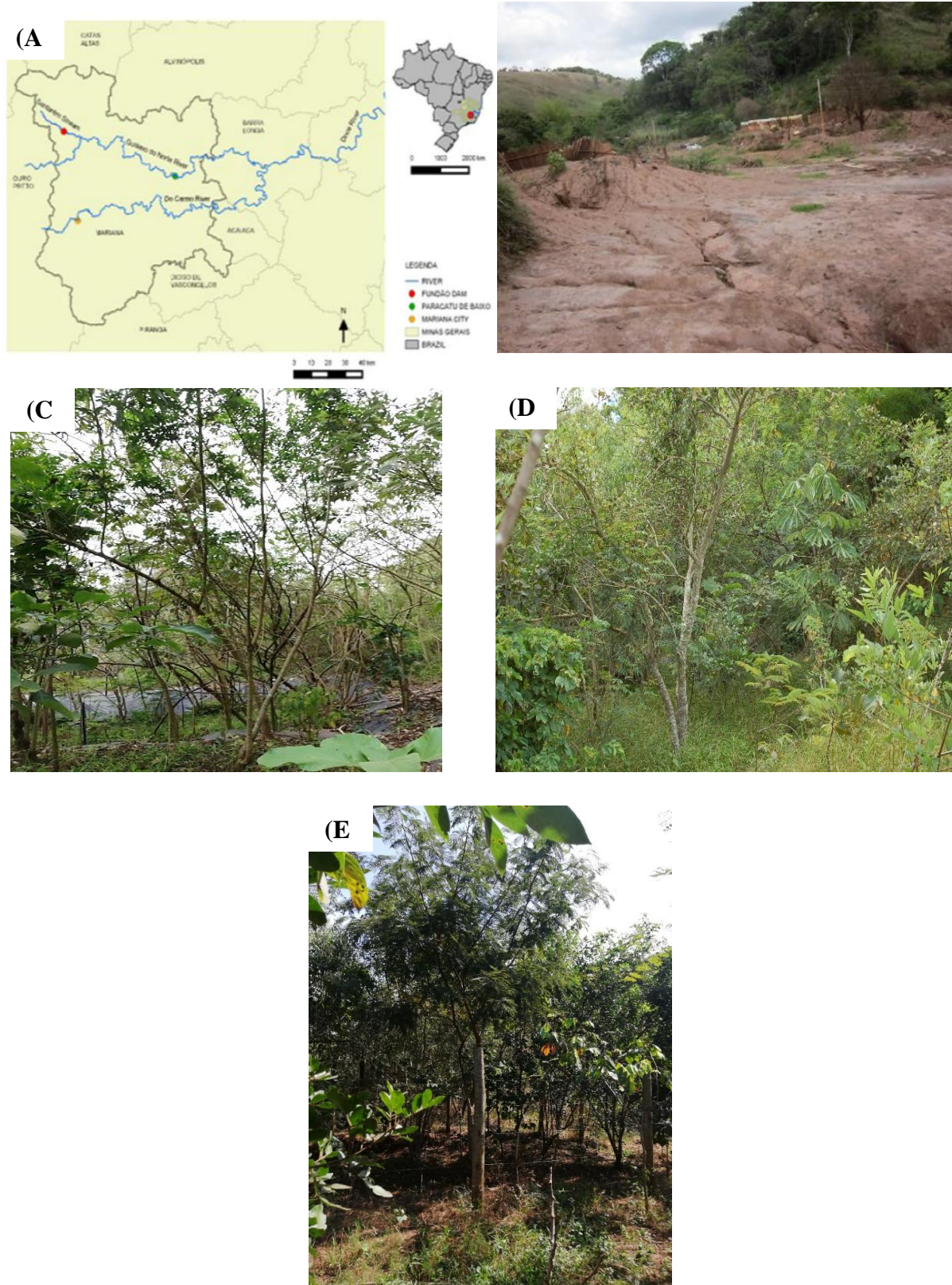
1. MATERIAL E MÉTODOS

1.1. Área de estudo

O local de estudo está situado ao longo da bacia do Rio Doce, que foi atingida pelos rejeitos da Barragem de Fundão. A área de estudo está localizada no distrito de Paracatu de Baixo, na cidade de Mariana, conforme mostrado na Figura 1A:

- 1- Área preservada (PS): localizada ao longo das margens do Ribeirão Lavras Velhas ($20^{\circ}20'31.34''$ S, $43^{\circ}17'13.61''$ W), fragmento preservado da Mata Atlântica ripária não atingido pelo rejeito;
- 2- Área degradada experimental (DS): localizada ao longo das margens do Rio Gualaxo, atingida pelos rejeitos da barragem ($20^{\circ}17'55.79''$ S, $43^{\circ}14'07.31''$ W), no distrito de Paracatu de Baixo (sem plantio) (Figura 1B);
- 3- Área experimental (ES): localizada às margens do Rio Gualaxo, no município de Paracatu de Baixo – MG, onde os procedimentos de remediação (Remediação física, Remediação química, fitoremediação e biorremediação) foram instalados sobre uma camada de sedimento de aproximadamente 2 metros (Figura 1C, D e E).

Figura 1 - A) Localização da Barragem de Fundão (Minas Gerais, Brasil), da cidade de Mariana e do local experimental em Paracatu de Baixo (Gomes *et al.*, 2021). B) Área degradada sem manejo em 2017 antes do plantio em Paracatu de Baixo. C, D, E) Plantio das espécies arbóreas nativas 12 e 24 meses pós-plantio.



1.2. Desenho experimental

O desenho experimental utilizado na ES foi estabelecido em uma área de 0,29 hectares, composta por 3 blocos de 960 m² cada (12 m x 80 m), com quatro parcelas por bloco de 720 m² cada (20 m x 36 m), correspondendo a quatro tratamentos (Figura 2A).

Os tratamentos de remediação foram os seguintes:

T1 - Foi realizada a raspagem superficial do sedimento (EERC 2016; Dornbusch *et al.* 2020) (Figura 3) até uma profundidade de 15 cm (remediação física) mais a incorporação de matéria orgânica de origem vegetal (MO) no sedimento (remediação química), mais transplante de mudas nativas (fitoremediação) com dupla inoculação (bioremediação).

T2 - O sedimento intacto foi coberto por uma camada superficial de matéria orgânica (MO) (remediação química) mais transplante de mudas nativas (fitoremediação) com dupla inoculação (bioremediação).

T3 - Foi realizada a raspagem superficial do sedimento (EERC 2016; Dornbusch *et al.* 2020) (Figura 3) até uma profundidade de 15 cm (remediação física) adicionado e incorporado ao sedimento matéria orgânica de origem vegetal (MO) (remediação química) e depois efetuado o transplante de mudas nativas (fitoremediação).

T4 - O sedimento intacto foi coberto por uma camada superficial de matéria orgânica vegetal (MO) (remediação química) mais transplante de mudas nativas (fitoremediação).

A MO era composta principalmente de casca de pinho (Blanco-García e Lindig-Cisneros, 2005), misturado com uma camada de material decomposto de diferentes espécies de plantas. A composição química da MO seca era a seguinte: 1,28% de Ca, 0,22% de P, 2,1% de K, 0,3% de Mg e 2,1% de N. A MO foi adicionada a uma taxa de 50 kg/parcela ou 555 kg/ha em proporção de 1:4 (v/v) até uma profundidade de 20 cm na camada superior, após a remoção da uma camada superficial de sedimento (T1 e T3), e a MO foi aplicada a uma profundidade de 5 cm na camada de sedimento (T2 e T4).

O desenho experimental em PS e DS foi composto por 4 parcelas, cada uma com tamanho de 122 m² (12 m x 20 m), totalizando 960 m². (Figura 2B).

A dupla inoculação foi composta por um consórcio de esporos de fungos micorrízicos arbusculares, *Rhizophagus irregularis* (150 esporos por planta) e por bactérias promotoras de crescimento vegetal, *Bacillus subtilis* (10⁸ cfu mL⁻¹).

Figura 2 - A) Desenho esquemático da área experimental (ES) estabelecido no local experimental usando os tratamentos T1, T2, T3 e T4. B) Desenho esquemático das parcelas estabelecidas na área preservada (PS) e degradada (DS) em Paracatu de Baixo, MG.

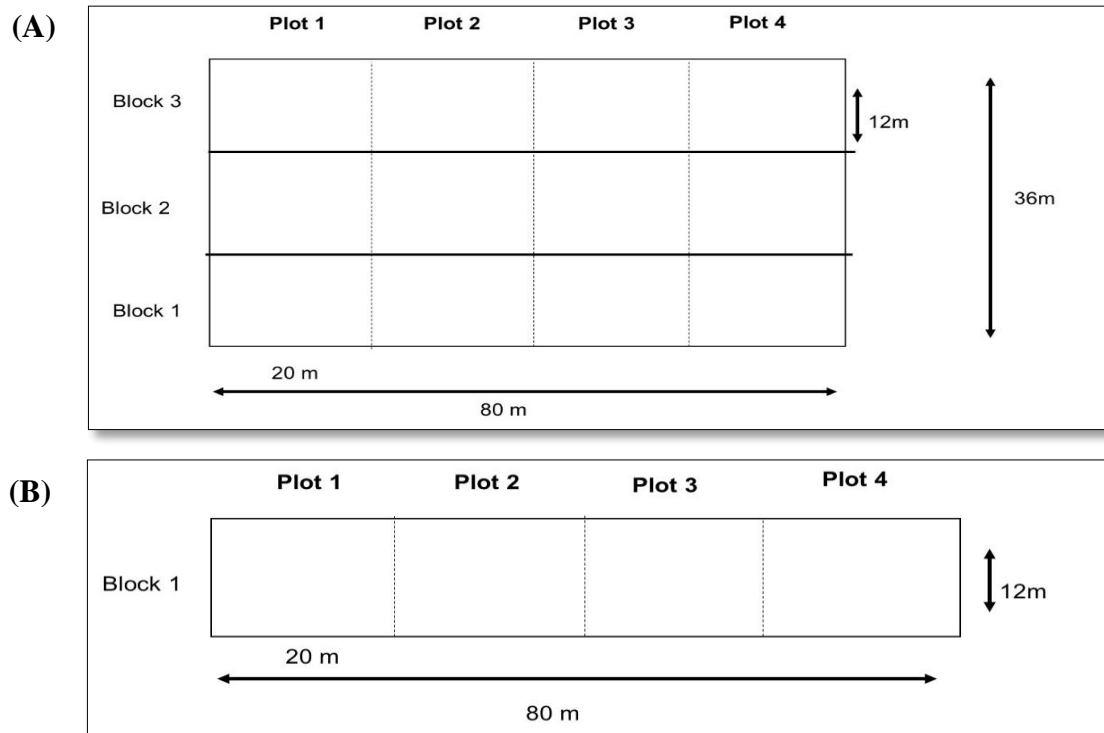


Figura 3 - Procedimento de raspagem superficial do sedimento.



1.3. Plantio

Cada parcela foi cultivada com as mesmas espécies lenhosas nativas da Mata Atlântica brasileira (por exemplo, *Schinus terebentifolia*, *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith, *Anadenanthera peregrina*. (L.) Speg, *Erythrina crista-galli* L., *Libidibia férrea* (Mart. ex Tul.) L.P.Queiroz, *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze, *Peltophorum dubium* (Spreng.) T *Platypodium elegans* Vogel, *Piptadenia gonoacantha*, (Mart.) J.F.Macbr, *Senna alata* (L.) Roxb., *Senna pendula* (Humb.& Bonpl.ex Willd.) H.S.Irwin & Barneby, *Croton urucurana* Baill., *Cecropia glaziovii* Sneath), previamente selecionadas por sua tolerância ao sedimento pertencentes às famílias Anacardiaceae, Bignoniaceae, Fabaceae, Euphorbiaceae e Urticaceae.

Antes do transplante, as plantas foram cultivadas por 4 meses em condições de estufa e viveiro. O plantio foi realizado em dezembro de 2018 e janeiro de 2019, com um espaçamento de 3 x 3 m. Cada parcela foi plantada com aproximadamente 14-15 espécies lenhosas da Mata Atlântica (Figura 1C, D e E).

1.4. Análise do crescimento da vegetação

Todos os indivíduos foram avaliados quanto a circunferência à altura do peito (CAP) tomando como padrão eixo de 1,30 metros perpendicular a partir do solo. A altura total (Ht) em metros de cada indivíduo foi avaliada utilizando uma trena à laser (Trena Laser GLM 40 BOSH). A partir destes dados foi calculado o Volume total com casca (VTCC) e a Biomassa das plantas. O diâmetro à altura do peito (DAP) foi calculado através da fórmula $DAP = CAP/\pi$ (Soares *et al.*, 2006) e o volume total com casca (VTCC) foi calculado através da equação $V = 0,000074*(DAP^{1,707348})*(Ht^{1,16873})$, desenvolvida para Florestas Estacionais Semidecíduas (Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais - CETEC, 1995). Para estimar a biomassa dos indivíduos foi utilizado um modelo alométrico Pantropical proposto por Chave *et al.* (2014), considerando o diâmetro (DAP), a altura total (Ht) e a massa específica da espécie, de acordo com a equação: $BA = 0,0673 \times (\rho D^2 * Ht)^{0,976}$, em que: BA = biomassa aérea (kg); ρ = massa específica da madeira (g.cm-1); D = diâmetro da árvore (cm); e Ht = altura da árvore (m).

1.5. Análise estatística

As variáveis estudadas foram comparadas entre as famílias e os diferentes tratamentos. A análise de variância (ANOVA de um fator) foi utilizada para as variáveis com distribuição

normal, e o teste de Kruskal–Wallis foi utilizado para as variáveis com distribuições não normais. Comparações múltiplas foram realizadas com um teste de Tukey usando o software SPSS v. 20. O nível de significância foi estabelecido em $p \leq 0,05$ para todas as análises.

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias em altura atingidas em apenas 2 anos de plantio mostram o hiper crescimento vegetal (Tabelas 1 e 2), sintoma de fitotoxicidade causada pela sobrecarga de nitrogênio (Brady e Weil 2007). Analisando o crescimento das plantas submetidas aos tratamentos de remediação, a altura média não teve diferença significativa entre as famílias botânicas testadas ($p \leq 0,05$) em nenhum dos tratamentos (Tabela 1). Esses resultados evidenciam que independentemente dos tratamentos físico, químicos e biológicos (fitoremediação e bioremediação), a fitoremediação foi a principal forma de redução do excesso de nitrogênio derivado da éter amina, uma vez que a éter amina vem sendo reduzida nos diferentes tratamentos já testados (Gomes *et al.*, 2021) Esses resultados também nos mostram que as plantas selecionadas pela tolerância ao excesso de nitrogênio foram selecionadas pela capacidade de remediação à essa substância.

Outros estudos (Glenn *et al.*, 2017; Kinidi e Salleh, 2017; Scotti *et al.*, 2020) corroboram com os resultados apresentados e mostram que a fitoremediação através do uso de espécies tolerantes ao excesso de nitrogênio é uma estratégia eficaz de remediação.

Quando se compara o crescimento em altura das plantas em condições saudáveis aos 2 anos de idade (Tabela 2) com aquelas plantadas em campo na área atingida, é possível confirmar o efeito da fitoremediação do nitrogênio. Especialmente, a família Fabaceae, apresentou um crescimento três vezes maior na presença dos elementos tóxicos do que as plantas em condições saudáveis (Tabela 2), demonstrando uma grande capacidade de fitoremediação. A família Anacardiaceae mostrou grande tolerância. A família Bignoneaceae também apresentou um crescimento em 2 anos de idade similar às plantas de 4 anos (Tabela 2), entretanto foi a família que apresentou menor crescimento médio em altura (Tabela 1). Estes resultados mostram capacidade de remediação da família. A família Urticaceae, 2 anos pós plantio, teve seu crescimento similar ao de uma planta adulta em condições saudáveis em campo (Tabela 2) evidenciando tolerância às substancia tóxicas, mas não apresentando capacidade remediação.

Tabela 1 - Análise das alturas médias entre as famílias nos diferentes tratamentos: T1, T2, T3 e T4, 2 anos pós plantio. Valores calculados por Anova e Teste de Tukey ($p \leq 0.05$).

T1		Comparação entre médias $P \leq 0,05$					
Família	Altura (m)	1	2	3	4	5	6
1 – Fabaceae	3,8404	-	0,7	0,8	0,5	0,4	0,4
2 – Anacardiaceae	4,7500	0,771	-	1	0,298	0,944	0,5
3 – Urticaceae	5,0500	0,874	1	-	0,397	0,995	0,5
4 – Muntingiaceae	1,9500	0,577	0,298	0,397	-	0,154	0,3
5 – Euphorbiaceae	5,6667	0,428	0,944	0,995	0,154	-	0,5
6 - Bignoneaceae	5,1333	0,4	0,5	0,5	0,3	0,5	-
T2		Comparação entre médias $P \leq 0,05$					
Família	Altura (m)	1	2	3	4	5	6
1 – Fabaceae	3,6717	-	0,435	0,158	0,820	0,812	1
2 – Anacardiaceae	4,7857	0,435	-	0,962	1	1	0,885
3 – Urticaceae	5,5550	0,158	0,962	-	0,949	0,998	0,524
4 – Muntingiaceae	4,6225	0,820	1,0	0,949	-	1	0,969
5 – Euphorbiaceae	5,0100	0,812	1,0	0,998	1	-	0,934
6 - Bignoneaceae	1,9417	1	0,885	0,524	0,969	0,934	-
T3		Comparação entre médias $P \leq 0,05$					
Família	Altura (m)	1	2	3	4	5	6
1 – Fabaceae	3,8851	-	0,777	0,2	1,0	0,997	0,238
2 – Anacardiaceae	4,8740	0,777	-	0,8	0,975	1	0,089
3 – Urticaceae	6,3	0,2	0,8	-	0,9	0,89	0,6
4 – Muntingiaceae	3,8150	1,0	0,975	0,89	-	0,999	0,890
5 – Euphorbiaceae	4,5150	0,997	1,0	0,6	0,999	-	0,558
6 – Bignoneaceae	2,3933	0,238	0,089	0,6	0,089	0,558	-
T4		Comparação entre médias $P \leq 0,05$					
Família	Altura (m)	1	2	3	4	5	6
1 – Fabaceae	3,8638	-	1	0,940	1	1	0,019
2 – Anacardiaceae	4,0456	1	-	0,981	1	1	0,066
3 – Urticaceae	4,8850	0,940	0,981	-	0,995	0,997	0,177
4 – Muntingiaceae	4,1467	1	1	0,995	-	1	0,313
5 – Euphorbiaceae	4,1850	1	1	0,997	1	-	0,417
6 - Bignoneaceae	2,0520	0,019	0,066	0,177	0,313	0,417	-

Tabela 2 - Média das alturas por família e por tratamento na área experimental 2, 2 anos pós-plantio.

Família	Crescimento médio em altura (m) aos 2 anos		Crescimento médio em diâmetro - DAP (cm) aos 2 anos	
	Crescimento médio sem toxicidade	Crescimento médio com toxicidade	Crescimento médio sem toxicidade	Crescimento médio com toxicidade
1) Fabaceae ¹	1,37	3,8	4,2***	6,75
2) Anacardiaceae ²	3,92	4,8	2,6	17,75
3) Urticaceae ³	6 a 12*	5,55	20 a 30	6,57
4) Euphorbiaceae ⁴	4,0	5,0	25-35*	6,6
5) Bignoneaceae ⁵	3,5**	3,3	3,1**	2,85

*planta adulta com idade maior que 2 anos; ** planta adulta aos 4 anos; *** Planta com 3 anos de idade; 1, 2, 3 e 5: Embrapa Florestas, 2006; 4. Lorenzi, 2002.

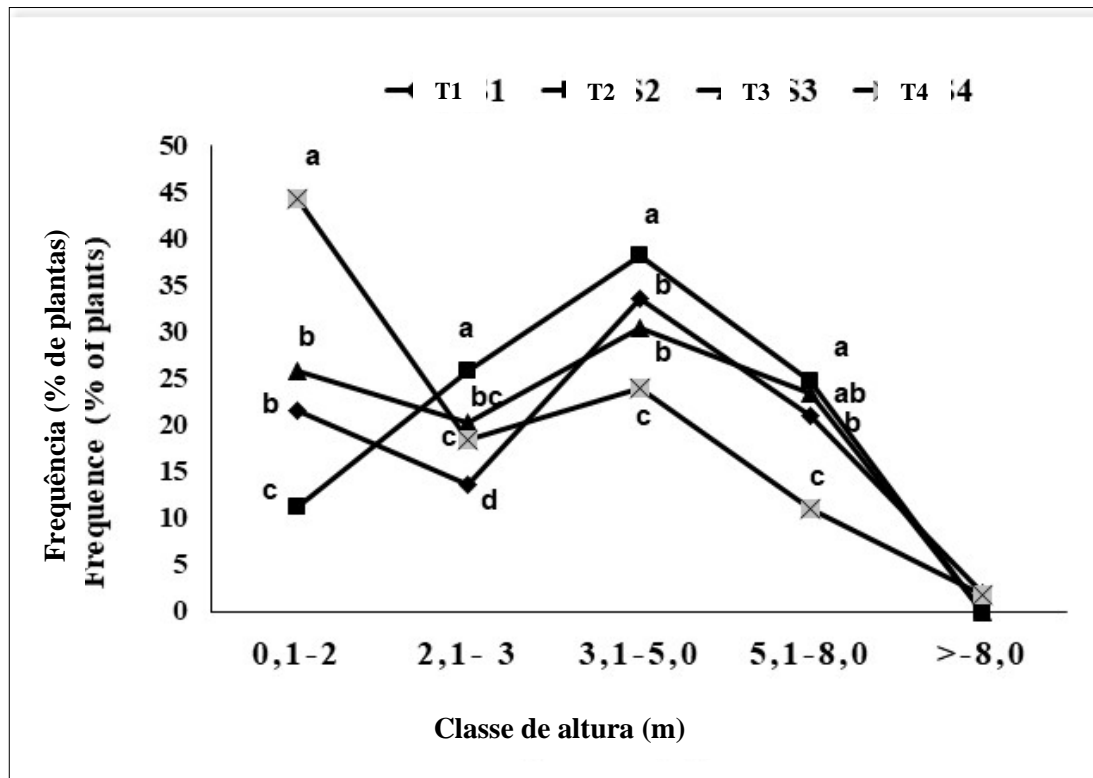
Considerando que as espécies nativas foram plantadas com 1,0 m de altura em média, houve um aumento de 100% no crescimento após 1 ano de cultivo. Se compararmos a taxa de crescimento de *Eucalytus urograndis* no primeiro ano de plantio (30%), recebendo tratamento com adubo e manejo com desbaste (Faria *et al.*, 2013), a superioridade da taxa de crescimento das espécies nativas plantadas sobre o rejeito no primeiro ano (100%), as quais não receberam nenhum tipo de manejo, evidencia a forte resposta fitoremediadora responsável pelo hiper crescimento, que acontece especialmente no primeiro ano. O crescimento das plantas sobre o rejeito está de fato relacionado com a alta concentração de $\text{NH}_3^+/\text{NH}_4$ no solo, como verificado por Gomes *et al.*, 2021.

Apesar do principal fator determinante para o crescimento das plantas estar relacionado à fitoremediação, os tratamentos com remediação física, química e bioremediação também modificaram o crescimento dessas plantas em campo. Considerando as classes de altura apresentadas na Figura 4, a maior frequência de plantas com crescimento abaixo de 2 metros ocorreu no tratamento 4, o qual teve apenas o tratamento químico (incorporação de MO) e a fitoremediação. A maior frequência de plantas com crescimento entre 2 e 3 metros foi encontrada no tratamento 2 e a maior frequência de plantas com crescimento entre 3,1 e 8 metros ocorreram nos tratamentos T1 e T2.

Assim, de acordo com a distribuição em Classes de altura visto na Figura 4, podemos categorizar a eficácia dos tratamentos de remediação da seguinte forma: $T2 \geq T1 > T3 > T4$. Levando em consideração a eficácia dos tratamentos, a bioremediação parece ter tido um efeito maior no crescimento das plantas do que a remediação física, uma vez que os tratamentos que

receberam este procedimento apresentaram plantas com maior crescimento em altura. Realmente, a maior produção de biomassa vegetal foi encontrada no tratamento 1, o qual é composto pelas 4 estratégias de remediação (Tabela 3).

Figura 4: Frequência das plantas (%) distribuídas em Classe de altura (m) nos tratamentos T1, T2, T3 e T4 na área experimental 2, 2 anos pós plantio.



Test Tukey foi utilizado para comparar as médias entre os tratamentos dentro da mesma classe de altura. As médias seguidas das mesmas letras não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

Tabela 3 - Produção de biomassa (g/plot) das plantas nos tratamentos T1, T2, T3 e T4 em área experimental, 2 anos pós plantio.

Tratamentos	Biomassa (g/plot)
T1	44,2 ^a
T2	30,1 ^b
T3	24,6 ^b
T4	19,6 ^b

Test Tukey foi utilizado para comparar as médias entre os tratamentos dentro da mesma classe de altura. As médias seguidas das mesmas letras não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

As Tabelas 4 e 5 mostram o crescimento médio em diâmetro e volume total com casca. Em relação a esses crescimentos, somente a família Anacardiaceae apresentou um crescimento significativamente maior em diâmetro e em volume que as demais famílias, nos tratamentos 1 e 3 (Tabelas 4 e 5). Esses tratamentos diferem dos demais por apresentarem o tratamento físico de raspagem do sedimento, o qual visou a redução da camada superficial de sódio depositada sobre rejeito (Figura 5).

Figura 5 - Mancha de sódio na superfície do sedimento em Paracatu de Baixo (DS, local degradado).



Tabela 4 - Análise do Diâmetro à altura do peito (DAP) entre as famílias nos diferentes tratamentos: T1, T2, T3 e T4, 2 anos pós plantio. Valores calculados por Anova e Teste de Tukey ($p \leq 0.05$).

T1		Comparação entre médias $P \leq 0,05$					
Família	Diâmetro (cm)	1	2	3	4	5	6
1 – Fabaceae	4,9578	-	<0,001	1,0	0,980	1,0	0,9
2 – Anacardiaceae	28,7124	<0,001	-	0,009	0,001	0,001	0,001
3 – Urticaceae	6,1276	1,0	0,009	-	0,980	1,0	0,96
4 – Muntingiaceae	1,7508	0,980	0,001	0,980	-	0,992	0,99
5 – Euphorbiaceae	4,8809	1,0	0,001	1,0	0,992	-	0,998
6 – Bignoneaceae	1,9417	0,9	0,001	0,96	0,99	0,998	-
T2		Comparação entre médias $P \leq 0,05$					
Família	Diâmetro (cm)	1	2	3	4	5	6
1 – Fabaceae	6,8759	-	0,245	1,0	0,999	0,994	0,986
2 – Anacardiaceae	14,1106	0,245	-	0,555	0,540	0,989	0,331
3 – Urticaceae	5,5865	1,0	0,555	-	-	0,998	1,0
4 – Muntingiaceae	5,4671	0,999	0,540	1,0	-	0,986	1,0
5 – Euphorbiaceae	10,0589	0,994	0,989	0,988	0,986	-	0,960
6 – Bignoneaceae	4,3864	0,986	0,331	1,0	1,0	0,960	-
T3		Comparação entre médias $P \leq 0,05$					
Família	Diâmetro (cm)	1	2	3	4	5	6
1 – Fabaceae	5,7336	-	0,022	1,0	0,999	1	0,907
2 – Anacardiaceae	15,2093	0,022	-	0,98	0,262	0,293	0,016
3 – Urticaceae	8,276	1,0	0,98	-	1,0	0,998	0,99
4 – Muntingiaceae	3,8198	0,999	0,262	1,0	-	1,0	1,0
5 – Euphorbiaceae	4,1382	1,0	0,293	0,998	1,0	-	1,0
6 – Bignoneaceae	2,7482	0,907	0,016	0,99	1,0	1,0	-
T4		Comparação entre médias $P \leq 0,05$					
Família	Diâmetro (cm)	1	2	3	4	5	6
1 – Fabaceae	9,0119	-	0,945	0,999	0,992	1,0	0,679
2 – Anacardiaceae	13,3340	0,945	-	0,974	0,906	0,992	0,429
3 – Urticaceae	5,7297	0,999	0,974	-	1,0	1,0	0,999
4 – Muntingiaceae	4,4565	0,992	0,906	1,0	-	1,0	1,0
5 – Euphorbiaceae	7,4805	1,0	0,992	1,0	1,0	-	0,994
6 – Bignoneaceae	1,9028	0,679	0,429	0,999	1,0	0,994	-

Tabela 5 - Análise do volume total com casca (VTCC) famílias nos diferentes tratamentos: T1, T2, T3 e T4, 2 anos pós plantio. Valores calculados por Anova e Teste de Tukey ($p \leq 0.05$).

T1		Comparação entre medias $P \leq 0,05$					
Família	Volume (m ³)	1	2	3	4	5	6
1 – Fabaceae	0,0127	-	<0,001	1,0	1,0	1,0	0,8
2 – Anacardiaceae	0,1936	<0,001	-	0,091	0,055	0,028	0,05
3 – Urticaceae	0,1580	1,0	0,091	-	1,0	1,0	0,9
4 – Muntingiaceae	0,0004	1,0	0,055	1,0	-	1,0	1,0
5 – Euphorbiaceae	0,0092	1,0	0,028	1,0	1,0	-	1,0
6 - Bignoneaceae	0,0014	0,8	0,05	0,9	1,0	1,0	-
T2		Comparação entre medias $P \leq 0,05$					
Família	Volume (m ³)	1	2	3	4	5	6
1 – Fabaceae	0,0239	-	0,599	0,998	0,998	0,999	0,983
2 – Anacardiaceae	0,0611	0,599	-	0,744	0,736	0,997	0,570
3 – Urticaceae	0,0115	0,998	0,744	-	1	0,994	1
4 – Muntingiaceae	0,0110	0,998	0,736	1	-	0,993	1
5 – Euphorbiaceae	0,0390	0,999	0,997	0,994	0,993	-	0,982
6 - Bignoneaceae	0,0054	0,983	0,570	1	1	0,982	-
T3		Comparação entre medias $P \leq 0,05$					
Família	Volume (m ³)	1	2	3	4	5	6
1 – Fabaceae	0,0126	-	0,010	0,98	1,0	1,0	0,991
2 – Anacardiaceae	0,0735	0,010	-	0,22	0,242	0,247	0,022
3 – Urticaceae	0,0235	0,98	0,22	-	0,998	0,99	0,776
4 – Muntingiaceae	0,0044	1,0	0,242	0,998	-	1,0	1,0
5 – Euphorbiaceae	0,0048	1	0,247	0,99	1,0	-	1,0
6 - Bignoneaceae	0,0016	0,991	0,022	0,776	1,0	1,0	-
T4		Comparação entre medias $P \leq 0,05$					
Família	Volume (m ³)	1	2	3	4	5	6
1 – Fabaceae	0,0454	-	1,0	0,99	0,994	0,999	0,927
2 – Anacardiaceae	0,0488	1,0	-	0,999	0,995	0,999	0,962
3 – Urticaceae	0,0130	0,99	0,999	-	1,0	1,0	1,0
4 – Muntingiaceae	0,0055	0,994	0,995	1,0	-	1,0	1,0
5 – Euphorbiaceae	0,0147	0,999	0,999	1,0	1,0	-	1,0
6 - Bignoneaceae	0,0013	0,927	0,962	1,0	1,0	1,0	-

Como visto, a fitorremediação promovida pelas famílias botânicas está relacionada com o metabolismo do nitrogênio oriundo da éter amina presente no rejeito da barragem. A éter amina, uma vez no solo é decomposta por ação dos microrganismos especialmente favorecida pela redução do pH promovida pela matéria orgânica (Mackowiak *et al.*, 2001) e pelos exsudatos radiculares que determinam um efeito rizosférico de acidificação (Marschner *et al.*, 1987). Desta forma, espera-se uma maior liberação de íons amônia (NH_3^+) /amônio (NH_4) (Britto *et al.*, 2001b) no solo. Porém, não se encontra relatos de toxicidade de nitrogênio em campo, uma vez que a maioria dos solos são deficientes em nitrogênio. Os poucos estudos sobre remediação de Nitrogênio no solo (Jordan *et al.*, 2008; Miao *et al.*, 2013; Glenn *et al.*, 2017; Kinidi e Salleh, 2017), se referem a remediação através do plantio de espécies nativas ou através da maximização da nitrificação em solos contaminados com N de minas de urânio (Miao *et al.*, 2013; Glenn *et al.*, 2017).

O crescimento das plantas sobre o rejeito está relacionado com a concentração de $\text{NH}_3^+/\text{NH}_4$ no solo, como verificado por Gomes *et al.*, 2021. Esse aporte de N-amoniaco absorvido pelas plantas provavelmente ocorre pelo sistema de transportadores de aquaporina em plantas tolerantes, que podem ser estimulados frente à disfunção osmótica provocada pelo sódio. O aumento das concentrações de NH_4^+ seria o gatilho sinalizador para promover as alterações fisiológicas e hormonais, resultando no hiper crescimento das plantas cultivadas sobre o rejeito (Figura 6).

Figura 6: Hiper crescimento de *Schizolobium parahyba* aos 3 anos de plantio sobre rejeito da barragem de Fundão.



O amônio desencadeia múltiplas respostas fisiológicas e morfológicas, como alterações específicas na expressão genética, no metabolismo, no status redox ou na arquitetura do sistema radicular (Patterson *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2010; Lima *et al.*, 2010; Fernández-Crespo *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2017). Desta forma, esses sintomas podem estar relacionados ao desequilíbrio hormonal causado pelo excesso de nitrogênio assimilado e alteração na expressão dos genes envolvidos na produção de fito hormônios, onde o amônio pode atuar como uma molécula sinalizadora (Liu, *et al.*, 2017). Os principais hormônios associados ao crescimento e desenvolvimento vegetal são as auxinas e citocininas (CKs). A auxina é fundamental para muitos processos de crescimento e desenvolvimento das plantas, desde a embriogênese até a senescência (Guilfoyle, *et. al*, 2007). As CKs são derivadas da base nitrogenada púrica adenina e caracterizam-se por induzir a divisão celular, promovendo assim o crescimento.

Diversos estudos apontam para a influência da forma de nitrogênio na concentração de citocininas e outros fito hormônios (Buban *et al.*, 1978; Sattelmacher e Marschner, 1978; Gerendàs *et al.*, 1997). O aumento na absorção de NH_4^+ está associado a uma maior utilização de carbono pelas raízes, expandindo assim sua capacidade de atuar como receptor de assimilados e, por conseguinte, potencialmente aumentando a importação de auxinas (Ziegler, 1975; Torrey, 1976; Gerendàs *et al.*, 1997). Este processo parece estar ligado ao estímulo do desenvolvimento de ramificações nas raízes, um fenômeno frequentemente observado em plantas cultivadas com NH_4^+ (Ganrnore-Neurnan e Kujkafi, 1983; Gerendàs *et al.*, 1997). A nutrição com NH_4^+ favorece o aumento de ramificações nas raízes das plantas de batata (Gerendris e Sattelmacher, 1990; Gerendàs *et al.*, 1997), impulsionado pela presença de citocinina na raiz (Torrey, 1976; Gerendàs *et al.*, 1997), resultando no crescimento das partes aéreas das plantas, conforme evidenciado por Wiesler, 1997 e Gerendàs *et al.*, 1997.

Pavlíková, *et al.*, 2012, demonstraram um aumento significativo da produção de auxina (IAA) nas plantas do gênero *Festulolium* após a aplicação de nitrogênio amoniacal, com um aumento significativo na área foliar e produção de matéria seca. Takei *et al.*, 2001 demonstraram que a suplementação de nitrogênio causou um aumento no teor de citocininas (CKs) na seiva do xilema (também nas raízes e partes aéreas) do milho, indicando que as CKs funcionam como um sinal de longa distância da raiz para a parte aérea em resposta ao suprimento de nitrogênio (Sakakibara *et al.*, 2006).

Desta forma, esse hiper crescimento das plantas cultivadas sobre o rejeito se explica como resultado de desequilíbrio hormonal em função do excesso e tipo de nitrogênio absorvido. Conclui-se que a fito remediação é o principal processo de mitigação da éter amina,

especialmente executado pelas plantas da família Fabaceae. Porém, as plantas apresentaram maior crescimento nos tratamentos 1 e 2 que receberam os procedimentos de remediação químico e biológico, evidenciando o papel destes para o estabelecimento da floresta.

CAPÍTULO 2

BIOREMEDIÇÃO

1. MATERIAL E MÉTODOS

1.1. Área de Estudo

O local de estudo está localizado no município de Paracatu de Baixo, no estado de Minas Gerais (Brasil). Este local está inserido em uma região conhecida como o "Quadrilátero Ferrífero", onde se encontra o maior depósito de minério de ferro do Brasil (Spier *et al.* 2007). Portanto, essa região abriga várias minas, como a mina Alegria pertencente à empresa Samarco, onde ocorreu o colapso da Barragem do Fundão em 2015. Os locais de estudo foram instalados em áreas ribeirinhas com os seguintes tratamentos: T1 - um fragmento muito preservado da Mata Atlântica (local preservado - PS) localizado ao longo do ribeirão Lavras Velhas (20°20'31.34" S, 43°17'13.61" W), não atingido pelos rejeitos da barragem (Figura 1A, Capítulo 1); 2 - um local degradado (DS) atingido pelos rejeitos da barragem (Figura 1B, Capítulo 1) localizado no rio Gualaxo (20°17'55.79" S, 43°14'07.31" W); 3) um local experimental (ES) localizado próximo ao rio Gualaxo no município de Paracatu de Baixo, onde os procedimentos de remediação foram instalados sobre uma camada de sedimento de 2 m (Figura 1C, D e E, Capítulo 1).

1.2. Desenho experimental

O desenho experimental utilizado na ES foi estabelecido em uma área de 0,29 hectares, composta por 3 blocos de 960 m² cada (12 m x 80 m), com quatro parcelas por bloco de 720 m² cada (20 m x 36 m), correspondendo a quatro tratamentos (Figura 2A, Capítulo 1). Os tratamentos de remediação foram os seguintes:

T1: Raspagem do sedimento até uma profundidade de 15 cm (remediação física) (Figura 3, Capítulo 1), com incorporação de matéria orgânica de origem vegetal (MO) no sedimento (remediação química) além de transplante de mudas nativas (fitoremediação) com dupla inoculação (bioremediação);

T2: Sedimento intacto coberto por uma camada superficial de MO (remediação química) e transplante de mudas nativas (fitoremediação) com dupla inoculação (bioremediação);

T3: Raspagem até uma profundidade de 15 cm do sedimento (remediação física) (Figura 3, Capítulo 1) com incorporação de matéria orgânica de origem vegetal (MO) no sedimento (remediação química) antes do transplante de mudas nativas (fitoremediação);

T4: Sedimento intacto coberto por uma camada superficial de MO (remediação química) antes do transplante de mudas nativas (fitoremediação).

A MO era composta principalmente por casca de pinheiro triturada (Blanco-García e Lindig-Cisneros, 2005) misturada com uma camada de decomposição de diferentes espécies vegetais. A composição química da MO seca era a seguinte: 1,28% de cálcio, 0,22% de fósforo, 2,1% de potássio, 0,3% de magnésio e 2,1% de nitrogênio. A MO foi adicionada a uma taxa de 50 kg/parcela ou 555 kg/ha em uma proporção de 1:4 (v/v) até uma profundidade de 20 cm (camada superior) após a remoção de uma camada superficial de sedimento (T1 e T3), e a MO foi aplicada até uma profundidade de 5 cm na camada de sedimento (T2 e T4).

O desenho experimental em área preservada (PS) e degradada (DS) consistiu em 4 parcelas com tamanho de 122 m² cada (12 m x 20 m), totalizando 960 m² (Figura 2B, Capítulo 1).

1.3. Plantio

Cada parcela foi cultivada com a mesma espécie lenhosa nativa da Mata Atlântica brasileira (por exemplo, *Schinus terebentifolia*, *Tabebuia roseoalba*, *Anadenanthera peregrina*, *Erythrina crista-galli*, *Libidibia férrea*, *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium*, *Platypodium elegans*, *Piptadenia gonoacantha*, *Senna alata*, *Senna pendula*, *Croton urucurana*, *Cecropia glaziovii*, que foram previamente selecionadas pela tolerância ao sedimento e pertencentes às famílias Anacardiaceae, Bignoniaceae, Fabaceae, Euphorbiaceae e Urticaceae. Antes do transplante, as plantas foram cultivadas por 4 meses em condições de estufa e viveiro. O plantio foi realizado em dezembro de 2018 e janeiro de 2019, utilizando um espaçamento de 3 x 3 metros. Cada parcela foi plantada com cerca de 14-15 espécies lenhosas da Mata Atlântica (Figura 1C, D e E).

1.4. Inoculação

As duplas inoculações foram compostas por uma mistura de esporos de fungos micorrízicos arbusculares, *Rhizophagus irregularis* -conspecífico com DAOM19719 (Krugher *et al.*, 2012) (150 esporos por planta) e pela bactéria promotora de crescimento de plantas *Bacillus subtilis* (10⁹ ufc mL⁻¹). Cada planta recebeu um inóculo de 150 esporos de AMF

distribuídos em três pontos ao redor da rizosfera. Além disso, 150 esporos de AMF foram inoculados em três pontos dentro de um círculo de raio de 1 metro ao redor das plantas. A identificação dos esporos foi realizada de acordo com a International Culture Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (<https://invam.ku.edu/irregularis>).

Os inoculantes de bactérias eram compostos por *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* (ATCC 6633/89) do Laboratório de Microbiologia do Solo da Universidade Estadual Paulista (Jaboticabal/SP). O inoculante liofilizado (10^9 ufc mL⁻¹) foi reidratado (1 g L⁻¹ de água) e espalhado na superfície do solo (1 L ha⁻¹) usando um pulverizador costal.

1.5. Análises físicas e químicas de sedimentos e solos

As amostras foram coletadas a uma profundidade de 20 cm no local degradado e no local preservado, e na área experimental em 2019 e 2021, ou a 12 e 24 meses após o transplante. No local experimental, foram coletadas oito amostras misturadas/parcelas/blocos para todas as análises de solo. O desenho experimental consistiu em 8 amostras misturadas/parcela ou tratamento × 4 tratamentos/bloco × 3 blocos, totalizando 96 amostras. No local degradado e no local preservado, foram coletadas 2 amostras/parcela × 4 parcelas, totalizando 8 amostras/local. As amostras de sedimento e solo foram peneiradas com uma malha de 2 mm e analisadas quanto às propriedades físicas e químicas (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1997). As amostras foram mantidas resfriadas (4 °C) durante a coleta e o transporte, e foram mantidas a 2 °C até o processamento. Os teores de amônio-N e nitrato-N foram determinados pelo método de destilação por arraste de vapor de Bremner e Keeney (1965), usando extração com KCl 2 mols L⁻¹. As medidas de agregação do solo foram realizadas para estimar a proporção de agregados resistentes à água, usando os métodos padrão de Kemper e Rosenau (1986).

1.6. Biomassa microbiana

Os ácidos graxos fosfolipídicos (PLFAs) foram extraídos do solo liofilizado de acordo com o método de Bligh e Dyer (1959), e o fracionamento de lipídios foi realizada de acordo com Gehron e White (1983) e White *et al.* (1979).

1.7. População de AMF e conteúdo de glomalina

Os esporos de fungos micorrízicos foram recuperados do solo usando o método de decantação (Gerdemann e Nicolson, 1963), e os dados foram expressos como o número de esporos por grama de solo seco. As proteínas relacionadas à glomalina (PRSG-T) foram

extraídas usando o método de Wright e Upadhyaya (Wright e Upadhyaya, 1996), e o teor de proteína foi estimado pelo método de Bradford (Bradford, 1976).

1.8. Atividade enzimática

A atividade da desidrogenase foi determinada de acordo com Casida *et al.* (1964), modificado conforme Barbosa *et al.* (2019). As concentrações de tri-fenil formazan (TPF) formadas pela reação TCC foram calculadas com base em uma curva padrão com 0, 5, 10, 20, 30, 40 e 60 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de TPF. A unidade foi $\mu\text{g TPF g}^{-1}$ de solo seco em 24 horas. A atividade da arilsulfatase foi determinada pelo método de Tabatabai e Bremner (1970), com base na hidrólise de sulfato em p-NPS, liberando sulfato e p-nitrofenol no solo. A atividade da fosfatase foi estimada usando o método modificado de Tabatabai e Bremner (1969), e a atividade da enzima foi expressa em microgramas de p-nitrofenol por grama de solo por hora.

1.9. Análise estatística

As variáveis estudadas foram comparadas entre os locais preservados, perturbados e experimentais. A análise de variância (ANOVA de um fator) foi utilizada para as variáveis com distribuição normal, e o teste de Kruskal–Wallis foi utilizado para as variáveis com distribuições não normais. Comparações múltiplas foram realizadas com um teste de Tukey usando o software SPSS v. 20. O nível de significância foi estabelecido em $p \leq 0,05$ para todas as análises.

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

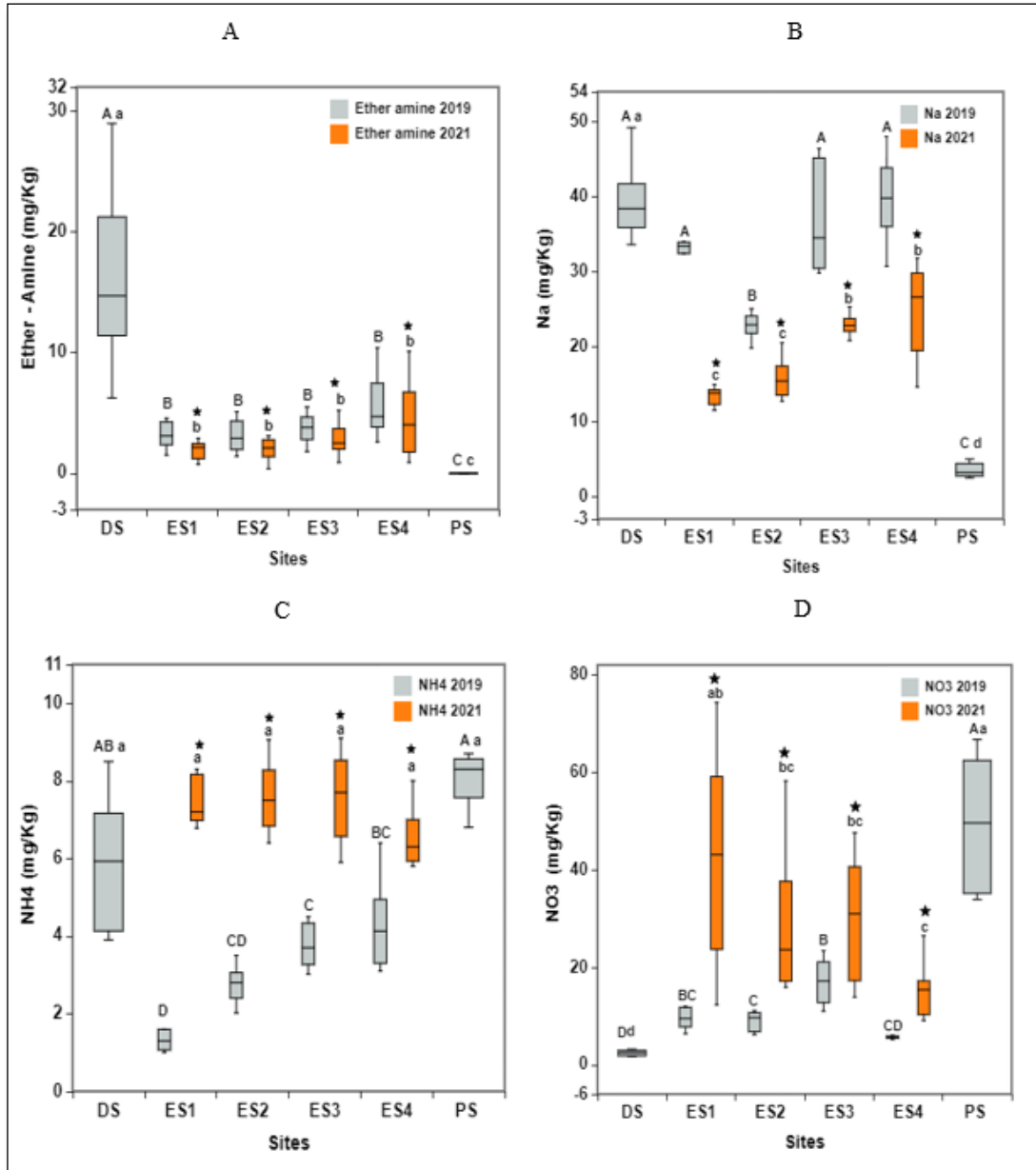
Os procedimentos de reabilitação foram mais eficazes na redução da éter amina um ano após o plantio (2019) em todos os tratamentos (Figura 1A), que diminuíram ao longo do tempo, mas ainda permaneceram mais elevados do que área preservada (PS). No entanto, não houve diferença no conteúdo de éter amina entre os tratamentos após 2 anos (Figura 1A), sugerindo que a remediação da éter amina foi promovida principalmente pelo procedimento de fito remediação. Por outro lado, a redução de sódio (Figura 1B) foi eficaz no primeiro ano após o plantio apenas no tratamento T2 em comparação com o local degradado (DS), mas ocorreu uma queda significativa no segundo ano, especialmente nos tratamentos T1 e T2 (Figura 1B).

A remediação de sódio nas áreas experimentais pode estar relacionada à ação quelante química da matéria orgânica do solo (Di Palma *et al.*, 2007), que tem sido usada com sucesso para remediar a alcalinidade em solos salinos (El Hasini *et al.*, 2019; Xie *et al.*, 2021). Essa redução no conteúdo de sódio também explica a redução do pH de aproximadamente 8 encontrado nos rejeitos de barragem antes do tratamento de remediação para cerca de 5-6 em todos os tratamentos, 2 anos após o plantio, especialmente nos tratamentos T1 e T2 (Tabela 1).

A redução do pH provavelmente contribuiu para a desestabilização da éter amina, uma vez que a dissociação da éter amina ocorre em pH baixo (Neder, 2005). Assim, a um pH de cerca de 5 alcançado nos locais recuperados devido à adição de MO e ao crescimento acelerado das plantas, a éter amina provavelmente se tornou mais suscetível à biodegradação (Araújo *et al.*, 2010).

A eficácia dos procedimentos de remediação de sódio e éter amina para a recuperação das áreas degradadas corrobora com dados anteriores obtidos na bacia do Rio Doce (Scotti *et al.*, 2020; Gomes *et al.*, 2021; Cordeiro *et al.*, 2022).

Figura 1 - Comparação da éter amina no solo (A), sódio (B), amônio (C) e nitrato (D) entre o local preservado (PS), local degradado (DS), T1 (físico, químico, fito e bioremediação), T2 (químico, fito e bioremediação), T3 (físico, químico, fitoremediação) e T4 (químico, fitoremediação) a 1 (2019) e 2 anos após o plantio.



A análise de variância (ANOVA) foi realizada usando ANOVA ou o teste de Kruskal–Wallis, e para comparações em pares, foram utilizados os testes de Tukey ou Nemenyi; comparações entre tratamentos seguidos por letras maiúsculas referem-se aos resultados de 2019, e aqueles seguidos por letras minúsculas referem-se a 2021; médias seguidas pelas mesmas letras não apresentaram diferenças significativas (em $p \leq 0,05$); as diferenças significativas em cada tratamento entre 2019 e 2021 são seguidas por *.

Tabela 1: Comparação das propriedades químicas do solo de amostras coletadas um ano (2019) e dois anos (2021) após o transplante nos locais T1 (físico, químico, fito e bioremediação), T2 (químico, fito e bioremediação), T3 (físico, químico, fitoremediação), T4 (químico, fitoremediação), local preservado (PS) e local degradado (DS).

Variáveis	PS (2019)	DS (2019)	T1 (2019)	T1 (2021)	T2 (2019)	T2 (2021)	T3 (2019)	T3 (2021)	T4 (2019)	T4 (2021)
pH	5,3 (0,2)	8,0* (0,3)	6,4 (0,6)	5,65* (0,07)	6,0 (0,13)	5,5* (0,17)	6,5 (0,3)	6,0* (0,16)	6,6 (0,2)	6,0* (0,09)
K (mg/kg)	91,0 (4,0)	16,0* (3,5)	33,8 (2,1)	45,6 ^{NS} (2,9)	32,9 (2,5)	32,4 ^{NS} (12,9)	32,0 (2,0)	27,0* (2,1)	39,6 (5,4)	21,3* (9,7)
Ca (mg/kg)	122,2 (65,3)	285,0* (51,9)	486,0 (1,91)	495,9 ^{NS} (6,54)	483,7 (9,7)	383,0 (34,7)	477,8 (9,9)	285,0* (83,3)	329,3 (9,8)	345,0 ^{NS} (94,9)
Mg (mg/kg)	124,8 (3,9)	27,0* (4,5)	53,3 (2,4)	80,3* (16,6)	65,8 (3,4)	40,7 (9,9)	47,9 (1,4)	26,36* (9,8)	28,05 (2,9)	39,9* (8,0)
P (mg/kg)	13,14 (,0)	4,4* (1,1)	8,2 (0,66)	12,7* (2,4)	7,3 (1,02)	8,9 ^{NS} (0,5)	6,8 (0,5)	7,2 (0,5)	7,7 (0,4)	6,7* (0,8)
CEC (meq/100g)	11,7 (2,3)	1,6* (0,3)	3,9 (0,2)	5,2* (0,32)	3,3 (0,2)	3,96* (0,25)	3,4 (0,26)	3,85* (0,15)	2,18 (2,18)	3,0* (0,4)
MO (%)	5,7 (2,01)	0,7* (0,2)	1,87 (0,19)	1,68* (0,2)	1,89 (0,02)	1,6* (0,1)	1,88 (0,1)	1,76* (0,01)	1,2 (0,12)	1,2 ^{NS} (0,13)

Desvio padrão entre parênteses. A análise de variância foi realizada utilizando ANOVA ou o teste de Kruskal-Wallis, e para comparações em pares, foi utilizado o teste de Tukey. $p \leq 0,05$. * Diferença significativa a 5%. NS: Diferença não significativa.

A matéria orgânica (MO) na área experimental (ES) aumentou no primeiro ano após a remediação quando comparada com a DS e permaneceu constante ao longo do tempo, ou até mesmo diminuiu na ES, sugerindo que a MO proveniente da serapilheira não se acumulou no solo, mas possivelmente foi decomposta pela população microbiana do solo (Tabela 1). O estímulo à decomposição da MO pode ser uma resposta desencadeada pela alta demanda por nutrientes das plantas em crescimento excepcional. A quantidade de MO no solo é um equilíbrio entre input e output (Powelson *et al.*, 2013). Na área experimental, o principal input de nutrientes foi derivado da decomposição da MO da serapilheira, e o principal output provavelmente foram os nutrientes disponibilizados para a absorção pelas plantas. A melhoria na capacidade de troca catiônica (CEC) (Tabela 1) ao longo do tempo, especialmente nos tratamentos T1, T2 e T3, indica a formação de MO de alta qualidade derivada da decomposição da serapilheira. A MO do solo é rica em cargas negativas, o que permite não apenas reter cátions no solo, tornando-os

disponíveis para as plantas (Tiessen *et al.*, 1994), mas também sequestrar o excesso de sódio (Robbins, 1986; Lax *et al.*, 1994). Os procedimentos de reabilitação também aumentaram alguns nutrientes do solo (ex: K, Ca e Mg) no primeiro ano após o plantio em comparação com a DS mas, após o segundo ano, houve uma estabilização ou até mesmo uma redução nos nutrientes do solo (Tabela 1). Esses resultados podem ser atribuídos ao hiper crescimento das plantas encontrado nos tratamentos, o que pode ter superado o fornecimento de nutrientes provenientes da decomposição da serapilheira, destacando o efeito da fitoremediação. No entanto, essa tendência não foi observada para K e P do solo (Tabela 1). Enquanto que nos tratamentos inoculados (T1 e T2) o potássio (K) foi aumentado e permaneceu alto, esse elemento diminuiu nos tratamentos não inoculados (T3 e T4) (Tabela 1). Da mesma forma, o conteúdo de fósforo aumentou ou permaneceu alto em todos os tratamentos, exceto no tratamento T4.

Em relação ao potássio, as plantas em crescimento demandam quantidades elevadas de potássio em uma faixa semelhante à do nitrogênio, mas cinco a dez vezes mais do que demandam fósforo (Brady e Weil 2007). Portanto, nas condições de crescimento exagerado das plantas devido ao excesso de nitrogênio derivado da dissociação de éter amina, a fertilização convencional com potássio foi deficiente em relação ao teor de nitrogênio disponível para as plantas. Diante disso, a inoculação de *Bacillus* foi essencial para garantir disponibilização de K no solo e para plantas nos tratamentos inoculados (T1 e T2), aumentando o crescimento das plantas e sua capacidade de fitoremediação (Jan *et al.*, 2022). O potássio (K) é o terceiro macronutriente mais importante para o crescimento das plantas (Zhao *et al.*, 2001), mas cerca de 90% do K no solo é encontrado na forma insolúvel e, portanto, não está disponível para as plantas (Parmar e Sindhu, 2013). No entanto, algumas bactérias promotoras do crescimento das plantas (PGPM) podem solubilizar o K, como *Acidithiobacillus spp.*, *Bacillus edaphicus*, *Bacillus mucilaginosus*, *Pseudomonas spp.*, *Burkholderia spp.* e *Paenibacillus spp.*, produzindo ácidos orgânicos e inorgânicos (Meena *et al.*, 2014).

Em relação ao nitrogênio, uma vez que o conteúdo de MO era muito baixo na área degradada (DS) (Tabela 1), os altos níveis de N-amônio (NH_4^+) observados em DS não podem ser atribuídos às reservas naturais de N na MO, mas sim a um suprimento adicional de éter amina (Santos *et al.*, 2019). Como já discutido os produtos de biodegradação são compostos de N, como amônia (NH_3) ou N- NH_4^{++} (Araújo *et al.*, 2010). Na área experimental, o N-amoniaco foi significativamente reduzido no primeiro ano após o cultivo, especialmente em T1, T2 e T3 (Figura 1C), o que pode ser atribuído às altas exigências de nutrientes dessas plantas

em crescimento e em processo de remediação como também foi observado por Gomes *et al.* (2021). Dois anos após o plantio (2021), houve um aumento marcante no N-amoniaco em todos os tratamentos, atingindo níveis semelhantes aos de PS (Figura 1C). Esse aumento no N-amoniaco provavelmente se deve à decomposição da serapilheira de folhas ricas em N, especialmente de espécies leguminosas, além daqueles provenientes da biodegradação de éter amina (Figura 1A), o que deve estar relacionado ao aumento da população microbiana.

Apesar dos altos níveis de N-amoniaco na DS, uma quantidade muito baixa de N-nítrico foi registrada neste local, assim como na área experimental 1 ano após plantio (Figura 1D), sugerindo uma inibição do processo de nitrificação. Em contraste, após 2 anos, houve um aumento no conteúdo de nitrato em todos os tratamentos, destacando-se o T1, que atingiu níveis semelhantes aos da área PS. Essa diminuição inicial pode ser entendida pela marcante inibição da biomassa microbiana total nos rejeitos na DS (Santos *et al.*, 2019), assim como na ES no primeiro ano (2019) após o plantio (Tabela 2). Após o segundo ano (2021), houve um aumento significativo na comunidade microbiana total em todos os locais, especialmente em T1 e T2 (Tabela 2), aumentando a disponibilidade de N-amoniaco no solo e do processo de nitrificação (Figura 1 C e D). Como resultado, houve uma melhoria significativa do N-nítrico nos tratamentos, especialmente no T1 em comparação a área PS (Figura 1D).

Tabela 2 - Ácido graxo fosfolipídico (PLFA) das comunidades microbianas do solo em T1 (físico, químico, fitorremediação e bioremediação), T2 (químico, fitorremediação e bioremediação), T3 (físico, químico, fitorremediação) e T4 (químico, fitorremediação), local preservado (PS) e local degradado (DS).

Varáveis	2019		2019	2021	2019	2021	2019	2021	2019	2021
	PS	DS	T1		T2		T3		T4	
Total C microbiano (C nmols/g)	527,0 (55)	22,0* (3,5)	72,7 (4,3)	162,4* (10,7)	57,2 (4,7)	175,7* (7,5)	32,6 (4,4)	118,7* (2,9)	31,4 (2,9)	109,6* (9,8)

Desvio padrão entre parênteses. A análise de variância foi realizada usando ANOVA ou um teste de Kruskal-Wallis, e para comparações em pares, foi utilizado o teste de Tukey. $p \leq 0,05$). * Diferença significativa a 5%. NS: Diferença não significativa.

A melhoria do N-amoniaco, Nítrico e da biomassa microbiana total nos tratamentos, 2 anos após o plantio, sugere um aumento da atividade microbiana do solo nesses locais, especialmente em T1 e T2, que receberam dupla inoculação com PGPM e AMF. De fato, houve um aumento particular de bactérias Gram+ em T1 e T2, que receberam a inoculação com espécies de *Bacillus*, em contraste com parcelas não inoculadas (Tabela 2). Entre as assinaturas PLFA do grupo Gram+, que pertence às espécies de *Bacillus*, houve um aumento na assinatura I 16:0, especialmente em parcelas inoculadas (Tabela 3). Esses resultados sugerem a alta eficiência da inoculação de *Bacillus* para o crescimento das plantas, especialmente considerando os mecanismos para fornecer minerais essenciais, como potássio e fósforo (Tabassum *et al.*, 2017).

Tabela 3 - Distribuição das assinaturas de ácido graxo fosfolipídico (PLFA) de bactérias Gram+ encontradas em T1 (físico, químico, fitorremediação e bioremediação), T2 (químico, fitorremediação e bioremediação), T3 (físico, químico, fitorremediação) e T4 (químico, fitorremediação), local preservado (PS) e local degradado (DS).

Assinaturas PLFA (mmol/g)	PS	DS	T1	T2	T3	T4
I 15:0	8,32	0,15	6,94	5,7	3,6	5,2
I 16:0	19,57	0,7	12,53	9,73	6,6	7,94
I 17:0	3,5	0,01	1,72	1,54	0,92	1,34
A 17:0	3,0	0,0	1,33	1,2	0,7	0,94

A população de AMF estimada pelo número de esporos no solo foi ligeiramente melhorada no tratamento T1 em relação a DS dois anos após o transplante, e o teor de glomalina no solo em T4 não diferiu da DS (Tabela 4). O número de esporos e o teor de glomalina não diferiram entre os tratamentos inoculados e não inoculados (Tabela 4). Esses resultados sugerem uma resposta fraca à inoculação de AMF ou até mesmo uma inibição desse grupo microbiano. De fato, durante a extração de esporos de AMF do solo, foi visualizada a presença de esporos aprisionados entre as bolhas de detergente, o que foi atribuído à presença de éter amina (Figuras 2B e C), um achado não observado no solo controle da área preservada PS (Figura 2A). Portanto, a éter amina parece ser prejudicial ao estabelecimento da população de AMF, especialmente das espécies inoculadas.

Tabela 4 - Número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (AMF) (g/ solo) e teor de glomalina ($\mu\text{g C/g}$ de solo) em solos coletados no local preservado (PS), local degradado (DS), T1 (físico, químico, fitorremediação e bioremediação), T2 (químico, fitorremediação e bioremediação), T3 (físico, químico, fitorremediação) e T4 (químico, fitorremediação), 2 anos após o plantio.

Tratamentos	Número de esporos (g/solo)	Glomalina ($\mu\text{g/g}$ solo)
T1	3,5 ^b	4,7 ^b
T2	3,0 ^{bc}	4,9 ^b
T3	0,9 ^d	4,8 ^b
T4	1,7 ^{cd}	3,5 ^{bc}
DS	0,5 ^d	2,5 ^c
PS	10,1 ^a	11,2 ^a

Os altos níveis de N-amoniaco e nítrico (Figura 1C e D), o aumento da população de *Bacillus* (Tabela 3) e o aumento significativo na biomassa microbiana total sugerem alta atividade biológica do solo. Além disso, o aumento da CEC do solo, fala a favor da produção de MO de alta qualidade (Tiessen *et al.*, 1994), o que explica os resultados da Tabela 5 onde se observa aumento da agregação total do solo e a formação de macroagregados, especialmente em parcelas inoculadas (T1 e T2). Esses resultados de agregação são consequência de uma qualidade diferencial da MO produzida em T1 e T2 em comparação com T4, o que pode estar relacionado à atividade de decomposição microbiana. Assim, a agregação do solo pode ser considerada um importante indicador da qualidade do solo sensível à avaliação da recuperação, uma vez que as mudanças na agregação do solo têm sido consideradas uma das propriedades mais resistentes à alteração após a restauração (Wei *et al.*, 2022).

Figura 2: Esporos de fungos micorrízicos arbusculares (AMF) (setas vermelhas), detritos e partículas de areia observados após a extração de esporos de AMF do solo sob microscopia óptica em A - Local preservado; B - Bolhas de éter amina primárias vistas no local degradado (DS); C - Bolhas de éter amina (setas azuis) e esporos de AMF (setas vermelhas) do local experimental (T1) após tratamento de remediação em 2021.

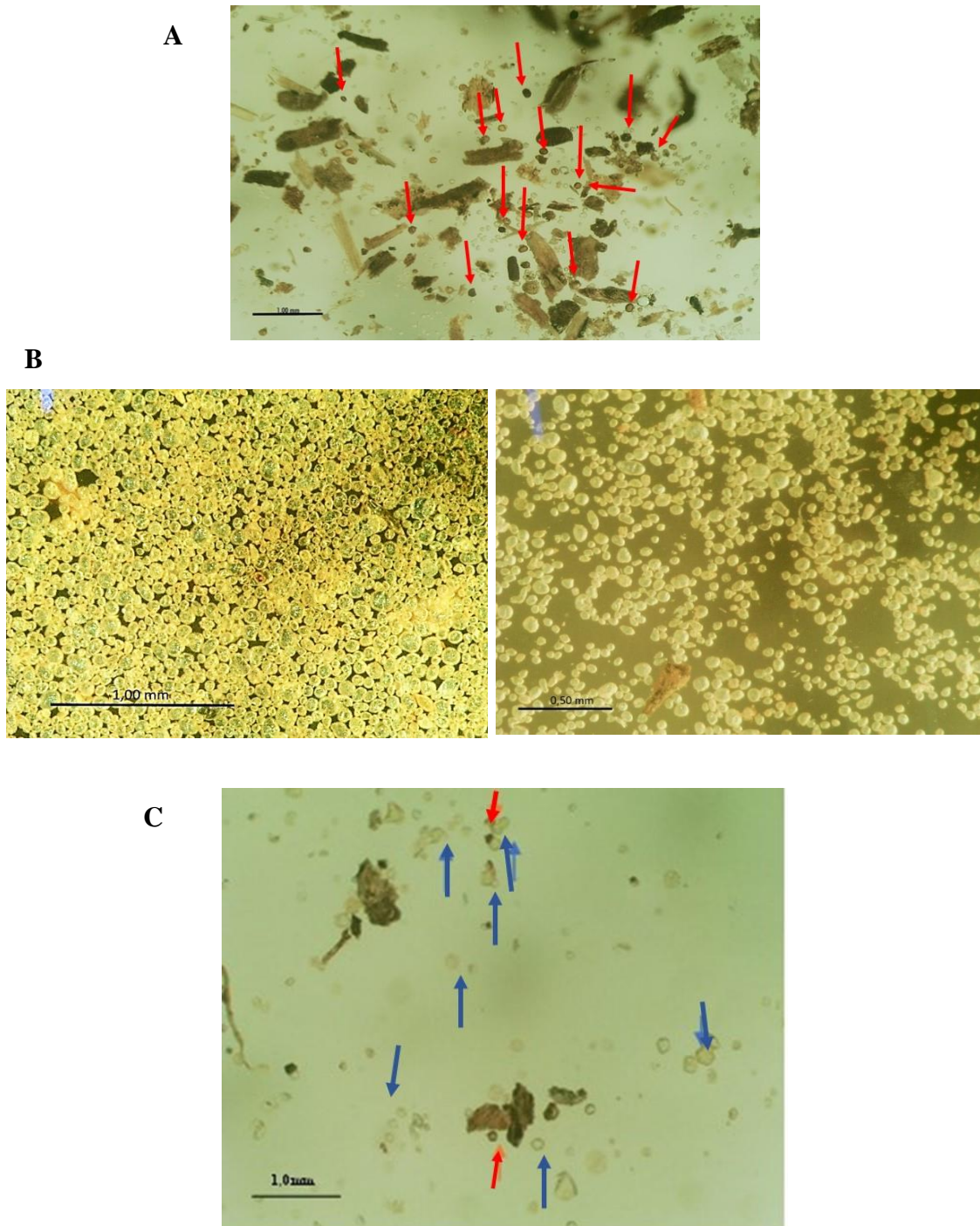


Tabela 5 - Comparação da estabilidade de agregados úmidos (%) entre T1 (física, química, fito e bioremediação), T2 (química, fito e bioremediação), T3 (física, química, fitoremediação) e T4 (química, fitorremediação), área preservada (PS) e a área degradada (DS).

Tratamentos	Macroagregados, % > 0.25mm	Microagregados, % < 0.25, > 0.053mm	Agregados totais, %
T1	26,6 (5,5) ^b	23,4 (5,4) ^a	50,0 (1,0) ^b
T2	27,1 (1,1) ^b	25,4 (2,1) ^a	52,5 (2,1) ^b
T3	21,8 (0,7) ^c	26,9 (3,8) ^a	48,48(2,0) ^{bc}
T4	21,2 (1,6) ^c	26,5 (1,0) ^a	47,7 (1,0) ^c
PS	47,6 (2,5) ^a	24,3 (4,8) ^a	71,9 (5,3) ^a
DS	4,0 (1,9) ^d	15,2 (4,4) ^b	19,2 (4,8) ^d

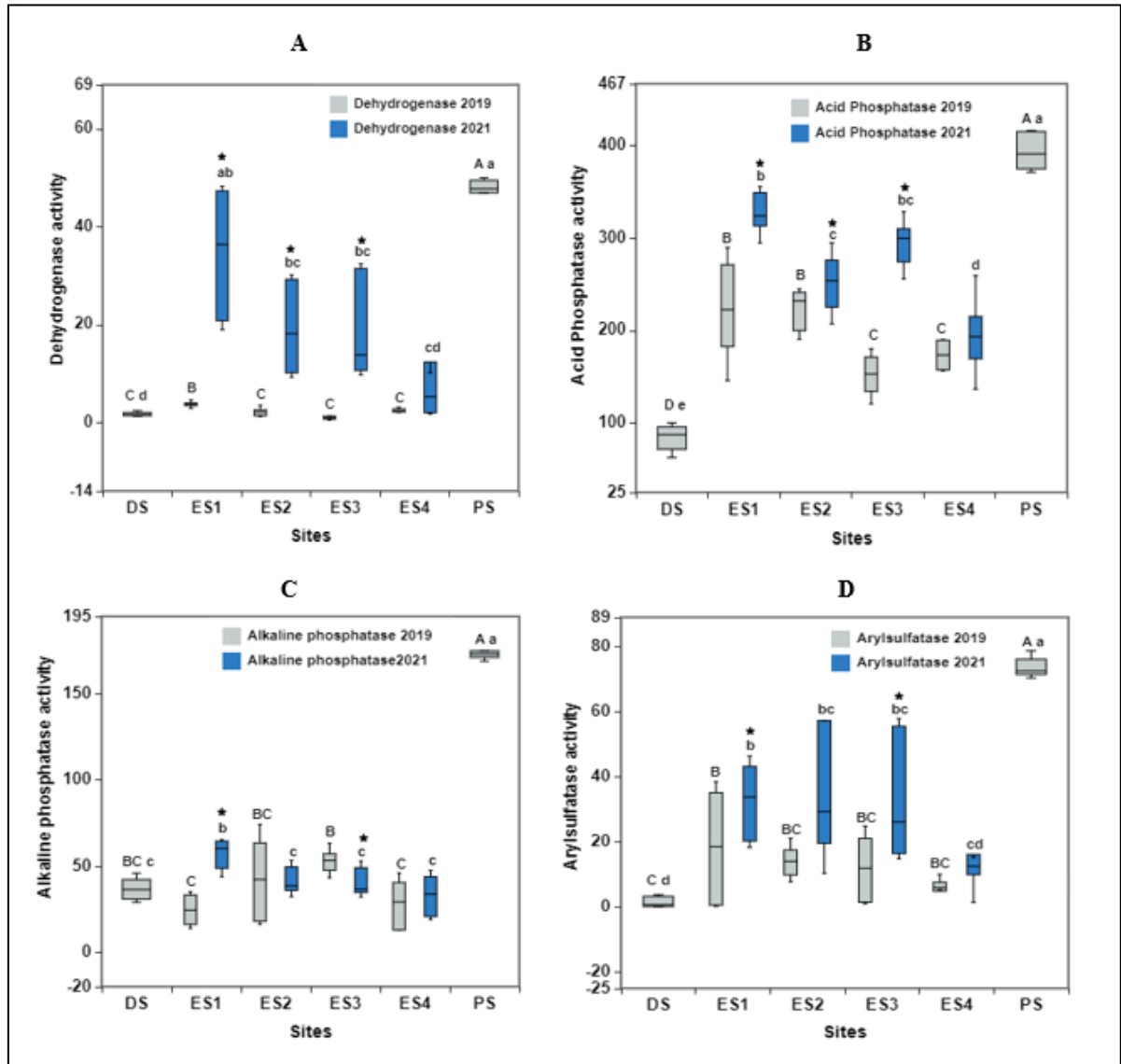
A atividade biológica do solo também foi medida por meio da atividade enzimática do solo. A atividade enzimática de desidrogenase e arilsulfatase (Figura 3A e B) confirma que houve um aumento significativo na atividade microbiana 2 anos após o plantio em todos os tratamentos, especialmente considerando que a desidrogenase ocorre em todas as células microbianas vivas (Dick, 1997). Esse aumento na atividade enzimática ao longo do tempo foi particularmente alto no T1, atingindo um padrão semelhante a área PS, sugerindo que este local abriga um maior efeito da rizosfera sobre as populações microbianas e a decomposição da MO.

Da mesma forma, vários autores registraram um aumento significativo na atividade de desidrogenase em solos tratados com matérias orgânicas (Myszura-Dymek e Zukowska, 2023) em locais de mineração reabilitados (Rodríguez-Berbel *et al.*, 2021, 2002), sugerindo que esta enzima pode ser um potencial indicador de qualidade do solo para avaliar o sucesso da restauração. Além disso, houve um aumento na atividade da fosfatase ácida em todos os tratamentos ao longo do tempo em relação a área DS (Figura 3C), mas especialmente no T1, que atingiu níveis comparáveis aos da PS, confirmando o benefício dos procedimentos completos de remediação. Uma vez que a atividade da fosfatase ácida e da desidrogenase foi encontrada reduzida na DS, como também observado em outros locais afetados pela Barragem do Fundão (Silva *et al.*, 2021), a recuperação completa da atividade dessas enzimas no T1, atingindo níveis semelhantes aos do PS, torna-os indicadores confiáveis da restauração do solo.

Considerando que a fosfatase ácida é produzida tanto por microrganismos quanto por plantas (Shaykh e Roberts, 1974; Tarafdar e Claassen, 1988) e que houve um aumento

significativo na biomassa microbiana total (Tabela 2), é provável que o aumento dessa enzima tenha sido impulsionado pela vegetação e pela inoculação das PGPB. De fato, o teor de P no solo aumentou principalmente nos tratamentos inoculados (Tabela 1), sugerindo o papel das espécies de *Bacillus* inoculadas na solubilização de P (Tabassum *et al.* 2017), uma vez que eles podem produzir ácidos orgânicos e inorgânicos capazes de solubilizar o fosforo (Meena *et al.* 2014; Santos *et al.* 2020). Em relação à fosfatase alcalina, também houve um aumento significativo ao longo do tempo, independentemente dos tratamentos (Figura 3D), apesar de sua atividade se apresentar geralmente baixa. As fosfatases alcalinas são produzidas principalmente por fungos, especialmente fungos AMF (Gianinazzi *et al.*, 1979). Portanto, a baixa atividade de fosfatase alcalina pode ser explicada pela baixa população de AMF e pelo reduzido conteúdo de glomalina (Tabela 2, 3 e 4), o que pode ser explicado pelo efeito tóxico da éter amina sobre AMF, conforme mostrado na Figura 2.

Figura 3: Comparação das atividades de enzimas do solo de (A) desidrogenase ($\mu\text{g TPF/g}$ de solo seco/24 h), (B) fosfatase ácida (μg de p-nitrofenol/g/h), (C) fosfatase alcalina (μg de p-nitrofenol/g/h) e (D) arilsulfatase (μg de p-nitrofenol/g/h) entre o local preservado (PS), locais degradados (DS), T1 (física, química, fito e biorremediação), T2 (química, fito e biorremediação), T3 (física, química, fitorremediação) e T4 (química, fitorremediação) após 1 (2019) e 2 anos (2021) após o plantio.



3. CONCLUSÃO

As estratégias de remediação física (raspagem superficial do sedimento), química (uso de matéria orgânica) e biológica (fitoremediação e bioremediação) implantadas na área experimental mostraram-se eficazes na redução da éter amina e sódio e no aumento da fertilidade e qualidade do solo, em área experimental 1 e 2 anos após plantio.

A remediação física e química mostraram ser estratégias eficazes na remediação do excesso de sódio e diminuição do pH do solo. A MO atuou como uma substância quelante sequestrando o excesso de sódio e, juntamente com a bioremediação, conferiu o retorno da agregação e estrutura do solo e aumento da CTC, uma vez que a MO é rica em cargas negativas e torna os nutrientes disponíveis às plantas.

A fitoremediação foi a estratégia mais eficaz na redução do excesso de amônia derivada da éter amina em todos os tratamentos, principalmente no tratamento 1, o qual é composto pelas 4 estratégias de remediação. As plantas tolerantes ao excesso de nitrogênio apresentaram igualmente sintomas clássicos de toxicidade por nitrogênio, como hipercrecimento e alongamento do caule, comprovando assim a eficácia da fitoremediação.

A bioremediação também foi uma estratégia eficaz a qual pôde acelerar a remediação das áreas afetadas através da atividade dos microrganismos inoculados, como as bactérias promotoras de crescimento (PGPB) e fungos micorrízicos (AMF). A atividade das PGPB se mostrou mais eficaz aumentando a disponibilidade de Potássio e Fósforo.

A dupla inoculação também favoreceu um aumento da fertilidade e qualidade do solo com melhoria da atividade enzimática especialmente da enzima fosfatase ácida (relacionada com aumento do fosforo (P) no solo) e desidrogenase. Esta última está relacionada com a produção de Matéria Orgânica de alta qualidade como aferido pelo aumento da capacidade de troca catiônica (CTC) e da estabilidade de agregados e agregação do solo.

O tratamento 1 (T1), e tratamento 2 (T2), que receberam os procedimentos de fito e bioremediação, mostraram-se mais eficazes, uma vez que apresentaram a maior taxa de redução da éter amina e sódio, maior taxa de crescimento das plantas superior a 3 metros, aumento da matéria orgânica, aumento da CTC, maior atividade enzimática e consequentemente fertilidade e estabilidade/agregação do solo. Ainda, o T1, entre todos os tratamentos, foi o que mais se aproximou da área preservada não atingida pelo rejeito, confirmando assim o benefício da implantação dos procedimentos completos de remediação.

Desta forma, este estudo mostra que é possível recuperar as matas ciliares da Bacia do Rio Doce atingidas pelo rejeito da barragem de Fundão, através da implantação de quatro estratégias para remediação do sódio e da éter amina e plantio de espécies arbóreas nativas.

REFERÊNCIAS

- Energy and Environmental Research Center, North Dakota (EERC). 2016. **Playstation resource manual**. Grand Forks (ND): University of North Dakota, Energy and Environmental Research Center. 116 p.
- Abbas, G., Saqib M., Akhtar, J., Basra, S.M. (2013). **Salinity tolerance potential of two acacia species at early seedling stage**. Pak J Agric Sci 50:683–688.
- Alencar, V.T.C.B. (2017). **Tolerância ao excesso de amônio e fotossíntese em plantas de arroz**. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- Almeida, C.A., Oliveira, A.F., Pacheco, A.A., Lopes, R.P., Neves, A.A., Queiroz M.E.L.R. (2018). **Characterization and evaluation of sorption potential of the iron mine waste after Samarco dam disaster in Doce River basin - Brazil**. Chemosphere, 209, 411–420. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.071>.
- Aloo, B.N., Makumba, B.A., Mbega, E.R. (2019). **The potential of Bacilli rhizobacteria for sustainable crop production and environmental Sustainability**. Microbiological Research, Volume 219, Pages 26-39. ISSN 0944-5013. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.10.011>.
- Araújo, D.M., Yoshida, M.I., Takahashi, J.A., Carvalho, C.F., Stapelfeldt, F. (2010). **Biodegradation studies on fatty amines used for reverse flotation of iron ore**. Int Biodeterior Biodegrad. 64:151–155. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.01.004>.
- Araújo, A. C., Viana, P.R.M., & Peres, A. E. C. (2005). **Reagents in iron ores flotation**. *Minerals Engineering*, 18, 219–224. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2004.08.023>.
- Ashworth, J. (2007). **The Effect of Chelating Agents on Soil Sodidity**. *Soil & Sediment Contamination*. 16. 301-312. Doi: 10.1080/15320380701285691.
- Bååth, E., Anderson, T.H. (2003). **Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and PLFA-based techniques**. *Soil Biol Biochem* 35:955–963. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00154-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00154-8).
- Barbosa, M.A., Ferraz, R.L.S., Coutinho, E.L.M., Coutinho, N.A.M., da Silva, M.S., Fernandes, C., Rigobelo, E. (2019). **Multivariate analysis and modeling of soil quality indicators in long-term management systems**. *The Science of the total environment*, 657, 457–465. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.441>.
- Bardgett, R.D., Hobbs, P.J., Frostegård, A. (1996). **Changes in soil fungal: bacterial biomass ratios following reductions in the intensity of management of an upland grassland**. *Biology and Fertility of Soils*, 22(3), 261-264. Doi: <https://doi.org/10.1007/bf00382522>.
- Batisteli, G.M.B. (2007). **Amina residual na flotação catiônica reversa de minério de ferro**. MS thesis. Department of Engineering and Mining, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

Blanco-García, A. and Lindig-Cisneros, R. (2005), **Incorporating Restoration in Sustainable Forestry Management: Using Pine-Bark Mulch to Improve Native Species Establishment on Tephra Deposits**. *Restoration Ecology*, 13: 703-709. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2005.00089.x>

Bligh, E.G., Dyer, W.J. (1959). **A rapid method of total lipid extraction and purification**. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37(8), 911–917. Doi: <https://doi.org/10.1139/o59-099>

Borges, P.H.C. (2022). **Condicionamento físico e nutricional para o crescimento de plantas em solo afetado por rejeito de mineração de ferro**. 2022.

Bradford, M. M. (1976). *Anal. Biochem.*72, 248.

Brady, N.C., Weil, R.R. (2007). **The Nature and Properties of Soil**, 14th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, USA.

Brenner W.G., Romanov G.A., Köllmer I., Bürkle L., Schmülling T. (2005). **Immediate-early and delayed cytokinin response genes of Arabidopsis thaliana identified by genome-wide expression profiling reveal novel cytokinin-sensitive processes and suggest cytokinin action through transcriptional cascades**. *Plant J.* Oct;44(2):314-33. Doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02530.x.

Britto D.T., Kronzucker H.J. (2002). **NH₄⁺ toxicity in higher plants: a critical review**. *Journal of Plant Physiology*, Volume 159, Issue 6, Pages 567-584, ISSN 0176-1617. Doi: <https://doi.org/10.1078/0176-1617-0774>.

Britto, D. T., Siddiqi, M. Y., Glass, A. D., & Kronzucker, H. J. (2001). **Futile transmembrane NH₄⁺ cycling: a cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants**. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(7), 4255–4258. Doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.061034698>.

Broetto F., Gomes, E.R., Joca, T.A.C.. (2017). **O estresse das plantas – Teoria e Prática**. ISBN: 978-85-7983-888-0. 26-27.

Buchanan, B.B.; Gruissem, W. & Jones, R.L. (2015) – **Biochemistry and molecular biology of plants**. 2^a ed. Rockville, American Society of Plant Physiologists, 1280 p.

Carvalho, P.E.R. (2006). **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas.

Casida, L.E., Klein, D.A., Santoro, T. (1964). **Soil dehydrogenase activity**. *Soil Science*, v.98, p.371-376.

Conte, P., Agretto, A., Spaccini, R., Piccolo, A. (2005). **Soil remediation: humic acids as natural surfactants in the washings of highly contaminated soils**. *Environ Pollut.* 135(3):515-22. Doi: 10.1016/j.envpol.2004.10.006.

Cordeiro, J., Gomes, A.R., Santos, C.H.B., Rigobelo, E.C., Baptista, M.B., Moura, P.M., e Scotti, M.R. (2021). **Rehabilitation of the Doce River Basin after the Fundão dam collapse:**

What has been done, what can be done and what should be done? *River Research and Applications*, 1–15. Doi: <https://doi.org/10.1002/rra.3894>.

Coskun D., Britto D.T., Li M., Becker A., Kronzucker H.J. (2013). **Rapid ammonia gas transport accounts for futile transmembrane cycling under NH₃/NH₄⁺ toxicity in plant roots.** *Plant Physiology*, Volume 163, Issue 4, December 2013, Pages 1859–1867, Doi: <https://doi.org/10.1104/pp.113.225961>.

Crews, T.E. (1999). **The presence of nitrogen fixing legumes in terrestrial communities: Evolutionary vs ecological considerations.** *Biogeochemistry* 46, 233–246 (1999). Doi: <https://doi.org/10.1007/BF01007581>.

Di Palma L., Ferrantelli P., Merli C., E. Petrucci e Pitzolu, I. (2007). **Influence of Soil Organic Matter on Copper Extraction from Contaminated Soil.** *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 16:3, 323-335. Doi: 10.1080/15320380701285758

Dick R.P. (1997). **Enzyme activities as integrative indicators of soil health**, p. 121–156. In C.E. Parkhurst, B.M. Doube & V.V.S.R. Gupta (eds.). *Biological Indicators of Soil Health*. CAB International, Oxon, UK.

Dzionic A., Wojcieszynska D., Guzik U. (2016). **Natural carriers in bioremediation: A review.** *Electronic Journal of Biotechnology*. Doi: 10.1016/j.ejbt.2016.07.003.

Faria, J.R., Silva, J.F., Neris, K.P., Lopes, F.L.R., Silva, M.C.; Lisboa, E.S., Rodrigues, J., Centeno, A.J.; Lopes, F.M. (2015). **Desenvolvimento de Eucaliptus urograndis no município de Corumbá-GO.** *Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde*, [S. l.], v. 17, n. 2, 2015. Doi: 10.17921/1415-6938.2013v17n2p%.

Fernández-Crespo, E., Scalschi, L., Llorens, E., García-Agustín P., Camañes G. (2015). **NH₄⁺ protects tomato plants against Pseudomonas syringae by activation of systemic acquired acclimation.** *J Exp Bot.* 2015 Nov;66(21):6777-90. Doi: 10.1093/jxb/erv382. Epub 2015 Aug 5.

Forde, B.G. (2022). **Local and long-range signaling pathways regulating plant responses to nitrate.** *Annu Rev Plant Biol.* 2002;53:203-24. Doi: 10.1146/annurev.arplant.53.100301.135256.

Fortes, B.C.S., Teixeira, M.C.V., da Costa, S.P., Wagner, M.H., & Scotti, M.R. (2022). **Post-disaster recovery plan for a rural settler's community affected by the Fundão dam tailings in Brazil.** *Journal of rural studies*, 93, 55-66. Doi: 10.1016/j.jrurstud.2022.05.013.

Gan, S. and Amasino, R.M. (1995). **Inhibition of leaf senescence by autoregulated production of cytokinin.** *Science* 270, 1986–1988. Doi: 10.1126/science.270.5244.1986.

Gehron, M.J., White, D.C. (1983). **Sensitive assay of phospholipid glycerol in environmental samples.** *Journal of Microbiological Methods*, Volume 1, Issue 1, Pages 23-32, ISSN 0167-7012. Doi: [https://doi.org/10.1016/0167-7012\(83\)90004-0](https://doi.org/10.1016/0167-7012(83)90004-0).

Gerdemann, J.W. & Nicolson, T.H. (1963). **Spores of mycorrhizal Endogone extracted from soil by wet-sieving and decanting.** *Transactions of the British Mycological Society*, Volume

46, Issue 2, 1963, Pages 235-244, ISSN 0007-1536, Doi: [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(63\)80079-0](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(63)80079-0).

Gerendás, J., Zhu, Z., Bendixen, R., Ratcliffe, R.G. and Sattelmacher, B. (1997). **Physiological and Biochemical Processes Related to Ammonium Toxicity in Higher Plants**. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.*, 160: 239-251. Doi: <https://doi.org/10.1002/jpln.19971600218>.

Gianinazzi, S., Gianinazzi-Pearson, V. e Dexheimer, J. (1979). **Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza**. III. Ultrastructural location of acid and alkaline phosphatase in onion roots infected by *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.). *New Phytol.* 82, 127-1. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1979.tb07566.x>

Gianinazzi-Pearson, V., Gianinazzi, S. (1995). **Protein and protein activities in endomycorrhizal symbiosis**. In *Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology*. Eds. B Hock and A Varma. pp 251-266. Springer Verlag, Heidelb.

Glenn, E.P., Jordan, F., and Waugh, W.J. (2017) **Phytoremediation of a Nitrogen-Contaminated Desert Soil by Native Shrubs and Microbial Processes**. *Land Degrad. Develop.*, 28: 361–369. Doi: [10.1002/ldr.2502](https://doi.org/10.1002/ldr.2502).

Gomes, A.R., Antão, A., Santos, A.G.P., Lacerda, T.J., Medeiros, M.B., Saenz L.A.I., Alvarenga S., Santos C.H., Rigobelo E.C., Scotti M.R. (2021). **Rehabilitation of a Riparian Site Contaminated by Tailings from the Fundão Dam, Brazil, Using Different Remediation Strategies**. *Environ Toxicol Chem.* 2021 Aug;40(8):2359-2373. Doi: [10.1002/etc.5075](https://doi.org/10.1002/etc.5075). Epub 2021 Jun 23.

Halliwell, D.J., Barlow, K.M., Nash, D.M. (2001). **A review of the effects of waste-water sodium on soil physical properties and their implications for irrigation systems**. *Aust J Soil Res* 39:1259–1267. Doi: <https://doi.org/10.1071/SR00047>.

Haynes, R.J. (1986). **Uptake and assimilation of mineral nitrogen by plants**. In: Haynes, R. J. (Ed.), *Mineral Nitrogen in the Plant-Soil System*. Academic Press Inc, Lincoln, Canterbury (New Zealand), pp. 303–358.

Haynes, R.J., Goh, K.M., (1978). **Ammonium and nitrate nutrition of plants**. *Biological Reviews*, 53, 465–510. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1978.tb00862.x>.

Heberer, J.A., Below, F.E., (1989). **Mixed nitrogen nutrition and productivity of what grown in hydroponics**. *Annals of botany*, 63(6), 643-649. Doi: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087793>.

Ishikawa-Sakurai, J., Hayashi, H., & Murai-Hatano, M. (2014). **Nitrogen availability affects hydraulic conductivity of rice roots, possibly through changes in aquaporin gene expression**. *Plant and Soil*, vol. 379, no. 1/2, 2014, pp. 289–300. JSTOR.

Ismunadji, M., Dijkshoorn, W., (1971). **Nitrogen nutrition of rice plants measured by growth and nutrient contents in pot experiment. Ionic balance and selective uptake**. *Netherlands J.Agric.* 19, 223–236. Doi: <https://doi.org/10.18174/njas.v19i4.17303>.

Jan, S.A., Rehman, M., Gul, A., Fayyaz, M., Rehman, A.U., Jamil, M. (2022). **Combined application of two *Bacillus* species enhances phytoremediation potential of *Brassica napus* in an industrial metal-contaminated soil**. *Int. J. Phytoremediation.* 24: 652-665, Doi: [10.1080/15226514.2021.1962797](https://doi.org/10.1080/15226514.2021.1962797).

Janet, I.S., Euan K.J. (2007). **Legume Evolution: Where Do Nodules and Mycorrhizas Fit In?** *Plant Physiology*, Volume 144, Issue 2, June 2007, Pages 575–581, Doi: <https://doi.org/10.1104/pp.107.096156>.

Joner, E.J., van Aarle, I.M. & Vosatka, M. (2000). **Phosphatase activity of extra-radical arbuscular mycorrhizal hyphae: A review.** *Plant and Soil* 226, 199–210. Doi: <https://doi.org/10.1023/A:1026582207192>

Jordan, F., Waugh, W.J., Glenn, E.P., Sam, L., Thompson, T., Thompson, T.L. (2008). **Natural bioremediation of a nitrate-contaminated soil-and-aquifer system in a desert environment.** *J Arid Environ* 72:748–763.

Gerendès, J., Zhu Z., Bendixen, R., Ratcliffe R.G., Sattelnacher, B. (1997). **Physiological and Biochemical Processes Related to Ammonium Toxicity in Higher Plants.** *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, Volume:160, Issue:3, pp.239 – 251. Doi: [10.1002/jpln.19971600218](https://doi.org/10.1002/jpln.19971600218).

Kemper, W.D., Rosenau, R.C. (1986). **Aggregate stability and size distribution.** In: Klute A, ed, *Methods of Soil Analysis*. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA, pp 499–509.

Kinidi, L., Salleh, S. (2017). **Phytoremediation of nitrogen as green chemistry for wastewater treatment system.** *Int J Chem Eng* 2017:1961205. Doi: <https://doi.org/10.1155/2017/1961205>.

Kirkby, E.A, Mengel, K. (1976). **Ionic balance in different tissues of the tomato plant in relation to nitrate, urea, or ammonium nutrition.** *Plant Physiol.* 1967 Jan;42(1):6-14. Doi: [10.1104/pp.42.1.6](https://doi.org/10.1104/pp.42.1.6). PMID: 16656486.

Koide, R. T., & Kabir, Z. (2000). Extraradical hyphae of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* can hydrolyse organic phosphate. *New Phytologist*, 148(3), 511-517. Doi: <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00776.x>.

Kozono, D., Yasui, M., King, L.S., Agre, P. (2002). **Aquaporin water channels: Atomic structure molecular dynamics meet clinical medicine.** *J Clin Invest*, Jun 1; 109(11): 1395–1399. Doi: [10.1172/JCI15851](https://doi.org/10.1172/JCI15851).

Krüger, M., Krüger, C., Walker, C., Stockinger, H., and Schubler, A. (2012). **Phylogenetic reference data for systematics and phylotaxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi from phylum to species level.** *New Phytol* 193: 970–984. Doi: [10.1111/j.1469-8137.2011.03962.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03962.x).

Lax, A., Diaz, E., Castillo, V., Albaladejo, J. (1994). **Reclamation of physical and chemical properties of a salinized soil by organic amendment.** *Arid Soil Research and Rehabilitation*, 8:1, 9-17, Doi: [10.1080/15324989309381374](https://doi.org/10.1080/15324989309381374).

Leghari, S.J., Wahocho, N.A., Laghari, G.M., HafeezLaghari, A., MustafaBhabhan, G., HussainTalpur, K. and Lashari, A.A. (2016). **Role of Nitrogen for Plant Growth and Development: A Review.** *Advances in Environmental Biology*, 10, 209-219.

- Li, Q., Li, B.H., Kronzucker, H.J., Shi, W.M. (2010). **Root growth inhibition by NH_4^+ in *Arabidopsis* is mediated by the root tip and is linked to NH_4^+ efflux and GTPase activity.** *Plant, Cell & Environment* 33, 1529–1542.
- Li, S.X., Wang, Z.-H., Stewart, B.A. (2013). **Responses of crop plants to ammonium and nitrate.** *Adv. Agron.* 118, 205–239. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405942-9.00005-0>.
- Lima, J.E., Kojima, S., Takahashi, H., von Wirén, N. (2010). **Ammonium triggers lateral root branching in *Arabidopsis* in an AMMONIUM TRANSPORTER1;3-dependent manner.** *Plant Cell*. 2010 Nov;22(11):3621-33. Doi: 10.1105/tpc.110.076216. Epub 2010 Nov 30.
- Lipińska, A., Kucharski, J., Wyszowska, J. (2014). **Activity of Arylsulphatase in Soil Contaminated with Polycyclic Aromatic Hydrocarbons.** *Water Air Soil Pollut.* 2014;225(9):2097. Doi: 10.1007/s11270-014-2097-4. Epub 2014 Aug 6.
- Lorenzi, H. (1949). **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa, SP: Editora Plan tarum, 1992.
- Mackowiak, C.L., Grossl, P.R., Bugbee, B.G. (2001). **Beneficial effects of humic acid on micronutrient availability to wheat.** *Soil Sci Soc Am J.* 2001 Nov-Dec;65(6):1744-50. Doi: 10.2136/sssaj2001.1744.
- Magalhães, I.R. e Wilcox, G.E. (1984). **Ammonium toxicity development in tomato plants relative to nitrogen form and light intensity.** *Journal of Plant Nutrition* 7 (1984): 1477-1496a. Doi: 10.1080/01904168409363295.
- Malavolta, E. (2006). **Manual de nutrição mineral de plantas.** São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. p. 638.
- Marschner, H., Römheld, V., Cakmak, I. (1987). **Root-induced changes of nutrient availability in the rhizosphere.** *Journal of Plant Nutrition*, 10:9-16, 1175-1184, Doi: 10.1080/01904168709363645.
- Marschner, P., Rengel, Z. (2012). **Nutrient availability in soils.** In: Marschner P, ed. **Marschner's mineral nutrition of higher plants.** 3rd edn. San Diego: Academic Press, 315–330.
- Maurel, C., Boursiac, Y., Luu, D.T., Santoni, V., Shahzad, Z., & Verdoucq, L. (2015). **Aquaporins in plants.** *Physiol Rev.* 2015 Oct;95(4):1321-58. Doi: 10.1152/physrev.00008.2015.
- McKey D. (1994). **Legumes and nitrogen: the evolutionary ecology of a nitrogen-demanding lifestyle.** In: Sprent J, McKey D, editors. *Advances in Legume Systematics 5: the Nitrogen factor.* Kew: Royal Botanic Gardens; 1994. pp.221–8.
- Mendes, R.M.S., Lucena, E.M.P., Medeiros, J.B.L.P. (2015). **Princípios de fisiologia vegetal – 2. ed. – Fortaleza: EdUECE, 2015.**
- Mendonza-Villarreal, R., Valdez-Aguilar, L.A., Sandoval-Rangel, A., Robledo-Torres, V., Benavides-Mendoza, A. (2015). **Tolerance of *lisianthus* to high ammonium levels in**

rockwool culture. Journal of Plant Nutrition, New York, v. 38, n. 1, p. 73-82, 2015. Doi: 10.1080/01904167.2014.920379.

Miao, Z., Nihat, H., McMillan, A.L., Brusseau, M.L. (2013). **Transport and fate of ammonium and its impact on uranium and other trace elements at a former uranium mill tailing site.** Appl Geochem. 2013 Nov;38:10.1016/j.apgeochem.2013.08.002. Doi: 10.1016/j.apgeochem.2013.08.002.

Mir, A., Mobin, M., Khan, N., Bhat, M., Lone, N., Bhat, K., Razvi, S.M., Wani, S., Wani, N., Sabina, A., Rashid, S., Masoodi, H. e Payne, W. (2010). **Crop Responses to Interaction Between Plant Growth Regulators and Nutrients.** 2. 9-19. ISSN: 2075-6240.

Myszura-Dymek, M., Z'ukowska, G. (2023). **The Influence of Sewage Sludge Composts on the Enzymatic Activity of Reclaimed Post-Mining Soil.** Sustainability. 15: 4749. Doi: <https://doi.org/10.3390/su15064749>.

Neder, E.E. (2005). **O uso de amins graxas e seus derivados na flotação de minérios brasileiros.** Dissertação, Mestrado em Engenharia de Minas e Petróleo. Escola Politécnica da USP, São Paulo, Brazil.

Nouri, H., Chavoshi Borujeni, S., Nirola, R., Hassanli, A., Beecham, S., Alaghmand, S., Saint, C., & Mulcahy, D. (2017). **Application of green remediation on soil salinity treatment: A review on halophytoremediation.** Process safety and environmental protection, 107, 94-107. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.psep.2017.01.021>.

Papini, R.M., Brandão P.R.G. and Peres, A.E.C. (2001). **Cationic flotation of iron ores: Amine characterization and performance.** Miner. Metall. Process. 18:5–9. Doi:10.1007/BF03402863.

Parmar, P., and Sindhu, S.S. (2013). **Potassium solubilization by rhizosphere bacteria: influence of nutritional and environmental conditions.** J Microbiol Res 3.1 (2013): 25-31.

Patterson, K., Cakmak, T., Cooper, A., Lager, I., Rasmusson, A.G., Escobar, M.A. (2010). **Distinct signalling pathways and transcriptome response signatures differentiate ammonium- and nitrate-supplied plants** Plant Cell Environ. 2010 Sep;33(9):1486-501. Doi: 10.1111/j.1365-3040.2010.02158.x. Epub 2010 Apr 22. PMID: 20444219; PMCID: PMC2920365.

Pavlíková, D., Neuberg, M., Žižková, E., Motyka, V., Pavlík, M. (2012). **Interactions between nitrogen nutrition and phytohormone levels in Festulolium plants.** Plant Soil Environ. 2012;58(8):367-372. Doi: 10.17221/367/2012-PSE.

Powlson, D., Smith, P., De Nobili, M. (2013). **Soil Conditions and Plant Growth. Cap 4. Soil organic matter.** Edited by Peter J. Gregory and Stephen Nortcliff. Blackwell Publishing Ltd. Published 2013 by Blackwell Publishing Ltd.

Quirk, J.P. (2001). **The significance of the threshold and turbidity concentrations in relation to sodicity and microstructure.** Australian Journal of Soil Research, vol. 39, pp. 118501217. Doi: <https://doi.org/10.1071/SR00050>.

Rao, M.A., Sannino, F., Nocerino, G., Puglisi, E., Gianfreda, L. (2003). **Effect of air-drying treatment on enzymatic activities of soils affected by anthropogenic activities.** *Biology and Fertility of Soils*. 38. 327-332. Doi: 10.1007/s00374-003-0660-z.

Reis, O.B. (2004). **Estudo preliminar sobre a reciclagem das aminas utilizadas em flotação de minério de ferro.** (Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto, 2004.

Rietz, D.N., Haynes, R.J. (2003). **Effects of irrigation-induced salinity and sodicity on soil microbial activity.** *Soil Biol Biochem* 35:845–854. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00125-1](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00125-1).

Rodríguez-Berbel, N., Soria, R., Ortega, R., Lucas-Borja, M.E., Miralles, I. (2022). **Benefits of applying organic amendments from recycled wastes for fungal community growth in restored soils of a limestone quarry in a semiarid environment.** *Sci Total Environ*. 2022 Feb 1;806(Pt 3):151226. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.151226. Epub 2021 Oct 27.

Rodríguez-Berbel, N., Soria, R., Ortega, R., Bastida, F., Miralles, I. (2021). **Quarry restoration treatments from recycled waste modify the physicochemical soil properties, composition and activity of bacterial communities and priming effect in semi-arid areas.** *Science of The Total Environment*, Volume 774, 2021, 145693, ISSN 0048-9697, Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145693>.

Roosta, H.R., e Schjoerring, J.K. (2007). **Effects of ammonium toxicity on nitrogen metabolism and elemental profile of cucumber plants.** *Journal of Plant Nutrition*, 30:11, 1933-1951, Doi: 10.1080/01904160701629211.

Sakakibara, H., Takei, K., Hirose, N. (2006). **Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development.** *Trends Plant Sci*. 2006 Sep;11(9):440-8. Doi: 10.1016/j.tplants.2006.07.004. Epub 2006 Aug 8.

Samarco. (2013). **Relatório Anual de Sustentabilidade** (p. 57). Brazil, Belo Horizonte: Samarco.

Santamaria, P., Elia, A., Serio, F., (1998). Fertilization strategies for lowering nitrate contents in leafy vegetables: chicory and rocket salad cases. *J. Plant Nutr.* 21, 1791–1803. Doi: <https://doi.org/10.1080/0190416980936552>.

Santibáñez, C., Verdugo, C., Ginocchio, R. (2008). **Phytostabilization of copper mine tailings with biosolids: Implications for metal uptake and productivity of *Lolium perene*.** *Sci Total Environ*. 2008 May 20;395(1):1-10. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2007.12.033. Epub 2008 Mar 14.

Santos, H.V. and Scotti, M.R. (2018). **Riparian reforestation with a single exotic species restores soil aggregation and porosity but not humic substances.** *Soil Use Manage*, 34: 124-133. Doi: <https://doi.org/10.1111/sum.12405>.

Santos, O.S.H., Avellar, F.C., Alves, M., Trindade, R.C., Menezes, M.B., Ferreira, M.C., França, G.S., Cordeiro, J., Sobreira, F.G., Yoshida, I.M., Moura, P.M., Baptista, M.B., Scotti, M.R. (2019). **Understanding the Environmental Impact of a Mine Dam Rupture in Brazil: Prospects for Remediation.** *J Environ Qual*. 2019 Mar;48(2):439-449. Doi: 10.2134/jeq2018.04.0168.

Schuller, K.A., Day, D.A., Gibson, A.H., & Gresshoff, P.M. (1986). **Enzymes of ammonia assimilation and ureide biosynthesis in soybean nodules: effect of nitrate.** *Plant Physiol.* 1986 Mar;80(3):646-50. Doi: 10.1104/pp.80.3.646.

Scotti, M.R., Gomes, A.R., Lacerda, T.J., Avila, S.S., Silva, S.L.L., Antão, A., Rigobelo, E.C. (2020). **Remediation of a riparian site in the Brazilian Atlantic Forest reached by contaminated tailings from the collapsed Fundão dam with native Woody species.** *Integrated Environmental Assessment and Management*, 16, 669–675. Doi: <https://doi.org/10.1002/ieam.4272>.

Silva, A.O.; Guimarães, A.A.; Lopez, B.D.O.; Zanchi, C.S.; Vega, C.F.P.; Batista, É.R., Carneiro, M.A.C. (2021). **Chemical, physical, and biological attributes in soils affected by deposition of iron ore tailings from the Fundão Dam failure.** *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 193, n. 8, p. 1-18, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09234-4>.

Soares, C.B.S.; Paula Neto, F.; Souza, A.L. 2006. **Dendrometria e inventário florestal.** Viçosa: UFV, 276p.

Spier, C.A., Oliveira, S.M.B., Sial, A.N., Rios, F.J., 2007. **Geochemistry and genesis of the banded iron formations of the Cauê Formation, Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais, Brazil.** *Precambrian Res.* 152, 170–206. Doi:10.1016/j.precamres.2006.10.003.

Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Khan, M.S.I., Shahid, N., et al. (2017). **Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR.** *Appl. Soil Ecol.* 121: 102–117. Doi: 10.1016/j.apsoil.2017.09.030.

Tabatabai, M.A., and Bremner, J.M. (1969) **Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity.** *Soil Biology Biochemistry*, 1, 301-307. Doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717\(69\)90012-1](http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717(69)90012-1).

Tabatabai, M.A. and Bremner, J.M. (1970a). **Arylsulfatase activity of soils.** *Soil Science Society of America*. 34, 225-229.

Tabatabai, M.A. (1994). **Soil Enzymes.** In *Methods of Soil Analysis* (eds R.W. Weaver, S. Angle, P. Bottomley, D. Bezdicek, S. Smith, A. Tabatabai and A. Wollum). Doi: <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.2.c37>.

Lincoln T., Zeiger E., Møller, I.M. **Fisiologia e Desenvolvimento vegetal** - 6ed. 2017.

Kiba, T., Kudo, T., Kojima, M. and Sakakibara, H. **Hormonal control of nitrogen acquisition: roles of auxin, abscisic acid, and cytokinin.** *Journal of Experimental Botany*, Volume 62, Issue 4, February 2011, Pages 1399–1409, <https://doi.org/10.1093/jxb/erq410>.

Takei, K. *et al.* (2001) **Nitrogen-dependent accumulation of cytokinins in root and the translocation to leaf: implication of cytokinin species that induces gene expression of maize response regulator.** *Plant Cell Physiol.* 2001;42(1):85-93. Doi:10.1093/pcp/pce009.

Tanaka, M., Takei, K., Kojima, M., Sakakibara, H., Mori, H. (2006). **Auxin controls local cytokinin biosynthesis in the nodal stem in apical dominance.** *Plant J.* 2006;45(6):1028-1036. Doi:10.1111/j.1365-313X.2006.02656.x

Tarafdar, J.C., & Chhonkar, P.K. (1979). **Phosphatase production by microorganisms isolated from diverse types of soils.** Zentralbl Bakteriol Naturwiss. 1979;134(2):119-124. Doi:10.1016/s0323-6056(79)80037-3.

Tarafdar, J.C., Claassen, N. (1988). **Organic phosphorus compounds as a phosphorus source for higher plants through the activity of phosphatases produced by plant roots and microorganisms.** Biol Fert Soils 5, 308–312 (1988). <https://doi.org/10.1007/BF00262137>.

Tiessen, H., Cuevas, E. & Chacon, P. (1994). **The role of soil organic matter in sustaining soil fertility.** Nature 371, 783–785. Doi: <https://doi.org/10.1038/371783a0>.

Guilfoyle, T.J., & Hagen, G. (2007). **Auxin response factors. Current opinion in plant biology.** 10(5), 453–460. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.08.014>.

Torrey, J.G. (1976). **Root hormones and plant growth.** Ann. Rev. Plant Physiol. 27, 435-459.

Townsend, L.R., (1966). **Effect of nitrate and ammonium nitrogen on the growth of the lowbush blueberry.** Can. J. Plant Sci. 46, 209–210.

Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C., Seoane, S., Gil-Sotres, F. **Biochemical properties of soils under crop rotation.** Applied Soil Ecology, Amsterdam, v. 39, n. 2, p. 133- 143, 2008. Doi: 10.1016/j.apsoil.2007.12.003

Troyjack, C., Villela, F.A. e Aumonde, T.Z. (2018). **Plant growth and vigor of bean seeds in response to the exogenous application of gibberellic acid.** Revista de Ciências Agrárias, 2018,41(3): 757-770. Doi: 10.19084/RCA17169

Wang, L., Ji, B., Hu, Y., Liu, R., & Sun, W. (2017). **A review on in situ phytoremediation of mine tailings.** Chemosphere, 184, 594–600. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.06.025>.

Wang, C., Zhang, S. H., Wang, P. F., Li, W., & Lu, J. (2010). **Effects of ammonium on the antioxidative response in Hydrilla verticillata (L.f.) Royle plants.** Ecotoxicology and environmental safety, 73(2), 189–195. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.08.012>.

Wei, L., Li, Y., Zhu, Z., Wang, F., Liu, X., Zhang, W., Xiao, M., Li, G., Ding, J., Chen, J., Kuzyakov, Y., Ge, T. (2022). **Soil health evaluation approaches along a reclamation consequence in Hangzhou Bay, China.** Agric Ecosyst Environ. 337: 108045. Doi: 10.1016/j.agee.2022.108045.

White, D.C., Davis, W.M., Nickels, J.S., King, J.D., & Bobbie, R.J. (1979). Determination of the sedimentary microbial biomass by extractible lipid phosphate. Oecologia, 40(1), 51–62. Doi: <https://doi.org/10.1007/BF00388810>

Wiesler, E. (1997): **Agronomical and physiological aspects of ammonium and nitrate nutrition of plants.** Z. Pflanzenernahr. Bodenkd. 160, 227-238. Doi: <https://doi.org/10.1002/jpln.19971600217>

Wong, M. (2005). **Visual symptoms of plant nutrient deficiencies in nursery and landscape plants.** Soil and Crop Management, Quebec, v. 1, n. 1, p. 1-4, 2005.

Wright, S.F., Upadhyaya, A. (1996). **Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi.** *Soil Science*, 161, 575-586. Doi: <http://dx.doi.org/10.1097/00010694-199609000-00003>.

Ramakrishna, W., Yadav, R., & Li, K. (2019). **Plant growth promoting bacteria in agriculture: Two sides of a coin.** *Applied Soil Ecology*. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.02.019>.

Xie, X., Pu, L., Zhu, M., Meadows, M., Sun, L., Wu, T., Bu, X., & Xu, Y. (2021). **Differential effects of various reclamation treatments on soil characteristics: an experimental study of newly reclaimed tidal mudflats on the east China coast.** *The Science of the total environment*, 768, 144996. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.144996>.

Liu, Y., & von Wirén, N. (2017). **Ammonium as a signal for physiological and morphological responses in plants.** *Journal of experimental botany*, 68(10), 2581–2592. Doi: <https://doi.org/10.1093/jxb/erx086>.

Zhao, D., Oosterhuis, D. & Bednarz, C. (2001). **Influence of Potassium Deficiency on Photosynthesis, Chlorophyll Content, and Chloroplast Ultrastructure of Cotton Plants.** *Photosynthetica* 39, 103–109. Doi: <https://doi.org/10.1023/A:1012404204910>.

Zhu, Z.L., Wen, Q.X. (1992). **Nitrogen in Soils of China.** Sci. Technol. Publish. House, Nanjing, pp. 278–281.

Zhu J. K. (2001). **Plant salt tolerance.** *Trends in plant science*, 6(2), 66–71. Doi: [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(00\)01838-0](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(00)01838-0).

Ziegler, H. (1975): **Nature of substances in phloem.** In M. H. Zimmermann and J. A. Milburn (eds.): *Encyclopedia of Plant Physiology*, Vol 1.59-138.