

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

LETICIA APARECIDA BRESSANIN

**EFEITO DO REJEITO DE MINERAÇÃO DE MARIANA-MG SOBRE ESPÉCIES
ARBÓREAS DE DIFERENTES ESTADOS SUCESSIONAIS ECOLÓGICOS E DO
VERMICOMPOSTO COMO ATENUANTE**

ALFENAS/MG

2020

LETICIA APARECIDA BRESSANIN

EFEITO DO REJEITO DE MINERAÇÃO DE MARIANA-MG SOBRE ESPÉCIES
ARBÓREAS DE DIFERENTES ESTADOS SUCESSIONAIS ECOLÓGICOS E DO
VERMICOMPOSTO COMO ATENUANTE

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Alfenas como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Ciências Ambientais pela
Universidade Federal de Alfenas. Área de
concentração: Ciências Ambientais.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Corrêa de Souza

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ligiane Aparecida
Florentino

ALFENAS/MG

2020

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central – Campus Sede

Bressanin, Leticia Aparecida

B843e Efeito do rejeito de mineração de Mariana-MG sobre espécies arbóreas de diferentes estados sucessionais ecológicos e do vermicomposto como atenuante. / Leticia Aparecida Bressanin – Alfenas, MG, 2021.
158 f.: il. –

Orientador: Thiago Corrêa de Souza.
Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Federal de Alfenas, 2021.
Bibliografia.

1. Aroeira-pimenteira. 2. Cedro Rosa. 3. Jequitibá Branco. 4. húmus de minhoca. 5. Lama de Mariana-MG. 6. Rio Doce. 7. Sucessão ecológica.
I. Souza, Thiago Corrêa de. II. Título.

CDD- 577.2

Ficha Catalográfica elaborada por Marlom Cesar da Silva
Bibliotecário-Documentalista CRB6/2735

LETICIA APARECIDA BRESSANIN

**EFEITO DO REJEITO DE MINERAÇÃO DE MARIANA-MG SOBRE ESPÉCIES
ARBÓREAS DE DIFERENTES ESTADOS SUCESSIONAIS ECOLÓGICOS E DO
VERMICOMPOSTO COMO ATENUANTE**

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Ambientais.

Aprovada em: 30 de outubro de 2020

Prof. Dr. Thiago Corrêa de Souza

Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Dr. Luiz Carlos de Almeida Rodrigues

Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Túlio Silva Lara

Instituição: Universidade Federal do Oeste do Pará



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Corrêa de Souza, Professor do Magistério Superior**, em 03/11/2020, às 10:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Túlio Silva Lara, Usuário Externo**, em 03/11/2020, às 14:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Carlos de Almeida Rodrigues, Técnico Administrativo em Educação**, em 03/11/2020, às 14:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0403554** e o código CRC **80E24477**.

AGRADECIMENTOS

Não há como não começar agradecendo à minha família, meus pais, Rita e Antônio. Não seria possível eu traçar o caminho que me trouxe até aqui sem seu apoio incondicional. Sei que ficarão orgulhosos não importa o que eu faça, mas espero que seja à altura da minha gratidão por tudo que fizeram por mim.

Aos amigos antigos e que semeiei durante essa jornada, principalmente aos que estiveram ao meu lado nos momentos mais caóticos: Kamila, Ana Lúcia, Valdir, Alexandra, Pedro, André, Giovana, Isabella, Juliana, Mariana, Alexandre e Paulo César. Obrigada pela amizade, memórias felizes e ensinamentos de vida.

Ao Prof. Dr. Thiago Corrêa de Souza, por me dar essa oportunidade e ter me provido de todo o necessário para meu crescimento profissional e pessoal desde a graduação. Acredito que nem todo orientador é também amigo, mas, para minha sorte, esse foi o meu caso. À minha coorientadora Profa. Dra. Ligiane Aparecida Florentino, por me aceitar de braços abertos nessa parceria entre UNIFAL e UNIFENAS, por todos os ensinamentos e apoio. À Dra. Kamila Rezende Dázio de Souza, que também sempre esteve solícita para me orientar, indicar o caminho, me manter no foco e ajudar no que fosse. Agradeço a vocês imensamente pela paciência, pelos ensinamentos e sua fé em mim.

Aos colegas do BIOGEN: Rose, Joice, Gabriela, Daniele, Círia, Ciomara, Clara, Bianca, Tayná, Ricardo, Maria Carolina, Kamilla, Wesley, Túlio, Yamka. Obrigada por tornarem essa experiência mais leve. Ao Prof. Dr. Breno Régis dos Santos, por ser sempre me ajudar também desde a graduação, pelo seu apoio e empolgação contagiante. Aos professores Dr. Adriano Bortolotti da Silva e Dr. José Ricardo Mantovani por me apoiarem nessa caminhada conjunta à UNIFENAS e toda a ajuda. Ao Prof. Dr. Plínio Rodrigues dos Santos Filho e ao Gustavo, por sempre ajudarem quando faltava algum reagente. Muito obrigada!

Ao pessoal da Florestal Casa da Árvore (Varginha-MG), por doarem as mudas usadas nesse estudo com tamanha prontidão. Espero que sintam que elas foram bem utilizadas. À UNIFAL-MG e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais por essa oportunidade. À UNIFENAS, pela parceria e novos ares. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, CAPES/FAPEMIG/FAPES/CNPq/ANA nº 6/2016, pelo financiamento do projeto de pesquisa envolvido neste estudo e pela bolsa de mestrado.

Muito obrigada!

RESUMO

O acidente envolvendo a mineradora Samarco, que liberou 50 milhões de m³ de rejeito com o rompimento da barragem do Fundão, em 5 de novembro de 2015, teve impactos sobre a fauna, flora e sociedade humana. Instituições mantêm certo acompanhamento das propriedades do rejeito, seu escoamento e consequências. No entanto, muito ainda deve ser feito para diminuir os impactos negativos, tanto ambientais quanto socioeconômicos, na região da bacia hidrográfica do Rio Doce. Diante desse panorama, o uso de espécies arbóreas, valendo-se do uso de fertilizantes orgânicos, tem grande potencial, uma vez que podem revitalizar a localidade, diminuindo a concentração ou imobilizando os metais pesados liberados com o rejeito, além da melhoria da estrutura do solo resultante. Assim sendo, este trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento de mudas arbóreas nativas do Cerrado e/ou Mata Atlântica e de diferentes níveis de sucessão ecológica sob o rejeito da barragem do Fundão, com e sem a adição de vermicomposto. As mudas foram transplantadas em vasos de 2 L contendo substratos referentes aos tratamentos: solo, rejeito de mineração e rejeito de mineração com adição de vermicomposto (2% m/m), conduzidos por 80 dias, com realização de coleta de dados em intervalos de 20 dias (C1: início do experimento, C2: 20 dias, C3: 40 dias, C4: 60 dias, C5: 80 dias). Nesse período foram avaliados parâmetros biométricos e morfológicos, de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*. Ao final dos 80 dias, as plantas foram coletadas, separadas em folhas, caule e raiz. Parte do material foliar foi testado quanto à peroxidação lipídica e as raízes quanto à morfologia. Então, o material vegetal foi seco em estufa de circulação de ar forçada a 60°C até peso constante, para conseguinte pesagem. O rejeito de mineração tende a piorar o desempenho de algumas espécies vegetais, que apresentaram diferentes graus de sensibilidade de acordo com o seu nível de sucessão ecológica. Dessa forma, cada espécie apresentou um comportamento frente à imposição do rejeito. Espécies pioneiras como a *S. terebinthifolius* são importantes alternativas para a revegetação de áreas afetadas, uma vez que se mostram mais robustas e tolerantes. Espécies secundárias, como *C. fissilis*, também apresentam grande potencial; no entanto, espécies clímax, tal qual *C. estrellensis*, são mais sensíveis e, nesse caso, não demonstram tal potencial. A utilização de húmus de minhoca para atenuar o efeito do rejeito de mineração se mostrou de grande potencial, favorecendo *S. terebinthifolius* e, em menor grau, *C. fissilis*, mas estudos devem ser realizados para avaliar seu potencial.

Palavras-chave: Aroeira-pimenteira; Cedro Rosa; Jequitibá Branco; húmus de minhoca; lama de Mariana-MG; Rio Doce; Sucessão ecológica

ABSTRACT

The accident involving the mining company Samarco, which released 50 million m³ of tailings with the collapse of the Fundão dam, on November 5, 2015, impacted on fauna, flora and society. Institutions are still monitoring the tailings' properties, its flow and consequences in the area. However, much remains to be done to reduce environmental and socioeconomic impacts in the region of the Rio Doce watershed. Thus, the use of tree species alongside organic fertilizers, has great potential of revitalizing the locality, and decrease the concentration or immobilize the heavy metals released with the tailings, in addition to improving the structure of the resulting soil. Therefore, this work aimed to evaluate the performance of native plant species of Cerrado or Atlantic Forest and of different levels of ecological succession (*Schinus terebinthifolius*, *Cedrela fissilis* and *Cariniana estrellensis*) under the tailings of the Fundão dam, besides if the addition of vermicompost would improve its performance. The seedlings were transplanted in 2 L pots containing substrates for the treatments: soil, mining tailings and mining tailings with the addition of earthworm humus (2% w/w), conducted for 80 days, with data collection in 20-day intervals (C1: start of the experiment, C2: 20 days, C3: 40 days, C4: 60 days, C5: 80 days). During this period, biometric and morphological parameters, gas exchange and chlorophyll *a* fluorescence were evaluated. At the end of 80 days, the plants were collected, divided into leaves, stalk, and root. Part of the leaf material was tested for lipid peroxidation and the roots for morphology. Then, the plant material was dried in an oven with forced air circulation at 60°C until constant weight. Mining tailings tend to worsen the performance of plant species that have different degrees of sensitivity according to their level of ecological succession. In this manner, as expected, each species presented a behavior regarding development under the tailings. Pioneer species such as *S. terebinthifolius* are important alternatives for revegetation since they are more robust and tolerant. However, secondary species, mainly *C. fissilis*, also show great potential; however, climax species, such as *C. estrellensis*, are the most sensitive and, in this case, do not show potential. The use of vermicompost to attenuate the effect of mining tailings was shown to have great potential, favoring *S. terebinthifolius* and, to a lesser extent, *C. fissilis*, but more studies should be carried out to assess its potential.

Keywords: Aroeira-pimenteira; Cedro Rosa; Jequitibá Branco; vermicompost; Mariana-MG's tailings; Doce River; Ecological succession.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1	A MINERAÇÃO E SUAS CONSEQUÊNCIAS	13
2.1.1	A mineração	13
2.1.2	As formas de deposição de rejeitos	15
2.1.2.1	Aterros hidráulicos e barragens de contenção	16
2.1.2.2	Liquefação	19
2.1.3	Impactos da mineração	20
2.2	A SAMARCO E A BARRAGEM DO FUNDÃO	24
2.2.1	O Quadrilátero Ferrífero e o rejeito da Barragem do Fundão	27
2.2.2	Os rejeitos da mineração de ferro	28
2.2.3	Características físico-químicas, mineralógicas e microbiológicas do rejeito da Barragem do Fundão.....	28
2.3	RECUPERAÇÃO DE AMBIENTES DEGRADADOS	31
2.3.1	Remediação	31
2.3.2	Biorremediação	31
2.3.3	Fitorremediação.....	32
2.3.4	A sucessão ecológica no reflorestamento de áreas degradadas	34
2.4	ESPÉCIES VEGETAIS SOB ESTUDO	37
2.4.1	<i>Schinus terebinthifolius</i>	38
2.4.2	<i>Cedrela fissilis</i>	39
2.4.3	<i>Cariniana estrellensis</i>	40
2.4.4	<i>Hymenaea courbaril</i>	41
2.5	VERMICOMPOSTO	42
2.6	BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIATIVAS	43
3	OBJETIVOS	46
3.1	OBJETIVO GERAL.....	46
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	46
4	JUSTIFICATIVA	47
	REFERÊNCIAS	48

	ARTIGO 1: Vermicompost improves growth of tree species in different stages of ecological succession under iron mine tailings	64
	ABSTRACT	64
1.	INTRODUCTION	65
2.	MATERIAL AND METHODS	67
2.1	Experimental conditions and plant material	67
2.2	Substrate characterization	68
2.3	Biometric analysis	69
2.4	Leaf gas exchange and relative chlorophyll content	69
2.5	Chlorophyll <i>a</i> fluorescence.....	70
2.6	Lipid peroxidation	71
2.7	Experiment design and data analysis.....	71
3.	RESULTS.....	72
3.1	Principal component analysis	72
3.2	Morphological analysis, plant biometrics, and leaf gas exchange	74
3.3	Chlorophyll <i>a</i> fluorescence.....	85
4.	DISCUSSION.....	89
5.	CONCLUSIONS.....	96
	Acknowledgments.....	96
	REFERENCES	97
	SUPPLEMENTARY DATA	106
	ARTIGO 2: Diazotrophs improve <i>Hymenaea courbaril</i> growth on iron mine tailings.....	112
	ABSTRACT	112
	INTRODUCTION	113
	MATERIAL AND METHODS.....	115
	Experimental conditions.....	115
	Substrates.....	116
	Bacteria and nitrate inoculation.....	118
	Morphology	118
	Macro- and micronutrients	118
	Physiology	118
	Carbohydrate content	119

Root morphology.....	119
Studied bacteria	120
Statistical analysis	122
RESULTS.....	122
DISCUSSION.....	138
Acknowledgments.....	143
REFERENCES	144
SUPPLEMENTARY DATA.....	151

1 INTRODUÇÃO

O acidente provocado pelo rompimento da barragem do Fundão, pertencente à mineradora Samarco, na tarde do quinto dia de novembro de 2015, lançou no meio ambiente 50 milhões de m³ de rejeitos provenientes da exploração de ferro. O rejeito continha em sua composição metais pesados e outros compostos potencialmente tóxicos à saúde humana e animal, quando em concentrações acima do permitido pela legislação (IBAMA, 2017; SEGURA *et al.*, 2016).

Estudos recentes demonstram que a constituição do rejeito após o tempo decorrido, e conforme a cinética tomada por ele, tem sido alterada, podendo trazer consigo o desbalanço na biodisponibilidade de certos elementos (HATJE *et al.*, 2017; SEGURA *et al.*, 2016). Alternativas para a minimização da contaminação visando retirar ou ao menos imobilizar o rejeito, reduzir a liberação dos seus constituintes (ou de sua biodisponibilidade) de maneira gradual e lenta têm sido buscadas (BOTTINO *et al.*, 2017; HATJE *et al.*, 2017).

Uma das alternativas viáveis, e em adição sustentáveis, é o uso de plantas para fitorremediação (SALT; SMITH, 1998), técnica em que as plantas retiram os metais do solo e os armazena ou transforma, outras imobilizam estes componentes de forma que não são (ou são minimamente) captados por outros organismos ou transportados para outros locais, reduzindo efeitos negativos (SALT; SMITH, 1998; SOUSA SOARES *et al.*, 2001).

Além dos componentes químicos, atenção deve ser dada ao perfil nutricional e aos fatores físicos do rejeito de mineração proveniente da barragem do Fundão, apresentando desbalanço no conteúdo de nutrientes e perfil de compactação que dificulta o crescimento radicular. Portanto, as espécies vegetais a serem utilizadas devem não somente apresentar certo nível de tolerância ao excesso de alguns metais e à deficiência de outros nutrientes, mas também à impedância física.

Algumas plantas são capazes de sobreviver em ambientes estressantes, tais quais aqueles com presença de metais pesados, desbalanço nutricional e compactação, apresentando diversos mecanismos para tal (ALI; KHAN; SAJAD, 2013; MLECZEK *et al.*, 2017). No entanto, a introdução de espécies vegetais em um dado bioma não pode ser aleatória. A região afetada pelo acidente pertence à transição entre os biomas Cerrado e Mata Atlântica. Torna-se interessante, portanto, o uso de espécies arbóreas nativas de tais regiões, de perfis distintos entre si, inclusive quanto aos níveis de sucessão ecológica. Dessa forma, pode-se avaliar como espécies de diferentes perfis de sensibilidade reagem ao rejeito de mineração.

Em adição, existem tecnologias que podem atenuar o efeito do rejeito de mineração. A exemplificar, o uso de vermicomposto e de bactérias diazotróficas. Dado o aspecto do rejeito, ambos bioestimulantes adicionam ao perfil nutricional, podendo até mesmo levar ao equilíbrio aqueles nutrientes em excesso. O vermicomposto, ainda, ajuda na estrutura do solo, melhorando as características biológicas com sua aplicação. Por outro lado, as bactérias diazotróficas diminuem o tempo de mineralização dos nutrientes e atuam de forma conjunta ao crescimento vegetal (REIS, 2007).

Com tais considerações, objetivou-se investigar o crescimento de espécies arbóreas nativas sob o rejeito de mineração proveniente da barragem do Fundão, do vermicomposto como atenuante ou da inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio, para sua utilização em recuperação das áreas afetadas. As espécies nativas escolhidas de acordo com nível de sucessão ecológica e perfil de tolerância a metais, nutrição e/ou compactação foram: *Schinus terebinthifolius*, *Cedrela fissilis*, *Cariniana estrellensis* e *Hymenaea courbaril*. Hipotetizou-se que o uso dessas espécies poderia influenciar positivamente a dinâmica física e química do solo afetado pelo rejeito, potencializado pela inoculação bacteriana, e que o vermicomposto agiria como atenuante.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A MINERAÇÃO E SUAS CONSEQUÊNCIAS

2.1.1 A mineração

A indústria extrativista é classificada pela Classificação Nacional de Atividades Econômicas (CNAE) versão 2.0, como nas seguintes divisões: extração de carvão mineral, extração de petróleo e gás natural, extração de materiais metálicos, extração de materiais não metálicos, e atividades de apoio à extração de minerais (IBGE, 2015).

A extração de minerais é composta por um conjunto de etapas que objetivam obter minérios em sua forma bruta ou processada. Constitui-se pelas etapas de prospecção de potenciais jazidas, pesquisa sobre a viabilidade da implementação da mina, lavra (exploração, extração e transporte da rocha), beneficiamento (processamento da rocha para obter a substância de interesse) e o descomissionamento, ou seja, a desativação da mina quando esta é esgotada ou se torna inviável (THOMÉ; PASSINI, 2018). Um depósito mineral é denominado jazida quando viável, e a jazida em exploração é denominada mina.

Da extração da rocha obtém-se os subprodutos: minério, estéril e rejeito. O primeiro é o produto de interesse econômico, o segundo e o terceiro, respectivamente, os resíduos seco e úmido (THOMÉ; PASSINI, 2018). Especificamente:

O estéril consiste no material descartado diretamente na operação de lavra, sem ser processado na usina de beneficiamento. Já o rejeito corresponde à porção associada ao minério descartado durante e/ou após o processo de beneficiamento (ANM, 2020 – p. 4).

Quanto ao tipo de lavra, existem dois grandes grupos: lavra a céu aberto e lavra subterrânea. As lavras a céu aberto são implantadas quando as jazidas se encontram próximas à superfície. Assim, é feita a remoção de solo e escavação na superfície, onde ocorrerá a extração das rochas, geralmente até esgotamento (MILANEZ, 2017). Os principais tipos de lavras dessa categoria são: encostas, cavas, fatias e lavra por dissolução.

O método a céu aberto apresenta, dentre as vantagens, a utilização de equipamentos de grande porte que aumenta a produção, e a maior facilidade de escoamento. Dentre as desvantagens, pode-se citar a imobilização de grandes áreas superficiais, a influência do clima na produção e gastos com a recuperação ambiental, que são elevados em relação à lavra subterrânea.

Por outro lado, nas lavras subterrâneas, a extração das rochas ocorre no subsolo, sendo as jazidas mais profundas. Dentre alguns fatores adicionais em relação à mina a céu aberto, a mina subterrânea necessita de escoramento de teto, instalação de energia elétrica, sistema de ventilação, sinalização de emergência, bombeamento e drenagem de água. O minério é acessado através de poços verticais, denominados *shafts*. Os principais tipos de lavras dessa categoria são: abatimento, realces autoportantes e realces das encaixantes.

Lavras subterrâneas apresentam, dentre as vantagens, maior independência do clima, menores gastos com recuperação e movimentação do estéril. Dentre as desvantagens, pode-se citar o maior investimento em infraestrutura, maiores dispêndios com eletricidade e maior probabilidade de acidentes.

A escolha pelo tipo de lavra, além da profundidade da jazida, também deve considerar fatores como segurança, viabilidade econômica, estrutura geológica e aspectos ambientais. Não é incomum que, após algum tempo, prosseguir com a mina a céu aberto se torne inviável devido, por exemplo, a grandes profundidades a serem atingidas pela cava e sua angulação. Quando isso ocorre, a mina a céu aberto pode sofrer transição para subterrânea, criando, portanto, uma mina mista.

Em relação aos impactos ambientais, a lavra subterrânea se mostra mais segura, uma vez que, se bem executada, causa menores danos à superfície, além de ser possível utilizar os resíduos gerados como enchimento das próprias galerias da mina. Por outro lado, a lavra a céu aberto altera a topografia da região, leva ao desmatamento e alterações no perfil do solo, produz maior quantidade de estéril e poluição em geral (ALMEIDA JUNIOR, 2018; DE OLIVEIRA JÚNIOR, 2001).

A lavra, de forma geral, é constituída por processos que objetivam extrair o minério do local de origem e encaminhá-lo para o beneficiamento. Ocorre pela perfuração do terreno até a rocha, fragmentação da rocha originária em rochas menores e seu transporte para pilhas de deposição ou para as instalações de beneficiamento. O resíduo sólido resultante desse processo é denominado estéril.

Para a obtenção do minério, a rocha extraída passa pela etapa de beneficiamento, tornando-se matéria prima para a indústria. O material que não tem valor econômico é descartado como resíduo resultante do processo de beneficiamento, denominado rejeito. Os rejeitos são caracterizados pela presença de duas frações: uma líquida e uma sólida (ESPÓSITO, 2000).

A depender do processo de beneficiamento e do minério explorado, os rejeitos apresentam-se sob variadas características mineralógicas, geotécnicas e físico-químicas. Podem variar de arenosos não plásticos (granulares; geralmente constituídos por areias), até finos de alta plasticidade (lamas; geralmente constituídos por siltes e argilas) que apresentam difícil sedimentação e elevada compressibilidade (ESPÓSITO, 2000).

Ao final do beneficiamento do minério, com o processo de concentração, o rejeito encontra-se em forma de polpa, espessa e segregável. A polpa é a forma de concentração de rejeitos mais utilizada no Brasil, mas também é a mais suscetível a acidentes, por conter maiores quantidades de água (THOMÉ; PASSINI, 2018). A partir da diminuição da quantidade de água da polpa tem-se também a concentração do rejeito em rejeito espessado, rejeito em pasta e rejeito em torta (RIBEIRO, 2015).

Quanto mais concentrado o rejeito, ou seja, quanto mais água for retirada deste, maior o custo do processo. Essa água pode, no entanto, ser reintroduzida no processo produtivo. Destaca-se que rejeitos mais espessos apresentam menor potencial de liquefação, culminando em menor risco de acidentes envolvendo barragens (THOMÉ; PASSINI, 2018).

2.1.2 As formas de deposição de rejeitos

Um dos maiores desafios enfrentados pela Indústria Extrativa Mineral (IEM) é a deposição de resíduos. Os resíduos são oriundos das fases de lavra (resíduo sólido, denominado estéril) e de beneficiamento (resíduo úmido, denominado rejeito). Mais comumente, para a sua deposição são empregados, respectivamente, pilhas de estéril e barragens de rejeitos.

Pode-se realizar a deposição de rejeitos nas formas sob céu aberto, subterrânea ou subaquática (LOZANO, 2006). A forma a ser escolhida dependerá do tipo de lavra, das características geológicas e ambientais, fatores econômicos e da forma do rejeito (polpa, espessado, pasta, torta). Mais especificamente, as formas de deposição de rejeitos são:

- a) Céu aberto: lagoas e represas, aterros;
- b) Subterrâneas;
- c) Deposição de rejeitos espessados;
- d) Deposição a seco;
- e) Submarinas.

A deposição a céu aberto é a forma mais comum, inclusive no Brasil (LOZANO, 2006; VICK, 1999). As lagoas (de decantação) e represas, fazem uso de estruturas de contenção

chamadas barragens, para a retenção de água e deposição de rejeitos. São construídas em sua totalidade previamente ao início da descarga dos rejeitos. Lagoas e represas são geralmente empregadas para rejeitos em polpa, que possuem altas quantidades de água, permitindo que materiais sólidos sedimentem (VICK, 1999).

Ainda em relação à deposição a céu aberto, há o método de aterros, a exemplificar tem-se o aterro hidráulico (VICK, 1999). Diferem-se das estruturas convencionais de retenção de água ao passo que há construção de diques (alteamento) durante toda a vida útil do aterro. É o método mais comum de deposição de rejeitos (THOMÉ; PASSINI, 2018).

A deposição subterrânea ocorre utilizando uma mina subterrânea exaurida, onde há o enchimento das galerias subterrâneas com os rejeitos, geralmente misturados com outros resíduos e cimento. Também pode se ser feita em cavas de minas, exauridas ou concomitantemente a sua atividade, sem haver necessidade de construção de diques (VICK, 1999).

A deposição de rejeitos espessados se dá com a retirada de água até que a polpa apresente alta densidade (60%), podendo, então, serem depositados em forma de pilha cônica. No empilhamento a seco, água é retirada dos rejeitos em cerca de 50 a 30%, usando filtros a vácuo ou de pressão (VICK, 1999). O rejeito resultante, em relação aos outros tipos, tem comportamento mais próximo a de um sólido, podendo, então, ser empilhado (LOZANO, 2006; VICK, 1999).

A deposição subaquática ou submarina é pouco utilizada, uma vez que constitui o lançamento direto dos rejeitos em corpos d'água (LOZANO, 2006; VICK, 1999).

2.1.2.1 Aterros hidráulicos e as barragens de contenção

Os aterros hidráulicos constituem o método mais comum de deposição de rejeitos da IEM, sendo estes represados por barragens (THOMÉ; PASSINI, 2018). As barragens compõem uma das técnicas mais utilizadas pelas mineradoras para a contenção de rejeitos (DE SOUZA JÚNIOR; MOREIRA; HEINECK, 2018) e são, geralmente, construídas a partir de um aterro de solo argiloso e filtros de areia, constituindo o dique inicial, capaz de suportar a descarga de rejeitos por alguns anos (ZARDARI, 2010). Após algum tempo, a capacidade da barragem é atingida, mas pode ser aumentada por alteamentos. Essa técnica se mostra economicamente positiva à IEM, uma vez que o investimento é feito em menores parcelas ao longo do tempo (THOMÉ; PASSINI, 2018).

Os métodos construtivos de alteamento são: a montante, a jusante e linha de centro (ABNT, 2007). Para a escolha do tipo de alteamento a ser empregado, devem ser considerados aspectos do ambiente em que a barragem está inserida (geologia, hidrologia, topografia, características do subsolo), somados às características da deposição do rejeito (velocidade, variação da capacidade, altura) e do rejeito em si (granulometria, concentração) (SOARES, 2010).

Além disso, cada um dos métodos de alteamento possui suas vantagens e desvantagens intrínsecas. O método a montante possui o menor custo de investimento, enquanto se constitui como sendo o mais instável; o alteamento a jusante é o mais seguro, no entanto apresenta maior custo; a linha de centro apresenta variação do volume de *underflow* (partículas mais grossas e densas que saem pela parte inferior do ciclone), porém maior tempo e quantidade de compactação (DE SOUZA JÚNIOR; MOREIRA; HEINECK, 2018).

O método de alteamento a jusante é caracterizado pelo deslocamento do eixo da barragem em direção a jusante (*downstream*). Quanto ao processo, há a construção de um dique de partida impermeável, também sendo impermeabilizado o talude interno (LOZANO, 2006). Ainda, segundo Lozano (2006), “Os rejeitos são aciclonados e o *underflow* é lançado no talude de jusante. Somente são usados os rejeitos grossos no alteamento...”.

Em relação ao alteamento por linha de centro, tem-se, inicialmente, a construção de um dique de partida, e os rejeitos são lançados perifericamente da crista do dique, formando uma praia. Alteamentos subsequentes são construídos ao lançar materiais de empréstimo na praia e a jusante do alteamento anterior. Dessa forma, o eixo da barragem é mantido. Quando comparado ao método a montante, o de linha de centro expressa redução das tensões de tração (VICK, 1999).

O método de alteamento a montante é caracterizado pelo deslocamento do eixo da barragem em direção a montante (*upstream*) (VICK, 1999). É o método mais amplamente utilizado, no entanto, é crítico quanto a segurança, principalmente devido aos fenômenos de liquefação dos rejeitos e de entubamento, sendo este último a capacidade da água em percorrer áreas do talude até a montante da barragem, havendo enfraquecimento desta.

Ainda, no método a montante os diques são construídos sobre os próprios rejeitos anteriormente depositados que, em condição saturada, podem exibir baixa resistência ao cisalhamento e, portanto, estarem altamente sujeitos à liquefação por carregamentos dinâmicos e estáticos (SOARES, 2010; VICK, 1999).

Em relação à resistência mecânica nos rejeitos com sólidos finos, é importante destacar que existem a resistência ao fluxo (tensão de cisalhamento) e a resistência à compressão (tensão de cedência compressiva), sendo que há aumento em ambas conforme o aumento da proporção de conteúdo sólido, possibilitando aos rejeitos atingir a estabilidade em menor tempo (NGUYEN; BOGER, 1998).

Para manter o bom funcionamento da barragem a montante, portanto, algumas medidas preventivas e de boas práticas devem ser mantidas, como o assessoramento contínuo dos níveis de água, emprego de sistemas de drenagem eficientes e mitigação de processos erosivos devido à chuva com, por exemplo, uso de cobertura vegetal (THOMÉ; PASSINI, 2018).

Vale ressaltar que a construção de barragens a montante é proibida em alguns países, estes que apresentam atividade sísmológica. Deve ser descartada a sua instalação em regiões que passam por vibrações e tremores, mesmo provocados por maquinaria, pois esses são gatilhos para a liquefação (LOZANO, 2006; THOMÉ; PASSINI, 2018; VICK, 1999).

De forma geral, as causas dos acidentes envolvendo a ruptura das barragens de rejeitos estão associadas aos fatores climáticos e meteorológicos, instabilidade do talude, falta de fundação, infiltração de água, *overtopping*, má gestão e terremotos (AZAM; LI, 2010; ICOLD, 2001; RICO *et al.*, 2008). As barragens são divididas em três classes de acordo com o potencial de dano ambiental, sendo elas (FEAM, 2014):

- a) classe I: potencial baixo, auditadas a cada três anos;
- b) classe II: potencial médio, auditadas a cada dois anos;
- c) classe III: potencial alto, auditadas anualmente.

É imprescindível destacar que desde 2001, no estado de Minas Gerais, todos os acidentes com estruturas de contenção envolveram barragens construídas pelo método a montante (THOMÉ; PASSINI, 2018), método que está empregado em 76% das falhas de barragens no mundo (RICO *et al.*, 2008).

No Brasil, as instituições de licenciamento, monitoramento e controle ambiental não têm conseguido desempenhar seu papel de forma eficaz, não sendo capazes de evitar os impactos provocados por estruturas de contenção de rejeitos. Havia, em 2018, 839 barragens de rejeitos registradas, destas 26,58% apresentavam alto dano potencial (ANA, 2018).

Pode-se dizer que há um retrocesso na legislação ambiental, sendo fundado pelo alinhamento entre políticas públicas e a indústria (PASSOS; COELHO; DIAS, 2017). A exemplificar o retrocesso, enquanto a NBR 13028 de 2017 apenas pede atenção especial às

barragens a montante nas fases críticas de projeto, construção, operação e desativação, a mesma (ABNT, 1993), recomendava a não utilização desse tipo de estrutura.

2.1.2.2 Liquefação

Como destacado anteriormente, os aterros hidráulicos de deposição de rejeitos associados a estruturas de contenção estão sujeitos ao fenômeno de liquefação. Este fenômeno está ligado à perda de resistência dos rejeitos saturados durante o processo de cisalhamento, ocorrendo em um tempo curto e sendo suficiente para levar a uma ruptura. Gatilhos para tal podem ser de natureza dinâmica ou por carregamento estático (CASTRO, 1969; JEFFERIES; BEEN, 2016; POULOS, 1985).

A liquefação dinâmica ocorre por atividades sísmicas, detonações e vibrações por maquinaria (SLADEN; D'HOLLANDER; KRAHN, 1985). Em rejeitos compressíveis, esses gatilhos levam à redução da tensão efetiva, gerando instabilidade e deformações, até eventual colapso (SILVA, 2010). Por outro lado, a liquefação por carregamentos estáticos ocorre por conta da redução da resistência em materiais arenosos quando não drenados (TERZAGHI; PECK; MESRI, 1996), quando há aumento nos níveis de água ou quando são realizados alteamentos sucessivos em curto espaço de tempo (DAVIES, 2002).

A liquefação estática apresenta maior probabilidade em rejeitos arenosos finos com baixa plasticidade, pois a drenagem destes é mais difícil (CASAGRANDE, 1976). Em areias com altos índices de vazios, há aumento na poropressão à medida que há redução significativa da sua resistência ao cisalhamento, fazendo com que a massa tenda a fluir (CASAGRANDE, 1936).

Devido ao beneficiamento, os rejeitos provenientes da exploração do minério de ferro são cada vez mais finos e apresentam pouquíssima plasticidade. Isso, somado à forma de deposição dos rejeitos da extração de ferro, que são, quase em sua totalidade, em forma de aterros hidráulicos por barragens a montante, caracterizados por baixa densidade relativa e elevada saturação, implicam na susceptibilidade a acidentes dessas estruturas (PEREIRA, 2005).

A destacar, em relação às rupturas de barragens de contenção de rejeitos de aterros hidráulicos, a liquefação por carregamento estático tem sido um fator determinante (ICOLD, 2001; PEIXOTO, 2012).

2.1.3 Impactos da mineração

A mineração apresenta-se como uma das bases para o desenvolvimento tecnológico e industrial de nossa sociedade. Sua matéria-prima é amplamente utilizada em diversas indústrias de bens de consumo, principalmente na siderurgia, e de insumos agrícolas.

No cenário nacional de 2013, a Indústria Extrativa Mineral (IEM; sem petróleo e gás natural), contribuiu em 5,8% para a indústria e 1,2% para o PIB, sendo que a produção se concentrou nos minerais metálicos (68%) e não metálicos (30%) (IBRAM, 2015). Em 2011, a representatividade da IEM (sem petróleo e gás natural) no valor adicionado dos estados foi de 27% para o Pará, 16% para o Espírito Santo e 8% para Minas Gerais, constituindo os três estados com maior representatividade (IBRAM, 2015).

Em 2020, apenas no segundo semestre, o saldo da IEM correspondeu a cerca de 33% do saldo brasileiro (total US\$ 18 bilhões). As exportações do setor totalizaram aproximadamente 14% das exportações nacionais (IBRAM, 2021).

Minas Gerais apresenta a maior concentração de minas do mundo, estipula-se que sejam movimentados em torno de 450 milhões de toneladas de minério nas diversas minas do território (PINHEIRO *et al.*, 2008 p. 102 *apud* PASSOS; COELHO; DIAS, 2017). Ainda segundo dados do IBRAM, de 2015, no estado de Minas Gerais, responsável por 44% do valor gerado pela IEM (sem petróleo e gás natural) no Brasil em 2011, a produção se concentra nos minerais metálicos (90%), com destaque para o minério de ferro.

A IEM supracitada é responsável por 24,4% de toda a Indústria e 8% de todo o PIB. É notável, portanto, o protagonismo do estado de Minas Gerais perante a produção nacional. Isso não apenas quanto ao minério de ferro (66%), mas também zinco (100%), ouro (45%), fosfatos (57%) e calcário (27%) (IBRAM, 2015).

Especificamente quanto à exploração de ferro, o Brasil produz 18,7% do minério de ferro mundial (USGS, 2020), sendo Minas Gerais responsável por aproximadamente 66% da produção nacional (IBRAM, 2015), além de arrecadar em torno de 43% da Compensação Financeira por Exploração de Recursos Naturais (CFEM) nacional (PASSOS; COELHO; DIAS, 2017).

Apesar da importância econômica – e até social – da atividade mineradora, grandes debates podem surgir a partir da análise dos impactos socioambientais promovidos ou potenciais. Enquanto a indústria defende que tais impactos são simples, pontuais, restritos ao tempo de atividade da mina e, além, só ocorrem a partir de más práticas ou de uma má gestão,

não sendo, portanto, um efeito inerente à extração mineral, especialistas defendem que os impactos da mineração são complexos, espacialmente ilimitados e temporalmente irrestritos (MILANEZ, 2017).

Os municípios em que as mineradoras se instalam recebem *royalties* como forma de compensação dos impactos (PASSOS; COELHO; DIAS, 2017). Segundo os autores, é comum que grandes mineradoras financiem campanhas eleitorais e, além, “é comum notar que atividades minerárias (mesmo colocando em risco a sociedade e o meio ambiente) são legitimadas pelo poder público e garantidas pela flexibilização de leis e licenças ambientais”.

Ainda:

A exploração do trabalho, as demissões de trabalhadores e a exploração das minas aumentam enquanto a arrecadação municipal diminui. A partir da pressão das mineradoras que visam ao aumento do lucro, licenças ambientais são flexibilizadas, novas minas são licenciadas, e o poder público age em conjunto com os empreendedores, reforçando o discurso da dependência econômica com o setor (PASSOS; COELHO; DIAS, 2017 – p. 276).

Os discursos apresentados anteriormente demonstram que não há total independência entre o poder público e o privado. Ainda, a relação entre ambos pode ser prejudicial não somente, mas principalmente, às comunidades que recebem as mineradoras.

Além dos aspectos sociais, tem-se uma constante preocupação com os impactos negativos que a mineração pode causar ao meio ambiente, uma vez que os resíduos gerados por esta atividade possuem alta concentração de diferentes metais pesados. Gudynas (2015) compara os impactos da mineração a uma “amputação ecológica”, em que há modificação da paisagem, e com ela a função ecológica – flora, fauna, microclima e regime hidrológico.

No Brasil, o primeiro reconhecimento dos impactos ambientais provenientes da mineração ocorreu apenas em 1988, com a Constituição Federal, caracterizando a atividade mineradora como agressiva ao meio ambiente. O Zoneamento Ecológico-Econômico (ZEE), regulamentado pelo decreto nº 4.297 de 2002 (BRASIL, 2002), indica que a mineração está presente em cinco de dez dos municípios de Minas Gerais classificados como apresentando baixa qualidade ambiental, atribuindo à mineração o caráter de geradora de graves impactos ambientais. Ainda em relação ao estado de Minas Gerais, o Cadastro de Minas Paralisadas e Abandonadas de 2016 (FEAM, 2016), listou 169 minas abandonadas e 134 paralisadas sem o devido controle ambiental.

Os recursos hídricos podem ser afetados pela mineração quanto ao alto consumo de água, rebaixamento do lençol freático, comprometimento da recarga de aquíferos, e o risco de

contaminação dos corpos d'água. Muitas vezes se faz necessária a retirada de águas subterrâneas para acessar o minério, podendo reduzir a qualidade e quantidade da água superficial e subterrânea, além de alterar o fluxo dos rios (ELAW, 2010), podendo comprometer bacias hidrográficas inteiras.

Áreas de canga são afloramentos ferruginosos, comuns no estado de Minas Gerais, geralmente caracterizados por platôs de alta porosidade de elevada concentração de espécies endêmicas e responsáveis pela recarga de aquíferos. A retirada da camada superficial de cangas para o acesso às jazidas leva à redução da biodiversidade regional e da recarga de aquíferos (MILANEZ, 2017).

Com a contaminação de recursos hídricos pode haver alteração do pH. A redução do pH aumenta a solubilização de metais presentes no contaminante, o que, geralmente, ocorre com o rompimento de barragens de contenção de rejeitos. Essas barragens, quando se rompem, levam à contaminação e assoreamento de rios – que elevam a mortalidade de peixes e podem interromper o abastecimento público – além da destruição da mata ciliar.

A contaminação de ecossistemas aquáticos e terrestres com os rejeitos provoca redução na densidade e diversidade da maioria dos seres vivos, isso porque os diferentes metais pesados constituintes desse rejeito podem se ligar a diferentes compartimentos celulares, inativando enzimas e, conseqüentemente, causando a morte dos seres vivos. Além disso, os metais acumulam-se ao longo da cadeia alimentar, processo denominado biomagnificação, causando prejuízos à saúde humana (GEETS *et al.*, 2007).

Acidentes envolvendo a ruptura de estruturas de contenção de rejeitos provenientes de mineração afetam o mundo todo. Só nos Estados Unidos da América, entre os anos de 1917 e 1989, foram registrados 185 acidentes envolvendo barragens de contenção de rejeitos (USCOLD, 1994). Ao redor do mundo, pode-se citar:

- a) Chile, em 1965, muitas barragens de El Cobre se romperam devido a um terremoto (DE SOUZA JÚNIOR; MOREIRA; HEINECK, 2018);
- b) África do sul, em 1994, o rompimento da barragem em Merriespruit ocorreu após uma tempestade e liberou 600000 m³ de rejeitos da exploração de ouro (DAVIES, 2002; FOURIE; BLIGHT; PAPAGEORGIOU, 2002);
- c) Espanha, em 1998, o rompimento de uma barragem em Aznalcóllar liberou 5,5 milhões de metros cúbicos de lama ácida (ALASTUEY *et al.*, 1999; RICO *et al.*, 2008)

d) România, em 2000, houve dois acidentes – um em Baia Mare e outro em Baia Borsa. O primeiro levou à liberação de água contaminada com cianeto e o último, rejeitos contaminados com metais pesados (LÁSZLÓ, 2006);

e) Hungria, em 2010, foram liberados 700000 metros cúbicos de lama vermelha contendo alumínio (GARCÍA-CARMONA *et al.*, 2019; MAYES *et al.*, 2011).

No Brasil, só em 1997, ocorreram 39 acidentes fatais de trabalho envolvendo a Indústria Extrativa, dos quais 22 eram relacionados à extração de minerais não-metálicos e 10 à extração de minerais metálicos (CHAVES *et al.*, 2001). A extração de minério e a exploração de petróleo parecem ser os agentes majoritários em acidentes relacionados à IEM no Brasil. Aqueles envolvendo barragens de contenção de rejeitos aumentaram com o pós *boom* da atividade extrativista minerária (MILANEZ, 2017).

Em Minas Gerais, todos os acidentes de alto impacto envolvendo barragens de contenção de rejeitos de mineração, desde 2001, estiveram relacionados ao método a montante de alteamento (THOMÉ; PASSINI, 2018). Foram diversos acidentes no estado entre 1986 e 2014, a destacar:

- a) 1986: o rompimento da barragem de rejeitos da Mina de Fernandinho, em Itabirito-MG, levou à morte de 7 pessoas (THOMÉ; RIBEIRO, 2019);
- b) 2001: o rompimento de uma barragem de mineração localizada em Sebastião de Águas Claras, distrito de Nova Lima-MG, matou 5 operários, assoreou 6km do leito do córrego Taquaras e impactou 43ha de vegetação (THOMÉ; RIBEIRO, 2019);
- c) 2007: a ruptura de uma barragem em Mirai-MG atingiu 4 mil moradores e 1200 casas (THOMÉ; RIBEIRO, 2019);
- d) 2014: operários mineiros que realizavam a manutenção no talude de uma barragem de rejeitos desativada da Herculano Mineração, em Itabirito, foram soterrados depois do seu rompimento (TOLEDO; RIBEIRO; THOMÉ, 2016).

Como foco do presente estudo, em novembro de 2015, ocorreu o rompimento da barragem do Fundão, pertencente à mineradora Samarco. Isso levou à liberação, no meio ambiente, de 50 milhões de m³ de rejeito proveniente da produção de ferro.

Mais recentemente, em 25 de janeiro de 2019, ocorreu o rompimento da barragem da mina Córrego do Feijão, em Brumadinho. O rompimento liberou 11,7 milhões de m³ de rejeito de mineração, sendo um dos maiores desastres ambientais e o maior acidente de trabalho no Brasil, em perda de vidas humanas (OLIVEIRA; ROHLFS; GARCIA, 2019).

2.2 A SAMARCO E A BARRAGEM DO FUNDÃO

Em 05 de novembro de 2015, ocorreu o rompimento da barragem do Fundão, da Samarco S.A., lançando aproximadamente 50 milhões de m³ de rejeitos provenientes da exploração de minério de ferro na bacia do Rio Doce, nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo (IBAMA, 2015). Os rejeitos eram compostos por, principalmente, sílica e óxidos de ferro, que atingiram 663 km de corpos d'água e 1469 ha de vegetação (IBAMA, 2015).

Esse acidente ganhou grande repercussão devido ao grande impacto que causou à população da região. O derramamento da lama afetou agricultura, pesca, impactando na economia, no dia a dia e, até mesmo, no psicológico de várias vítimas.

Deve-se ressaltar, ainda, os impactos gerados aos ecossistemas (aquáticos e terrestres), devido ao alto potencial poluidor da lama proveniente da atividade de produção de pelotas de ferro. Causou redução da biodiversidade, problemas de abastecimento de água, contaminação do solo e morte de peixes, sendo considerado o maior desastre ambiental no Brasil.

A Barragem do Fundão, que se rompeu, era caracterizada como aterro hidráulico com barramento alteado predominantemente a montante, para a contenção dos rejeitos gerados da exploração do minério de ferro (ALVES, 2015; MORGENSTERN *et al.*, 2016). Segundo o Relatório do Ministério do Trabalho, o rompimento da Barragem do Fundão foi “multicausal”, foram ignoradas irregularidades, além de haver “falhas graves na construção, manutenção e operação” da barragem. Sobre a evolução do acidente, afirmam

O rompimento iniciou-se por volta das 15:45h próximo à ombreira esquerda, no pé do talude do recuo do eixo do dique 1, apoiado no platô de elevação 860m, em dinâmica consistente com o fenômeno de liquefação. [...] Houve movimentação do talude e dos rejeitos armazenados, com levantamento de poeira [...] todo o talude movimentando-se sobre o platô ao mesmo tempo que desmoronava. (MINISTÉRIO DO TRABALHO E PREVIDÊNCIA SOCIAL, 2019 – p. 11).

Ainda no mesmo relatório, sobre o rompimento: “Os rejeitos formaram uma onda de lama que desceu o vale a jusante e galgou a Barragem de Santarém [...] contendo a lama por tempo suficiente para que a comunidade de Bento Rodrigues fosse informalmente avisada”. O relatório ainda aponta os problemas construtivos pelos quais a Barragem do Fundão passou ao longo dos anos, apresentando os prejuízos estruturais, aparição de *sinkhole*, acúmulo de água junto à grotta da Pilha de Estéril da União (Vale S.A.) e problemas na drenagem, por exemplo.

A Barragem do Fundão, protagonista do acidente em questão, pertence à Samarco Mineração S.A, uma *joint venture* entre a australiana BHP Billiton, por meio de sua subsidiária BHP Billiton Brasil Ltda., e a brasileira Vale S.A., cada uma com participação de 50% (JUSTIÇA GLOBAL, 2016; POEMAS, 2015). Fundada em 1977, seu principal produto são pelotas de ferro.

A produção possui caráter exportador: em 2014 ocupou a 10ª posição no *ranking* mundial de exportação de pelotas de ferro (JUSTIÇA GLOBAL, 2016). Em relação ao caráter socioambiental, consta que foi a Samarco a primeira mineradora a obter a certificação em gestão ambiental ISO 14001 para todas as etapas de produção (JUSTIÇA GLOBAL, 2016).

Quanto à sua operação, se dá em “um sistema integrado em Minas Gerais e Espírito Santo formado por duas minas, três usinas de beneficiamento, três minerodutos, quatro usinas de pelotização e um porto” (JUSTIÇA GLOBAL, 2016). Ainda, com as estruturas de deposição e contenção de rejeitos: as barragens de Germano, Santarém e Fundão, e a cava exaurida de Germano, no Complexo de Germano (ou Alegria), localizado nos municípios de Mariana e Ouro Preto, Minas Gerais (POEMAS, 2015).

O Complexo de Germano é constituído por três cavas a céu aberto principais (ROCHA, 2008), cujas reservas de ferro são da ordem de 2.909,7 milhões de toneladas (VALE, 2016). Em 2013 e 2014 foram extraídos, respectivamente 40,9 Mt. e 50,8 Mt do minério de ferro (BRASIL MINERAL, 2015).

Vale ressaltar que, vizinho ao Complexo do Germano, se encontra o Complexo de Mariana, que comporta minas e estruturas de deposição de rejeitos da Vale S.A, nos municípios de Mariana, Ouro Preto e Catas Altas, em Minas Gerais. É composto pelas minas Alegria, Fábrica Nova, Fazendão e Timbopeba. Quando do acidente em 2015, parte do rejeito proveniente da Mina da Alegria, da parte da Vale, também era depositado na Barragem do Fundão (G1, 2015b). Ainda:

Algumas das minas do complexo possuem barragens próprias, como no caso da mina Alegria, da Vale, mas todas as minas desta área e a usina da Samarco direcionam parcial ou integralmente os rejeitos úmidos para as três grandes barragens do complexo: Germano, Santarém e Fundão, todas classificadas pela Fundação Estadual do Meio Ambiente como Classe III (alto potencial de dano ambiental) (Relatório Justiça Global, 2016 – p. 6).

No pós-*boom* das *commodities* minerais, com a diminuição dos preços dos minérios, as empresas se deparam com a necessidade de produzir mais (POEMAS, 2015; WANDERLEY,

2017). Tendo isso em vista, o último projeto de expansão elevou a capacidade produtiva da Samarco em 37% e “o lucro líquido foi de R\$ 2,73 bilhões (2013) para R\$ 2,81 bilhões (2014)” (POEMAS, 2015). Assim, o aumento da exploração mineral intensificou também a geração de resíduos, aumentando o uso de recursos naturais e a dependência das barragens usadas para a deposição de rejeitos. Ainda quanto à Barragem do Fundão:

O processo de licenciamento ambiental referente à barragem de Fundão se iniciou em 2005, [...] se encontrava em processo de renovação no dia do rompimento. **O EIA-RIMA da barragem possui sérios problemas técnicos**, o que impossibilitou a previsão da catástrofe provocada pelo rompimento da barragem e agravou os impactos sobre as comunidades vizinhas, majoritariamente negras. Fundão era a única das três alternativas locais que produzia impactos e efeitos cumulativos diretos sobre as barragens do Germano e Santarém, podendo gerar um efeito dominó no rompimento, além de ser a opção que drena em direção à comunidade de Bento Rodrigues, ampliando ainda mais a condição de risco socioambiental. A escolha por esta opção foi, portanto, econômica, aproveitando-se do sistema de barragens do Germano-Santarém em funcionamento e diminuindo os custos da obra. Ainda, a análise de risco do EIA classificou a possibilidade de rompimento da barragem no grau mais baixo, "IMPROVÁVEL", desconsiderando o histórico de repetidos rompimentos em Minas Gerais, no Brasil e no mundo (POEMAS, 2015 – p. 9, grifo próprio).

Além disso, é sabido que a Samarco pretendia realizar a unificação das barragens do Germano e do Fundão, formando uma única estrutura e reativando a, até então desativada, Germano, sendo que a Licença Prévia e de Instalação para tal foi concedida em junho de 2015 (POEMAS, 2015). Por outro lado, os resultados das investigações da Polícia Federal, em junho de 2016, demonstraram que a empresa Samarco já sabia dos riscos do rompimento da barragem do Fundão antes do desastre (PASSOS; COELHO; DIAS, 2017).

É o que corrobora um laudo realizado pelo Ministério Público em relação à Barragem do Fundão, “Recomenda-se uma análise de ruptura (*DAM-Break*), que estava prevista para ser entregue à SUPRAM em julho de 2007” (INSTITUTO PRÍSTINO, 2013). O laudo adiciona que foi constatado que havia sobreposição entre a Barragem do Fundão e a Pilha de Estéril União “situação não recomendada para ambas as estruturas devido à possibilidade de desestabilização do maciço da pilha e da potencialização de processos erosivos”, por suas distintas características quanto drenagem e umidade (INSTITUTO PRÍSTINO, 2013).

Em suma, a possibilidade de ruptura da Barragem do Fundão não era, ou não deveria ser, uma surpresa à Samarco. A mineradora deve pagar uma caução socioambiental de R\$ 1 bilhão

(EXAME, 2020; G1, 2015a, 2020), porém ninguém foi condenado pela tragédia (ESTADO DE MINAS, 2019).

Vale ressaltar que, até 2019, empresa não havia pagado nenhuma multa aplicada pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama) (G1, 2019a, b), e que as ações para mitigação do desastre na região afetada estão sendo realizadas pela Fundação RENOVA (RENOVA, 2021), porém ainda longe de um final feliz (IBAMA, 2019).

2.2.1 O Quadrilátero Ferrífero e o rejeito da Barragem do Fundão

É importante, ao tratar do rejeito proveniente da Barragem do Fundão, ressaltar-se as características geológicas e mineralógicas da região. O Complexo do Germano está localizado no Quadrilátero Ferrífero, região centro-sul do estado de Minas Gerais que comporta uma área de 7000km² e que possui, caracteristicamente, riquezas minerais, principalmente quanto ao ferro (principalmente em hematita) e, potencialmente, manganês. Dessa forma, o solo da região já apresenta naturalmente alto conteúdo desses minerais, proveniente, principalmente, do itabirito (CARVALHO-FILHO, 2008; PEREIRA, 2005).

Segundo estudos de Carvalho-Filho (2008), os solos típicos da região são avermelhados, granulares, com a predominância do silte sobre a argila e densidade de partículas acima de 3,0 g cm⁻³. De forma geral, ainda segundo o autor, o solo apresenta-se com baixo potencial nutricional devido a pH superiores a 5, soma dos cátions básicos do complexo de troca extremamente baixa (menor que 0,4 cmol_c kg⁻¹), quase inexistência de Al trocável e saturação por bases inferiores a 50%. Por fim, encontrou teores elevados de ferro (até 774 g kg⁻¹ de Fe₂O₃), MnO, TiO₂ e P₂O₅ (CARVALHO-FILHO, 2008).

Vale ressaltar que o Quadrilátero Ferrífero é uma região complexa não somente quanto a sua geologia, mas também quanto a sua biodiversidade, encontrando-se na confluência entre dois importantes biomas: a mata atlântica e o cerrado; ainda estando entre duas das bacias hidrográficas mais importantes nacionalmente: a bacia do rio São Francisco e a bacia do rio Doce (CARVALHO-FILHO, 2008; SEDRU, 2016; SILVA *et al.*, 2016).

2.2.2 Os rejeitos da mineração de ferro

Os rejeitos de granulometria fina são denominados lama, e os de granulometria grossa (acima de 0,074 mm) são denominados rejeitos granulares ou arenosos (ESPÓSITO, 2000). A granulometria dos rejeitos da exploração do minério de ferro apresenta-se entre areias finas e siltes (PEREIRA, 2005). Quanto ao rejeito depositado na barragem do Fundão, era composto por, em média, 30% de lama e 70% de rejeitos granulares (ÁVILA; SAWAYA, 2011; SUPRAM, 2008).

Os rejeitos granulares provenientes da exploração do minério de ferro não apresentam plasticidade e têm sua massa específica altamente influenciada pelo teor de ferro no próprio rejeito. Enquanto a massa específica da hematita é em torno de $5,25 \text{ g cm}^{-3}$ e a do quartzo $2,65 \text{ g cm}^{-3}$, os rejeitos em questão podem chegar a 5 g cm^{-3} (PEREIRA, 2005).

A massa específica dos grãos é proporcional ao teor de ferro no rejeito, estando entre 2,8 e $5,0 \text{ g cm}^{-3}$ (ESPÓSITO, 2000; PEREIRA, 2005; PRESOTTI, 2002). Por exemplo, os rejeitos depositados na Barragem do Germano apresentavam teor de ferro em torno de 14,2% e massa específica dos grãos em $2,91 \text{ g cm}^{-3}$ (PEREIRA, 2001). Os diferentes rejeitos provenientes dos distintos processos de beneficiamento das minas localizadas na região do Quadrilátero Ferrífero apresentam em sua composição química a predominância de Fe e SiO_2 e, em menor proporção, AlO_3 , sendo os teores justificados pela rocha de origem, o itabirito (PEREIRA, 2005).

Não obstante, a distribuição granulométrica dos rejeitos estudados por Pereira (2005) na barragem de Germano, pertencente ao mesmo Complexo que a barragem do Fundão, apresentou-se predominantemente composta por areias finas e frações siltosas. O autor ainda observou haver relação entre o teor de ferro e a susceptibilidade à liquefação dos rejeitos: a redução do teor de ferro presente no rejeito resultou em variações significativas dos valores limites dos índices de vazios, basicamente levando a um rearranjo e redistribuição estrutural das partículas em condições de laboratório.

2.2.3 Características físico-químicas, mineralógicas e microbiológicas do rejeito da Barragem do Fundão

As características físicas de um determinado substrato são extremamente importantes ao considerar seu uso para qualquer finalidade. Isso não é diferente para o caso de se implementar

medidas de mitigação ao estresse proporcionado pela liberação de rejeitos de mineração. Vale ressaltar que tanto o tamanho dos sólidos quanto a quantidade de argila nos rejeitos controlam os índices de vazão *in situ*. Em rejeitos finos e/ou lamas de argila, estes índices são altos e, portanto, há uma alta probabilidade de compressão e adensamento.

No caso do rejeito extravasado da barragem do Fundão, com o passar dos anos, a sua característica física geral de adensamento quando seco tornou-se o problema maior em relação à presença de metais ou outras características químicas. Apesar das variações entre as proporções de areia, silte e argila entre diferentes estudos, uma conclusão geral foi sobre a característica densa do rejeito proveniente do acidente da mineradora Samarco, apresentado partículas finas (0 – 200 μm), sendo areia o componente principal e havendo baixas quantidades de matéria orgânica e argila (ANDRADE *et al.*, 2018; CRUZ *et al.*, 2020; ESTEVES; BRESSANIN; *et al.*, 2020; SEDRU, 2016; SEGURA *et al.*, 2016).

Estudos de Segura *et al.* (2016) revelaram que o rejeito seco apresenta textura similar ao cimento, sendo particularmente denso, formado por partículas arenosas e finas (de 1 a 200 μm de diâmetro). Ao analisar os rejeitos liberados com o rompimento da Barragem do Fundão, a Embrapa Solos verificou que o material depositado apresenta homogeneidade granulométrica, com elevados teores de areia fina e silte. Os teores de argila são baixos (aproximadamente 10%), havendo baixa capacidade de troca catiônica, indícios de baixa fertilidade do solo impactado. Quanto à composição mineralógica, foram encontrados, predominantemente, goethita, caulinita, quartzo, hematita e gibsita. A fração areia apresentou quartzo e fragmentos de concreções ferruginosas (EMBRAPA SOLOS, 2015; SILVA *et al.*, 2016).

Tendo em vista a composição granulométrica e mineralógica, o adensamento das partículas e o selamento superficial, quando o rejeito se encontra seco, são bastante elevados, agindo como barreira física de alta intensidade (concreções ferruginosas) e baixa porosidade. Dessa forma, percebe-se que o principal desafio está relacionado à qualidade física do rejeito, que é instável e siltoarenoso (EMBRAPA SOLOS, 2015; SCHAEFER *et al.*, 2015).

O impedimento físico descrito acima se intensifica devido à alta concentração de ferro, impedindo o crescimento radicular, estagnando a capacidade de reflorestamento e reaproveitamento agrícola de muitas parcelas da área afetada. Entretanto, ainda que concreções ferruginosas se formem na superfície, a parte inferior da lama se mantém como material não consolidado, sujeito a erosão (EMBRAPA SOLOS, 2015; POEMAS, 2015; SCHAEFER *et al.*, 2015).

Adicionalmente, verificou-se as altas densidades do rejeito, que se encontra entre 0.94 e 2.38 g cm⁻³, apresentando assentamento e selamento do solo. Encontrou densidades de superfície entre 1.41 g cm⁻³ e 1.54 g cm⁻³ para o rejeito enterrado. Em média, a densidade de partícula de superfície foi maior que 2.75 g cm⁻³ e a de material enterrado, 2.80 g cm⁻³. Adiciona-se que a CTC é muito baixa, sendo o rejeito quase desprovido de carga, característica típica de materiais oxídicos muito intemperizados, além de solos e materiais de canga do Quadrilátero Ferrífero (SCHAEFER *et al.*, 2015).

Ainda dentre estudos, houve variação nas características do rejeito quanto ao pH (em geral de 6 – 7.8), presença e concentração de metais pesados e de macro e micronutrientes (ANDRADE *et al.*, 2018; CRUZ *et al.*, 2020; ESTEVES; BRESSANIN; *et al.*, 2020; SEDRU, 2016; SEGURA *et al.*, 2016). De forma geral, o rejeito empobrece significativamente o substrato a que se misturou quanto à presença ou disponibilidade de macro e micronutrientes. Além disso, pode apresentar quantidades acima do permitido pelas diretrizes brasileiras para manganês e ferro, principalmente, mas isso também pode estar relacionado às características do solo do Quadrilátero Ferrífero de Minas Gerais em si (CAIRES, 2009; CARVALHO-FILHO, 2008).

As informações disponíveis sobre as propriedades microbiológicas e biológicas (por exemplo, enzimas do solo, contagens microbianas e da microfauna) do rejeito de mineração proveniente da barragem do Fundão ainda são limitadas. É importante salientar que esses também são considerados indicadores da fertilidade do solo e desempenham um papel vital no crescimento vegetal (ESTEVES; DE SOUZA *et al.*, 2020; MISHRA; PANDEY, 2018).

O número de unidades formadoras de colônias de bactérias e fungos cultiváveis entre diferentes amostras do rejeito da mineradora Samarco e de solo foi estudado (SEGURA *et al.*, 2016). Os autores não encontraram diferenças estatisticamente significativas entre as amostras de solo e rejeito, mas observaram que, de forma geral, o rejeito favoreceu o crescimento microbiológico. Ainda, atribuíram esse marco à possibilidade da retenção de umidade pelo rejeito.

2.3 RECUPERAÇÃO DE AMBIENTES DEGRADADOS

2.3.1 Remediação

Existem diversas técnicas de remediação que podem ser *in situ* ou *ex situ*, ou seja, no local contaminado ou em outra localidade. A exemplificar: tratamento e bombeamento, remoção multifásica, oxidação química, retirada de vapores do solo, aplicação de barreiras, imobilização de metais, lavagem de solo (*soil washing* e *soil flushing*), solidificação e estabilização, e vitrificação (SINGH, SIMRANJEET *et al.*, 2020).

No entanto, a maioria dessas tecnologias são caras, sendo performadas *ex situ* (elevando custos com maquinaria e transporte). Quando *in situ*, é requerido extremo estudo, planejamento e cuidado para que não ocorra poluição secundária, inclusive de lençóis freáticos.

Tem-se, ainda, o Biochar, uma tecnologia emergente no campo da remediação. Constitui-se em um carvão vegetal de cor preta manufaturado através de pirólise em condições limitadas de oxigênio. Sua aplicação para correção do solo tem sido amplamente estudada, sendo considerada uma tecnologia verde, benigna ao meio ambiente, e sendo uma alternativa mais barata aos demais adsorventes químicos, como o nano carbono (TU *et al.*, 2020; WALTERS; WHITE, 2018; WAN *et al.*, 2020). É efetivo na imobilização de vários metais, porém mais estudos devem ser realizados acerca de riscos de poluição secundária e outros impactos no solo, advindos dessa tecnologia frente sua aplicação *in situ* (LEHMANN *et al.*, 2011; WANG; WANG, 2019; YI *et al.*, 2019).

2.3.2 Biorremediação

As tecnologias de biorremediação utilizam diretamente organismos vivos e seus produtos para remover, imobilizar, degradar ou transformar contaminantes ambientais em compostos menos tóxicos ou inertes, na tentativa de restaurar as funções e qualidade do solo (BOOPATHY, 2000; SOARES; SOARES, 2012; WETLER-TONINI; DE REZENDE; GRATIVOL, 2010). O crescente aumento na visibilidade e da pressão da utilização de tecnologias “verdes” na recuperação de ambientes contaminados, tem elevado também a demanda por estudos e aplicações de processos biotecnológicos, tal qual a biorremediação que, quando comparada às técnicas clássicas de remediação, apresenta simplicidade, segurança, sustentabilidade e baixo custo (COUTINHO *et al.*, 2015; DÍAZ, 2004; SINGH, SIMRANJEET

et al., 2020; YAKUBU, 2007). Os organismos empregados na biorremediação são, em sua maioria, microrganismos ou plantas (OJUEDERIE; BABALOLA, 2017). À biorremediação que faz uso de plantas, denomina-se fitorremediação.

As técnicas de biorremediação também variam de acordo com a localização do processo de tratamento, sendo *in situ* ou *ex situ*, a depender da técnica empregada e das condições da área contaminada (GAYLARDE *et al.*, 2005; SINGH, SUNDER; GUPTA, 2016). Quanto à biorremediação de solos contaminados, o tratamento pode ser referente à superfície ou às camadas mais internas.

A técnica de biorremediação a ser escolhida dependerá da distribuição dos rejeitos, da concentração e toxicidade do contaminante, das condições ambientais frente ao crescimento microbiológico e dos microrganismos já existentes no local (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; WALTER; CRAWFORD, 1997). Tem-se, por exemplo, as seguintes técnicas: *biofarming*, bioventilação, biopilhas, bioestímulo, bioatenuação, bioaumento e compostagem (DE MORAIS; TAU-K-TORNISIELO, 2009; LIN; PAN; CHENG, 2010; MENEZES BENTO *et al.*, 2003).

Para os fins do presente estudo, enfoque maior será dado ao bioestímulo, bioatenuação e bioaumento. A bioestimulação se dá pela adição de nutrientes, a fim de estimular a atividade microbiana (EVANS; FURLONG, 2003; GAYLARDE *et al.*, 2005; MROZIK; PIOTROWSKA-SEGET, 2010). Por outro lado, o bioaumento consiste na inoculação de populações de microrganismos ou consórcios microbianos, selecionados e conhecidos, com o fim de degradação do contaminante (HERRERO; STUCKEY, 2015; SHAH *et al.*, 2017; SZAJA *et al.*, 2018). Já a bioatenuação faz uso apenas de microrganismos autóctones, ou seja, que já existiam naquele solo (COUTINHO *et al.*, 2015).

Apesar de os microrganismos utilizados nas técnicas de biorremediação poderem ser nativos ou exóticos, é imprescindível sempre se considerar a ecologia da região antes de introduzir microrganismos externos. O potencial de bactérias e fungos na remediação de áreas contaminadas é amplamente estudado (BAPTISTA; CAMMAROTA; DE CARVALHO FREIRE, 2005; MARIANO *et al.*, 2007; SINGH, SIMRANJEET *et al.*, 2020).

2.3.3 Fitorremediação

A fitorremediação proporciona a restauração da estrutura e da ecologia do solo e da água. Esta técnica apresenta vantagens para a região soterrada pelo rejeito tóxico, dada a sua natureza

permanente combinada aos baixos custos de manutenção, a proteção contra a erosão eólica e hídrica, e a melhoria na estrutura física e química dos solos. As plantas na fitorremediação podem elevar a quantidade de carbono orgânico, a infiltração de água, a porosidade no solo e diminuir a erosão, além de conservar a composição e o desenvolvimento dos microrganismos no solo (ALI; KHAN; SAJAD, 2013; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; OJUEDERIE; BABALOLA, 2017).

A fitorremediação é um processo sustentável, não invasivo, efetivo e de baixo custo, quando comparada às tecnologias de remediação, sendo amplamente estudada. Leva à descontaminação dos solos por ação direta ou indireta dos vegetais, por extração ou degradação do poluente, pelos seguintes processos (ALI; KHAN; SAJAD, 2013; MAHAJAN; KAUSHAL, 2018; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006):

- a) Fitoextração: a redução do contaminante é facilitada pela sua passagem da raiz para parte aérea;
- b) Fitodregadação: os vegetais metabolizam ou mineralizam os contaminantes dentro das células, portanto a degradação é *in planta*;
- c) Fitovolatilização: após a metabolização interna nos vegetais, ocorre a liberação na superfície foliar do contaminante na forma de gás;
- d) Fitoestimulação: as raízes das plantas e a microbiota do solo degradam o contaminante;
- e) Fitoestabilização: utiliza os vegetais para minimizar a mobilidade dos contaminantes no solo através da acumulação pelas raízes ou a precipitação dentro da rizosfera;
- f) Rizofiltração: as plantas eliminam os metais presentes em água contaminada através do sistema radicular.

Em áreas com contaminantes metálicos, a fitoextração e a fitoestabilização são possivelmente as técnicas mais apropriadas (MENDEZ; MAIER, 2008).

As plantas usadas em processos de fitorremediação apresentam, geralmente, crescimento rápido, alta produção de biomassa, sistema radicular profundo e denso, e capacidade de acumular metais. Deve-se analisar, portanto, as características ambientais e dos vegetais, de forma que a planta escolhida apresente certo grau de tolerância ao contaminante durante o tempo necessário para que a ação remediadora se proceda (SHACKIRA; PUTHUR; NABEESA SALIM, 2017).

Para que ocorra a despoluição da região afetada pelo acidente de Mariana (MG) existe a necessidade da utilização de plantas que apresentem algumas características específicas.

Plantas fitorremediadoras tendem a manter uma fotossíntese elevada, uma menor degradação da clorofila e emissão de fluorescência, maior área foliar e status hídrico frente aos poluentes (ALI; KHAN; SAJAD, 2013). Além disso, o vegetal deve possuir capacidade de absorção, concentração ou imobilização de potenciais metais e tolerância ao rejeito; sistema radicular denso e profundo, capaz de crescer no substrato mais denso e compactado. Assim, faz-se necessário a prospecção de espécies que consigam sobreviver e apresentem tais características frente ao rejeito oriundo do rompimento da barragem do Fundão.

2.3.4 A sucessão ecológica no reflorestamento de áreas degradadas

Tanto os distúrbios naturais quanto as ações humanas podem resultar no impacto de ecossistemas. À capacidade de um ecossistema em absorver tal impacto denomina-se estabilidade, e à capacidade de se recuperar, resiliência (TIVY, 1993). Destaca-se que um ambiente que apresenta baixa resiliência fica mais susceptível a processos irreversíveis de degradação (ENGEL; PARROTTA, 2003).

Dessa forma, o distúrbio de menor grau que permite ao ecossistema regenerar-se ou estabilizar-se naturalmente é perturbação; enquanto áreas degradadas são aquelas que sofrem maiores distúrbios, os quais impedem ou restringem seriamente a sua capacidade de regeneração (BARBOSA, 2006). A exemplificar, ambientes degradados geralmente são destituídos de fertilidade e umidade do solo, como pelo processo de mineração, dificultando o processo de colonização e sucessão por espécies arbóreas.

A recuperação de ambientes degradados objetiva retornar a área às suas funções ecológicas (ciclagem de nutrientes e biomassa). Vale ressaltar que a maioria das florestas possuem solos pobres, sendo a vegetação mantida pela ciclagem de nutrientes, a principal reserva mineral. Quando a vegetação é retirada e o ciclo é interrompido, não mais ocorrerá a adição de nutrientes e matéria orgânica, sofrendo perdas por erosão e lixiviação.

A sucessão ecológica é um processo que envolve mudanças na estrutura de espécies e nos processos da comunidade ao longo do tempo. É resultado da modificação do ambiente físico pela comunidade e de interações de competição e coexistência (ODUM; BARRETT, 2008).

As comunidades transitórias são denominadas de estágios pioneiros (ODUM; BARRETT, 2008). No entanto, a comunidade e seu ecossistema são conduzidos a um clímax,

de maior biomassa e biodiversidade, teias alimentares mais complexas – características que conferem ao bioma sua estabilidade.

Durante a sucessão, a composição em espécies da comunidade muda, assim como a disponibilidade de luz, umidade, calor, ventos e nutrientes. Cada estágio altera o ambiente tornando-o apropriado para o próximo estágio. Uma vez atingido o clímax temos um ambiente dinamicamente estável e equilibrado. Observa-se também, uma maturação do solo, numa reciprocidade de efeitos edafoclimáticos que se manifestam no comportamento fenológico das plantas ajustadas a um sistema mais estável (FERNANDES *et al.*, 2000).

O tempo necessário para uma sucessão ocorrer de um habitat perturbado até uma comunidade clímax varia com a natureza do clima e a qualidade inicial do solo (BEGON *et al.*, 1996; ODUM; BARRETT, 2008). Ainda, pode-se dizer que sucessão ecológica é o processo natural pelo qual os ecossistemas se recuperam dos distúrbios.

A sucessão ecológica se inicia desde antes às árvores pioneiras: nas gramíneas. As gramíneas se destacam pelo seu rápido crescimento, podendo colonizar rapidamente áreas contaminadas ou de solo denso (ALEGRIA, 2006; GRZESIAK *et al.*, 2015). Foram realizados estudos em vasos em casa de vegetação avaliando o crescimento de milho (*Zea mays*), milheto (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) e sorgo (*Sorghum biocolor* L) sob diferentes proporções do rejeito de mineração proveniente da barragem do Fundão e areia, e, de forma similar ao presente trabalho, em rejeito e rejeito com adição de húmus de minhoca comparativamente ao solo (ESTEVES; BRESSANIN; *et al.*, 2020; ESTEVES; DE SOUZA; *et al.*, 2020). Os autores puderam não só observar o melhor desempenho do milho em ambos os experimentos, mas as demais espécies também se mostraram potenciais na revegetação inicial de ambientes afetados pelo rejeito em questão.

Outros estudos mostraram a capacidade de gramíneas em repovoar ambientes degradados pelo rejeito proveniente do processamento de bauxita (ALSHAAL *et al.*, 2013; COURTNEY; MULLEN; HARRINGTON, 2009; COURTNEY; TIMPSON, 2005; WEHR; FULTON; MENZIES, 2006), novamente mostrando a importância dessas espécies. No entanto, a reconstrução da flora apenas começa nas gramíneas: a continuidade é dada por arbustos e árvores pioneiras. Estes colonizam o ambiente, abrindo caminho para as secundárias e clímax, e outras espécies vegetais dependentes de sombra e outros fatores. Por isso, é de extrema importância o estudo dessas plantas superiores sob tais condições, averiguando o potencial de reflorestamento heterogêneo de regiões contaminadas e degradadas, ou a capacidade desses ambientes em proceder com a revegetação natural.

O uso de árvores para fitorremediação recebeu atenção crescente nos últimos anos devido a sua capacidade de crescer em solos de baixa fertilidade e/ou umidade, à alta produtividade de biomassa e sistemas radiculares profundos, além de sua importância ecológica e econômica (GÓMEZ *et al.*, 2019; LIU; NI; ZHOU, 2013). O uso de árvores nativas para a revegetação de áreas degradadas têm sido mais explorados recentemente, com resultados promissores para diversas espécies, dentre elas: *Acer platanoides*, *Cedrela fissilis*, *Handroanthus serratifolius*, *Copaifera langsdorffii*, *Hymenaea courbaril*, *Mimosa caesalpiniiifolia*, *Cecropia* sp. e *Myracrodruon urundeuva* (ASENSIO *et al.*, 2018; CRUZ *et al.*, 2020; FERNÁNDEZ *et al.*, 2017; MLECZEK *et al.*, 2017).

As espécies pioneiras, as primeiras na sucessão secundária, apresentam lenho leve e crescimento rápido, sob condições de insolação. Por outro lado, as espécies climácicas, as árvores dominantes nos últimos estágios da sucessão, apresentam lenhos densos, copas mais densamente compactas e crescimento lento, colonizando áreas sombreadas, porém necessitam de luz na fase adulta – por isso atingem alturas às vezes muito superiores às pioneiras (BUDOWSKY, 1965).

A implantação de espécies arbóreas em uma área degradada permite pular as etapas iniciais da sucessão natural, onde surgem primeiramente espécies herbáceas e gramíneas, as quais enriquecem e alteram a estrutura do solo, permitindo o aparecimento de indivíduos arbustivo-arbóreos (CAMPELLO, 1998; SAMPAIO; HOLL; SCARIOT, 2007).

A reabilitação de áreas degradadas usando comunidades de plantas nativas recuperam o solo substancialmente ao longo dos anos; no entanto, muitas espécies não sobrevivem em habitats contaminados e com baixa fertilidade. Dessa forma, a seleção de espécies é um critério importante para iniciar a sucessão ecológica e repovoamento de uma área impactada. As espécies plantadas devem consorciar pioneiras e clímax no momento de implantação, e deve-se dar preferência às que produzam frutos atrativos para a fauna silvestre (MARTÍNEZ-GARZA; BONGERS; POORTER, 2013; VIANI *et al.*, 2015), de modo a proporcionar maior diversidade nas áreas a serem restauradas.

De forma geral, as árvores pioneiras se sobressaem às demais por apresentarem crescimento rápido. No entanto, ambas geralmente desenvolvem sistemas radiculares extensos, podendo apresentar altas taxas de transpiração (GÓMEZ *et al.*, 2019; YADAV *et al.*, 2010). A maioria das espécies arbóreas é capaz de sobreviver por décadas, até séculos. Durante sua vida, uma única árvore pode mobilizar milhões de litros de água subterrânea (KUNERT *et al.*, 2017), juntamente com quantidades significativas de elementos químicos. Assim, a capacidade de

remediação por essas plantas aumentará a cada temporada por décadas após o estabelecimento inicial, e a resiliência e autossuficiência das plantações apresentarão baixos custos (LUTTER *et al.*, 2016; TULLUS *et al.*, 2012).

Ainda, o florestamento tende a melhorar as propriedades físico-químicas e biológicas de solos degradados, como a porosidade do solo, densidade, umidade, biodisponibilidade de micro e macronutrientes, e biodiversidade (BERHONGARAY *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2017; WU *et al.*, 2018). Tendo isto em vista, e sobretudo do ponto de vista ecológico, fica claro que não apenas as pioneiras possuem importância nesse processo de repovoamento de áreas degradadas, mas também as secundárias e clímax. Dessa forma, é impreterível o estudo de ambos os níveis sucessionais sob o rejeito de mineração.

Estudos verificaram que as espécies clímax foram menos eficientes que as pioneiras e secundárias quanto ao aproveitamento de fósforo, cálcio e magnésio do solo (FERNANDES *et al.*, 2000; SANTOS *et al.*, 2008). As espécies de crescimento lento adaptam-se melhor às condições de baixa fertilidade do solo, com baixas respostas à sua melhoria.

Em referência aos recentes acidentes envolvendo o rompimento de barragens de contenção de rejeitos no estado de Minas Gerais, a restauração florestal é uma estratégia sugerida para mitigar os impactos que atingiram as áreas ocupadas, por tais rompimentos (BRASIL; PIRES, 2017).

É importante ressaltar que a maioria das florestas tropicais se desenvolvem sob solos pobres, particularmente quanto ao fósforo disponível, especialmente em latossolos com elevados teores de óxidos de ferro e alumínio em sua constituição mineralógica, como o solo do Quadrilátero Ferrífero.

2.4 ESPÉCIES VEGETAIS SOB ESTUDO

Considerando, portanto, as características ecológicas da região afetada pelo rompimento da Barragem do Fundão, da mineradora Samarco S.A. na municipalidade de Mariana, estado de Minas Gerais, em transição dos biomas Cerrado e Mata Atlântica, e tendo em vista as características e benefícios das espécies arbóreas frente à fitorremediação e repovoamento de áreas degradadas, foram consideradas quatro espécies nativas de angiospermas eudicotiledôneas arbóreas de níveis de sucessão distintos, nativas e de ocorrência em um ou ambos biomas supracitados, sendo: *Schinus terebinthifolius*, *Cedrella fissilis*, *Cariniana estrellensis* e *Hymenaea courbaril*.

2.4.1 *Schinus terebinthifolius*

A *S. terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), popularmente Aroeira-pimenteira, Aroeira-vermelha e Aroeira-Mansa, é uma espécie heliófita, perenifólia, dióica e pioneira, podendo ser encontrada em forma de árvores de médio porte (de 5 a 10 m de altura) ou pequenos arbustos, seu tronco podendo chegar a 60 cm de diâmetro. Suas folhas são compostas, contendo entre 3 a 10 pares de folíolos de 10 a 15 cm de comprimento e seus frutos são caracteristicamente globosos e vermelhos (LORENZI, 1992).

É originária da América do Sul, nativa do Brasil, Paraguai, Uruguai e leste da Argentina (EWEL, 1986; FERRITER, 1997; LORENZI, 1992). No Brasil, tem maior distribuição geográfica em Minas Gerais, seguida pelos demais estados do sudeste. É comum em solos úmidos, como em beira de rios de formações secundárias, porém também é capaz de se adaptar a solos arenosos, de baixa fertilidade e baixa retenção de água (LORENZI, 1992; NEVES *et al.*, 2016). Seu florescimento ocorre entre setembro e janeiro, e a frutificação entre janeiro e julho (LORENZI, 1992).

A medicina tradicional faz amplo uso da *S. terebinthifolius*, como anti-inflamatório, antipirético, analgésico, na cicatrização de feridas e úlceras, no tratamento de doenças respiratórias, tumores e lepra (BARBOSA *et al.*, 2007; CAVALHER-MACHADO *et al.*, 2008; DE MESQUITA, 2009; GUERRA *et al.*, 2000; MARTINEZ *et al.*, 1996; MORS, 2000;). Sabe-se que a casca do seu tronco é rica em compostos fenólicos, podendo ser utilizada para combater inflamações de várias origens, e suas folhas possuem compostos com atividade antifúngica (MMS, 2014). Além disso, estudos mostram que seus extratos apresentam atividade biológica (DE MESQUITA, 2009; SCHMOURLO *et al.*, 2005), e seu óleo essencial apresenta atividade antioxidante, antitumoral e inseticida (BENDAOU *et al.*, 2010; GOMES *et al.*, 2013).

É comumente utilizada na arborização de cidades e na produção de lenha e carvão, apresentando madeira resistente. Os frutos são comestíveis, sendo muito procuradas pela avifauna, principalmente no outono e inverno (LORENZI, 1992). Ainda, as sementes são usualmente apreciadas pelo sabor apimentado, com demanda cada vez maior pelo mercado de especiarias.

No contexto ecofisiológico e do ponto de vista de sua utilização no reflorestamento de áreas degradadas, estudos já mostraram a tolerância de *S. terebinthifolius* e sua capacidade de prosperar em solos degradados e de baixa fertilidade, sejam resultantes da mineração,

exploração de areia ou de outros componentes do solo, e da germinação de suas sementes e seu crescimento sob metais pesados (DOBBSS *et al.*, 2018; KUKI *et al.*, 2008; RIBEIRO JUNIOR *et al.*, 2021; SIQUEIRA *et al.*, 2020; ZABOTTO *et al.*, 2020; ZANON *et al.*, 2021).

Todas as características supracitadas tornam a *S. terebinthifolius* uma espécie altamente importante para diversas finalidades, inclusive no reflorestamento heterogêneo de áreas degradadas (LORENZI, 1992) não apenas pelo aspecto ecológico, mas também medicinal, sociocultural e econômico.

2.4.2 *Cedrela fissilis*

A *C. fissilis* Vellozo (Meliaceae), popularmente conhecida como Cedro-Rosa ou simplesmente Cedro, é uma árvore nativa, decídua, heliófita ou esciófita, monóica (apresenta flores unissexuais por aborto), com 20 a 35 m de altura e tronco com até 90 cm de diâmetro. Suas folhas são compostas, podendo chegar a 100 cm de comprimento, e os folíolos podem ter até 14 cm de comprimento. Seus frutos se apresentam como cápsulas secas deiscentes (LORENZI, 1992). Sua classificação sucessional varia entre autores, podendo ser considerada pioneira de vida longa (PEÑA-CLAROS *et al.*, 2008), e secundária inicial ou tardia (AGUIAR; PASTORE; ROCHA *et al.*, 2001; CARVALHO, 2005; DOS SANTOS; TAKAKI, 2005).

Apresenta ocorrência natural no Panamá e Costa Rica até a América do Sul, concentrando-se, no Brasil, entre as regiões sudeste e sul, preferencialmente nas florestas semidecíduais e decíduas tropicais, em solos profundos e úmidos (CARVALHO, 2005; LORENZI, 1992). Floresce entre agosto e setembro, e o amadurecimento dos frutos entre junho e agosto, quando a árvore está totalmente despida de folhas (LORENZI, 1992).

É amplamente utilizado como inseticida, e pela medicina tradicional como antimicrobiano, diurético, para o tratamento da malária, vômito e diarreia (MUÑOZ *et al.*, 2000), como relatado no uso por tribos indígenas amazônicas (BOURDY *et al.*, 2000; MUÑOZ *et al.*, 2000). Caracteristicamente às Meliaceae, possui triterpenoides denominados limonoides, substâncias que apresentam atividades biológicas e inseticidas (AMBROZIN *et al.*, 2006; CHAMPAGNE *et al.*, 1989).

Foi relatado que o extrato de folhas apresenta maior atividade inseticida quando comparado ao extrato dos demais órgãos vegetais (MATOS *et al.*, 2010) e que o extrato de seu caule e óleo essencial extraído das folhas possuem atividades antimicrobianas, sendo o primeiro utilizado como adstringente (CORTEZ *et al.*, 1998; LAGO *et al.*, 2004). Não obstante,

o extrato de frutas, galhos, tronco, raízes e folhas apresentam atividade tripanocida (AMBROZIN *et al.*, 2006; LEITE *et al.*, 2008).

A árvore é amplamente empregada no paisagismo, porém está vulnerável à extinção por exploração excessiva da sua madeira, considerada de alta qualidade e sendo muito utilizada para construção civil e de móveis (DORNELAS; RODRIGUEZ, 2006; LORENZI, 1992). Estudos já observaram sua capacidade de crescimento em solos degradados e sob metais pesados, além de potencial fitoacumulador, fitoestabilizador ou biomarcador (ASENSIO *et al.*, 2018; BALESTRIN *et al.*, 2019; COVRE *et al.*, 2020; MEYER *et al.*, 2016; SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2016). É indicada na composição de reflorestamento heterogêneo de áreas degradadas (LORENZI, 1992).

2.4.3 *Cariniana estrellensis*

A *C. estrellensis* (Raddi) O. Kuntze (Lecythidaceae), popularmente conhecida como Jequitibá-Branco, ou simplesmente Jequitibá ou Estopeira, é uma árvore nativa, semidecídua, heliófita ou de luz difusa, hermafrodita, secundária tardia-clímax, com 35 a 45 m de altura. Seu tronco pode atingir até 120 cm de diâmetro. Suas folhas são simples, de 6 a 12 cm de comprimento (LORENZI, 1992). Apresenta flores brancas, e fruto em cápsula cilíndrica.

Ocorre entre as regiões sul, sudeste e centro-oeste do Brasil, podendo também ser encontrada na Bahia e no Acre; desenvolvendo-se em solos úmidos e profundos, porém também ocorre em solos de baixa fertilidade, em floresta pluvial atlântica e subtropical, ambas clímax (CARVALHO, 2003; LORENZI, 1992). Floresce junto ao crescimento de nova folhagem, entre os meses de outubro e dezembro, e seus frutos amadurecem quando totalmente despida de folhas, de julho a setembro (LORENZI, 1992).

Possui madeira de boa qualidade, porém pouco resistente, a qual é utilizada principalmente na confecção de móveis. As folhas e a casca do tronco produzem taninos, que são empregados no curtimento de couros. Ainda, a sua casca possui ação adstringente e antimicrobiana, sendo usada na medicina popular em forma de chá para o tratamento de faringite, angina, diarreias e doenças do útero e ovário (SALVADOR; OLIVEIRA, 1989). Suas sementes são atrativas para os macacos, que fazem alto consumo destas. Do ponto de vista ecológico, é, portanto, muito importante seu uso em programas de reflorestamento (LORENZI, 1992).

Não existem estudos sobre sua tolerância à metais pesados, ou a solos densos e compactados até o momento, no que tange o conhecimento da autora. No entanto, alguns estudos de florística de áreas de mineração observam a ocorrência da *C. estrellensis*, podendo indicar algum grau de resiliência da espécie (BALESTRIN *et al.*, 2019; LIMA *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2016).

2.4.4 *Hymenaea courbaril*

A *H. courbaril* L. (Fabaceae), popularmente conhecida como Jatobá ou Jataí, é uma árvore nativa, semidecídua, heliófita ou esciófita, hermafrodita, seletiva xerófita, secundária tardia (DURIGAN; NOGUEIRA, 1990; LORENZI, 1992) ou clímax de luz (DAVIDE; FARIA, 1997). Pode atingir até 20 m de altura 1 m de diâmetro. Suas folhas são compostas, com 2 folíolos de até 14 cm de comprimento, e apresenta flores brancas e frutos comestíveis de vagem lenhosa, indeiscente (LORENZI, 1992).

Ocorre entre as regiões da Amazônia, Alagoas ao Paraná; em floresta semidecídua, em solos de alta e média fertilidade (LORENZI, 1992), porém pode ocorrer em solos de baixa fertilidade, devido às baixas exigências nutricionais e hídricas (CARVALHO, 2003; LORENZI, 1992). Floresce entre os meses de outubro e dezembro, sendo que seus frutos amadurecem a partir de julho (LORENZI, 1992).

É uma árvore muito importante para diversos segmentos e muito conhecida na cultura popular. Suas flores produzem néctar que alimenta a abelha jataí (BOBROWIEC *et al.*, 2000). Sua madeira é de alta qualidade, amplamente explorada e utilizada na construção civil e na fabricação de verniz. Os frutos, que são comestíveis, são consumidos por animais e humanos.

É uma planta medicinal, muito difundida pela medicina popular, principalmente nas comunidades indígenas, que maceram a casca para o tratamento de diarreias. Já o chá trata hemorragias e é vermífugo. A seiva é utilizada no tratamento da tosse e da bronquite. Também há relatos de uso no tratamento de dores de estômago, hepatite, faringite e como laxante. Ainda, estudos relataram atividades antioxidantes e antimicrobianas, além da presença de terpenos e fenólicos fungicidas (ABDEL-KADER *et al.*, 2002; AGUIAR *et al.*, 2010; NOGUEIRA *et al.*, 2001).

Pesquisas têm demonstrado a resiliência da *H. Courbaril*, principalmente quanto sua tolerância frente à solos contaminados com diferentes metais pesados, de forma geral através do acúmulo dos metais nas raízes, como mecanismo de proteção dos órgãos aéreos onde

ocorrem processos vitais tais quais a fotossíntese e, portanto, indicando um potencial fitorremediador (MARQUES; MOREIRA; SIQUEIRA, 2000; MARQUES; SILVA; *et al.*, 2018; MARQUES; VERONEZE JÚNIOR; *et al.*, 2018; SOARES *et al.*, 2001). Todos os fatores supracitados, somados à fácil multiplicação da espécie, indicam a importância do seu emprego na composição de reflorestamento, inclusive de áreas degradadas e/ou contaminadas (LORENZI, 1992).

2.5 VERMICOMPOSTO

Conhecendo-se as características físicas e químicas de determinado solo é possível manejá-lo adequadamente, garantindo a máxima qualidade possível e a adoção de práticas sustentáveis cabíveis. Ao se manejar solos de forma adequada, aumenta-se não somente a sua qualidade produtiva e conservação, mas também a qualidade ambiental.

Destaca-se que a qualidade do solo é “a capacidade de um tipo específico de solo funcionar, dentro dos limites do ecossistema manejado ou natural, como sustento para a produtividade de plantas e de animais, de manter ou de aumentar a qualidade da água e do ar e de promover a saúde humana” (DORAN; PARKIN, 1994).

A capacidade do solo de armazenar, prover e ciclar nutrientes é diretamente relacionada a suas características físicas (proporção de areia, silte e argila), químicas (capacidade de troca catiônica: CTC) e biológicas (microfauna e microflora). Há uma forte ligação entre a diversidade e atividade da microflora, a vegetação presente no ambiente, a sustentabilidade do ecossistema e a qualidade do solo (DORAN; PARKIN, 1994).

Tendo tais pontos em vista, a adição de fertilizantes ou compostos orgânicos a solos é uma das técnicas mais praticadas para melhorar seus atributos. A adubação orgânica fornece nutrientes e matéria orgânica ao solo, compondo uma alternativa para o cultivo de diversas espécies vegetais. Dessa forma, pode ser de grande valia em solos contaminados ou pobres, ao influenciar positivamente suas características físico-químicas e biológicas.

Ambientes afetados por rejeitos da mineração são geralmente degradados fisicamente apresentando solo com alta densidade, baixo teor de carbono orgânico e baixa resistência à erosão (ASENSIO *et al.*, 2013).

A adubação orgânica atua principalmente no aumento da qualidade do solo pela elevação do conteúdo de matéria orgânica, da CTC e da ciclagem de nutrientes, pela produção de ácidos orgânicos que ajudam no incremento de nutrientes no solo, pela complexação do alumínio

trocável e o melhor aproveitamento dos nutrientes mobilizados ou lixiviados (SAGRILO *et al.*, 2009).

Vermicompostos são um dos tipos de adubos orgânicos que podem ser empregados. A vermicompostagem é uma das formas mais sustentáveis para a conversão de rejeitos (por exemplo, de origem industrial) em um produto útil: o vermicomposto (BHAT; SINGH; VIG, 2016, 2017). Vermicompostos (húmus de minhoca) são materiais orgânicos produzidos pela decomposição que ocorre naturalmente por interações entre minhocas e microrganismos, apresentando altas concentrações de compostos húmicos, macro e micronutrientes disponíveis para as plantas, alta porosidade e atividade microbiana (SINHA *et al.*, 2010; VERDENELLI; LAMARQUE; MERILES, 2012).

As minhocas diminuem o conteúdo de carbono orgânico, a relação C:N e retém macro e micronutrientes (BHAT; SINGH; VIG, 2017). A adubação com vermicompostos é uma alternativa biotecnológica e sustentável para remediar solos, melhorando sua fertilidade, porosidade e permeabilidade, ao mesmo tempo que pode atenuar a salinidade e a toxicidade dos resíduos, favorecer a absorção de fósforo, potássio, magnésio, cálcio e a atividade microbiana, levando ao melhor crescimento vegetal e inibindo o ataque de pragas e doenças (BENDING; TURNER; JONES, 2002; FALSONE *et al.*, 2016; PATHMA; DEMIR, 2019; SAHA; KUKAL, 2015; SAKTHIVEL, 2012).

Estudos sugeriram que a aplicação de vermicomposto em solo para cultivo resultou em aumento da produtividade (ABOU-EL-HASSAN *et al.*, 2018; MAJI *et al.*, 2017), inclusive em solos contaminados ou densos (ESTEVES; DE SOUZA; *et al.*, 2020; JADIA; FULEKAR, 2008; JOUQUET *et al.*, 2011; PARTHASARATHI; BALAMURUGAN; RANGANATHAN, 2008; WANG *et al.*, 2018;), havendo melhoria do solo (PARADELO; MOLDES; BARRAL, 2009; SARI; AKSAKAL; ANGIN, 2017). Não obstante, vermicompostos também se mostraram de grande valia ao crescimento de espécies arbóreas (DAO *et al.*, 2020), demonstrando seu grande potencial.

2.6 BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIATIVAS

O estudo de microrganismos presentes no solo pode indicar se aquele solo se encontra fértil ou não. Isso se dá, principalmente, por existir forte relação entre os microrganismos e a ciclagem de nutrientes, sendo comum a avaliação de biomassa e a atividade microbiana, e a

medição de várias enzimas do solo e a atividade de populações específicas ou grupos funcionais de microrganismos envolvidos na ciclagem e nas transformações do N.

Áreas degradadas impactam negativamente a microbiota do solo, podendo reduzir a quantidade, diversidade e atividade de todos os grupos de microrganismos (MELLONI, ROGÉRIO; SIQUEIRA; MOREIRA, 2003; SILVEIRA; MELLONI; MELLONI, 2006). Os microrganismos do solo são bons indicadores da recuperação de solos das áreas degradadas (SILVEIRA; MELLONI; MELLONI, 2006). Solos de alta qualidade possuem intensa atividade biológica e populações microbianas balanceadas.

Solos degradados e/ou contaminados apresentam quantidade reduzida de microrganismos benéficos para as plantas. Grande parte das espécies vegetais forma associações mutualistas com fungos do solo em suas raízes, as micorrizas. As micorrizas podem aumentar a absorção de nutrientes e a tolerância das plantas a diversos tipos de estresses (FUSCONI; MUCCIARELLI, 2018; LANNES *et al.*, 2020; ZANCANARI *et al.*, 2020).

Por outro lado, a fixação biológica de nitrogênio é majoritariamente realizada pela simbiose existente entre plantas e bactérias diazotróficas, que convertem nitrogênio atmosférico em amônia, fonte de nitrogênio disponível às plantas (SILVA *et al.*, 2006). O nitrogênio é um dos nutrientes mais limitantes para as plantas, juntamente com o fósforo. Portanto, qualquer acréscimo pode apresentar efeitos positivos sobre o crescimento vegetal e a qualidade do solo.

As bactérias diazotróficas são muito estudadas, além da fixação de nitrogênio, por apresentarem potencial de tolerância a estresses abióticos, como a presença de metais pesados, e por poderem degradar alguns poluentes orgânicos (LÓPEZ-GÓMEZ; PALMA; LLUCH, 2013; MELLONI *et al.*, 2004). Também contribuem para o desenvolvimento das plantas por meio da liberação de substâncias reguladoras do crescimento vegetal, como auxinas, giberelinas e citocininas, facilitando a revegetação de solos degradados (BAZZICALUPO; OKON, 2000).

Estas bactérias podem viver em forma livre, estabelecer simbioses ou estar associadas às raízes das plantas, sendo denominados de diazotróficas endofíticas ou associativas (DÖBEREINER; 1992). Compreendem ampla gama de microrganismos procariotos, incluindo arqueobactérias, cianobactérias, bactérias gram-positivas e gram-negativas, apresentando alta diversidade morfológica, fisiológica, genética e filogenética (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Em áreas de mineração contaminadas por metais pesados, a densidade de populações de bactérias diazotróficas associativas pode ser similar aos solos agrícolas férteis, representando

a resistência de alguns desses microrganismos aos metais (VALLE *et al.*, 2018). Isso se dá porque os microrganismos que habitam em ambientes contaminados têm desenvolvido mecanismos de resistência para conviver com a toxicidade de metais pesados (GADD, 2000). As bactérias diazotróficas isoladas dos ambientes contaminados por metais pesados podem auxiliar na fitorremediação de solos contaminados através de diferentes mecanismos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar o rejeito de mineração proveniente do rompimento da Barragem do Fundão, da mineradora Samarco S. A., e avaliar a capacidade de cultivo de espécies arbóreas de diferentes níveis sucessionais, nativas do Cerrado ou Mata Atlântica, de alta relevância cultural, econômica e/ou social, associadas à utilização de vermicomposto ou bactérias fixadoras de nitrogênio associativas, e seu potencial uso na recuperação da área atingida por tal rejeito.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Analisar as características do solo contaminado com o rejeito de mineração proveniente da Barragem do Fundão, da mineradora Samarco S.A.;
- b) Isolar e caracterizar bactérias diazotróficas associativas do rejeito;
- c) Avaliar o potencial fitorremediador de espécies arbóreas nativas da Mata Atlântica ou Cerrado, por meio do desempenho morfofisiológico sob o rejeito;
- d) Avaliar a influência do nível de sucessão ecológica na susceptibilidade ao rejeito;
- e) Verificar a tolerância de *S. terebinthifolius*, *C. fissilis* e *C. estrellensis* em solo contaminado com rejeito de mineração quando associadas ao uso de húmus de minhoca.
- f) Verificar a tolerância de *H. Courbaril* em solo contaminado com rejeito de mineração quando inoculado com as bactérias fixadoras de nitrogênio associativas isoladas do próprio rejeito.

4 JUSTIFICATIVA

O acidente de Mariana afetou diretamente a vida da população humana que ali habitava, tanto os caracteres psicológico, fisiológico e de qualidade de vida, assim como a economia local. Há perda na produtividade agrícola e pesqueira, grandes atividades da localidade da bacia hidrográfica do Rio Doce. Também o aspecto ambiental por si só é alarmante. As grandes quantidades de metais pesados e outros compostos tóxicos, além das características de adensamento do rejeito sobre o solo, levam ao desequilíbrio ambiental. Espécies já desapareceram da região, e mais fenômenos podem ocorrer conforme a lama se deposita no leito dos rios e escoar rumo ao mar. Assim, se mostra de suma importância estudos que visem diminuir a quantidade e mobilidade da lama, a fim de minimizar efeitos tóxicos, acelerar a recuperação do ambiente e a recuperação da população que ali habita (PEREIRA *et al.*, 2012). Ainda, a colonização e o desenvolvimento de espécies vegetais que são capazes de iniciar e continuar a sucessão ecológica em locais afetados por esse tipo de rejeito deve ser estudada, lançando luz às espécies promissoras que possam eventualmente ser empregadas em outras áreas afetadas.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-KADER, M. *et al.* Isolation and absolute configuration of ent-halimane diterpenoids from *Hymenaea courbaril* from the Suriname rain forest. Washington, E.U.A. *Journal of Natural Products*, v. 65, n. 1, p. 11–15, 2002.
- ABNT. *NBR 13028 de 1993: Elaboração e apresentação de projeto de disposição de rejeitos de beneficiamento, em barramento, em mineração*. Rio de Janeiro: [s.n.], 1993
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, ABNT. *NBR 13208 de 2017: Estacas - Ensaio de carregamento dinâmico*. Rio de Janeiro: [s.n.], 2007
- ABOU-EL-HASSAN, S. *et al.* Growth , yield , bulb quality and storability of some onion cultivars response to compost , vermicompost and plant growth promoting rhizobacteria. Paquistão. *Middle East Journal of Agriculture Research*, v. 7, n. 2, p. 292–306, 2018.
- AGUIAR, J. C. D. *et al.* NPC Natural Product Communications. Nova York, E.U.A. *Natural Product Communications*, v. 5, n. 12, p. 1977–1980, 2010.
- AGUIAR, O. T. de; PASTORE, J. A.; ROCHA, F. T.; BAITELLO, J. B. Flora fanerogâmica de um trecho da floresta densa secundária no Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Cunha/Indaiá – Cunha (SP). *Revista do Instituto Florestal*, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 1-18, 2001.
- ALASTUEY, A. *et al.* Evolution of pyrite mud weathering and mobility of heavy metals in the Guadiamar valley after the Aznalcollar spill, south-west Spain. Países Baixos. *Science of the Total Environment*, v. 242, n. 1–3, p. 41–55, 6 dez. 1999.
- ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals - Concepts and applications. Reino Unido. *Chemosphere*, v. 91, n. 7, p. 869–881, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075>.
- ALMEIDA JUNIOR, M. V. C. *Mineração e Dinâmica da Paisagem*. Bahia, 2018. v. 51.
- ALSHAAL, T. *et al.* Phytoremediation of bauxite-derived red mud by giant reed. Alemanha. *Environmental Chemistry Letters*, v. 11, n. 3, p. 295–302, 2013.
- ALVES, H. O. *Estudo comparativo de duas técnicas de lavra em barragem de rejeito sob o ponto de vista geotécnico*. 2015. 153 f. Universidade Federal de Minas Gerais, 2015.
- AMBROZIN, A. R. P. *et al.* Limonoids from Andiroba Oil. Brasil. *J. Braz. Chem. Soc*, v. 17, n. 3, p. 542–547, 2006.
- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS, ANA. *Relatório de Segurança de Barragens*. Brasília, DF: [s.n.], 2018. Disponível em: <http://www.snisb.gov.br/>.
- ANDRADE, G. F. *et al.* Agricultural use of Samarco’s spilled mud assessed by rice cultivation: A promising residue use? Reino Unido. *Chemosphere*, v. 193, p. 892–902, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.099>.
- AGÊNCIA NACIONAL DE MINERAÇÃO, ANM. *PARECER TÉCNICO Nº 07/2019 – GSBM/SPM/ANM-ESGJ/LHPR/LPN/WAN*. Brasília, 2019.
- AGÊNCIA NACIONAL DE MINERAÇÃO, ANM. *Análise de Impacto Regulatório - AIR*. Brasília, 2020. Disponível em: https://www.gov.br/anm/pt-br/assuntos/regulacao/analise-do-impacto-regulatorio-air/air_aproveitamento-de-esteril-rejeitos_02-2.pdf

- ASENSIO, V. *et al.* Screening of native tropical trees for phytoremediation in copper-polluted soils. Reino Unido. *International Journal of Phytoremediation*, v. 20, n. 14, p. 1456–1463, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1501341>
- ASENSIO, V. *et al.* Tree vegetation and waste amendments to improve the physical condition of copper mine soils. Reino Unido. *Chemosphere*, v. 90, n. 2, p. 603–610, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.08.050>
- ÁVILA, J. P.; SAWAYA, M. *As barragens de rejeitos no Brasil: Sua evolução nos últimos anos*. 2011. In: DE MELLO, F. M.; PIASENTIN, C. *História das barragens do Brasil: Séc. XIX, Séc XX e Séc. XXI*. 1ª ed., p. 369-395. CBDB, Rio de Janeiro.
- AZAM, S.; LI, Q. Tailings dam failures: A review of the last one hundred years. Canadá. *Geotechnical News*, p. 50–53, 2010.
- BALESTRIN, D. *et al.* Phytosociological study to define restoration measures in a mined area in Minas Gerais, Brazil. Países Baixos. *Ecological Engineering*, v. 135, n. February, p. 8–16, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2019.04.023>
- BAPTISTA, S. J.; CAMMAROTA, M. C.; DE CARVALHO FREIRE, D. D. Production of CO₂ in crude oil bioremediation in clay soil. Brasil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 48, n. SPEC. ISS., p. 249–255, 2005.
- BARBOSA, L. C. A. *et al.* Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* Raddi. Brasil. *Quimica Nova*, v. 30, n. 8, p. 1959–1965, 2007.
- BARBOSA, L. M. *Manual para recuperação de áreas degradadas do estado de São Paulo: Matas ciliares do interior paulista*. São Paulo: Instituto de Botânica, 2006.
- BAZZICALUPO, A.; OKON, Y. Associative and Endophytic Symbiosis. In: PEDROSA, F. O. *et al.* (Org.). *Nitrogen Fixation: From Molecules to Crop Productivity*. Paraná: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 409–412.
- BEGON, M.; HARPER, J. L.; TOWNSEND, C.R. *Ecology: individuals, populations and communities*. Oxford: *Blackwell Science*, 1996. 1.068 p.
- BENDAOUD, H. *et al.* Chemical Composition and Anticancer and Antioxidant Activities of *Schinus Molle* L. and *Schinus Terebinthifolius* Raddi Berries Essential Oils. E.U.A. *Journal of Food Science*, v. 75, n. 6, p. 466–472, 2010.
- BENDING, G. D.; TURNER, M. K.; JONES, J. E. Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities. Reino Unido. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 34, n. 8, p. 1073–1082, 2002.
- BERHONGARAY, G. *et al.* Soil carbon and belowground carbon balance of a short-rotation coppice: assessments from three different approaches. Alemanha. *GCB Bioenergy*, v. 9, n. 2, p. 299–313, 2017.
- BHAT, S. A.; SINGH, J.; VIG, A. P. Amelioration and degradation of pressmud and bagasse wastes using vermitechnology. Reino Unido. *Bioresource Technology*, v. 243, p. 1097–1104, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.093>
- BHAT, S. A.; SINGH, J.; VIG, A. P. Management of Sugar Industrial Wastes through Vermitechnology. Suíça. *International Letters of Natural Sciences*, v. 55, n. July, p. 35–43, 2016.
- BOBROWIEC, P.E.; CARVALHO, D.A.; OLIVEIRA, P.E. *Biologia reprodutiva de Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa* (Hayne) Lee et Langenheim (Leguminosae-

- Caesalpinoidea) em Uberlândia - MG. In: *CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA*, 51, 2.000, Brasília. Resumos. Brasília: Sociedade Botânica do Brasil, 2000, p.154.
- BOOPATHY, R. Factors limiting bioremediation technologies. Reino Unido. *Bioresource Technology*, v. 74, n. 1, p. 63–67, 2000.
- BOTTINO, F. *et al.* Influence of the residue from an iron mining dam in the growth of two macrophyte species. Reino Unido. *Chemosphere*, v. 186, p. 488–494, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.030>
- BOURDY, G. *et al.* Medicinal plants uses of the Tacana, an Amazonian Bolivian ethnic group. Irlanda. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 70, n. 2, p. 87–109, 2000.
- BRASIL. Constituição (1988). *Constituição da República Federativa do Brasil*. Brasília, DF: Senado Federal: Centro Gráfico, 1988.
- BRASIL. *DECRETO Nº 4.297, DE 10 DE JULHO DE 2002*. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4297.htm. Acesso em: 20 out. 2021.
- BRASIL, L. M.; PIRES, V. O que a lama nos deixou: reflexões sobre a tragédia de Mariana, a mídia e a mineração no Brasil. *Chroniques des Amériques*, v. 17, n. 3, p. 10, 2017. Disponível em: http://www.archipel.uqam.ca/10143/1/o_que_a_lama_nos_deixou_-_reflexoes_sobre_a_tragedia_de_mariana_a_midia_e_a_mineracao_no_brasil_vr.pdf
- BRASIL MINERAL. *Os Perfis das 100 Maiores*. Brasil Mineral. São Paulo: Signus Ed. XXXII: p. 46-80. 2015.
- BUDOWSKI, G. Distribution of Tropical American Rain Forest Species in the Light of Successional Processes. Costa Rica. *Turrialba*, v. 15, n. 1. Trimestre Enero-Marzo. 1965
- CAIRES, S. M. D. E. Determinação dos Teores Naturais de Metais Pesados em Solos do Estado de Minas Gerais como Subsídio ao Estabelecimento de Valores de Referência de Qualidade. *Tese de Doutorado*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, p. 1–270, 2009.
- CAMPELLO, E. F. C. Sucessão vegetal na recuperação de áreas degradadas, In: DIAS, L.E.; MELLO, J.W.V. (Eds.) – *Recuperação de áreas degradadas*, Viçosa: UFV, Departamento de Solos; Sociedade Brasileira de Recuperação de Áreas Degradadas, p.183-202, 1998.
- CHAMPAGNE, D.E.; ISMAN, M.; TOWERS, G.H.N. Insecticidal activity of phytochemical and extracts of the Meliaceae. In: ARNASON, J.T.; PHILOGENE, B.J.R.; MORAND, P. (Ed.) *Insecticides of plant origin*. Washington: The American Chemical Society, 1989.cap.8, p. 95-109.
- CARVALHO-FILHO, A. DE. *Solos e Ambientes do quadrilátero ferrífero (MG) e aptidão silvicultural dos tabuleiros costeiros*. 245 p., Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2008.
- CARVALHO, P. E. R. Cedro. *Circular Técnica*. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2005.
- CARVALHO, P. E. R. Jequitibá-Branco. *Circular Técnica*. Colombto, PR, v. 73, 2003.
- CASAGRANDE, A. Characteristics of cohesionless soils affecting the stability of slopes and earth fills. In: *Contributions to Soil Mechanics*, v. 1, 1925–1940, 257–276. Boston: Boston Society of Civil Engineers, 1936.
- CASAGRANDE, A. *Liquefaction and Cyclic Deformation of Sands - A critical Review*. Proceedings, 5th Pan-American Conference on Soil Mechanics and Foundation Engineering, Buenos Aires, Argentina; also published as Harvard Soil Mechanics Series N. B8, Cambridge, Mass, 1976.

- CASTRO, G. Liquefaction of Sands. *PhD thesis*, Harvard Soil Mechanics Series, N. 81, Harvard University. Cambridge, Mass. 1969.
- CAVALHER-MACHADO, S. C. *et al.* The anti-allergic activity of the acetate fraction of *Schinus terebinthifolius* leaves in IgE induced mice paw edema and pleurisy. Países Baixos. *International Immunopharmacology*, v. 8, n. 11, p. 1552–1560, 2008.
- CHAVES, A. P. *et al.* *Mineração e Desenvolvimento Sustentável: Desafios para o Brasil*. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2001.
- CORTEZ, D. A. G. *et al.* Atividade antibacteriana de extratos do caule de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae). Maringá, PR. *Acta Scientiarum: Health Sciences*, v. 20, n. 0, p. 243–245, 1998.
- COURTNEY, R. G.; TIMPSON, J. P. Reclamation of fine fraction bauxite processing residue (red mud) amended with coarse fraction residue and gypsum. Países Baixos. *Water, Air, and Soil Pollution*, v. 164, n. 1–4, p. 91–102, 2005.
- COURTNEY, R.; MULLEN, G.; HARRINGTON, T. An evaluation of revegetation success on bauxite residue. Reino Unido. *Restoration Ecology*, v. 17, n. 3, p. 350–358, 2009.
- COUTINHO, P. W. R. *et al.* Alternative Soil Remediation: Bioremediation and Phytoremediation. E.U.A. *Nucleus*, v. 12, n. 1, p. 59–68, 2015.
- COVRE, W. P. *et al.* Phytoremediation potential of *Khaya ivorensis* and *Cedrela fissilis* in copper contaminated soil. E.U.A. *Journal of Environmental Management*, v. 268, n. January, p. 110733, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110733>
- CRUZ, F. V. DA S. *et al.* Does Samarco's spilled mud impair the growth of native trees of the Atlantic Rainforest? E.U.A. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 189, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110021>
- DAO, H. T. T. *et al.* Effective placement methods of vermicompost application in urban tree species: Implications for sustainable urban afforestation. Suíça. *Sustainability*, v. 12, n. 14, p. 1–13, 2020.
- DAVIDE, A. C.; FARIA, J. M. R. Revegetação de área de empréstimo da Usina Hidrelétrica de Camargos (CEMIG). SOBRADE; UFV/DPS/DEF, 1997.
- DAVIES, M. P. Tailings impoundment failures are geotechnical engineers listening? Canadá. *Geotechnical News*, v. 20, n. 3, p. 31, 2002.
- DE MESQUITA, M.L.; DE PAULA, J.E.; PESSOA, C.; DE MORAES, M.O.; COSTA-LOTUFO, L.V.; GROUGNET, R.; MICHEL, S.; TILLEQUIN, F.; ESPINDOLA, L.S. Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against cancer cell lines. Irlanda. *J Ethnopharmacol*, v. 123, n. 439, p. 45, 2009.
- DE MORAIS, E. B.; TAUK-TORNISIELO, S. M. Biodegradation of oil refinery residues using mixed-culture of microorganisms isolated from a landfarming. Curitiba, PR. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 52, n. 6, p. 1571–1578, 2009.
- DE OLIVEIRA JÚNIOR, J. B. *Desativação de empreendimentos mineiros: Estratégias para diminuir o passivo ambiental*. 2001. São Paulo. Universidade de São Paulo, 2001.
- DE SOUZA JÚNIOR, T. F.; MOREIRA, E. B.; HEINECK, K. S. Barragens De Contenção De Rejeitos De Mineração No Brasil. Rio Grande do Norte. *Holos*, v. 5, p. 2–39, 2018.
- DEMIR, Z. Effects of Vermicompost on Soil Physicochemical Properties and Lettuce (*Lactuca sativa* Var. Crispa) Yield in Greenhouse under Different Soil Water Regimes.

E.U.A. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 50, n. 17, p. 2151–2168, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00103624.2019.1654508>

DÍAZ, E. Bacterial degradation of aromatic pollutants: A paradigm of metabolic versatility. Espanha. *International Microbiology*, v. 7, n. 3, p. 173–180, 2004.

DOBBSS, L. B. *et al.* Alleviation of iron toxicity in *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) by humic substances. Alemanha. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 25, n. 10, p. 9416–9425, 2018.

DOBEREINER, J. Recent changes in the concept of plant-bacteria interactions: endophytic N₂ fixing bacteria. Campinas, SP. *Ciência e Cultura* v. 44, p. 310-313, 1992.

DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining soil quality for a sustainable environment. SSSA Spec. Pub. No. 35, E.U.A. *Defining and assessing soil quality*, 1994. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2136/sssaspecpub35.c1>

DORNELAS, M. C.; RODRIGUEZ, A. P. M. The tropical cedar tree (*Cedrela fissilis* Vell., Meliaceae) homolog of the Arabidopsis LEAFY gene is expressed in reproductive tissues and can complement Arabidopsis leafy mutants. Alemanha. *Planta*, v. 223, n. 2, p. 306–314, 2006.

DOS SANTOS, D. L.; TAKAKI, M. Fenologia de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) na região rural de Itirapina, SP, Brasil. Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, n. 3, p. 625–632, 2008.

DURIGAN, G.; DIAS, H.C. de S. Abundância e diversidade da regeneração natural sob mata ciliar implantada. In: *CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO*, 6, 1990, Campos do Jordão. Anais. São Paulo: Sociedade Brasileira de Silvicultura, 1990. v.3, p. 308-312. Publicado na Silvicultura, n.42, 1990.

ENVIRONMENTAL LAW ALLIANCE WORLDWIDE – ELAW. *Guidebook for evaluating mining project EIAs*. Eugene, OR: Environmental Law Alliance Worldwide, E.U.A., 2010.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA SOLOS. *Embrapa Solos: relatório de gestão/atividades 2014*. Rio de Janeiro, 2015.

ENGEL, V. L.; PARROTTA, J. A. Definindo a restauração ecológica: tendências e perspectivas mundiais. *Restauração ecológica de ecossistemas naturais*. Botucatu-SP: FEPAF, 2003. p. 1–26.

ESPÓSITO, T. DE J. *Metodologia probabilística e observacional aplicada a barragens de rejeito construídas por aterro hidráulico*. 2000. Brasília, Universidade de Brasília, 2000.

ESTADO DE MINAS. *Três anos depois, ninguém foi condenado por tragédia de Mariana; processo na Justiça não tem data para julgamento*. Minas Gerais, 2019. Disponível em: https://www.em.com.br/app/noticia/gerais/2019/01/26/interna_gerais,1024701/tres-anos-depois-ninguem-foi-presos-pela-tragedia-de-mariana.shtml. Acesso em: 20 out. 2021.

ESTEVES, G. DE F.; BRESSANIN, L. A.; *et al.* Do tailings from the Mariana, MG (Brazil), disaster affect the initial development of millet, maize, and sorghum? Alemanha. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 27, n. 31, p. 38662–38673, 2020.

ESTEVES, G. DE F.; DE SOUZA, K. R. D.; *et al.* Vermicompost improves maize, millet and sorghum growth in iron mine tailings. E.U.A. *Journal of Environmental Management*, v. 264, n. March, 2020.

EVANS, G. M.; FURLONG, J. C. Contaminated Land and Bioremediation. *Environmental*

Biotechnology: Theory and Application. Chichester: JOHN WILEY & SONS, INC., 2003. p. 89–112.

EWEL, J. Invasibility: Lessons from South Florida. In: MOONEY, H. A.; DRAKE, J. A. (Eds), *Ecology of biological invasions of North America and Hawaii*, New York: Springer-Verlag, New York, p. 214-230, 1986.

EXAME. *Região do desastre de Mariana vai receber R\$ 1 bilhão para investimentos*. Disponível em: <https://exame.com/brasil/regiao-do-desastre-de-mariana-vai-receber-r-1-bilhao-para-investimentos/> Acesso em: 20 out. 2020.

FALSONE, G. *et al.* Relative Importance of Mineralogy and Organic Matter Characteristics on Macroaggregate and Colloid Dynamics in MG-Silicate Dominated Soils. Reino Unido. *Land Degradation and Development*, v. 27, n. 7, p. 1700–1708, 2016.

FUNDAÇÃO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE – FEAM. *Cadastro de minas paralisadas e abandonadas no estado de Minas Gerais*. Belo Horizonte, [s.n.], 2016.

Disponível em:

http://www.feam.br/images/stories/2016/AREAS_DEGRADADAS/Cadastro_Minis_Paralisa_das_e_Abandonadas_2016l.pdf.

FUNDAÇÃO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE – FEAM. *Inventário Estadual de Barragens do Estado de Minas Gerais*. Belo Horizonte: [s.n.], 2014.

FERNANDES, L. A. *et al.* Crescimento inicial, níveis críticos de fósforo e frações fosfatadas em espécies florestais. Brasília, DF. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 35, n. 6, p. 1191–1198, 2000.

FERNÁNDEZ, S. *et al.* Phytoremediation capability of native plant species living on Pb-Zn and Hg-As mining wastes in the Cantabrian range, north of Spain. Países Baixos. *Journal of Geochemical Exploration*, v. 174, p. 10–20, 2017. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.05.015>

FERRITER, A. *Brazilian Pepper Management Plan for Florida: Recommendations from the Brazilian Pepper Task Force*, Florida Exotic Pest Plant Council. The Florida Exotic Pest Plant Council, Gainesville, Florida, 1997.

FOURIE, A. B.; BLIGHT, G. E.; PAPAGEORGIOU, G. Static liquefaction as a possible explanation for the Merriespruit tailings dam failure: Reply. Canadá. *Canadian Geotechnical Journal*, v. 39, n. 6, p. 1441–1442, 2002.

FUSCONI, A.; MUCCIARELLI, M. How important is arbuscular mycorrhizal colonization in wetland and aquatic habitats? Países Baixos. *Environmental and Experimental Botany*, v. 155, p. 128–141, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.06.016>.

G1. *Acordo define destinação de quase R\$ 1 bilhão em ações de reparação pelo rompimento da barragem em Mariana*. Disponível em: <https://g1.globo.com/mg/minas-gerais/noticia/2020/08/31/acordo-define-destinacao-de-quase-r-1-bilhao-em-aco-es-de-reparacao-pelo-rompimento-da-barragem-em-mariana.ghtml>. Acesso em: 20 out. 2020.

G1. *Ibama diz que Samarco não pagou nenhuma multa aplicada pelo órgão após desastre em Mariana*. Disponível em: <https://g1.globo.com/politica/noticia/2019/01/29/ibama-diz-que-samarco-nao-pagou-nenhuma-multa-aplicada-pelo-orgao-apos-desastre-em-mariana.ghtml>. Acesso em: 20 out. 2020a.

G1. *MP firma acordo com Samarco para pagamento de R\$ 1 bilhão - notícias em Minas Gerais*. Disponível em: <http://g1.globo.com/minas-gerais/noticia/2015/11/mp-e-mpf-firma->

acordo-com-samarco-para-pagamento-de-r-1-bilhao.html. Acesso em: 20 out. 2020a.

G1. *Samarco não pagou nenhuma multa aplicada pelo Ibama após rompimento de barragem em Mariana, há três anos*. Disponível em: <https://g1.globo.com/mg/minas-gerais/noticia/2019/01/29/samarco-nao-pagou-nenhuma-multa-aplicada-pelo-ibama-apos-rompimento-de-barragem-em-mariana-ha-tres-anos.ghtml>. Acesso em: 20 out. 2020b.

G1. *Vale admite que usava barragem de Fundão para depositar rejeitos - notícias em Desastre Ambiental em Mariana*. Disponível em: <http://g1.globo.com/minas-gerais/desastre-ambiental-em-mariana/noticia/2015/11/vale-admite-que-usava-barragem-de-fundao-para-depositar-rejeitos.html>. Acesso em: 20 out. 2020b.

GADD, G. M. Bioremedial potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization. Reino Unido. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 11, p. 271–279, 2000.

GARCÍA-CARMONA, M. *et al.* Residual pollution and vegetation distribution in amended soils 20 years after a pyrite mine tailings spill (Aznalcóllar, Spain). Países Baixos. *Science of the Total Environment*, v. 650, p. 933–940, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.092>.

GAYLARDE, C. C.; BELLINASSO, M. L.; MANFIO, G. P. Technical and biological aspects of bioremediation of xenobiotics. Online. *Biotechnology Science and Development*, v. 34, p. 36-43, 2005.

GEETS, J. *et al.* Real-time PCR assay for the simultaneous quantification of nitrifying and denitrifying bacteria in activated sludge. Alemanha. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 75, n. 1, p. 211–221, 2007.

GOMES, L. J. *et al.* *Pensando a biodiversidade: aroeira (Schinus terebinthifolius Raddi)*. São Cristóvão, SE. Editora UFS, 2013.

GÓMEZ, L. *et al.* *Phytoremediation with trees*. 1. ed. Londres, Reino Unido. Elsevier Ltd., 2019. v. 89. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.abr.2018.11.010>.

GRZESIAK, M. T. *et al.* Interspecific Differences in Tolerance to Soil Compaction, Drought and Waterlogging Stresses among Maize and Triticale Genotypes. Reino Unido. *Journal of Agronomy and Crop Science*, v. 201, n. 5, p. 330–343, 2015.

GUDYNAS, E. *Extractivismos: ecología, economía y política de un modo de entender el desarrollo y la Naturaleza*. Cochabamba: Centro de Documentación e Información Bolivia, Bolívia, 2015.

GUERRA, M. J. M.; BARREIRO, M. L.; RODRIGUEZ, Z. M.; RUBALCABA, Y. Actividad antimicrobiana de um extracto fluido al 80% de *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal). Cuba. *Rev. Cubana Plant. Med.*, v.5, n.1, p.23-25, 2000.

HATJE, V. *et al.* The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. Reino Unido. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 1–13, 2017.

HERRERO, M.; STUCKEY, D. C. Bioaugmentation and its application in wastewater treatment: A review. Reino Unido. *Chemosphere*, v. 140, p. 119–128, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.033>.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. *Laudo Técnico Preliminar*. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis; Diretoria de Proteção Ambiental; Coordenação Geral de Emergências Ambientais, Brasília, 2015.

- INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. *Relatório Geral de Vistoria*. Brasília, 2017.
- INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. *Relatório Geral de Vistoria, Operação Áugias*. Brasília, 2019.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. *Classificação Nacional de Atividades Econômicas*. 2. ed. Rio de Janeiro: [s.n.], 2010. v. 55. Disponível em: <http://www.bcb.gov.br/pec/GCI/PORT/readout/readout.asp>.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO – IBRAM. *Mineração industrial brasileira fecha 2020 com desempenho positivo*. Disponível em: <https://ibram.org.br/noticia/mineracao-industrial-brasileira-fecha-2020-com-desempenho-positivo/>. Acesso em: 20 out. 2020.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO – IBRAM. *Panorama da mineração em Minas Gerais*. Brasília: Instituto Brasileiro de Mineração, 2015. Disponível em: <http://www.ibram.org.br/sites/1300/1382/00006212.pdf>
- INTERNATIONAL COMMISSION ON LARGE DAMS – ICOLD. *Tailings Dams: Risk of Dangerous Occurrences. Bulletin 121*. France: 2001.
- INSTITUTO PRÍSTINO. *Laudo Técnico em resposta ao Parecer Único nº 257/2013. Laudo Técnico*. Belo Horizonte: [s.n.], 2013.
- JADIA, C. D.; FULEKAR, M. H. Phytoremediation: The application of vermicompost to remove zinc, cadmium, copper, nickel and lead by sunflower plant. Romênia. *Environmental Engineering and Management Journal*, v. 7, n. 5, p. 547–558, 2008.
- JEFFERIES, M.; BEEN, K. *Soil liquefaction A critical state framework approach*. 2. ed. Southhampton: CRC Press, 2016.
- JOUQUET, E. *et al.* Do Compost and Vermicompost Improve Macronutrient Retention and Plant Growth in Degraded Tropical Soils? Reino Unido. *Compost Science and Utilization*, v. 19, n. 1, p. 15–24, 2011.
- JUSTIÇA GLOBAL. *Vale De Lama: Relatório de inspeção em Mariana após o rompimento da barragem de rejeitos do Fundão*. Brasil, 2016.
- KUKI, K. N. *et al.* Effects of simulated deposition of acid mist and iron ore particulate matter on photosynthesis and the generation of oxidative stress in *Schinus terebinthifolius* Raddi and *Sophora tomentosa* L. Países Baixos. *Science of the Total Environment*, v. 403, n. 1–3, p. 207–214, 2008.
- KUNERT, N. *et al.* A revised hydrological model for the Central Amazon: The importance of emergent canopy trees in the forest water budget. Países Baixos. *Agricultural and Forest Meteorology*, v. 239, p. 47–57, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2017.03.002>
- LAGO, J. H. G. *et al.* Volatile oils from leaves and stem barks of *Cedrela fissilis* (Meliaceae): Chemical composition and antibacterial activities. Reino Unido. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 19, n. 5, p. 448–451, 2004.
- LANNES, L. S. *et al.* Species richness both impedes and promotes alien plant invasions in the Brazilian Cerrado. Reino Unido. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 1–9, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68412-5>
- LÁSZLÓ, F. Lessons learned from the cyanide and heavy metal accidental water pollution in the Tisa river basin in the year 2000. Online. *NATO Security through Science Series C*:

Environmental Security, p. 43–50, 2006.

LEHMANN, J. *et al.* Biochar effects on soil biota - A review. Reino Unido. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 43, n. 9, p. 1812–1836, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.04.022>

LEITE, A. C. *et al.* Trypanocidal activity of limonoids and triterpenes from *Cedrela fissilis*. Alemanha. *Planta Medica*, v. 74, n. 15, p. 1795–1799, 2008.

LIMA, M. T. *et al.* Environmental recovery dynamics of waste dumps in calcary mining by natural regeneration. Brasil. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 25, n. 1, p. 11–19, 2020.

LIN, T. C.; PAN, P. T.; CHENG, S. S. Ex situ bioremediation of oil-contaminated soil. Países Baixos. *Journal of Hazardous Materials*, v. 176, n. 1–3, p. 27–34, 2010.

LIU, W.; NI, J.; ZHOU, Q. Uptake of heavy metals by trees: Prospects for phytoremediation. Suíça. *Materials Science Forum*, v. 743–744, p. 768–781, 2013.

LÓPEZ-GÓMEZ, M.; PALMA, F.; LLUCH, C. Strategies of Salt Tolerance in the Rhizobia-Legume Symbiosis. In: GONZÁLEZ, M. B. R.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, J. (Org.). *Beneficial Plant-microbial Interactions*. Granada: 2013. p. 99–121.

LORENZI, H. *Arvores brasileiras*. 1. ed. Nova Odessa, SP, v. 1, 1992.

LOZANO, F. A. E. *Seleção de locais para barragens de rejeitos usando o método de análise hierárquica*. 2006. 115 f. São Paulo, Universidade de São Paulo, 2006.

LUTTER, R. *et al.* The impact of short-rotation hybrid aspen (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) plantations on nutritional status of former arable soils. Países Baixos. *Forest Ecology and Management*, v. 362, p. 184–193, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2015.12.009>.

MAHAJAN, P.; KAUSHAL, J. Role of Phytoremediation in Reducing Cadmium Toxicity in Soil and Water. Egito. *Journal of Toxicology*, v. 2018, 2018.

MAJI, D. *et al.* Humic acid rich vermicompost promotes plant growth by improving microbial community structure of soil as well as root nodulation and mycorrhizal colonization in the roots of *Pisum sativum*. Países Baixos. *Applied Soil Ecology*, v. 110, p. 97–108, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.10.008>

MARIANO, A. P. *et al.* Laboratory study on the bioremediation of diesel oil contaminated soil from a petrol station. Brasil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 38, n. 2, p. 346–353, 2007.

MARQUES, D. M.; VERONEZE JÚNIOR, V.; *et al.* Copper Toxicity on Photosynthetic Responses and Root Morphology of *Hymenaea courbaril* L. (Caesalpinioideae). Países Baixos. *Water, Air, and Soil Pollution*, v. 229, n. 5, 2018.

MARQUES, D. M.; SILVA, A. B.; *et al.* Growth and physiological responses of tree species (*Hymenaea courbaril* L., *Peltophorum dubium* (Spreng.) taub. and *Myroxylon peruiferum* L. f.) exposed to different copper concentrations in the soil. Brasil. *Revista Arvore*, v. 42, n. 2, 2018.

MARQUES, T. C. L. L. D. S. E M.; MOREIRA, F. M. DE S.; SIQUEIRA, J. O. Crescimento e teor de metais de mudas de espécies arbóreas cultivadas em solo contaminado com metais pesados. Brasil. *Pesq. agropec. bras.*, v. 35, n. 1, p. 121–132, 2000.

MARTÍNEZ-GARZA, C.; BONGERS, F.; POORTER, L. Are functional traits good

predictors of species performance in restoration plantings in tropical abandoned pastures? Países Baixos. *Forest Ecology and Management*, v. 303, n. November 2018, p. 35–45, 2013.

MARTÍNEZ, M.J.A.; GONZÁLEZ, N.; BETANCOURTBADELL, J. Actividad antimicrobiana del *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal). Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, v. 1, p. 37-39, 1996.

MATOS, A. P. *et al.* Atividade de *Cedrela fissilis* e *Cipadessa fruticosa* (Meliaceae) sobre a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Brasil. *BioAssay*, v. 5, n. 0, p. 1–7, 2010.

MAYES, W. M. *et al.* Dispersal and attenuation of trace contaminants downstream of the ajka bauxite residue (Red Mud) depository failure, Hungary. E.U.A. *Environmental Science and Technology*, v. 45, n. 12, p. 5147–5155, 2011.

MELLONI, R. *et al.* Density and phenotypic diversity of endophytic nitrogen fixing bacteria in soils under rehabilitation after bauxite mining. Brasil. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*, v. 28, n. 1, p. 85–93, 2004.

MELLONI, ROGÉRIO; SIQUEIRA, O.; MOREIRA, S. Fungos micorrízicos arbusculares em solos de área de mineração de bauxita em reabilitação. Brasil. *Pesq. agropec. bras.*, v. 38, n. 2, p. 267–276, 2003.

MENDEZ, M. O.; MAIER, R. M. Phytoremediation of mine tailings in temperate and arid environments. Países Baixos. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, v. 7, n. 1, p. 47–59, 2008.

MENEZES BENTO, F. *et al.* Bioremediation of soil contaminated by diesel oil. Brasil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 34, n. SUPPL. 1, p. 65–68, 2003.

MEYER, S. T. *et al.* Heavy-metal-contaminated industrial soil: Uptake assessment in native plant species from Brazilian Cerrado. Reino Unido. *International Journal of Phytoremediation*, v. 18, n. 8, p. 832–838, 2016.

MILANEZ, B. Impactos Complexos E Simplificação. Brasil. *Mineração, ambiente e sociedade: Impactos complexos e simplificação da legislação*, p. 93–101, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Monografia da Espécie Schinus terebinthifolius* Raddi. Brasília. v. 5, 2014.

MINISTÉRIO DO TRABALHO E PREVIDÊNCIA SOCIAL. *Relatório de Análise de Acidente - Rompimento da Barragem de Rejeitos I, em Brumadinho - MG*. Brasília, 2019. Disponível em:

https://enit.trabalho.gov.br/portal/images/Arquivos_SST/SST_Acidentes_Trabalho/Relatorio_Analise_Acidentes_SAMARCO-BRUMADINHO.pdf.

MISHRA, T.; PANDEY, V. C. *Phytoremediation of Red Mud Deposits Through Natural Succession*. Países Baixos: Elsevier Inc., 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-813912-7.00016-8>.

MLECZEK, M. *et al.* Phytoextraction of potentially toxic elements by six tree species growing on hazardous mining sludge. Alemanha. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24, n. 28, p. 22183–22195, 2017.

MORGENSTERN, N. R.; VICK, S. G.; VIOTTI, C. B.; WATTS, B. D. *Fundão Tailings Dam Review Panel*. Brasil. Retrieved December 13, 2016. Disponível em: <http://fundaoinvestigation.com/wpcontent/uploads/general/PR/en/FinalReport.pdf>

- MORS, W.B.; RIZZINI, C.T.; PEREIRA, N.A. *Medicinal plants of Brazil*. Reference Publications, Algonac, Michigan: p. 1 – 495, 2000.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006.
- MROZIK, A.; PIOTROWSKA-SEGET, Z. Bioaugmentation as a strategy for cleaning up of soils contaminated with aromatic compounds. Alemanha. *Microbiological Research*, v. 165, n. 5, p. 363–375, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2009.08.001>
- MUÑOZ, V. *et al.* A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach. Part I. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Chacobo Indians. Irlanda. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 69, n. 2, p. 127–137, 2000.
- NEVES, E. J. M. *et al.* *Cultivo da aroeira-vermelha (Schinus terebinthifolius Raddi) para produção de pimenta-rosa*. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2016.
- NGUYEN, Q. D.; BOGER, D. V. Application of rheology to solving tailings disposal problems. Países Baixos. *International Journal of Mineral Processing*, v. 54, n. 3–4, p. 217–233, 1998.
- NOGUEIRA, R. T. *et al.* Clerodane-type diterpenes from the seed pods of *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*. Reino Unido. *Phytochemistry*, v. 58, n. 8, p. 1153–1157, 2001.
- ODUM, E. P.; BARRETT, G. W. *Fundamentos de Ecologia*. 5. ed. São Paulo: [s.n.], 2008.
- OJUEDERIE, O. B.; BABALOLA, O. O. Microbial and plant-assisted bioremediation of heavy metal polluted environments: A review. Suíça. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 14, n. 12, 2017.
- OLIVEIRA, W. K. DE; ROHLFS, D. B.; GARCIA, L. P. O desastre de Brumadinho e a atuação da Vigilância em Saúde. Brasil. *Epidemiologia e serviços de saúde: revista do Sistema Unico de Saude do Brasil*, v. 28, n. 1, p. e20190425, 2019.
- PARADELO, R.; MOLDES, A. B.; BARRAL, M. T. Amelioration of the Physical Properties of Slate Processing Fines using Grape Marc Compost and Vermicompost. E.U.A. *Soil Science Society of America Journal*, v. 73, n. 4, p. 1251–1260, 2009.
- PARTHASARATHI, K.; BALAMURUGAN, M.; RANGANATHAN, L. S. Influence of vermicompost on the physico-chemical and biological properties in different types of soil along with yield and quality of the pulse crop-blackgram. Irã. *Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering*, v. 5, n. 1, p. 51–58, 2008.
- PASSOS, F. L.; COELHO, P.; DIAS, A. (Des)territórios da mineração: planejamento territorial a partir do rompimento em Mariana, MG. Brasil. *Cadernos Metrópole*, v. 19, n. 38, p. 269–297, 2017.
- PATHMA, J.; SAKTHIVEL, N. Microbial diversity of vermicompost bacteria that exhibit useful agricultural traits and waste management potential. Alemanha. *SpringerPlus*, v. 1, n. 1, p. 1–19, 2012.
- PEIXOTO, C. L. P. *Proposta de Nova Metodologia de Desaguamento de Rejeitos em Polpa*. 2012. 108 f. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto - MG, 2012.
- PEÑA-CLAROS, M. *et al.* Beyond reduced-impact logging: Silvicultural treatments to increase growth rates of tropical trees. Países Baixos. *Forest Ecology and Management*, v. 256, n. 7, p. 1458–1467, 2008.
- PEREIRA, A. C. C. *et al.* Concentração de metais pesados em espécies arbóreas utilizadas

para revegetação de área contaminada. Brasil. *Revista Ciência Agronômica*, v. 43, n. 4, p. 641–647, 2012.

PEREIRA, E. L. Estudo do potencial de liquefação de rejeitos de minério de ferro sob carregamento estático. Ouro Preto: UFOP, 2001. 55 p. *Relatório (Iniciação Científica)*, Departamento de Engenharia Civil, Escola de Minas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2001

PEREIRA, E. L. Estudo de potencial de liquefação de rejeitos de minério de ferro sob carregamento estático. *Dissertação de Mestrado. Departamento de Engenharia Civil, Escola de Minas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG*, p. 210, 2005.

POLÍTICA, ECONOMIA, MINERAÇÃO, AMBIENTE E SOCIEDADE – POEMAS. *Antes fosse mais leve a carga: avaliação dos aspectos econômicos, políticos e sociais do desastre da Samarco/Vale/BHP em Mariana (MG)*. Mimeo. Brasil, 2015. Disponível em: <http://www.ufjf.br/poemas/files/2014/07/PoEMAS-2015-Antes-fosse-mais-leve-a-carga-versão-final.pdf>.

POULOS, S. J.; CASTRO, G.; FRANCE, J. W. Liquefaction evaluation procedure. E.U.A. *ASCE J Geotech Eng. Div.*, v. 111, p. 772-792, 1985.

PRESOTTI, E. D. S. *Influência do Teor de Ferro nos Parâmetros de Resistência de um Rejeito de Minério de Ferro*. 2002. 153 f. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2002.

REIS, V. M. Uso de Bactérias Fixadoras de Nitrogênio como Inoculante para Aplicação em Gramíneas. Brasil, *Embrapa Agrobiologia*, p. 22, 2007.

RENOVA. *Relatório Anual de Atividades*. Belo Horizonte: 2021.

RIBEIRO JUNIOR, A. C. *et al.* Biochemical attributes and establishment of tree seedlings in soil after *Urochloa decumbens* cultivation in soil with deposition of iron mining residues. Lavras - MG. *Cerne*, v. 27, n. 1, 2021.

RIBEIRO, V. Q. F. *Proposta de metodologia para avaliação de rupturas de estruturas de disposição de rejeitos*. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2015.

RICO, M. *et al.* Reported tailings dam failures. A review of the European incidents in the worldwide context. Países Baixos. *Journal of Hazardous Materials*, v. 152, n. 2, p. 846–852, 2008.

ROCHA, J. M. D. P. Definição da Tipologia e Caracterização Mineralógica e Microestrutural dos Itabiritos Anfibolíticos das Minas de Alegria da Samarco Mineração SA MG. *Tese de Doutorado*. Engenharia Metalúrgica e de Minas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

SAGRILO, E. *et al.* *Manejo Agroecológico do Solo: os Benefícios da Adubação Verde*. 1. ed. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2009.

SAHA, D.; KUKAL, S. S. Soil Structural Stability and Water Retention Characteristics North-West India. Reino Unido. *Land degradation & development*, v. 27, n. March 2013, p. 263–271, 2015.

SALT, D.E.; SMITH, R. D.; RASKIN, I. Phytoremediation. E.U.A. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, v. 49, p. 643–68, 1998.

SALVADOR, J. L. G.; OLIVEIRA, S. B. *Reflorestamento ciliar de açudes*. São Paulo:

CESP, 1989.

SAMPAIO, A. B.; HOLL, K. D.; SCARIOT, A. Regeneration of seasonal deciduous forest tree species in long-used pastures in central Brazil. E.U.A. *Biotropica*, v. 39, n. 5, p. 655–659, 2007.

SANTOS, J. Z. L. *et al.* Crescimento, acúmulo de fósforo e frações fosfatadas em mudas de sete espécies arbóreas nativas. Brasil. *Revista Arvore*, v. 32, n. 5, p. 799–807, 2008.

SARI, S.; AKSAKAL, E. L.; ANGIN, İ. Influence of vermicompost application on soil consistency limits and soil compactibility. Turquia. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, v. 41, n. 5, p. 357–371, 2017.

SCHAEFER, C. E. G. R. *et al.* Solos desenvolvidos sobre canga ferruginosa no Brasil: uma revisão crítica e papel ecológico de termiteiros. Brasil. *Geossistemas Ferruginosos do Brasil*, p. 77–102, 2015.

SCHMOURLO, G.; MENDONCA-FILHO, R. R.; ALVIANO, C. S.; COSTA, S. S. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. Irlanda. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 96, p. 563-8, 2005.

SECRETARIA MUNICIPAL DE DESENVOLVIMENTO RURAL – SEDRU. *Avaliação dos efeitos e desdobramentos do rompimento da Barragem do Fundão em Mariana-MG*. Belo Horizonte, Minas Gerais, 2016.

SEGURA, F. R. *et al.* Potential risks of the residue from Samarco’s mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). Reino Unido. *Environmental Pollution*, v. 218, p. 813–825, 2016.

SHACKIRA, A. M.; PUTHUR, J. T.; NABEESA SALIM, E. *Acanthus ilicifolius* L. a promising candidate for phytostabilization of zinc. Países Baixos. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 189, n. 6, 2017.

SHAH, A. N.; TANVEER, M.; SHAHZAD, B.; YANG, G.; FAHAD, S.; ALI, S.; BUKHARI, M. A.; TUNG, S. A.; HAFEEZ, A.; SOULIYANONH, B. Soil compaction effects on soil health and cropproductivity: an overview. Alemanha. *Environ. Sci. Pollut. Res.* v. 24, p. 10056–10067, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8421-y>

SILVA, A. C. *et al.* Chemical, mineralogical and physical characteristics of a material accumulated on the river margin from mud flowing from the collapse of the iron ore tailings dam in Bento Rodrigues, Minas Gerais, Brazil. Brasil. *Revista Espinhaço*, v. 5, n. 2, p. 44–53, 2016.

SILVA, G. P. *et al.* Potencialidade de Plantas Para Revegetação de Estéreis e Rejeito da Mineração de Ferro da Mina de Alegria, Mariana-MG. Brasil. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 36, n. 3, p. 165–172, 2006.

SILVA, K. DE A. *et al.* Restauração florestal de uma mina de bauxita: Avaliação do desenvolvimento das espécies arbóreas plantadas [Silvicultural performance of *Tectona grandis* L.f. at different spacings in Caceres, Mato Grosso state, Brazil]. Brasil. *Floresta e Ambiente*, v. 23, n. 3, p. 309–319, 2016.

SILVA, W. P. *Estudo Do Potencial De Liquefação Estática De Uma Barragem De Rejeito Alteada Para Montante Aplicando A Metodologia De Olson (2001)*. 2010. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais, 2010.

SILVEIRA, R. B.; MELLONI, R.; MELLONI, E. G. P. Atributos Microbiológicos e Bioquímicos como Indicadores da Recuperação de Áreas Degradadas, em Itajubá/MG. Lavras, Minas Gerais. *CERNE*, v. 12, n. 1, p. 48–55, 2006.

- SINGH, SIMRANJEET *et al.* Current advancement and future prospect of biosorbents for bioremediation. Países Baixos. *Science of the Total Environment*, v. 709, p. 135895, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135895>
- SINGH, SUNDER; GUPTA, V. K. *Biodegradation and Bioremediation of Pollutants: Perspectives Strategies and Applications. International Journal of Pharmacology and Biological Sciences*. Índia, 2016. Disponível em: <http://search.proquest.com/openview/1d6c43922b81d4fbab461898e5482eaf/1?pq-origsite=gscholar&cbl=136118>
- SINHA, R. K. *et al.* The wonders of earthworms and its vermicompost in farm production: Charles Darwin's 'friends of farmers', with potential to replace destructive chemical fertilizers. Egito. *Agricultural Sciences*, v. 01, n. 02, p. 76–94, 2010.
- SIQUEIRA-SILVA, A. I. *et al.* Impact of cement dust pollution on *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae): A potential bioindicator species. Reino Unido. *Chemosphere*, v. 158, p. 56–65, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.047>
- SIQUEIRA, M. C. *et al.* Copper stress affect seed germination and seedling establishment of *Schinus terebinthifolia* Raddi. Brasil. *Hoehnea*, v. 47, 2020.
- SLADEN, J. A.; D'HOLLANDER, R. D.; KRAHN, J. Liquefaction of sands, a collapse surface approach. Canadá. *CAN. GEOTECH. J.*, v. 22, p. 564–578, 1985.
- SOARES, C. R. F. S. *et al.* Content and distribution of heavy metals in roots, stems and leaves of tree seedlings in soil contaminated by zinc industry wastes. Brasil. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 13, n. 3, p. 302–315, 2001.
- SOARES, L. Barragem de Rejeitos. *Tratamento de Minérios*. 5. ed. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2010. p. 831–896.
- SOARES, E. V.; SOARES, H. M. V. M. Bioremediation of industrial effluents containing heavy metals using brewing cells of *Saccharomyces cerevisiae* as a green technology: A review. Alemanha. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 19, n. 4, p. 1066–1083, 2012.
- SUPERINTENDÊNCIAS REGIONAIS DE MEIO AMBIENTE – SUPRAM. *Parecer Único SUPRAM - ZM Processo(s) Nº: 00015/1984/066/2008*. Juiz de Fora, Minas Gerais, 2008.
- SZAJA, A. *et al.* The effect of bioaugmentation with Archaea on the oxygen uptake rate in a sequencing batch reactor. Suíça. *Water*, v. 10, n. 5, 2018.
- TERZAGHI, K.; PECK, R. B.; MESRI, G. *Soil Mechanics in Engineering Practice*. 3. ed. United States of America, 1996.
- THOMÉ, R.; PASSINI, M. L. Mining Tailings Dams: Characteristics of the Upstream Heightening Method that Substantiated the Suspension of its Use in Minas Gerais. Brasil. *Consid.* p. 49–65, 2018.
- THOMÉ, R.; RIBEIRO, L. G. G. A Descaracterização de Barragens de Rejeito e o Plano de Fechamento de Mina como Instrumentos de Mitigação de Riscos na Mineração. Brasil. *Veredas do Direito: Direito Ambiental e Desenvolvimento Sustentável*, v. 16, n. 35, p. 63–85, 2019.
- TIVY, J. *Biogeography: A Study of Plants in the Ecosphere*. London: Longman Group, 1993.
- TOLEDO, A. de P; RIBEIRO, J. C. J; THOMÉ, R. *Acidentes com barragens de rejeitos da mineração e o princípio da prevenção: de Trento (Itália) a Mariana (Brasil)*. Rio de Janeiro:

Lumen Juris, 2016.

TU, C. *et al.* Biochar and bacteria inoculated biochar enhanced Cd and Cu immobilization and enzymatic activity in a polluted soil. Reino Unido. *Environment International*, v. 137, n. February, p. 105576, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105576>

TULLUS, A. *et al.* Short-rotation forestry with hybrid aspen (*Populus tremula* L.×*P. tremuloides* Michx.) in Northern Europe. Suécia. *Scandinavian Journal of Forest Research*, v. 27, n. 1, p. 10–29, 2012.

UNITED STATES GEOLOGICAL SURVEY – USGS. *Mineral commodity summaries 2020*. E.U.A: U. S. GEOLOGICAL SURVEY, 2020. Disponível em: <https://pubs.usgs.gov/periodicals/mcs2020/mcs2020.pdf>

UNITED STATES COMMITTEE ON LARGE DAMS, COMMITTEE ON TAILINGS DAMS – USCOLD. *Tailings Dam Incidents*. Denver: U.S Committee on Large Dams, E.U.A, 1994.

VALE. *Relatório de Sustentabilidade 2015*. Rio de Janeiro: Vale S.A., 2016

VALLE, C. F. DO *et al.* Características Morfológicas e Resistência à Metais Pesados de Bactérias Diazotróficas Isoladas de Plantas de *Brachiaria decumbens* crescidas em Solo Contaminado. *Elementos da Natureza e Propriedades do Solo, Vol. 2*. Atena Edit ed. Ponta Grossa (PR): p. 140–151, 2018.

VERDENELLI, R. A.; LAMARQUE, A. L.; MERILES, J. M. Short-term effects of combined iprodione and vermicompost applications on soil microbial community structure. Países Baixos. *Science of the Total Environment*, v. 414, p. 210–219, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.10.066>

VIANI, R. A. G.; VIDAS, N. B.; PARDI, M.; CASTRO, D. C. V.; GUSSON, E.; BRANCALION, P. H. S. Animal-dispersed Pioneer Trees Enhance the Early Regeneration in Atlantic Forest Restoration Plantations. Brasil. *Natureza & Conservação*, v.13, n.1, p.41-46, 2015.

VICK, S. G. *Planning, Design, and Analysis of Tailings Dams*. 1. ed. Vancouver: BiTech Publishers LTD, 1999.

WALTER, M. V.; CRAWFORD, R. L. Overview: biotransformation and biodegradation. In: HURST, C.J.; KNUDSEN, G.R.; MCINERNEY, M.J.; STETZENBACH, L.D.; WALTER, M.V. *Manual of environmental microbiology*. Washington: American Society for Microbiology Press, p. 894, 1996.

WALTERS, R. D.; WHITE, J. G. Biochar in situ decreased bulk density and improved soil-water relations and indicators in southeastern US coastal plain Ultisols. *Lippincott Williams & Wilkins, Inc.*, E.U.A., v. 183, n. 3, p. 99–111, 2018.

WAN, Z. *et al.* Sustainable remediation with an electroactive biochar system: Mechanisms and perspectives. Reino Unido. *Green Chemistry*, v. 22, n. 9, p. 2688–2711, 2020.

WANDERLEY, L. J. Do Boom ao Pós-Boom das commodities: o comportamento do setor mineral no Brasil. Brasil. *Versos*, v. 1, n. 1, 2017.

WANG, J.; WANG, S. Preparation, modification and environmental application of biochar: A review. Reino Unido. *Journal of Cleaner Production*, v. 227, p. 1002–1022, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.04.282>

WANG, Q. *et al.* Changes in soil properties, X-ray-mineral diffractions and infrared-

functional groups in bulk soil and fractions following afforestation of farmland, Northeast China. Reino Unido. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 1–14, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-12809-2>

WANG, Y. *et al.* Vermicompost and biochar as bio-conditioners to immobilize heavy metal and improve soil fertility on cadmium contaminated soil under acid rain stress. Países Baixos. *Science of the Total Environment*, v. 621, p. 1057–1065, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.121>

WEHR, J. B.; FULTON, I.; MENZIES, N. W. Revegetation strategies for bauxite refinery residue: A case study of Alcan Gove in Northern Territory, Australia. E.U.A. *Environmental Management*, v. 37, n. 3, p. 297–306, 2006.

WETLER-TONINI, R. M. C.; DE REZENDE, C. E.; GRATIVOL, A. D. Degradação e Biorremediação de Compostos do Petróleo por Bactérias: Revisão. Rio de Janeiro. *Oecologia Australis*, v. 14, n. 4, p. 1010–1020, 2010.

WU, X. *et al.* Individual and combined effects of soil waterlogging and compaction on physiological characteristics of wheat in southwestern China. Países Baixos. *Field Crops Research*, v. 215, n. October 2017, p. 163–172, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2017.10.016>

YADAV, R. *et al.* Perspectives for genetic engineering of poplars for enhanced phytoremediation abilities. Países Baixos. *Ecotoxicology*, v. 19, n. 8, p. 1574–1588, 2010.

YAKUBU, M. B. Biological approach to oil spills remediation in the soil. South Africa. *African Journal of Biotechnology*, v. 6, n. 24, p. 2735–2739, 2007.

YI, Y. *et al.* Magnetic biochar for environmental remediation: A review. Reino Unido. *Bioresource Technology*, p. 122468, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122468>

ZABOTTO, A. R. *et al.* Copper accumulation and distribution in two arboreal species of the Atlantic Forest. Brasil. *Floresta e Ambiente*, v. 27, n. 1, p. 1–7, 2020.

ZANCANARI, N. S. *et al.* Inoculação de microrganismos e adição de resíduos para recuperação de área degradada no Cerrado, efeitos após seis anos de intervenção. Brasil. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 11, p. 1–23, 2020.

ZANON, J. A. *et al.* Impact of sand mining: A case study of initial growth of forest species for recovery of degraded areas. Chile. *Bosque*, v. 42, n. 1, p. 111–120, 2021.

ZARDARI, M. A. *Mechanical Properties of Fine Grained, Sulphur Rich, Silty Soils*. 2010. 88 f. Luleå University of Technology, Luleå, Sweden, 2010.

Vermicompost improves growth of tree species in different stages of ecological succession under iron mine tailings

Leticia Aparecida Bressanin¹, Kamila Rezende Dázio¹, Thiago Correa de Souza¹

¹Institute of Natural Sciences, Federal University of Alfenas, Alfenas, Brasil

Corresponding author: Federal University of Alfenas – UNIFAL-MG, Institute of Natural Sciences - ICN,700, Gabriel Monteiro Street. Phone: +55 35 32991419, FAX: +55 3532991 419, P.O. Box 37130-000, Alfenas-MG, Brazil

Email: thiago.souza@unifal-mg.edu.br, ORCID: 0000-0002-4991-7704, Tel.: 55(35) 98405-4956

ABSTRACT

Environmental contamination by iron mine tailings occurs worldwide; however, the growth of cultivated tree species in different stages of ecological succession in such areas is not well understood.

Over 80 days, with data collected every 20 days, the morphophysiology of three tree species in different stages of ecological succession (*Schinus terebinthifolius*, pioneer; *Cedrela fissilis*, secondary; and *Cariniana estrellensis*, climax) was investigated in a growth room. These were subjected to iron mine tailings from the Fundão Dam (Mariana-MG, Brazil), with the addition of either soil or vermicompost (2%) as an amendment.

Schinus terebinthifolius and *C. fissilis* had higher quantities of dry matter, exhibited more changes in shoot and root morphology, as well as less variations in chlorophyll *a* fluorescence, indicating tolerance to the mine tailings. However, *C. estrellensis* was highly susceptible to these tailings.

The pioneer species were more tolerant to mine tailings, suggesting their potential use as an excellent tool for the recovery of contaminated areas. The secondary species were also tolerant to mine tailings, although to a lesser extent. The climax species were found to be more sensitive to the tailings, but field establishment can differ when succession is already in place. The vermicompost showed great potential as an amendment, thereby reducing the bioavailability of Fe and Mn and favoring the growth of *S. terebinthifolius* and *C. fissilis*.

Keywords: *Schinus terebinthifolius* (Aroeira-pimenteira), *Cedrela fissilis* (Cedro Rosa), *Cariniana estrellensis* (Jequitibá Branco), mine tailings, vermicompost, plant biometrics, chlorophyll *a* fluorescence, leaf gas exchange

1. INTRODUCTION

Accidents involving mine tailings have occurred globally, causing innumerable losses to the environment and surrounding populations (USCOLD, 1994; Alastuey et al., 1999; Fourie et al., 2002; Mayes et al., 2011; De Souza Júnior et al., 2018; ANM, 2019; García-Carmona et al., 2019; Oliveira et al., 2019). In Brazil, the 2015 collapse of the Fundão Dam (Samarco S.A.) released 50 million cubic meters of tailings into the Doce River watershed spanning across the state of Minas Gerais up to its delta in the state of Espírito Santo. The tailings covered over 600 km, burying and removing soil and vegetation, thereby affecting flora, fauna, and human communities (IBAMA, 2015). This resulted in chemical and physical changes in the soil, such as increases in pH and heavy metal concentrations, reduction in organic matter, nutritional imbalance, leaching, erosion, and compaction (Segura et al., 2016; Silva et al., 2016; Hatje et al., 2017; Andrade et al., 2018). Such changes can make the recovery process in the affected areas difficult.

Since the above-mentioned event, remediation alternatives have been sought; however, many techniques have been ineffective due to irreversible changes in soil, as well as challenges in logistics and/or costs. One of the most sustainable alternatives is phytoremediation, a low-cost technique that uses plants to reduce contamination and thus, results in lesser damage to the environment (Salt & Smith, 1998). Nevertheless, the concentration of metals in the mine tailings of the Fundão Dam has never been the core issue, as studies have indicated that the concentration of these metals is not high enough to cause toxicity (Andrade et al., 2018; Cruz et al., 2020; Esteves et al., 2020a, 2020b; Zago et al., 2019). Instead, greater focus has been given to the physical limitations of the tailings, such as compaction (Zago et al., 2019) and low amount of clay in its composition (Esteves et al., 2020a, 2020b; Zago et al., 2019), both of which limit the uptake of nutrients by plants (Cruz et al., 2020), thereby reducing plant growth.

To select the plant species to be used, it is important that it has a robust and deep root system that can break the physical barrier provided by the tailings, in addition to being able to tolerate potentially high concentrations of heavy metals, chemical imbalance, and low soil fertility. Additionally, reforestation tends to improve the physicochemical and biological properties of degraded soils, and the plantation of tree species in a degraded area allows for skipping the initial stages of natural succession; therefore, succession occurs faster, and this, in turn, may aid the recovery of degraded areas (Berhongaray et al., 2017; Wang et al., 2017; Wu et al., 2018). In this context, pioneer trees stand out for their rapid growth. Subsequently,

species of later successional levels can begin their establishment and can also contribute to the recovery of degraded areas.

In general, tree species can develop extensive root systems and have high transpiration rates (Gómez et al., 2019; Yadav et al., 2010). In addition, the remedial capacity of trees increases with each season for decades after initial establishment, and their resilience and self-sufficiency incur low costs (Lutter et al., 2016; Tullus et al., 2012). Tree species have already been considered as potential species for reforestation in areas affected by Fundão tailings (Cruz et al., 2020). However, the use of species in different stages of ecological succession remains unevaluated. Thus, it is imperative to study tree species, especially those of different levels of succession, in the presence of mine tailings while aiming for environmental recovery (de Meira Junior et al., 2015; Almeida & Almeida, 2016). It is important to highlight the lack of studies on this aspect. Although previous studies have explored the growth of tree species under tailings, no direct study on the influence of succession levels is known (Cruz et al., 2020).

There is another tool for improving the physical and chemical conditions of soil contaminated with tailings, i.e., the use of vermicompost as an amendment. Vermicompost can change the pH and bioavailability of micronutrients in the soil, thereby increasing the density of particles and the content of organic matter, which tends to improve plant development (Alvarenga et al., 2009; Huang et al., 2016; Sharma and Nagpal, 2018). Thus, the application of vermicompost also reduces the physical limitations of the substrate (Esteves et al., 2020b). With these characteristics, vermicompost has already been shown to favor the growth of species cultivated under iron mine tailings (Esteves et al., 2020b). Furthermore, other soil amendments have also promoted the growth of plants in mine tailings (Cruz et al., 2020).

This study aimed to evaluate the growth of tree species of different levels of ecological succession that are cultivated in the presence of iron mine tailings and to verify the attenuating potential of vermicompost. It was hypothesized that the representative of each level of ecological succession would present different behaviors and that the addition of vermicompost would improve the performance of these species.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 Experimental conditions and plant material

Three native species from the Atlantic Forest and/or the Cerrado were selected. These represented different levels of ecological succession, specifically: *Schinus terebinthifolius* Raddi. (Aroeira-pimenteira – Pepper tree, pioneer species), *Cedrela fissilis* Vellozo (Cedro Rosa – Pink Cedar, secondary species), and *Cariniana estrellensis* (Raddi) O. Kuntze (Jequitibá Branco – White Jequitibá, climax species). The seedlings, approximately six months old and having a standardized height, were commercially obtained. They had been produced in tubes with forest substrate (pine bark, coconut fiber, and expanded vermiculite) and fertilized with a slow-release fertilizer.

The seedlings were acclimatized in a growth room for 15 days, transplanted to 2 L pots containing substrates related to the treatments, and again subjected to acclimatization. The treatments used were soil, mine tailings, and mine tailings with the addition of vermicompost (2% m/m). The concentration of vermicompost was as stipulated by previous tests and literature. The vermicompost remained in incubation for 40 days (irrigated to field capacity) before characterization and the sowing of the seedlings. Iron mine tailings from the Fundão Dam were collected weeks after the accident in the municipality of Mariana-MG (UTM 669690 West, 779984 South). They were then dried and sieved to ensure greater homogeneity.

The treatments were carried out for 80 days, with data collection performed at intervals of 20 days (C1: the beginning of the experiment after the second acclimatization, C2: 20 days, C3: 40 days, C4: 60 days, C5: 80 days). During the experiment, the average temperature remained at 25.5 ± 1 °C and the average humidity was between 48% and 60%.

The substrates were irrigated with distilled water, reaching up to approximately 70% of the maximum water retention capacity of the substrates. Irrigation control was performed by weighing the pots daily. The parameters evaluated over time were morphology, leaf gas exchange, and chlorophyll *a* fluorescence. At the end of the experiment, plant dry matter, leaf lipid peroxidation, and root morphology were also evaluated.

2.2 Substrate characterization

The substrates used in this study were characterized by analyzing composite samples subjected to physical and chemical analyses (Table 1), according to standard laboratory protocols and methods (da Silva Junior et al., 2018). Only Mn and Fe were present at concentrations higher than that allowed under the CONAMA Resolution No. 420/2009 (CONAMA, 2009).

Table 1. Chemical and physical analyses of substrates (soil, mine tailings, mine tailings with the addition of 2% m/m vermicompost) and vermicompost, which were used for the cultivation of *Schinus terebinthifolius*, *Cedrela fissilis*, and *Cariniana estrellensis*. The mine tailings were collected in the municipality of Mariana-MG (UTM 669690 West, 779984 South).

Substrates	pH	OM	K	P	Ca	Mg	Al	H ⁺ Al	Zn	Fe	Mn	Cu	B	S	P-Rem
		g.kg ⁻¹	----mg.kg ⁻¹ ----	-----cmol.dm ⁻³ -----	-----mg.kg ⁻¹ -----										
Soil	5.7	15.6	116.79	0.00	2.65	0.11	0.10	2.20	0.60	48.60	14.20	23.70	0.06	4.60	15.30
Tailings	7.8	2.7	16.2	11.9	1.5	0.1	0.04	0.62	0.00	55211.00*	562.37*				43.35
T + V	7.3	6.8	135.36	44.24	2.66	0.08	0.10	0.60	3.10	256.30	71.90	64.30	0.11	11.00	25.20
Vermicompost	8.2	476.8	3508.65	1427.14	8.13	0.11	0.20	0.60	41.90	6854.70	80.60	26.00	0.22	48.10	21.90
	SB	CEC	T	V	m	Clay	Silt	Sand	Ds	Dp	VTP	Micro	Macro	U _{SAT}	
	-----cmolc.dm ⁻³ -----			-----%-----		-----g.kg ⁻¹ -----			-----g.cm ⁻³ -----		-----%-----				
Soil	3.06	3.16	5.26	58.16	3.16	590	130	280							
Tailings	1.6	1.6	2.2	72.1	2.4	82	439	479	1.9	2.53	47.33	31.6	16.73	37.67	
T + V	3.09	3.19	3.69	83.66	3.13	140	350	510							
Vermicompost	17.24	17.44	17.84	96.62	1.15	-	-	-							

Ca, calcium; Mg, magnesium; Al, aluminum; H⁺Al, potential acidity; Zn, zinc; Fe, iron; Mn, manganese; Cu, copper; B, boron; S, sulfur; OM, organic matter; K, potassium; P, phosphorus; REM-P, remaining phosphorus; SB, sum of exchangeable bases; CEC, effective cation exchange capacity; T, potential CEC at pH 7.0; V, CEC base saturation at pH 7.0; m, aluminum saturation; Ds, soil density; Dp, particle density; VTP, total pore volume; Micro, microporosity; Macro, macroporosity; U_{SAT}, saturation humidity.

2.3 Biometric analysis

Non-destructive morphology was evaluated every 20 days. Plant height (cm), number of nodes, number of fully expanded leaves, number of total leaves, stem diameter (mm), and relative chlorophyll content were analyzed.

At the end of the experiment, leaf area was analyzed, and leaves and stems were collected separately for dry matter assessment. The plant material was placed in a forced air circulation oven at 60 °C until it reached a constant weight for subsequent weighing. The leaf area (cm²) was obtained from the average of the images of all the leaves present in each plant and processed using ImageJ software (Schneider et al., 2012).

For root morphology, WinRhizo Pro 2007a (Regent Instruments, Canada) was used. The collected roots were washed and stored in 70% ethanol. The parameters evaluated were length (cm), surface area (cm²), mean diameter (mm), root volume (cm³), specific length (cm g⁻¹), tissue density (g cm⁻³), and root fineness (cm cm⁻³). Later, the roots were dried in a forced-air circulation oven at 60 °C until a constant weight was obtained to determine the dry matter.

2.4 Leaf gas exchange and relative chlorophyll content

To assess gas exchange, an IRGA (Infra-Red Gas Analyzer – LI-6400XT, LI-COR, United States) was used on the last fully expanded leaf or trefoil, depending on the species. The analyses were standardized to be performed in the morning. The parameters analyzed were net photosynthetic rate (A), stomatal conductance (g_s), intercellular carbon (C_i), transpiration (E), and water use efficiency (WUE , using the A/E ratio). The CO₂ flux was 500 μmol mol⁻¹ from the ambient mean, and the block temperature was 25 °C. The photosynthetically active radiation (PAR) used was determined for each species using light curves: 1800 μmol m⁻² s⁻¹ for *S. terebinthifolius* and 1400 μmol m⁻² s⁻¹ for both *C. fissilis* and *C. estrellensis*.

The relative chlorophyll content was determined using the SPAD index and was obtained with a portable chlorophyll meter (SPAD - 502 Plus – Konica Minolta, Japan), by taking readings on fully expanded leaves or trefoil. An average of eight readings per plant was obtained in this manner. Stem diameter was measured with the aid of a digital caliper.

2.5 Chlorophyll *a* fluorescence

To assess the fluorescence of the studied plants, a modulated MINI-PAM fluorimeter (Heinz Walz, Effeltrich, Germany) and a modulated image fluorimeter (Handy FluorCam FC-1000-H, Photon Systems Instruments – PSI, Ltd., Czech Republic) were used. The notation of the main terms and parameters can be found in Table 2.

Table 2. Notation of the parameters of chlorophyll *a* fluorescence

PSII	photosystem II
F_o, F_m	initial and maximum fluorescence emitted by dark-adapted samples
F_v/F_m	maximum quantum yield of PSII
$Y(II), \Delta F/F'_m$	effective quantum yield of PSII
NPQ, qP	non-photochemical, photochemical quenching
A	initial slope of the curve, related to photosynthetic yield
I_k	minimum saturation irradiance
ETR, ETR_m	electron transport rate, maximum electron transport rate
Rfd	ratio of fluorescence decrease

The MINI-PAM was used to construct a steady-state light curve (LC) and a relaxation curve to determine the minimum dark adaptation time for each species studied. The minimum dark adaptation time for each was determined from the observation of the behavior of F_m in 50 min for *S. terebinthifolius*, 30 min for *C. fissilis*, and 40 min for *C. estrellensis*. Before the LC, the plants underwent dark adaptation, and then F_o , F_m , and F_v/F_m were assessed.

Subsequently, these were exposed to 12 increasing intensities of PAR (25–1480 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) to reach a steady state concerning $\Delta F/F'_m$. Thus, the radiations were applied at intervals of 50 s, with the LC having a total duration of 10 min. The parameters observed from the LC regression were α (electrons photons⁻¹), I_k ($\mu\text{mol photons (m}^2 \text{s}^{-1})$), and ETR_m (mmol electrons ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$)).

FluorCam was used to obtain PSII dark (F_v/F_m) and light ($Y(II)$, NPQ , qP , Rfd , and ETR) fluorescence parameters. For this analysis, the quenching protocol was used (Oxborough & Baker, 1997) with an electronic shutter of 2% and 20% sensitivity. ETR values were obtained using the following equation (Schultz, 1996):

$$ETR = \frac{F'_m - F}{F_m} \times PAR \times 0.5 \times 0.84$$

The last fully expanded leaf or trefoil was standardized for assessment on both pieces of equipment after these had undergone dark adaptation.

2.6 Lipid peroxidation

To evaluate lipid peroxidation in the leaves and roots of the species under study, fully expanded leaves and the middle third part of the roots were standardized for use. For the analysis, the formation of malondialdehyde (MDA) was determined in accordance with (Buege; Aust, 1975).

2.7 Experiment design and data analysis

The experimental design was completely randomized and was performed in a factorial scheme for each species (3×5), with a split-plot overtime. The experiment comprised three levels of treatment (soil, tailings, and tailings + vermicompost), five levels of collection (C1 to C5), and eight replicates per treatment.

For data analysis, the means and standard errors of the mean for each parameter were calculated. Data were tested for normality (Shapiro–Wilk, $P > 0.05$) and homogeneity (Brown–Forsythe, $P > 0.05$). The analysis of variance (ANOVA) by split-plot overtime was used and, in case of significance ($P \leq 0.05$), the means were compared using the Scott–Knott test ($P \leq 0.05$) in Sisvar version 5.6 (Ferreira, 2014).

To better visualize how the parameters were related within each species and among treatments, principal component analysis (PCA) was performed (Jolliffe, 2010). The coefficients for each component were established using a correlation matrix. The parameters analyzed at the end of the experiment (C5) were plotted separately from the parameters monitored over time, which were analyzed individually for each species. Parameters of the same nature (fluorescence, gas exchange, morphology) that were highly correlated according to Pearson's coefficient ($r > 0.7$, $P \leq 0.05$) were removed from the PCA to facilitate visualization (Fig. S1, S2, S3, S4).

3 RESULTS

3.1 Principal component analysis

For the three species studied, there was high similarity of behavior between those grown in tailings and those in tailings + vermicompost. The two main components found by PCA (Fig. 1) explained 53.5% of the data analyzed for *S. terebinthifolius* (Fig. 1A). *NPQ*, *qP*, *ETR*, F_v/F_m , and gas exchange (with the exception of *WUE*) were correlated with soil treatment. However, better morphology (in terms of height, stem diameter, number of nodes, total number of leaves and number of fully expanded leaves) was favored under tailings and tailings + vermicompost.

In the case of *C. fissilis*, the two main components accounted for 36.6% of the data analyzed. Most of it was related to the soil, but greater *Ci*, *WUE*, height, and stem diameter were favored by tailings and tailings + vermicompost.

In comparison, *C. estrellensis* presented most of the evaluated parameters attributed to the soil treatment, except for *qP*, *Ci*, and α , which were related to the tailings and tailings + vermicompost treatments. The principal components explained 40% of the data correlation.

Notably, in *C. fissilis* and *C. estrellensis*, the initial appearance of symptoms of toxicity or nutritional deficiency under the influence of mine tailings in C3 worsened until C5. The symptoms included chlorotic leaves, burning of the edges, and yellowing of the internodal area, in addition to malformation of the leaflets in *C. fissilis*. Leaf-related symptoms were not observed in *S. terebinthifolius*.

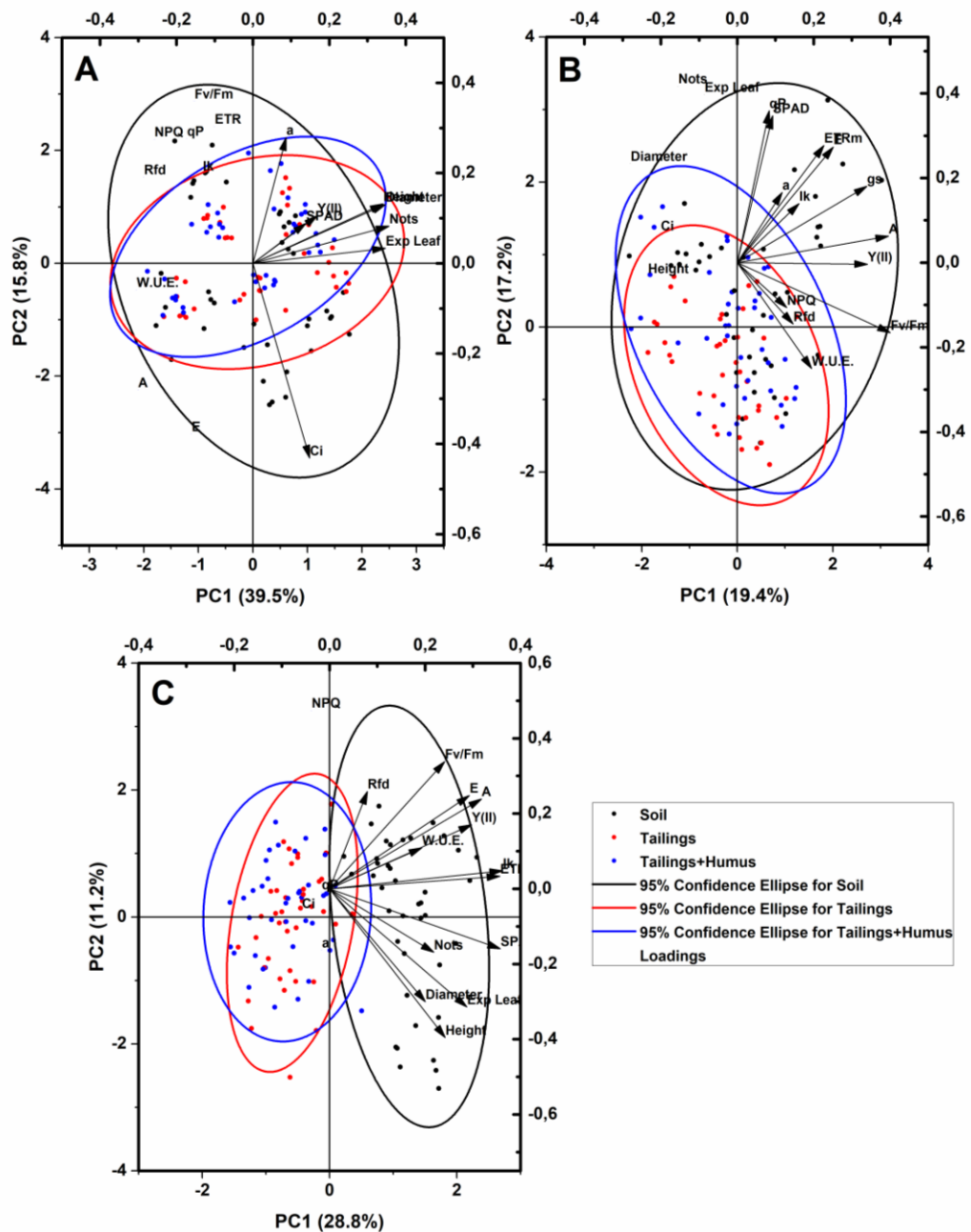


Figure 1. Principal component analysis by correlation for the following parameters collected over time: morphology, biometry, gas exchange, and chlorophyll *a* fluorescence, which were evaluated in *Schinus terebinthifolius* (A, 53.5%), *Cedrela fissilis* (B, 36.6%), and *Cariniana estrellensis* (C, 40%) during 80 days of cultivation in soil, mine tailings, and tailings + vermicompost.

In the PCA, which compares all studied species at the end of the experiment, the two main components accounted for 47.2% of the data variation (Fig. 2). The parameters were more

attributable to *S. terebinthifolius*; however, root *DTR*, α , and I_k values were related to *C. estrellensis*, whereas *Rfd*, *NPQ*, and *Ci* values were related to *C. fissilis*.

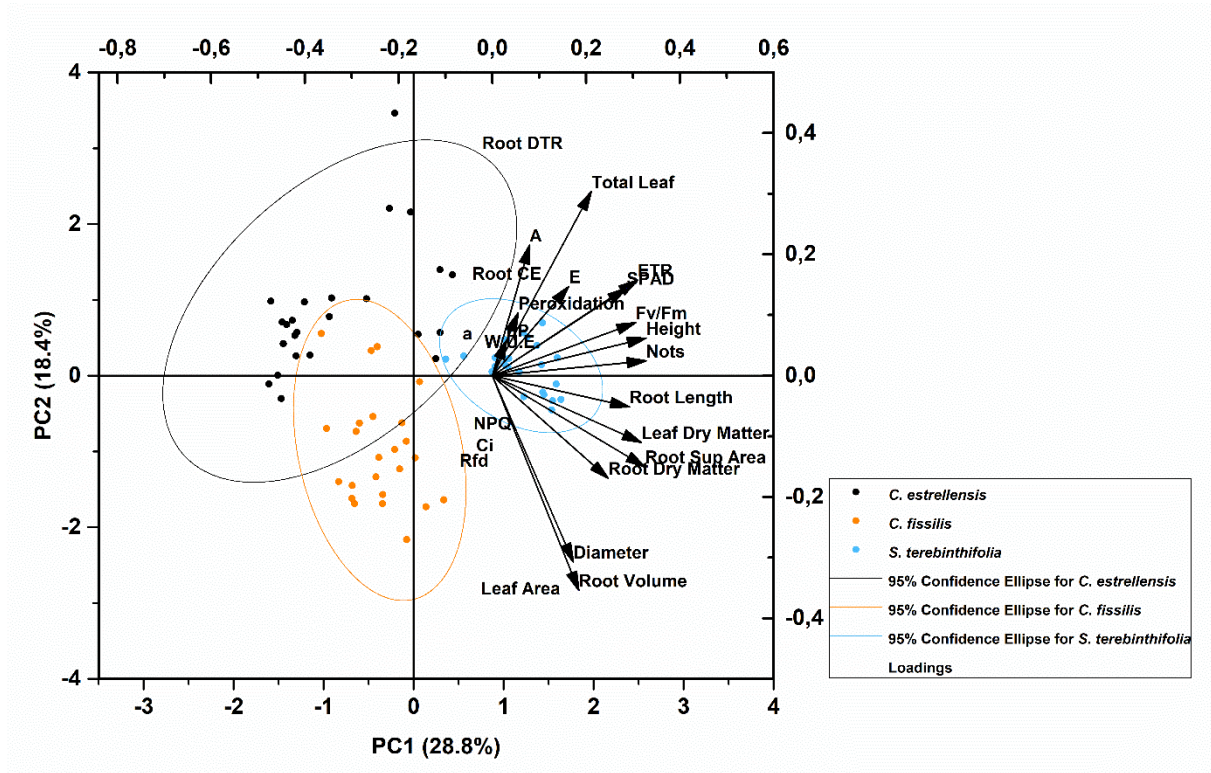


Figure 2. Principal component analysis by correlation for the following parameters collected at the end of the experiment: morphology, biometry, gas exchange, and chlorophyll *a* fluorescence, which were evaluated in *Schinus terebinthifolius*, *Cedrela fissilis*, *Cariniana estrellensis*.

3.2 Morphological analysis, plant biometrics, and leaf gas exchange

Neither tailings nor vermicompost interfered with the biometric parameters of *S. terebinthifolius* and *C. fissilis* (Fig. 3A-H). The only major change observed in *S. terebinthifolius* occurred in C4 and C5, where the height of the plants under tailings and tailings + vermicompost was greater than that under soil (Fig. 3A). Comparison of C1 and C5 showed an increase in height, diameter, number of nodes, and number of fully expanded leaves in *S. terebinthifolius* (Fig. 3A, B, C, D).

Nevertheless, in *C. fissilis* plants there were no significant increases in height or number of fully expanded leaves when subjected to tailings over time, but they showed an average of

16% increase in height and 40% increase in number of fully expanded leaves in the soil and tailings + vermicompost (Fig. 3E, H). Stem diameter and the number of nodes increased by 40% and 42%, respectively (Fig. 3F, G). In contrast, the presence of tailings impaired the growth of *C. estrellensis*, and the addition of vermicompost did not lead to any improvement (Fig. 3I-L). With time, there was a significant increase only in the parameters of average height and number of fully expanded leaves in the soil. Little or no change was verified in terms of stem diameter and number of nodes. Notably, probably due to the semi-deciduous profile of both species and the time of year when collections 2 to 4 (C2-C4) were undertaken, leaf drop occurred across all treatments, with reestablishment occurring in C5.

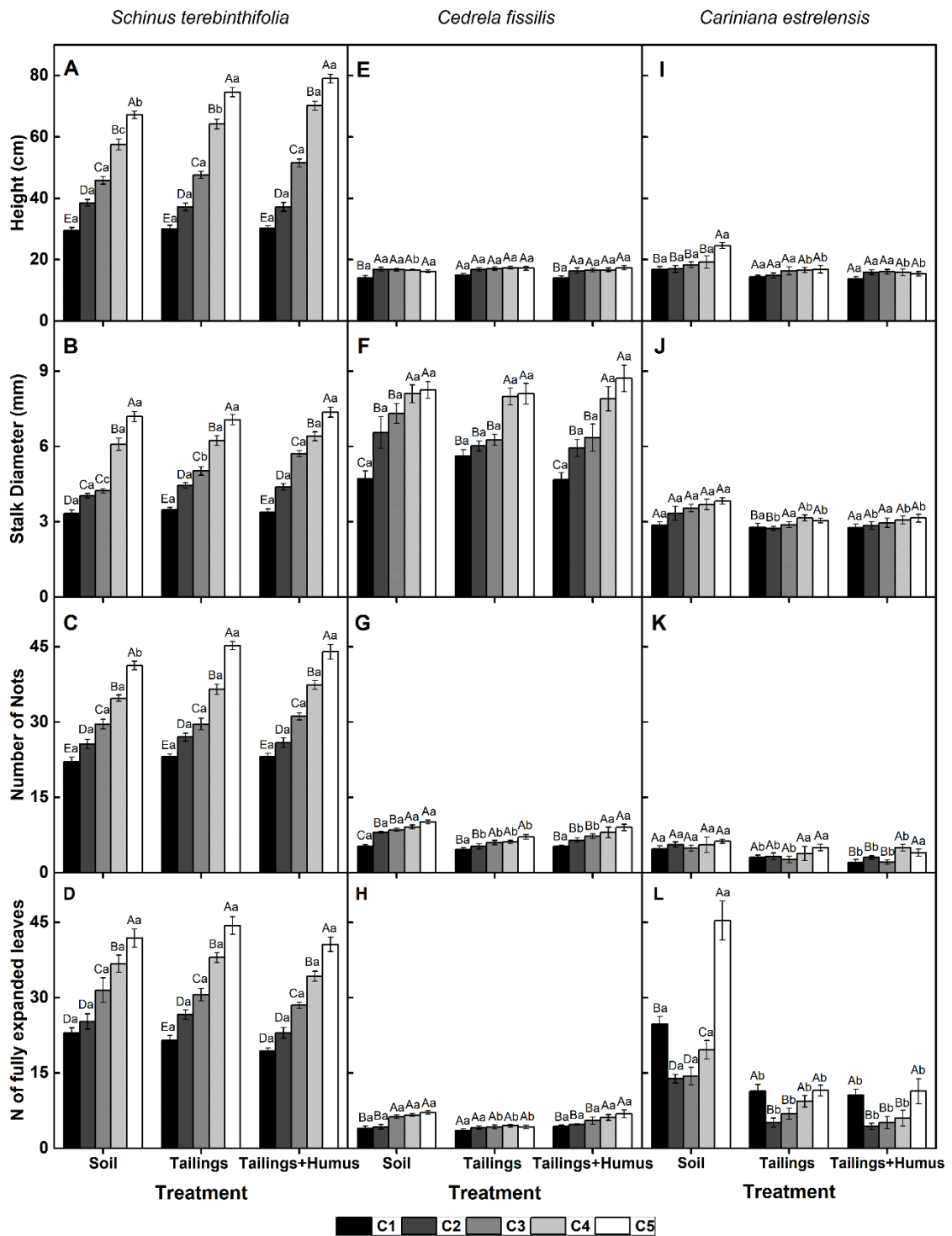


Figure 3. Height, stem diameter, number of nodes, and number of fully expanded leaves in *Schinus terebinthifolius* (A-D), *Cedrela fissilis* (E-H), and *Cariniana estrellensis* (I-L) grown in soil, tailings, and tailings + vermicompost. Means followed by the same uppercase letter between collections and lowercase between treatments do not differ by the Scott–Knott test at

5% probability ($P \leq 0.05$). The bars correspond to the standard error of the mean of eight repetitions.

Regarding roots morphology (Fig. 4), great differences in behaviors were observed among these species. *Schinus terebinthifolius* showed the greatest root length and surface area. There was increased length (Fig. 4A), surface area (Fig. 4C), and root volume (Fig. 4D), while the mean root diameter remained the same (Fig. 4B). Root growth was not hindered by the tailings, but vermicompost only affected the surface area.

Cedrela fissilis, however, showed a reduction in length and surface area (Fig. 4A, C) but an increase in root volume and diameter (Fig. 4D, B). Finally, *C. estrellensis* showed a significant decrease in root length (Fig. 4C) but not in root volume (Fig. 4D). It is noteworthy that *S. terebinthifolius* and *C. fissilis* had greater root volumes.

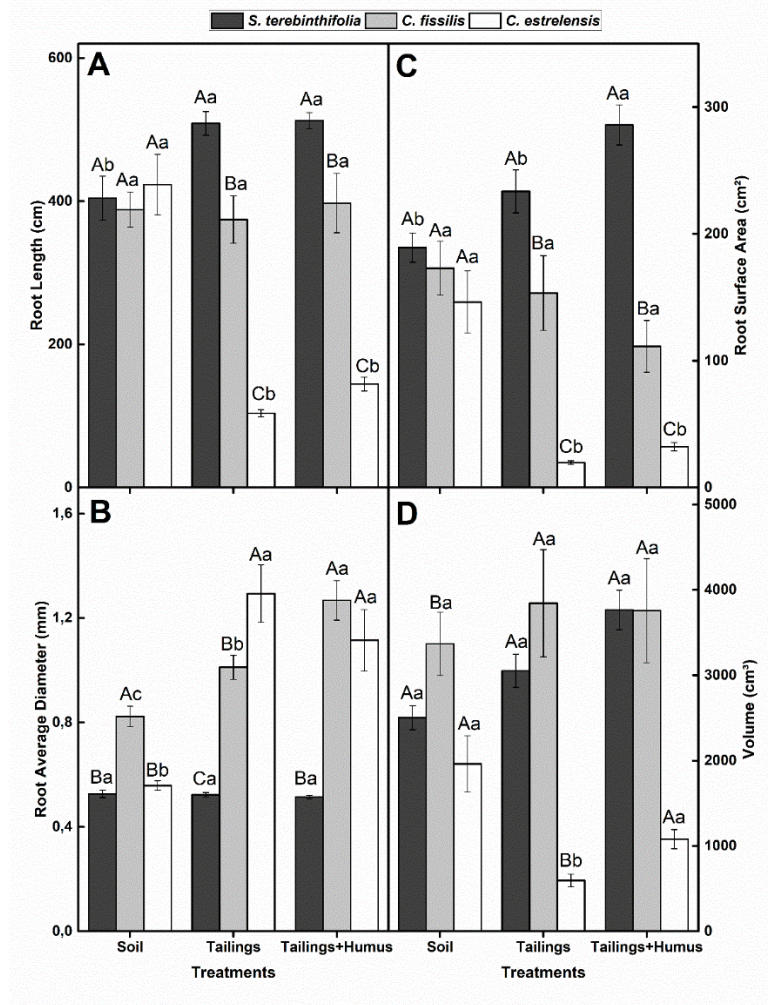


Figure 4. Length (A), mean diameter (B), surface area (C), and volume (D) of roots of *Schinus terebinthifolius*, *Cedrela fissilis*, *Cariniana estrellensis*, grown in soil, tailings, and tailings +

vermicompost. Means followed by the same uppercase letter between species and lowercase letter between treatments do not differ by the Scott–Knott test at 5% probability ($P \leq 0.05$). The bars correspond to the standard error of the mean of eight repetitions.

Schinus terebinthifolius showed unchanged morphology and root dry matter content (Fig. 5) between treatments. *Cedrela fissilis* showed a reduction only in Specific root length (SRL) (Fig. 5A), while *C. estrellensis* had decreased SRL and root fineness (Fig. 5A, C). Root tissue density (RTD) (Fig. 5B) did not show major differences across species or treatments, but a lower mean was observed in *C. fissilis* when under tailings.

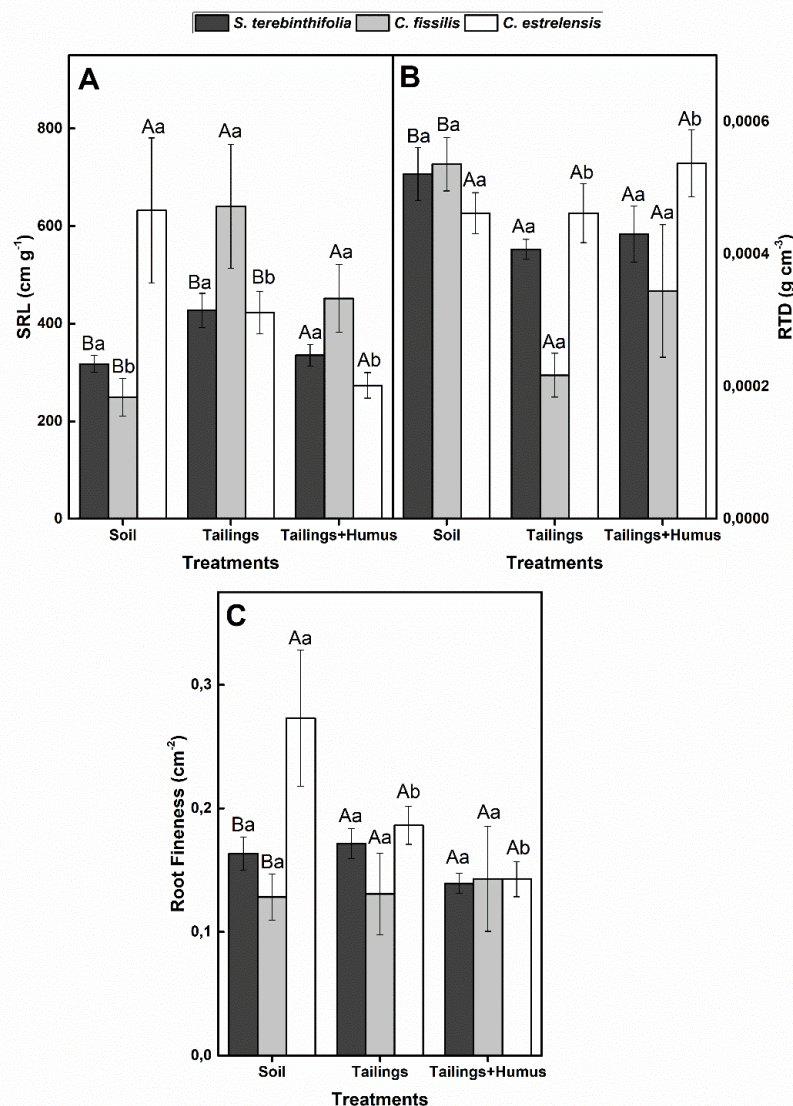


Figure 5. Specific root length (A), root tissue density (B), and root fineness (C) of *Schinus terebinthifolius*, *Cedrela fissilis*, *Cariniana estrellensis* grown in soil, tailings, and tailings + vermicompost. Means followed by the same uppercase letter between species and lowercase

letter between treatments do not differ by the Scott–Knott test at 5% probability ($P \leq 0.05$). The bars correspond to the standard error of the mean of eight repetitions.

Schinus terebinthifolius did not show any changes in leaf area (Fig. 6A), lipid peroxidation (Fig. 6C), or root dry matter (Fig. 6E) with the treatments. However, it did show increases in the dry matter contents of leaves and stems (Fig. 6B, D), which exceeded that of the other studied species. *Cedrela fissilis* showed a decrease in lipid peroxidation and root dry matter, but there was an increase in leaf area with the tailings treatment and in leaf dry matter with the imposition of tailings + vermicompost, with no change in stem dry matter. This species showed the largest leaf area. In contrast, *C. estrellensis* maintained leaf area and stem dry matter; however, it showed reductions in leaf and root dry matter and even more drastic reductions in lipid peroxidation, with values close to zero when under tailings and tailings + vermicompost.

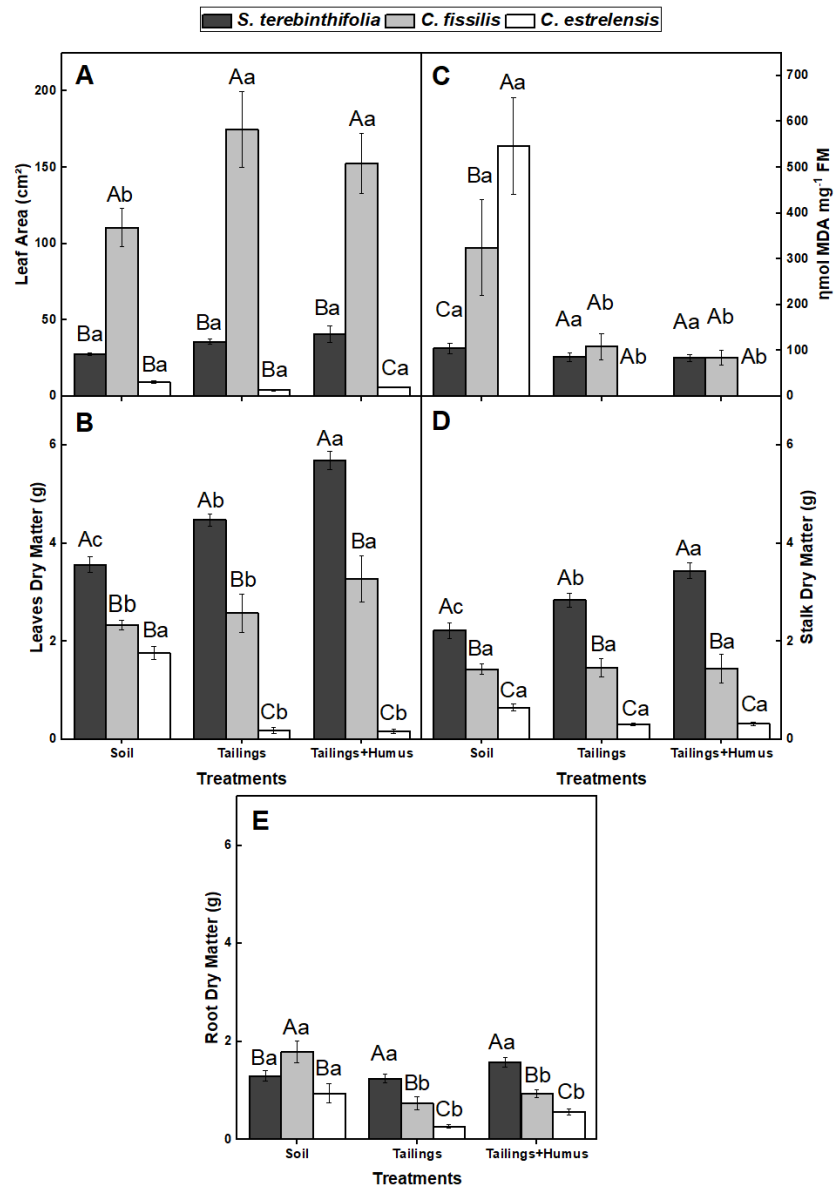


Figure 6. Leaf area (A), leaf dry matter (B), lipid peroxidation (C), stem dry matter (D), and root dry matter (E) for *Schinus terebinthifolius*, *Cedrela fissilis*, *Cariniana estrellensis* grown in soil, tailings, and tailings + vermicompost. Means followed by the same uppercase letter between species and lowercase letter between treatments, do not differ by the Scott–Knott test at 5% probability ($P \leq 0.05$). The bars correspond to the standard error of the mean of eight repetitions.

For all the plant species studied, there were decreases in g_s and E values over time, mainly observed from C1 to C2 (Fig. 7 and 3). The C_i values decreased in C2, C3, and C4; however, compared to C1, there was re-establishment in C5 (Fig. 7C, G, K). The net photosynthetic rate (Fig. 7A, E, I) decreased over time (between C1 and C5) for *S. terebinthifolius* and *C. fissilis*

when under tailings + vermicompost, and for *C. estrellensis* in soil. For *C. fissilis* under soil and tailings and for *C. estrellensis* under tailings and tailings + vermicompost, there was an increase in this parameter from C1 to C2, followed by a drop in C5.

Schinus terebinthifolius did not show significant changes in g_s and E values across treatments (Fig. 7B, D). However, a higher C_i was initially observed in the soil (Fig. 7C). In addition, A was not influenced by the treatments (Fig. 7A).

There were no significant changes among the treatments for *C. fissilis* with respect to A and E (Fig. 7E, H). Nevertheless, g_s initially dropped under tailings and tailings + vermicompost, whereas the difference in g_s observed for plants in soil reduced with time (Fig. 7F). C_i , however, was higher when *C. fissilis* was exposed to tailings (Fig. 7G).

Changes in gas exchange in *C. estrellensis* fluctuated over time, while A , g_s , and E were initially higher in the soil treatment (Fig. 7I, J, L). C_i , in general, did not show significant differences among the treatments (Fig. 7K).

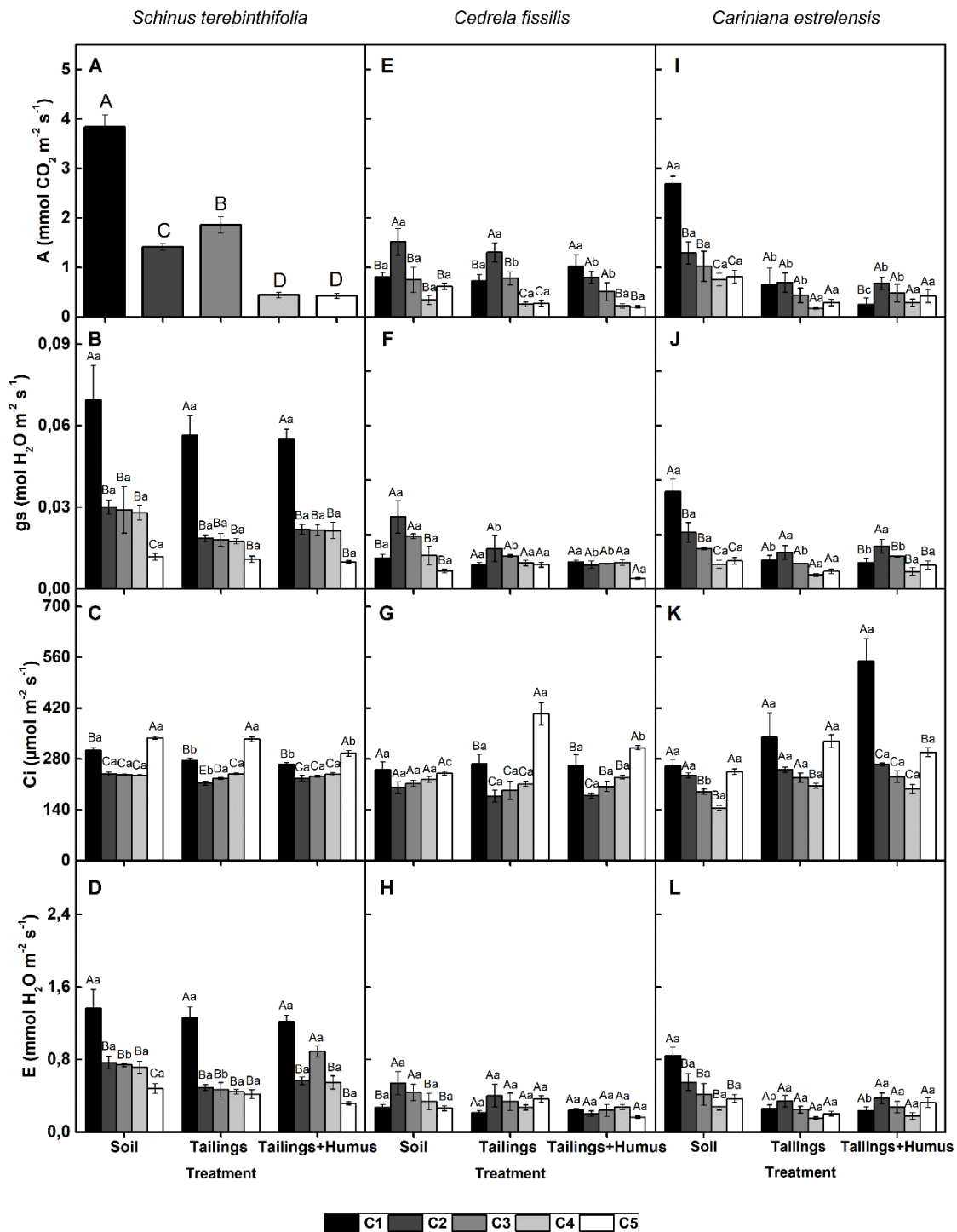


Figure 7. Net photosynthetic rate (A), stomatal conductance (g_s), intercellular carbon (C_i), and transpiration (E) in *Schinus terebinthifolius* (A-D), *Cedrela fissilis* (E-H), and *Cariniana estrellensis* (I-L) grown in soil, tailings, and tailings + vermicompost. Means followed by the same uppercase letter between collections and lowercase letter between treatments do not differ by the Scott–Knott test at 5% probability ($P \leq 0.05$). The bars correspond to the standard error of the mean of eight repetitions.

The treatments did not influence *S. terebinthifolius* in terms of the relative content of chlorophyll and only slightly affected the total number of leaves (Fig. 8B, C). The *WUE*, however, tended to be slightly better under tailings and tailings + vermicompost in C5 (Fig. 8A). Over time, there was an increase in the number of total leaves, as well as in the relative content of chlorophyll up to C4, accompanied by a decrease in *WUE*

The tailings caused an overall reduction in the relative chlorophyll content and the total number of leaves in *C. fissilis* (Fig. 8E, F), whereas an increase in these parameters was observed with the addition of vermicompost. *WUE* was not affected by the treatments (Fig. 8D). In comparing C1 and C5, it was observed that while the *WUE* decreased, the relative chlorophyll content and the total number of leaves increased.

Tailings also caused a reduction in the relative chlorophyll content and the total number of leaves in *C. estrellensis* (Fig. 8H, I). However, the addition of vermicompost did not increase these parameters, and these remained statistically unchanged. With respect to time, only the plants in the soil treatment showed increases in both the relative content of chlorophyll and the total number of leaves. Moreover, there was a decrease in *WUE* when under tailings (40.6%), and an increase was observed when under tailings + vermicompost (51.4%) (Fig. 8G).

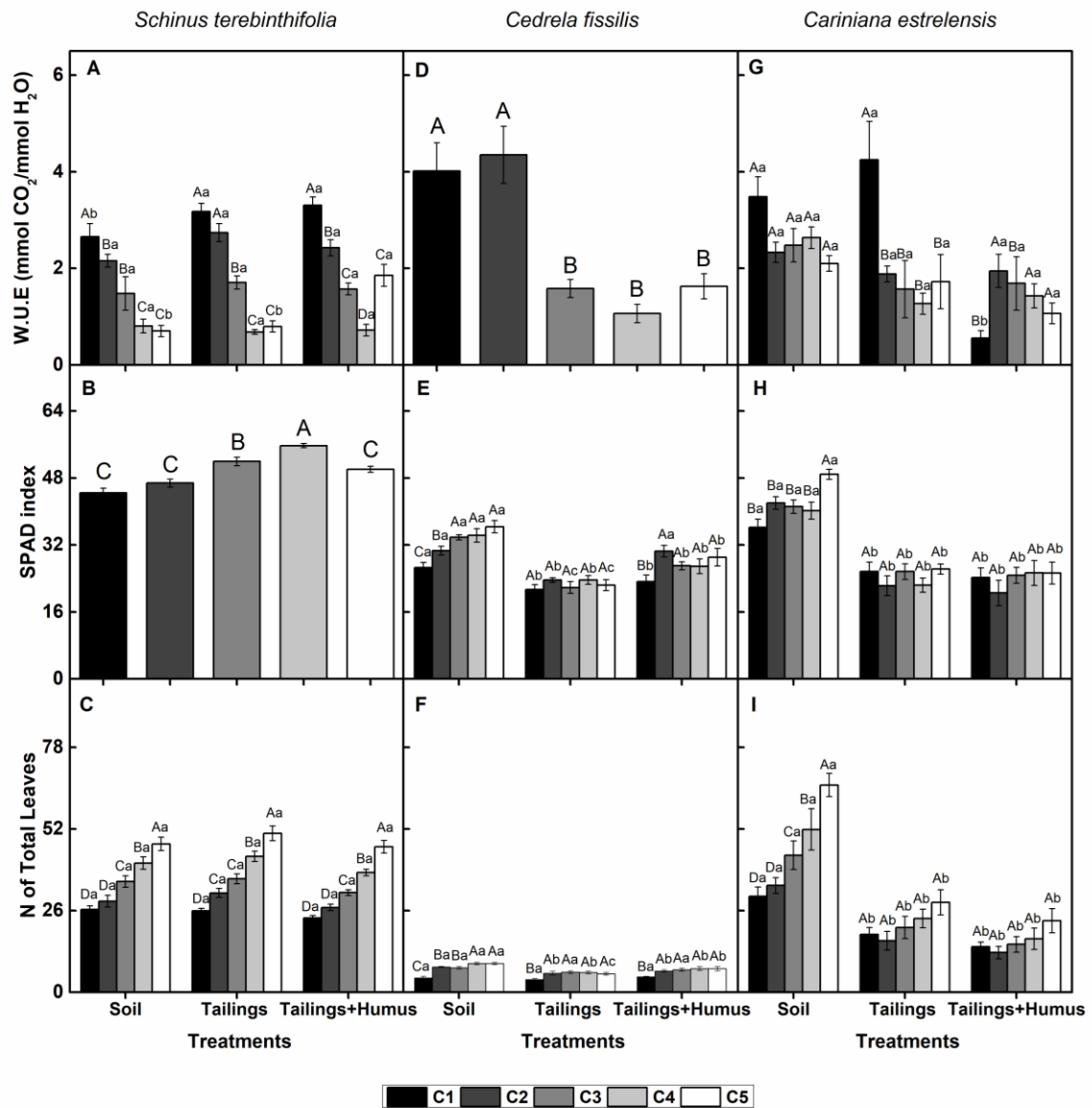


Figure 8. Water use efficiency (*WUE*), relative chlorophyll content (*SPAD* index), and the total number of leaves in *Schinus terebinthifolius* (A-C), *Cedrela fissilis* (D-F), and *Cariniana estrellensis* (G-I) grown in soil, tailings, and tailings + vermicompost. Means followed by the same uppercase letter between collections and lowercase letter between treatments do not differ by the Scott–Knott test at 5% probability ($P \leq 0.05$). The bars correspond to the standard error of the mean of eight repetitions.

3.3 Chlorophyll *a* fluorescence

In general, the tailings did not affect the performance of *S. terebinthifolius* in terms of chlorophyll *a* fluorescence, with respect to F_v/F_m (Fig. 9A) and qP (Fig. 10B), as there was a small increase in both compared to plants in soil, in terms of the $Y(II)$ (Fig. 9B). The addition of vermicompost caused an increase in ETR in C5, as well as in Rfd and NPQ (Fig. 9C, 10C, A). Time negatively influenced all the parameters, except F_v/F_m , when under tailings and tailings + vermicompost, and except ETR when under tailings + vermicompost.

Moreover, *C. fissilis* did not show major changes in its fluorescence with the application of treatments; only F_v/F_m suffered a reduction under tailings and tailings + vermicompost in C5 (Fig. 9D). An oscillatory profile was observed in terms of ETR (Fig. 9F). Over time, there was also a decrease in F_v/F_m , $Y(II)$, NPQ (67.5%), and Rfd . Moreover, ETR remained unchanged but qP increased.

Cariniana estrellensis appeared to be more susceptible to treatments with regard to fluorescence. The plants cultivated in tailings showed decreased F_v/F_m , $Y(II)$, ETR (Fig. 9G, H, I), and NPQ (Fig. 10G), even with vermicompost, while the qP and Rfd values (Fig. 10H, I) were maintained. Nevertheless, over time there were decreases in F_v/F_m , $Y(II)$, and NPQ (63.2%), but ETR (64%) increased.

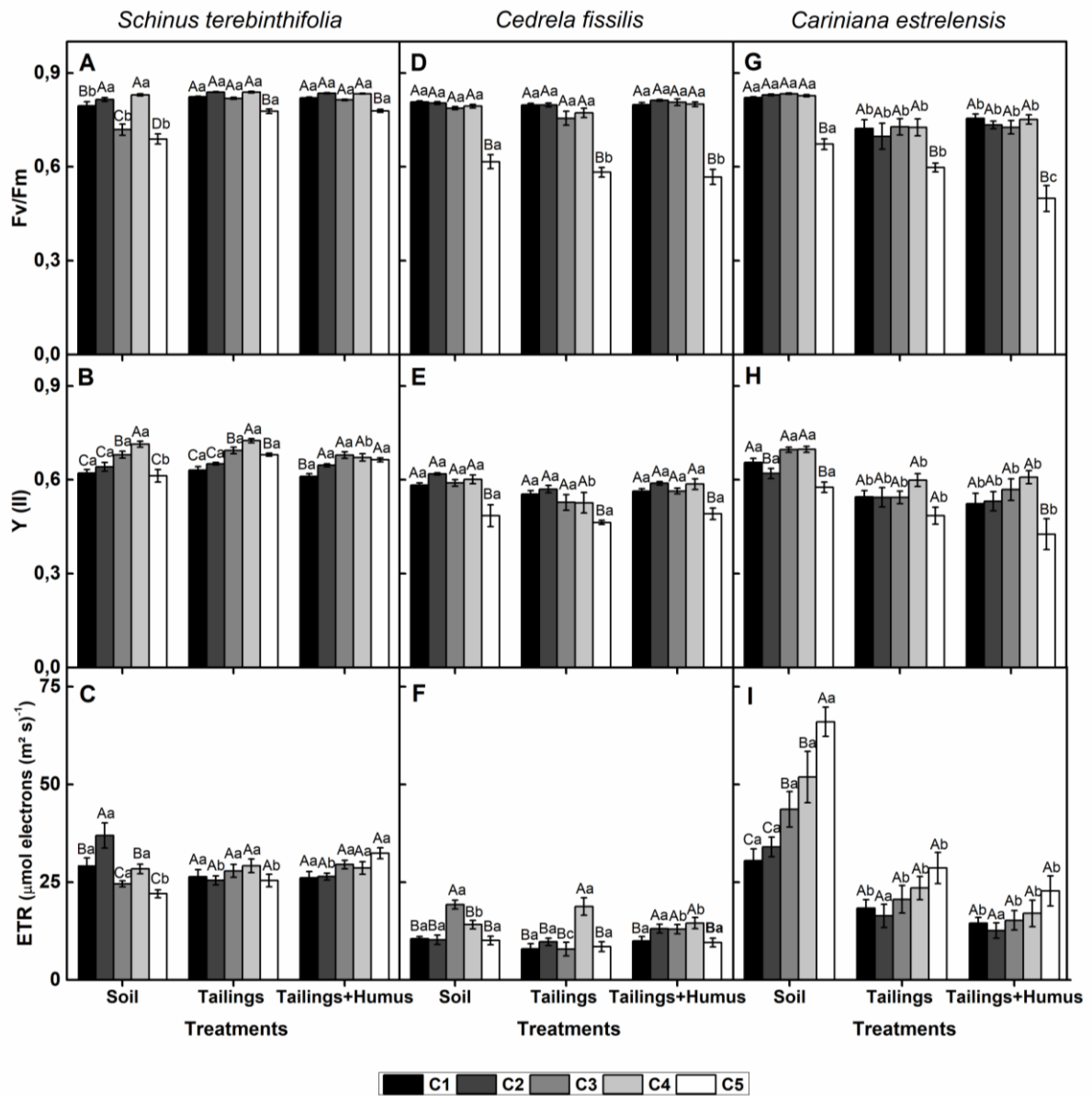


Figure 9. PSII maximum quantum yield (F_v/F_m), PSII effective quantum yield ($Y(II)$), and electron transport rate (ETR) in *Schinus terebinthifolius* (A-C), *Cedrela fissilis* (D-F), and *Cariniana estrellensis* (G-I) grown in soil, tailings, and tailings + vermicompost. Means followed by the same uppercase letter between collections and lowercase letter between treatments do not differ by the Scott–Knott test at 5% probability ($P \leq 0.05$). The bars correspond to the standard error of the mean of eight repetitions.

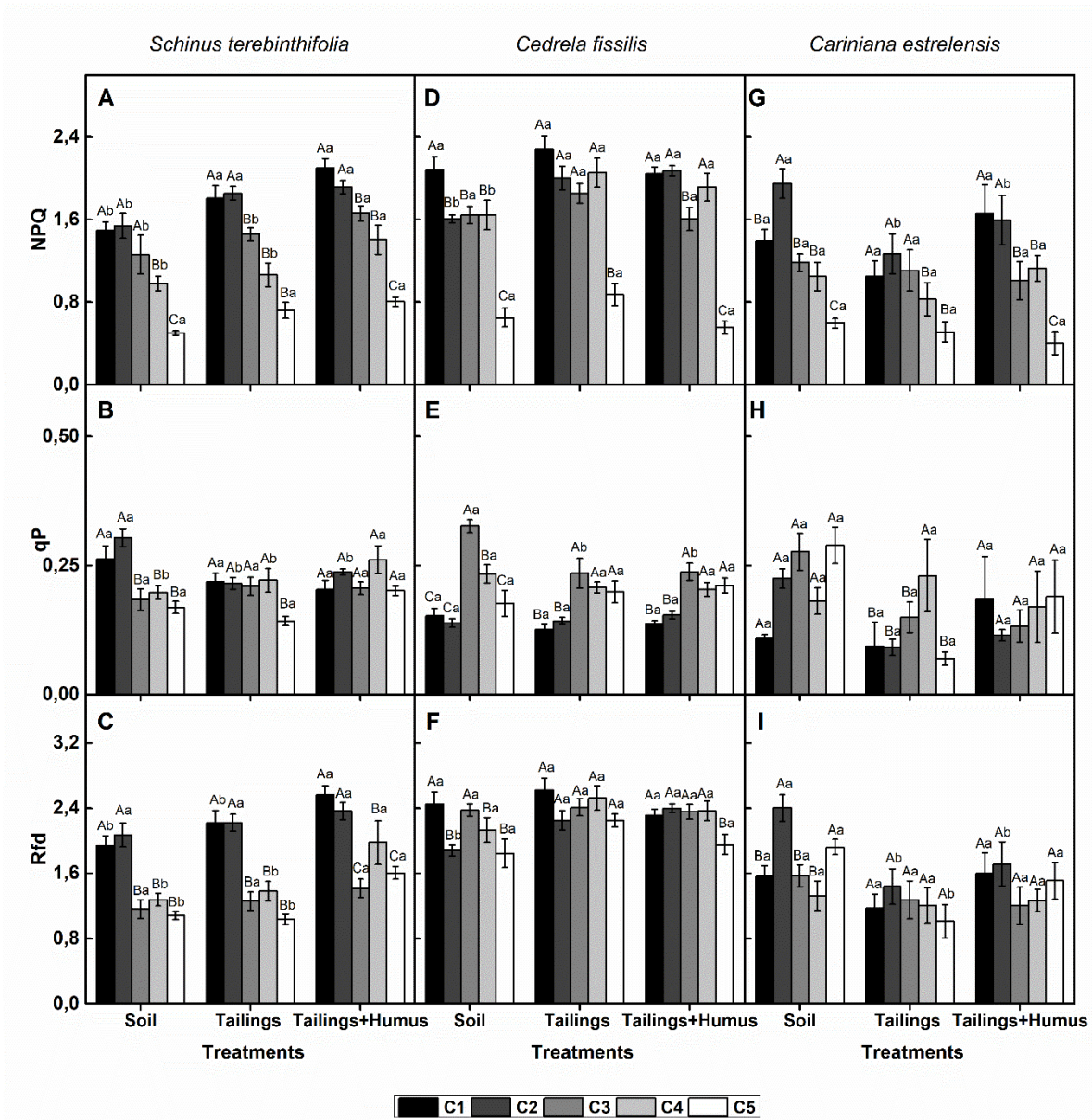


Figure 10. Non-photochemical quenching (NPQ), photochemical quenching (qP), and ratio of fluorescence decrease (Rfd) in *Schinus terebinthifolius* (A-C), *Cedrela fissilis* (D-F), and *Cariniana estrellensis* (G-I) grown in soil, tailings, and tailings + vermicompost. Means followed by the same uppercase letter between collections and lowercase letter between treatments do not differ by the Scott–Knott test at 5% probability ($P \leq 0.05$). The bars correspond to the standard error of the mean of eight repetitions.

As for the parameters related to the chlorophyll a fluorescence light curve (Fig. 11), in general, *S. terebinthifolius* (Fig. 11A, B, C) did not show changes in its α , I_k , and ETR_m under the treatments, but instead the oscillatory profiles between collections and treatments had

changed. At the end of the experiment, for example, there was an increase in α and ETR_m when under tailings.

Oscillatory behavior was also observed in *C. fissilis* and *C. estrellensis*. In the case of *C. fissilis* (Fig. 11D, E, F), at the end of the experiment, the parameters had greater values in the plants treated with the tailings. However, *C. estrellensis* did not show statistically significant changes in α but showed decreases in I_k and ETR_m with the imposition of tailings.

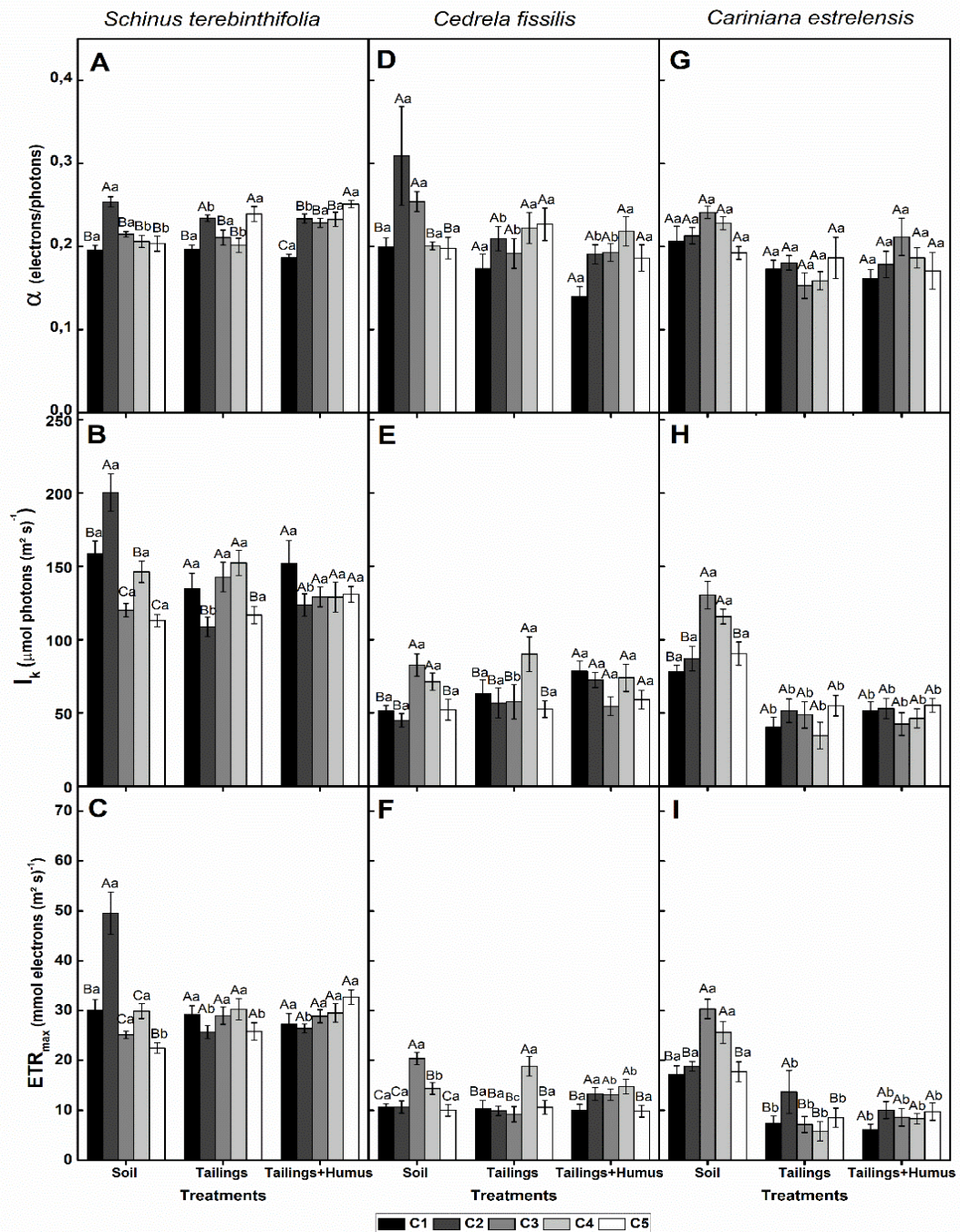


Figure 11. The initial slope (α), minimum saturation irradiance (I_k), and maximum electron transport rate (ETR_m) of the fluorescence light curves in *Schinus terebinthifolius* (A-C), *Cedrela fissilis* (D-F), and *Cariniana estrellensis* (G-I) cultivated in soil, tailings, and tailings + vermicompost. Means followed by the same uppercase letter between collections and lowercase letter between treatments do not differ by the Scott–Knott test at 5% probability ($P \leq 0.05$). The bars correspond to the standard error of the mean of eight repetitions.

4. DISCUSSION

The physical and chemical characteristics of the mine tailings indicate an infertile profile, which is not aggravating in nature in respect of heavy metals, and a potential impedance to root growth as in compacted soils (Table 1). Compacted soils are characterized by increased density, decreased porosity, greater amounts of sand and silt despite the presence of clay, difficulty in aeration and water infiltration, as well as increased impedance, leaching, and erosion (Kozłowski, 1986; Colombi & Walter, 2017). Compared to other studies, the tailings in the present study showed a higher pH and V%, less clay, and similar nutrient profiles (Cruz et al., 2020). Despite the higher V%, the amount of sand and pH did not favor nutrient availability, particularly the availability of Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , and SO_4^{2-} .

The physical barrier imposed on soil resource utilization by roots must be taken into account, as it may have hindered plant growth as a whole (Morales et al., 2018). This physical barrier has already been described in other studies on iron tailings and the growth of cultivated or native species (Andrade et al., 2018; Zago et al., 2019; Esteves et al., 2020a). Moreover, the addition of organic compounds mitigated the physical impacts of tailings on plant growth by increasing the height, stem diameter, and the dry biomass of the shoot and root (Zago et al., 2019) or by favoring shoot growth despite the reduced root systems (Esteves et al., 2020b).

In addition, pH, V%, and clay content are important factors in the availability of micronutrients to plants (Nederlof, 1993; Sharma et al., 2013). In general, the acidification (as observed in Table 1) that occurs with the addition of vermicompost can increase the bioavailability of Fe, Mn, Zn, and other micronutrients (Stevenson, F. J.; Cole, 1999). The imbalance in the content or bioavailability of micronutrients in the soil has deleterious implications for plants, as they are essential for photosynthesis and respiration, as well as in composing or being the cofactors of several enzymes involved in plant metabolism (Lüthje et al., 2018).

In the present study, the addition of vermicompost increased the amounts of organic matter and clay in the tailings, as well as reduced the pH (Table 1). Additionally, there was an increase in the concentrations of K, P, Ca, and Zn, which were previously deficient in the tailings. Therefore, vermicompost also influenced the bioavailability of other nutrients, such as Ca, which has little mobility in plants. Because the micronutrients were less bioavailable in the tailings due to the high pH, it is assumed that the addition of vermicompost contributed to a greater availability of micronutrients to the plants, while reducing the concentrations of Fe and Mn. The addition of vermicompost reduced the amounts of Fe and Mn; however, changes in pH, V%, and clay content indicate that these micronutrients have become more bioavailable to the plants.

The symptoms observed in the leaves of *C. fissilis* and *C. estrellensis* under tailings were very similar and may indicate a deficiency in mainly K, Mg, Ca, Mo, and S. This could be attributed to infertility caused by the low content or bioavailability of certain nutrients in the mine tailings, coupled with excess Fe and Mn (Dalcorsio et al., 2014; Andresen et al., 2018). The physicochemical characteristics of the tailings are not favorable for the absorption of micro- (very high pH) or macronutrients (CEC and a low amount of clay). Deficiency in micronutrients can lead to several deleterious effects on plant metabolism, such as shortage of pigments, which in turn can impose limitations on photosynthetic and photoprotective processes. Limitations in these processes can then lead to chlorosis or necrosis (Morales et al., 2018) and the malformation of leaves or leaflets. In this study, such symptoms (chlorosis and leaf malformation) were verified in *C. fissilis* and *C. estrellensis*, and in the latter, there was also leaf necrosis and impairment of photosynthetic and photoprotective processes.

The compacted profile and nutritional deficiency together tend to reduce plant growth, (Kozłowski, 1986; Zaharieva & Abadía, 2003; Zocchi et al., 2007; Morales et al., 2018), including height, stem diameter, leaf area and number, dry matter, and root morphology (Ferree & Streeter, 2004; Louzeiro et al., 2018; Picchio et al., 2019). However, tolerant species may not only overcome these reductions but may also show increases in these parameters (Picchio et al., 2019), as seen during the present study in *S. terebinthifolius* and *C. fissilis* (in terms of growth maintenance).

All the species studied here show some degree of tolerance to infertile soils or soils with partially compromised drainage, even if they thrive in deep, well-drained soils with significant amounts of clay (Carvalho, 2005, 2003; Lorenzi, 1992). The major difference is related to the

preference for moist (*C. estrellensis*, *C. fissilis*) or drier soils (*S. terebinthifolius*) and the ability to thrive in sandy soils (*S. terebinthifolius*) (Lenzi et al., 2004).

Although all three species have deep and extensive root systems, *S. terebinthifolius* is known for its ability to colonize disturbed environments (Li & Norland, 2001), owing to its high robustness, phenotypic plasticity, genetic variability (Spector & Putz, 2006), and efficiency in the use of nutrients (Carneiro et al., 1996). These considerations can help *S. terebinthifolius* to survive under abiotic stresses, such as high pH, water stress, and salinity (Dawkins & Esiobu, 2016; Ewe & Sternberg, 2005, 2003).

Cedrela fissilis and *C. estrellensis* are also known for their plasticity, but this is in regard to specific aspects, such as luminosity and soil fertility (Carvalho, 2003). These aspects are key to understanding the higher growth observed in *S. terebinthifolius* compared to the others.

In summary, *S. terebinthifolius* is more efficient in the use of nutrients and can better exploit mine tailings to obtain nutrients. Its phenotypic plasticity makes it capable of developing more efficient modifications that allow it to survive under adverse conditions, such as under exposure to mine tailings. *Cedrela fissilis* also presented signs of tolerance. Despite having reduced surface area and root extension due to the effect of the tailings, *C. fissilis* showed larger root diameters and volumes.

The application of nutrient solution (Andrade et al., 2018), organic compost (Zago et al., 2019), or fertilizer (Cruz et al., 2020), tended to reduce the harmful effects of mine tailings from the Fundão Dam. Similar to the present study, some tree species showed excellent growth under tailings, while others were susceptible to it (Cruz et al., 2020). However, in the present study, vermicompost led to improved physical characteristics, greater OM availability, increased CEC, and greater availability of nutrients for absorption by plants. Other studies involving the same tailings had differing outcomes (Cruz, 2020; Zago, 2020).

The principal component analysis indicated similar profiles of the plants in the tailings and tailings + vermicompost treatments for the three species (Fig. 1A, B, C). However, *C. estrellensis* in soil exhibited behavior that was practically opposite to that of the tailings group, presenting the typical profile of a plant sensitive to stress (Fig. 1C).

Nevertheless, the PCAs of *S. terebinthifolius* (Fig. 1A) and *C. fissilis* (Fig. 1B) demonstrated that these species were tolerant to the tailings. For *C. fissilis*, most parameters correlated to soil treatment; however, others were related to the tailings, indicating the existence of a tolerance mechanism. *Schinus terebinthifolius* showed parameters that correlated with both

treatments, highlighting a morphology that is highly adapted to the tailings and tailings + vermicompost treatments. A high-tolerance profile stands out in this manner.

The profiles highlighted above are further emphasized when comparing species with the data obtained at the end of the experiment (Fig. 2), in which *S. terebinthifolius* was highly and positively related to the observed parameters. Although *C. fissilis* showed lower correlation, it is noteworthy that the species showed some tolerance, possibly through investment in roots and protection of photosystems, as evidenced by the *NPQ*, *Rfd*, and root volume. *Cariniana estrellensis* showed fewer correlations and those that were noticeable seemed to be more linked to the soil treatment, as it was possible to observe with the presentation of means for *DTR*, *SLR*, α , number of leaves, *A*, and lipid peroxidation values.

Schinus terebinthifolius and *C. fissilis* invested in soil exploration per unit of carbon, as evidenced by the maintenance of *SRL*, *RTD*, and root fineness (the latter only verified for *S. terebinthifolius*), thereby indicating growth with lower metabolic costs (Kramer-Walter et al., 2016). In *C. fissilis*, root growth was impeded, but the plants could attenuate this impediment by making their roots thicker. Stable *RTD* values indicate that all three species tend to avoid investing in lignification and suberization of roots (Kramer-Walter et al., 2016), as seen in the PCAs (Fig. 2), wherein *RTD* values did not show a correlation with species. *Cariniana estrellensis*, however, showed a reduction in length and root surface area (Fig. 4A, C), but an increase in volume with increasing root diameter (Fig. 4D, B). This most likely indicates an inability to break the impediment imposed by the tailings.

Dry matter is a strong indicator of tolerance or sensitivity to the imposed stress (Steinberg et al., 1990), including mine tailings exposure (Andrade et al., 2018; Zago et al., 2019; Cruz et al., 2020; Esteves et al., 2020^a, 2020b). Plant species that are more susceptible to the physical limitations of the substrate show a reduction in dry matter, whereas the more tolerant species show no change (Grzesiak et al., 2015; Mleczek et al., 2017), indicating their ability to survive in these environments.

Thus, *C. estrellensis* was more susceptible to stress, as it showed a reduction in all biometric parameters and in dry matter, whereas *C. fissilis*, being more tolerant, managed to keep most of those parameters unchanged, especially with the addition of vermicompost. Nevertheless, *S. terebinthifolius* was the most tolerant among all these species, maintaining all biometric parameters, in addition to increasing the values of some parameters while under tailings and tailings + vermicompost. The addition of vermicompost helped to maintain the dry

matter of *S. terebinthifolius*, as well as the number of nodes and expanded leaves in *C. fissilis*, as indicated by the PCAs (Fig. 1, 2).

The reduction in lipid peroxidation observed in *C. estrellensis* (Fig. 6C) may be linked to the stress suffered, with the possibility that the tissues were no longer viable at the time of analysis. This is evidenced by a drop in the leaf dry mass.

Substrates with compaction profiles can reduce the bioavailability of oxygen and water, leading to a reduction in A , E , g_s , WUE , and pigment content in sensitive species (Bennie & Botha, 1986; Smith & Wazir, 1989; Wolfe et al., 1995; Campostrini & Yamanishi, 2001; Bhattarai et al., 2004; Ferree & Streeter, 2004; Calvo Polanco et al., 2008; Saradadevi et al., 2016). Stomatal limitations usually occur (Ferree and Streeter, 2004), and non-stomatal limitations may also occur (Bhattarai et al., 2004). Some non-stomatal limitations include limitations on mesophyll conductance, carboxylation reactions, Calvin cycle, and carbohydrate metabolism and transport (Morales, 2018).

Gas exchange is also affected by the nutritional profile of the soil, as micronutrients are of great importance in photosynthesis. Mn, for example, is associated with the breakdown of water and release of O_2 , in addition to the formation of chloroplasts, which can affect not only A but also the relative content of chlorophyll (Zanão Júnior et al., 2010). The presence of metals can also lead to a decrease in WUE (Menon et al., 2007).

The gas exchange parameters and pigment content (chlorophyll) of *C. estrellensis* follow the described values, with a reduction in gas exchange during cultivation under mine tailings. Nevertheless, *C. fissilis* showed some tolerance, with no alterations in A , E , and WUE , despite reduction in g_s and relative chlorophyll content. *Schinus terebinthifolius*, however, did not follow what has been proposed in the literature, indicating the resistance of its photosynthetic apparatus to mine tailings. Therefore, there are indications that this pioneer species presented, as expected, a more robust profile against the imposed stress, not suffering from the limitation of the substrate, which seems to be more important for the successor species during the colonization process. It is noteworthy that the addition of vermicompost was not of great value for any of the species in this regard, as corroborated by the PCAs (Fig. 1), indicating that the limitations in this sense were not dependent on attributes improved by the vermicompost.

The behavior of C_i , in relation to A (A/C_i , Fig. S5) and E in all species may indicate biochemical limitations in carbon assimilation or photorespiration, in response to the imposed stress. This may be related to the deleterious effects caused by the presence of metals or the nutritional imbalance of the tailings and lack of fertilization of the soil. However, while such a

limitation was observed with the decrease in A and E in *C. estrellensis*, no change in these values were observed for the other species, which may indicate less robustness of the biochemical and photosynthetic apparatus in the latter.

Deficiency in some micronutrients can damage PSII (Hsieh et al., 2013; Schmidt et al., 2015; Schmidt et al., 2016), indicating the importance of plant nutrition and the bioavailability of elements in soils. Furthermore, plant species susceptible to stress, such as compaction and micronutrient imbalance, showing a reduction in F_v/F_m , $Y(II)$, and qP ; an increase in NPQ (Mallick & Mohn, 2003; Philip & Azlin, 2005; Grzesiak, 2009; Wu et al., 2018); and decreases in Rfd (Lichtentahler, 1988) and ETR (Liberato et al., 2006; Wu et al., 2018).

Increased NPQ indicates the protective processes of the plant against deleterious damage caused by photoinhibition (Ruban, 2016). If NPQ cannot dissipate surplus energy, a lot of harmful triplet-state chlorophylls and reactive oxygen species (ROS) might be generated (Laisk et al., 1997; Samson et al., 2019), thereby causing damage to PSII, inhibiting its repair, and leading to PSI photoinhibition and reduced CO_2 assimilation (Sejima et al., 2014; Tikkanen & Grebe, 2018; Tsuyama & Kobayashi, 2009). Additionally, photoinhibition is indicated when values of F_v/F_m are lower than 0.7 (Björkman and Demmig-Adams, 1995). The relationship between the treatments with tailings and the NPQ and Rfd values for *C. fissilis* and *C. estrellensis* has been highlighted (Fig. 1B, C) and this may indicate the ability of these species to protect their photosystems.

Thus, *S. terebinthifolius* exhibited high tolerance and robustness. In addition to the increased NPQ in tailings and tailings + vermicompost treatments, there was maintenance of F_v/F_m (>0.7) and qP , and an increase in $Y(II)$. This indicates photoprotection and the maintenance of dissipated energy for photosynthetic processes and PSII efficiency, with no deleterious effects in general. Only in the present study was an improvement in NPQ , ETR , and Rfd observed with the addition of vermicompost to the tailings. This improvement may be related to the increase in photosynthetic pigments due to the augmented availability of nutrients to the plant.

In contrast, *C. estrellensis* showed severe PSII impairment in presence of the tailings. This is evidenced from the fact that despite the maintenance of Rfd , there was a reduction in F_v/F_m (<0.7) and $Y(II)$, coupled with the maintenance of qP and a decrease in NPQ . This indicates that not all the excess light energy, which is not used in photosynthesis, is dissipated as heat. Consequently, pigments such as carotenoids cannot effectively protect the

photosynthetic apparatus from undergoing photoinhibition. The stability of qP and decrease in ETR corroborate this (Liberato et al., 2006; Wu et al., 2018).

Cedrela fissilis showed some photoprotection under tailings and tailings + vermicompost, as the decrease in F_v/F_m (<0.7 in C5) and increase in NPQ were coupled with the maintenance of $Y(II)$, qP , Rfd , and ETR , indicating some degree of resilience. In this way, not only was NPQ able to effectively dissipate excess energy as heat, but the energy directed to photosynthetic processes was also maintained. However, deleterious effects may have occurred, resulting in decreased F_v/F_m .

The vermicompost acted as a mitigant in this study, validating its ability to perform phytostabilization, thereby decreasing the amount or bioavailability of contaminants (DalCorso et al., 2019). Notably, the concentration used in this study (2% or 40000 kg ha⁻¹) is relatively lower compared to what is generally used in field conditions, and it is even lower than that used in other studies on fertilization (Zago et al., 2019; Esteves et al., 2020b). This concentration was enough to improve the growth of *S. terebinthifolius* and *C. fissilis*. However, studies involving these species under higher concentrations of vermicompost may generate different results.

Analysis of the ecology of the native tree species selected by Cruz et al. (2020) showed no clear relationship between the tolerance of pioneer species and the sensitivity of the secondary species, namely, *Albizia polycephala* and *Peltophorum dubium* (Fabaceae, pioneers), *Cybistax antisiphilitica*, *Handroanthus heptaphyllus*, and *Handroanthus impetiginosus* (Bignoniaceae; pioneer, early secondary, and late-early secondary, respectively) (Lorenzi, 1992; Lorenzi, 1998; SiBBr, 2020a, 2020b, 2020c;). Notably, even the most tolerant species showed reduced growth and photosynthesis in presence of the tailings, unlike *S. terebinthifolius* in the present study. In contrast to the results obtained in this study with *C. estrellensis*, all species in the referenced study tended to be responsive to fertilization, but it is noteworthy that climax species used here was not used in the other studies.

Therefore, more studies involving the influence of ecological succession in the recovery of degraded areas are needed, as it is not confirmed whether these pioneers will be resilient to other contaminations or degradation. Likewise, heterogeneous reforestation is the most recommended method for avoiding mass attacks from pests, weeds, and diseases. In addition, when planning and introducing species of different succession levels to the degraded areas, the environment is encouraged to achieve overall stability by natural means, in terms of both

flora and fauna and their socioeconomic role in the affected communities. Thus, the specific study of each species must not be neglected.

In the present study, *S. terebinthifolius* showed greater resilience under mining tailings, especially in terms of dry matter accumulation and root morphology. This may be related to the robustness of this pioneer species, leading to the maintenance of photosynthetic efficiency and the SPAD index (Grzesiak et al., 2009; Grzesiak et al., 2015; Saradadevi et al., 2016).

5. CONCLUSIONS

Schinus terebinthifolius is resistant and highly tolerant to iron mine tailings and is further helped by the addition of vermicompost as an amendment. The use of this specie presents an alternative to the early stages of re-vegetation programs.

Cedrela fissilis is resistant to a lesser extent, as its growth is either maintained or reduced, depending on the parameters evaluated. It can be an alternative for the intermediate stages of re-vegetation, after the edaphoclimatic characteristics have been partially restored by pioneer plants.

Cariniana estrellensis is sensitive to tailings as it undergoes morphological and physiological damage from exposure to stress. This suffering was not attenuated by the addition of vermicompost. This species shows the harm posed by the tailings to the native vegetation in a climax state and has potential to be used as a bioindicator species to determine environment quality.

In most cases, the length of exposure to mine tailings from the Fundão Dam was observed to be a determining factor in terms of the effects on plants.

The addition of vermicompost contributes to higher tolerance towards tailing in case of plants that already have some prior degree of tolerance, in addition to vermicompost acting as a mitigant and potential phytostabilizer.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for funding the master's scholarship (Funding Code 001) and the research project involved in this study (FAPEMIG/FAPES/CNPq/ANA n° 6/2016). Moreover, we express gratitude to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

(CNPq) for the research productivity grant (modality PQ, category 2 assigned to Souza, TC (Process: 304421/2018-9).

REFERENCES

- Alastuey A, García-Sánchez A, López F, Querol X. 1999. Evolution of pyrite mud weathering and mobility of heavy metals in the Guadiamar valley after the Aznalcollar spill, south-west Spain. *Sci. Total Environ.* **242**: 41–55. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(99\)00375-7](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00375-7)
- Almeida DS de, Almeida DS de. 2016.** Alguns princípios de sucessão natural aplicados ao processo de recuperação. In: *Recuperação Ambiental Da Mata Atlântica*. Rev. and enl., 48–75. <https://doi.org/10.7476/9788574554402.0006>
- Alvarenga P, Gonçalves AP, Fernandes RM, de Varennes A, Vallini G, Duarte E, Cunha-Queda AC. 2009. Organic residues as immobilizing agents in aided phytostabilization: (I) Effects on soil chemical characteristics. Reino Unido. *Chemosphere* **74**: 1292–1300. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.063>
- Andrade GF, Paniz FP, Martins AC, Rocha BA, da Silva Lobato AK, Rodrigues JL, Cardoso-Gustavson P, Masuda HP, Batista, BL. 2018. Agricultural use of Samarco’s spilled mud assessed by rice cultivation: A promising residue use? Reino Unido. *Chemosphere* **193**: 892–902. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.099>
- Andresen E, Peiter E, Küpper H. 2018. Trace metal metabolism in plants. *J. Exp. Bot.* **69**: 909–954. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx465>
- ANM, 2019. GSBM/SPM/ANM-ESGJ/LHPR/LPN/WAN. *PARECER TÉCNICO Nº 07/2019*. Minas Gerais, Brasil.
- Bennie ATP, Botha FJP. 1986. Effect of deep tillage and controlled traffic on root growth, water-use efficiency and yield of irrigated maize and wheat. *Soil Tillage Res.* **7**: 85–95. [https://doi.org/10.1016/0167-1987\(86\)90010-3](https://doi.org/10.1016/0167-1987(86)90010-3)
- Berhongaray G, Verlinden MS, Broeckx LS, Janssens IA, Ceulemans R. 2017. Soil carbon and belowground carbon balance of a short-rotation coppice: assessments from three different approaches. *GCB Bioenergy* **9**: 299–313. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12369>
- Bhattarai SP, Huber S, Midmore DJ. 2004. Aerated subsurface irrigation water gives growth and yield benefits to zucchini, vegetable soybean and cotton in heavy clay soils. *Ann. Appl. Biol.* **144**: 285–298. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2004.tb00344.x>

- Björkman O, Demmig-Adams B. 1995. Regulation of Photosynthetic Light Energy Capture, Conversion, and Dissipation in Leaves of Higher Plants. *Ecophysiol. Photosynth.* 17–47. https://doi.org/10.1007/978-3-642-79354-7_2
- Buege J A, Aust SD. 1975. Microsomal lipid peroxidation: Methods in Enzymology. *J. Phys. Conf. Ser.* **71**: 302–310.
- Calvo Polanco M, Zwiazek JJ, Voicu MC. 2008. Responses of ectomycorrhizal American elm (*Ulmus americana*) seedlings to salinity and soil compaction. *Plant Soil* **308**: 189–200. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9619-z>
- Campostrini E, Yamanishi OK. 2001. Influence Of Mechanical Root Restriction On Gas-Exchange Of Four Papaya Genotypes.
- Carvalho PER. 2005.** Cedro. In: *Circular Técnica*. Embrapa Florestas, Colombo, PR.
- Carvalho PER. 2003.** Jequitibá-Branco. In: *Circular Técnica*. Embrapa Florestas, Colombo, PR.
- Colombi T, Walter A. 2017. Genetic diversity under soil compaction in wheat: Root number as a promising trait for early plant vigor. *Front. Plant Sci.* **8**: 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00420>
- Cruz FV da S, Gomes MP, Bicalho EM, Della Torre F, Garcia QS. 2020. Does Samarco’s spilled mud impair the growth of native trees of the Atlantic Rainforest? *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **189**: 110021. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110021>
- Salt DE, Smith RD, Raskin I. 1998. Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol* **49**: 643–68.
- da Silva Junior CA, Coutinho AD, de Oliveira-Júnior JF, Teodoro PE, Lima M, Shakir M, de Gois G, Johann JÁ. 2018. Analysis of the impact on vegetation caused by abrupt deforestation via orbital sensor in the environmental disaster of Mariana, Brazil. *Land use policy* **76**: 10–20. <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2018.04.019>
- DalCorso G, Fasani E, Manara A, Visioli G, Furini A. 2019. Heavy metal pollutions: State of the art and innovation in phytoremediation. *Int. J. Mol. Sci.* **20**. <https://doi.org/10.3390/ijms20143412>
- DalCorso G, Manara A, Piasentin S, Furini A. 2014. Nutrient metal elements in plants. *Metallomics* **6**: 1770–1788. <https://doi.org/10.1039/c4mt00173g>
- Dawkins K, Esiobu N. 2016. Emerging insights on Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius*) invasion: The potential role of soil microorganisms. *Front. Plant Sci.* **7**: 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00712>

- de Meira Junior MS, Pereira IM, Mendonça AL, Machado ELM, Mota SLL, Otoni TJO. 2015. Espécies potenciais para recuperação de Áreas de floresta estacional semidecidual com exploração de minério de ferro na serra do espinhaço. *Biosci. J.* **31**: 283–295. <https://doi.org/10.14393/bj-v31n1a2015-23414->
- De Souza Júnior TF, Moreira EB, Heineck KS. 2018. Barragens De Contenção De Rejeitos De Mineração No Brasil. *Holos* **5**: 2–39. <https://doi.org/10.15628/holos.2018.7423>
- Carneiro C, Siqueira JO, Davide AC, Gomes LJ, Curi N, Ribeiro F. 1996. Mycorrhizal fungi and superphosphate on growth of tropical woody species . *Scientia* 21–36.
- Esteves GF, Bressanin LA, de Souza KRD, da Silva AB, Mantovani JR, Marques DM, Magalhães PC, Pasqual M, de Souza TC. 2020a. Do tailings from the Mariana, MG (Brazil), disaster affect the initial development of millet, maize, and sorghum? *Environ. Sci. Pollut. Res.* **27**: 38662–38673. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10013-w>
- Esteves GF, de Souza KRD, Bressanin LA, Andrade PCC, Veroneze Júnior V, dos Reis PE, da Silva AB, Mantovani JR, Magalhães PC, Pasqual M, de Souza TC. 2020b. Vermicompost improves maize, millet and sorghum growth in iron mine tailings. *J. Environ. Manage.* **264**. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110468>
- Ewe SML, Sternberg LDSL. 2005. Growth and gas exchange responses of Brazilian pepper (*Schinus terebinthifolius*) and native South Florida species to salinity. *Trees - Struct. Funct.* **19**: 119–128. <https://doi.org/10.1007/s00468-004-0370-7>
- Ewe SML, Sternberg LDSL. 2003. Seasonal gas exchange characteristics of *Schinus terebinthifolius* in a native and disturbed upland community in Everglades National Park, Florida. *For. Ecol. Manage.* **179**: 27–36. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(02\)00531-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(02)00531-5)
- Ferree DC, Streeter JG. 2004. Response of Container-grown Apple Trees to Soil Compaction. *HortScience.* **39**: 40–48.
- Ferreira DF. 2014. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciência e Agrotecnologia* **38**: 109–112. <https://doi.org/10.1590/s1413-70542014000200001>
- Fourie AB, Blight GE, Papageorgiou G. 2002. Static liquefaction as a possible explanation for the Merriespruit tailings dam failure: *Reply. Can. Geotech. J.* **39**: 1441–1442. <https://doi.org/10.1139/t02-079>
- García-Carmona M, García-Robles H, Turpín Torrano C, Fernández Ondoño E, Lorite Moreno J, Sierra Aragón M, Martín Peinado FJ. 2019. Residual pollution and vegetation

distribution in amended soils 20 years after a pyrite mine tailings spill (Aznalcóllar, Spain). *Sci. Total Environ.* **650**: 933–940.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.092>

Gómez L, Contreras A, Bolonio D, Quintana J, Oñate-Sánchez L, Merino I. 2019.

Phytoremediation with trees. In: *Advances in Botanical Research*. Elsevier Inc **89**: 281–321. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2018.11.010>

Grzesiak MT. 2009. Impact of soil compaction on root architecture, leaf water status, gas exchange and growth of maize and triticale seedlings. *Plant Root* **3**: 10–16.

<https://doi.org/10.3117/plantroot.3.10>

Grzesiak MT, Szczyrek P, Rut G, Ostrowska A, Hura K, Rzepka A, Hura T, Grzesiak S. 2015. Interspecific Differences in Tolerance to Soil Compaction, Drought and

Waterlogging Stresses among Maize and Triticale Genotypes. *J. Agron. Crop Sci.* **201**: 330–343. <https://doi.org/10.1111/jac.12104>

Hatje V, Pedreira RMA, De Rezende CE, Schettini CAF, De Souza GC, Marin DC,

Hackspacher PC. 2017. The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. *Sci. Rep.* **7**: 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11143-x>

Hsieh SI, Castruita M, Malasarn D, Urzica E, Erde J, Page MD, Yamasaki H, Casero D, Pellegrini M, Merchant SS, Loo JA. 2013. The proteome of copper, iron, zinc, and

manganese micronutrient deficiency in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Mol. Cell. Proteomics* **12**: 65–86. <https://doi.org/10.1074/mcp.M112.021840>

Huang M, Zhu Y, Li Z, Huang B, Luo N, Liu C, Zeng G. 2016. Compost as a Soil Amendment to Remediate Heavy Metal-Contaminated Agricultural Soil: Mechanisms, Efficacy, Problems, and Strategies. *Water. Air. Soil Pollut.* **227**.

<https://doi.org/10.1007/s11270-016-3068-8>

IBAMA. 2015. Laudo Técnico Preliminar. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis; Diretoria de Proteção Ambiental; Coordenação Geral de Emergências Ambientais.

Jolliffe IT. 2010. Principal components analysis. *Int. Encycl. Educ.* 374–377.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-044894-7.01358-0>

Kozłowski TT. 1986. Soil aeration and growth of forest trees (review article). *Scand. J. For. Res.* **1**: 113–123. <https://doi.org/10.1080/02827588609382405>

Kramer-Walter KR, Bellingham PJ, Millar TR, Smissen RD, Richardson SJ, Laughlin DC. 2016. Root traits are multidimensional: specific root length is independent from root

- tissue density and the plant economic spectrum. *J. Ecol.* **104**: 1299–1310.
<https://doi.org/10.1111/1365-2745.12562>
- Laisk A, Oja V, Rasulov B, Eichelmann H, Sumberg A. 1997. Quantum yields and rate constants of photochemical and nonphotochemical excitation quenching: Experiment and model. *Plant Physiol.* **115**: 803–815. <https://doi.org/10.1104/pp.115.2.803>
- Lenzi M, Afonso & Orth I. 2004. Characterization of the Functional Reproductive System of the Pink-Pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi), In Florianópolis, Sc, Brazil. *Rev. Bras. Frutic.* **26**:(2) 198–201.
- Li Y, Norland M. 2001. The role of soil fertility in invasion of Brazilian pepper (*Schinus terebinthifolius*) in Everglades National Park, Florida. *Soil Sci.* **166**: 400–405.
<https://doi.org/10.1097/00010694-200106000-00005>
- Liberato MAR, Gonçalves JFDC, Chevreuil LR, Nina ADR, Fernandes AV, Dos Santos UM. 2006. Leaf water potential, gas exchange and chlorophyll a fluorescence in acariquara seedlings (*Mimosa guianensis* Aubl.) under water stress and recovery. *Brazilian J. Plant Physiol.* **18**: 315–323. <https://doi.org/10.1590/s1677-04202006000200008>
- Lichtentahler HK. 1988. In Vivo Chlorophyll Fluorescence As A Tool For Stress Detection In Plants. *Kluwer Academic Publishers.* 129–142.
- Lorenzi H. 1992.** *Arvores brasileiras*, 1st ed, Editora Plantarium.
- Lorenzi H. 1998.** *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.* 2. ed. Nova Odessa: Editora Plantarum.
- Louzeiro F, Santiago DA, Eduardo F, Santiago M, Ferreira J, Filho L, Ratke RF. 2018. Plant growth and symptomatology of macronutrient deficiencies in cowpea plants. *Communicata scientiae.* **9**: 503–508. <https://doi.org/10.14295/CS.v9i3.2593>
- Lüthje S, Meisrimler CN, Hopff D. 2018.** Proteomics of Micronutrient Deficiency and Toxicity. In: *Plant Micro-Nutrient Use Efficiency.* Elsevier Inc. 161–180.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812104-7.00010-1>
- Lutter R, Tullus A, Kanal A, Tullus T, Tullus H. 2016. The impact of short-rotation hybrid aspen (*Populus tremula* L.×*P. tremuloides* Michx.) plantations on nutritional status of former arable soils. *For. Ecol. Manage.* **362**: 184–193.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.12.009>
- Nederlof MM, Van Riemsduk WH, De Haan FAM. 1993. Effect of pH on the Bioavailability of Metals in Soils. *Integr. Soil Sediment Res. A Basisfor Proper Prot.* 215–219.
- Mallick N, Mohn FH. 2003. Use of chlorophyll fluorescence in metal-stress research: A case

- study with the green microalga *Scenedesmus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **55**: 64–69.
[https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00122-7](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00122-7)
- Mayes WM, Jarvis AP, Burke IT, Walton M, Feigl V, Klebercz O, Gruiz K. 2011. Dispersal and attenuation of trace contaminants downstream of the ajka bauxite residue (Red Mud) depository failure, Hungary. *Environ. Sci. Technol.* **45**: 5147–5155.
<https://doi.org/10.1021/es200850y>
- Menon M, Hermle S, Günthardt-Goerg MS, Schulin R. 2007. Effects of heavy metal soil pollution and acid rain on growth and water use efficiency of a young model forest ecosystem. *Plant Soil* **297**: 171–183. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9331-4>
- Mleczek M, Goliński P, Krzesłowska M, Gąsecka M, Magdziak Z, Rutkowski P, Budzyńska S, Waliszewska B, Kozubik T, Karolewski Z, Niedzielski P. 2017. Phytoextraction of potentially toxic elements by six tree species growing on hazardous mining sludge. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **24**: 22183–22195. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9842-3>
- Morales F, Pavlovic A, Abadía A, Abadía, J. 2018.** Photosynthesis in Poor Nutrient Soils, in Compacted Soils, and under Drought. In: *The Life of the World to Come*. 123–133. <https://doi.org/10.2307/j.ctv6sj9c0.14>
- CONAMA, 2009.** Resolução CONAMA 420/2009 20. [WWW document] URL <https://cetesb.sp.gov.br/areas-contaminadas/wp-content/uploads/sites/17/2017/09/resolucao-conama-420-2009-gerenciamento-de-ac.pdf>. [accessed 8 October 2020].
- Oliveira WK, Rohlf DB, Garcia LP. 2019. O desastre de Brumadinho e a atuação da Vigilância em Saúde. *Epidemiol. e Serv. saude Rev. do Sist. Unico Saude do Bras.* **28**: e20190425. <https://doi.org/10.5123/S1679-49742019000100025>
- Oxborough K, Baker NR. 1997. Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components - Calculation of qP and Fv'/Fm' without measuring Fo'. *Photosynth. Res.* **54**: 135–142. <https://doi.org/10.1023/A:1005936823310>
- Philip E, Azlin YN. 2005. Measurement of soil compaction tolerance of *Lagestromia speciosa* (L.) Pers. using chlorophyll fluorescence. *Urban For. Urban Green.* **3**: 203–208. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2005.04.003>
- Picchio R, Tavankar F, Nikooy M, Pignatti G, Venanzi R. 2019. Morphology, Growth and Architecture Response of Beech (*Fagus orientalis* Lipsky) and Maple Tree (*Acer velutinum* Boiss) Seedlings to Soil Compaction Stress Caused by Mechanized Logging

- Operations. *Forests*. **10**: 771.
- Ruban AV. 2016. Nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching: Mechanism and effectiveness in protecting plants from photodamage. *Plant Physiol*. **170**: 1903–1916. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01935>
- Samson G, Bonin L, Maire V. 2019. Dynamics of regulated YNPQ and non-regulated YNO energy dissipation in sunflower leaves exposed to sinusoidal lights. *Photosynth. Res*. **141**: 315–330. <https://doi.org/10.1007/s11120-019-00633-w>
- Saradadevi R, Bramley H, Palta JA, Edwards E, Siddique KHM. 2016. Root biomass in the upper layer of the soil profile is related to the stomatal response of wheat as the soil dries. *Funct. Plant Biol*. **43**: 62–74. <https://doi.org/10.1071/FP15216>
- Schmidt SB, Jensen PE, Husted S. 2016. Manganese Deficiency in Plants: The Impact on Photosystem II. *Trends Plant Sci*. **21**: 622–632. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.03.001>
- Schmidt SB, Persson DP, Powikrowska M, Frydenvang J, Schjoerring JK, Jensen PE, Husted S. 2015. Metal binding in photosystem II super- and subcomplexes from barley thylakoids. *Plant Physiol*. **168**: 1490–1502. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00559>
- Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat. Methods* **9**: 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Schultz HR. 1996. Water relations and photosynthetic responses of two grapevine cultivars of different geographical origin during water stress. *Acta Hortic*. **427**: 251–266. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1996.427.30>
- Segura FR, Nunes EA, Paniz FP, Paulelli ACC, Rodrigues GB, Braga GÚL, dos Reis Pedreira Filho W, Barbosa F, Cerchiaro G, Silva FF, Batista BL. 2016. Potential risks of the residue from Samarco’s mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). *Environ. Pollut*. **218**: 813–825. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.005>
- Sejima T, Takagi D, Fukayama H, Makino A, Miyake C. 2014. Repetitive short-pulse light mainly inactivates photosystem i in sunflower leaves. *Plant Cell Physiol*. **55**: 1184–1193. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu061>
- Sharma A, Nagpal AK. 2018. Soil amendments: a tool to reduce heavy metal uptake in crops for production of safe food. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol*. **17**: 187–203. <https://doi.org/10.1007/s11157-017-9451-0>
- Sharma A, Patni B, Shankhdhar D. 2013. Zinc – An Indispensable Micronutrient. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. **19**: 11–20. <https://doi.org/10.1007/s12298-012-0139-1>

- Silva AC, Cavalcante LCD, Fabris JD, Júnior RF. 2016. Chemical, mineralogical and physical characteristics of a material accumulated on the river margin from mud flowing from the collapse of the iron ore tailings dam in Bento Rodrigues, Minas Gerais, Brazil. *Rev. Espinhaço* **5**: 44–53.
- Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira, 2020a.** *Peltophorum dubium* [WWW Document]. URL <https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/288357> (accessed 5.27.21).
- Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira, 2020b.** *Handroanthus impetiginosus* [WWW Document]. URL <https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/386415> (accessed 5.27.21).
- Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira, 2020c.** *Handroanthus heptaphyllus* [WWW Document]. URL <https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/386410> (accessed 5.27.21).
- Smith MW, Wazir FK. 1989. Communications in Soil Science and Plant Analysis The influence of soil aeration on growth and elemental absorption of greenhouse - grown seedling pecan trees. *Comm. in Soil Sci. and Plant Analysis*. **20**: 37–41. <https://doi.org/10.1080/00103628909368086>
- Spector T, Putz FE. 2006. Biomechanical plasticity facilitates invasion of maritime forests in the southern USA by Brazilian pepper (*Schinus terebinthifolius*). *Biol. Invasions* **8**: 255–260. <https://doi.org/10.1007/s10530-004-5571-x>
- Steinberg SL, Miller JC, McFarland MJ. 1990. Dry matter partitioning and vegetative growth of young peach trees under water stress. *Australian J. of Plant Physiol.* **17**: 23–36. <https://doi.org/10.1071/pp9900023>
- Stevenson FJ, Cole MA. 1999.** *Cycles of Soils: Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients*, 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc.
- Tikkanen M, Grebe S. 2018. Switching off photoprotection of photosystem I – a novel tool for gradual PSI photoinhibition. *Physiol. Plant.* **162**: 156–161. <https://doi.org/10.1111/ppl.12618>
- Tsuyama M, Kobayashi Y. 2009. Reduction of the primary donor P700 of photosystem I during steady-state photosynthesis under low light in Arabidopsis. *Photosynth. Res.* **99**: 37–47. <https://doi.org/10.1007/s11120-008-9379-x>
- Tullus A, Rytter L, Tullus T, Weih M, Tullus H. 2012. Short-rotation forestry with hybrid aspen (*Populus tremula* L.×*P. tremuloides* Michx.) in Northern Europe. *Scand. J. For.*

- Res.* **27**: 10–29. <https://doi.org/10.1080/02827581.2011.628949>
- USCOLD (1994). *Tailings Dam Incidents, a report prepared by the USCOLD Committee on Tailings Dams*, Dams, November.
- Wang Q, Wang W, He X, Zheng Q, Wang H, Wu Y, Zhong Z. 2017. Changes in soil properties, X-ray-mineral diffractions and infrared-functional groups in bulk soil and fractions following afforestation of farmland, Northeast China. *Sci. Rep.* **7**: 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12809-2>
- Wolfe DW, Topoleski DT, Gundersheim NA, Ingall BA. 1995. Growth and yield sensitivity of four vegetable crops to soil compaction. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* **120**: 956–963. <https://doi.org/10.21273/jashs.120.6.956>
- Wu X, Tang Y, Li C, McHugh AD, Li Z, Wu C. 2018. Individual and combined effects of soil waterlogging and compaction on physiological characteristics of wheat in southwestern China. *F. Crop. Res.* **215**: 163–172. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.10.016>
- Yadav R, Arora P, Kumar S, Chaudhury A. 2010. Perspectives for genetic engineering of poplars for enhanced phytoremediation abilities. *Ecotoxicology* **19**: 1574–1588. <https://doi.org/10.1007/s10646-010-0543-7>
- Zago VCP, das Dores NC, Watts BA. 2019. Strategy for phytomanagement in an area affected by iron ore dam rupture: A study case in Minas Gerais State, Brazil. *Environ. Pollut.* **249**: 1029–1037. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.060>
- Zaharieva TB, Abadía J. 2003. Iron deficiency enhances the levels of ascorbate, glutathione, and related enzymes in sugar beet roots. *Protoplasma* **221**: 269–275. <https://doi.org/10.1007/s00709-002-0051-6>
- Zanão Júnior LA, Fontes RLF, Coelho PHM, Korndörfer GH, Zambolim L. 2010. Soil-applied silicon decreases severity of wheat spot blotch on silicon-deficient soils. *Rev. Bras. Ciência do Solo* **34**: 401–408. <https://doi.org/10.1590/s0100-06832010000200013>
- Zocchi G, De Nisi P, Dell’Orto M, Espen L, Gallina PM. 2007. Iron deficiency differently affects metabolic responses in soybean roots. *J. Exp. Bot.* **58**: 993–1000. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl259>

SUPPLEMENTARY DATA

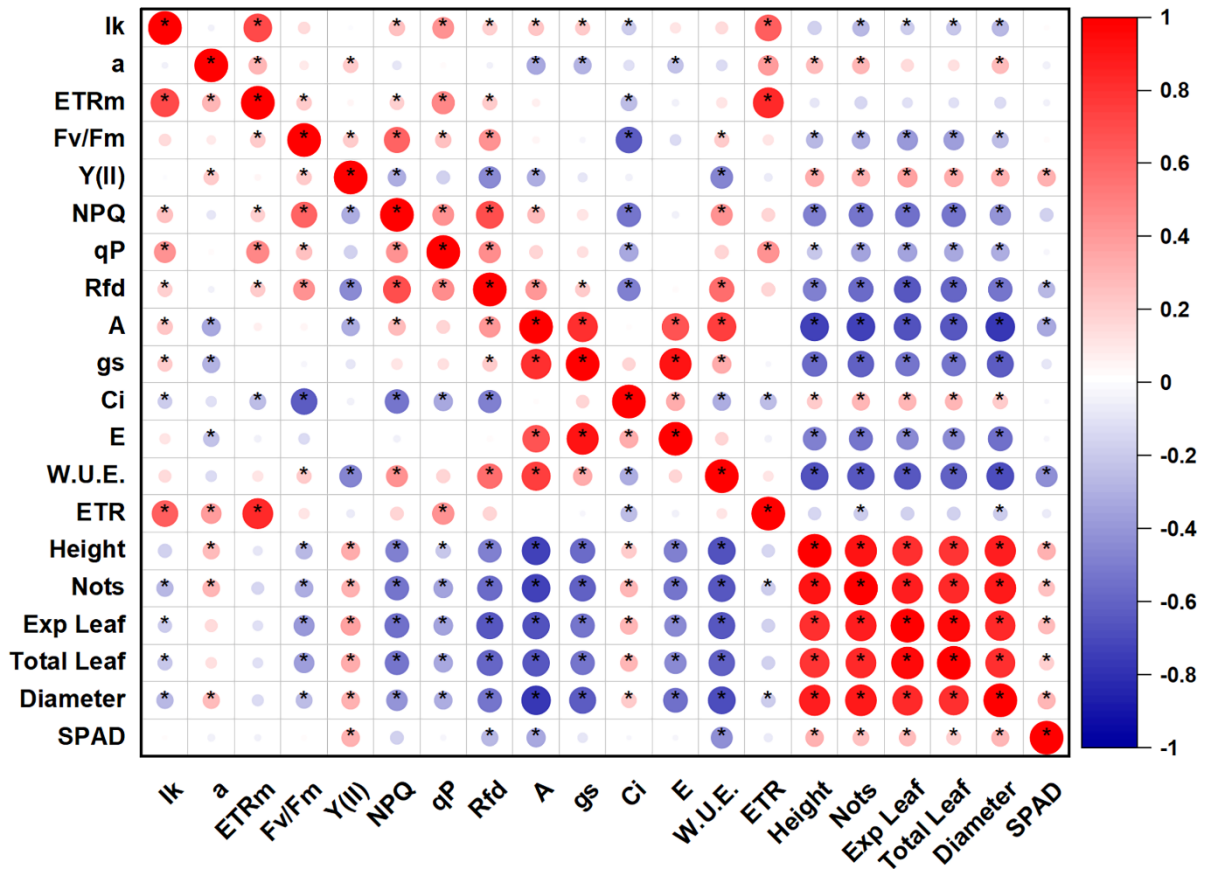


Figure S1. Pearson's correlation coefficient for parameters evaluated over 80 days in *Schinus terebinthifolius*. Circles marked with an asterisk were significant at 5% probability ($P \leq 0.05$).

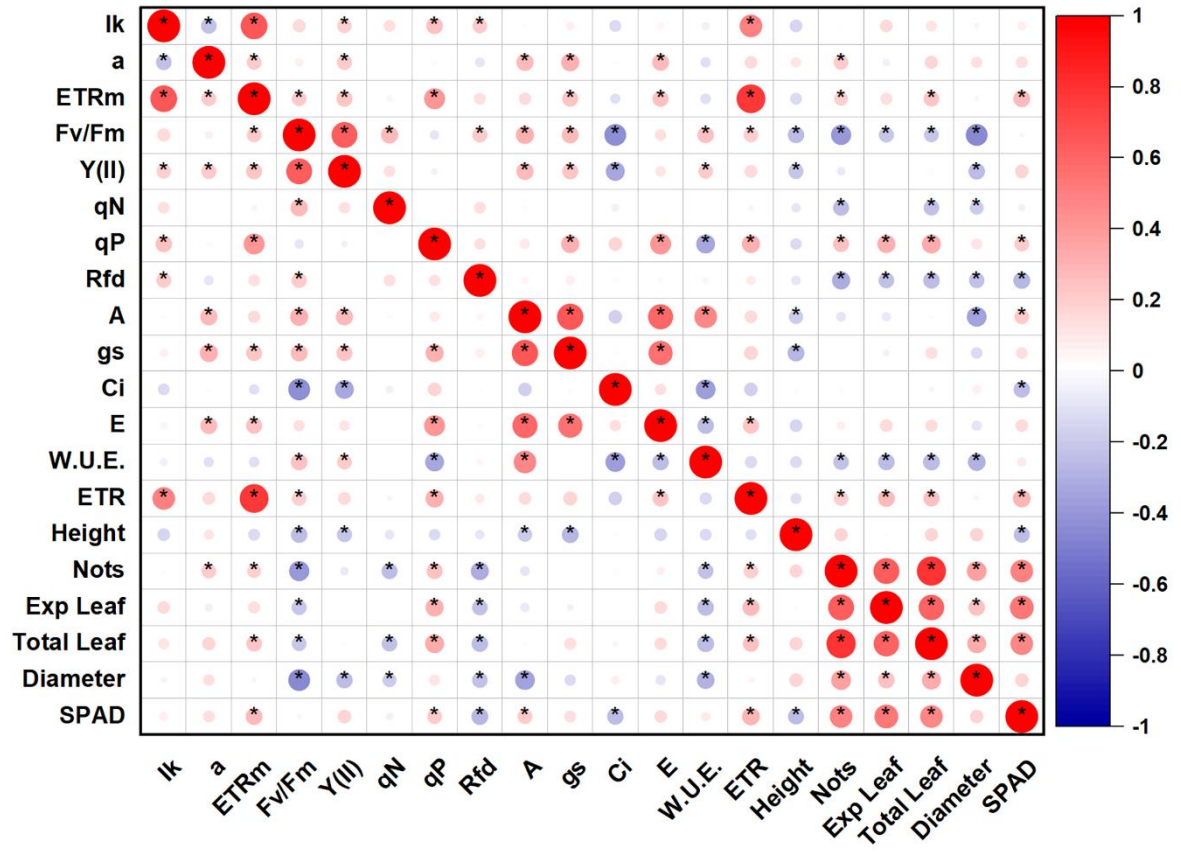


Figure S2. Pearson’s correlation coefficient for parameters evaluated over 80 days in *Cedrela fissilis*. Circles marked with an asterisk were significant at 5% probability ($P \leq 0.05$).

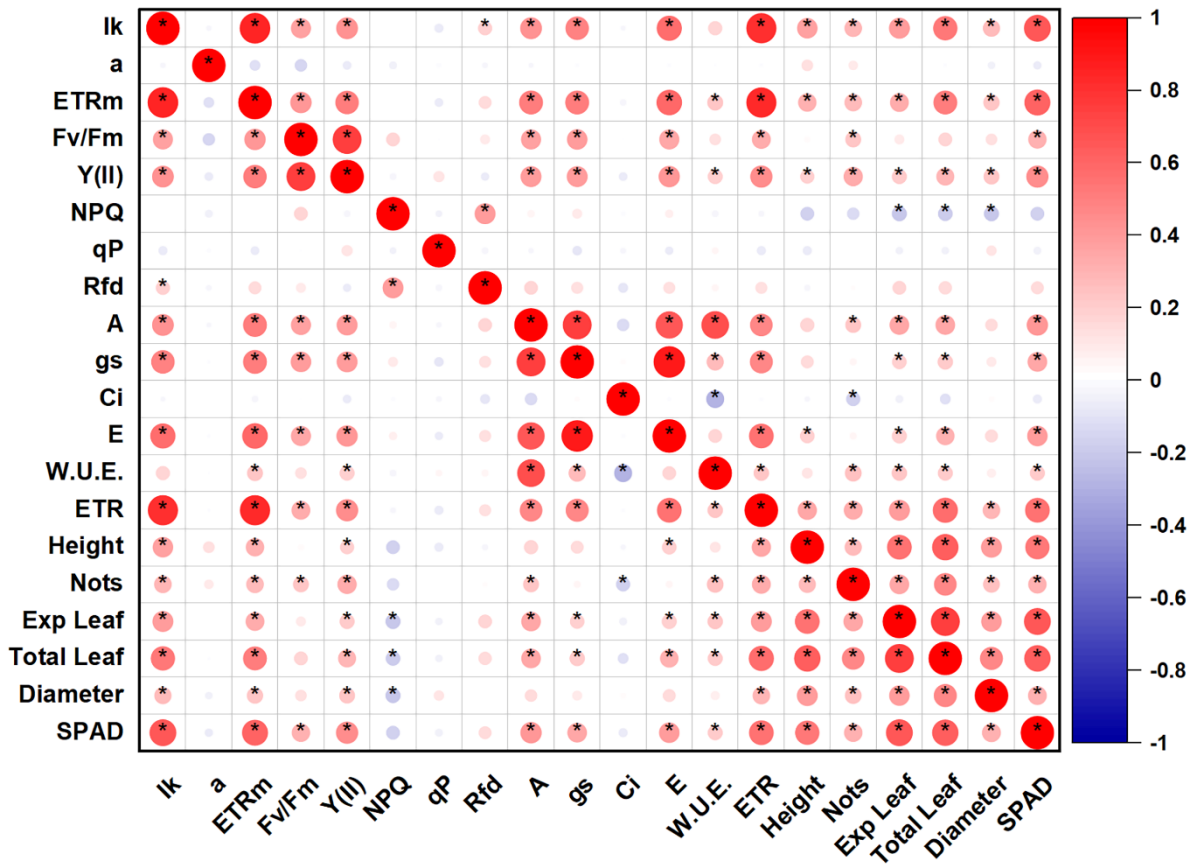


Figure S3. Pearson's correlation coefficient for parameters evaluated over 80 days in *Cestrellensis estrellensis*. Circles marked with an asterisk were significant at 5% probability ($P \leq 0.05$).

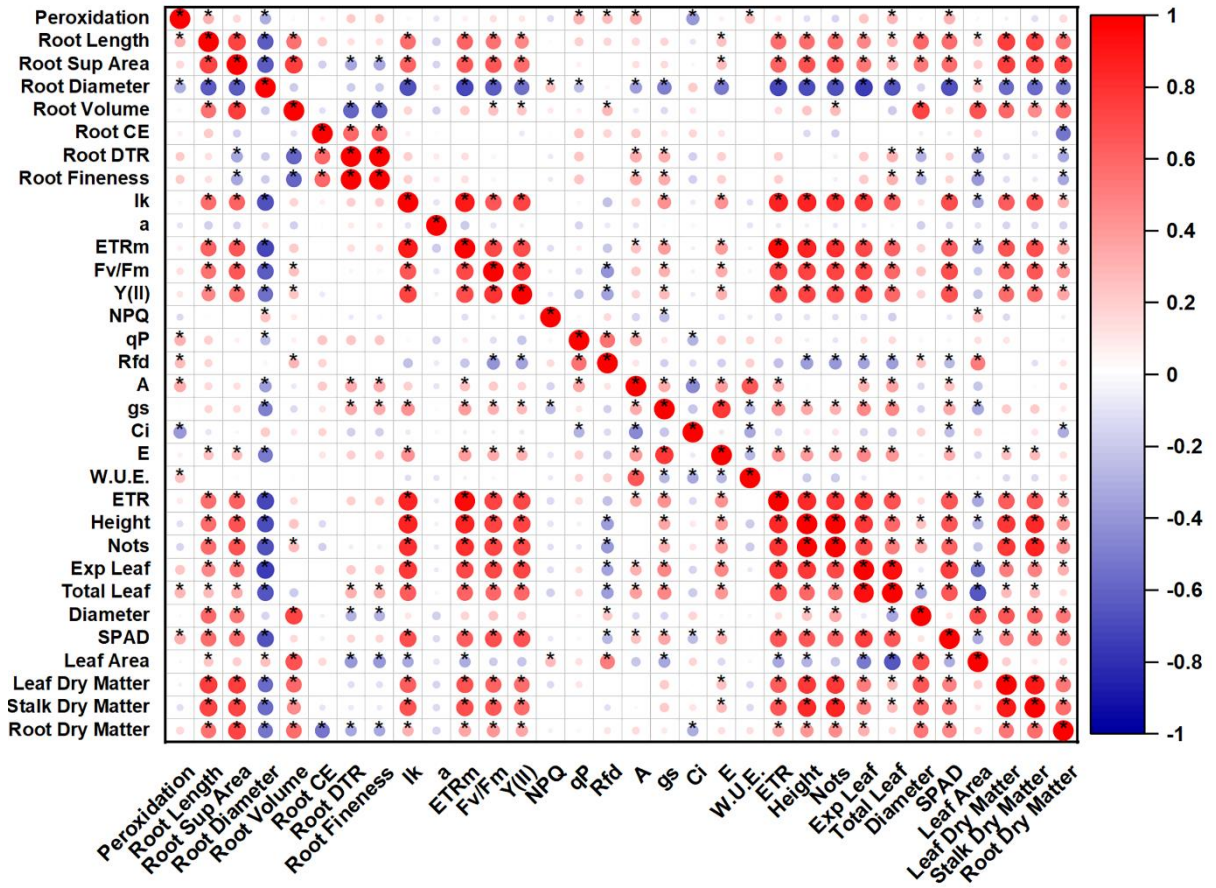


Figure S3. Pearson's correlation coefficient for parameters evaluated at the end of the 80-day experiment *interebinthifolius Schinus terebinthifolius*, *Cedrela fissilis*, *Cariniana estrellensis*. Circles marked with an asterisk were significant at 5% probability ($P \leq 0.05$).

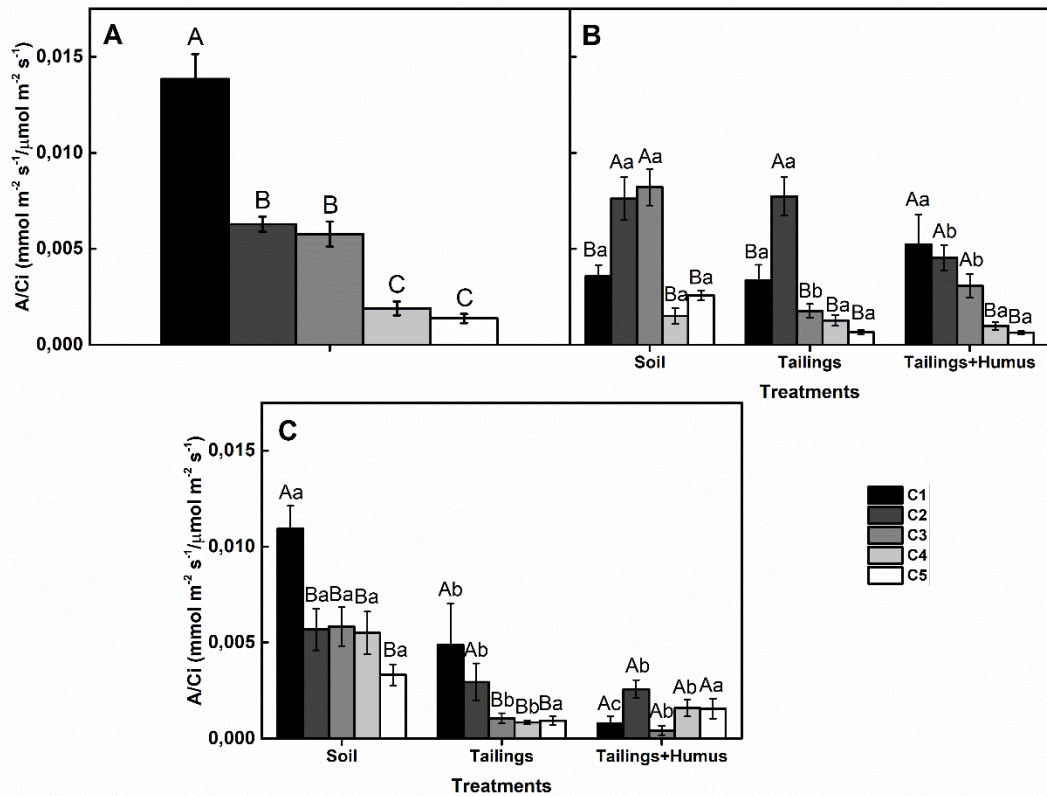


Figure S4. Instant carboxylation efficiency (A/C_i) in *Schinus terebinthifolius* (A), *Cedrela fissilis* (B), and *Cariniana estrellensis* (C) grown in soil, tailings, and tailings + vermicompost. Means followed by the same uppercase letter between collections and lowercase letter between treatments do not differ by the Skott–Knott test at 5% probability ($P \leq 0.05$). Bars correspond to the standard error of the mean of eight repetitions.

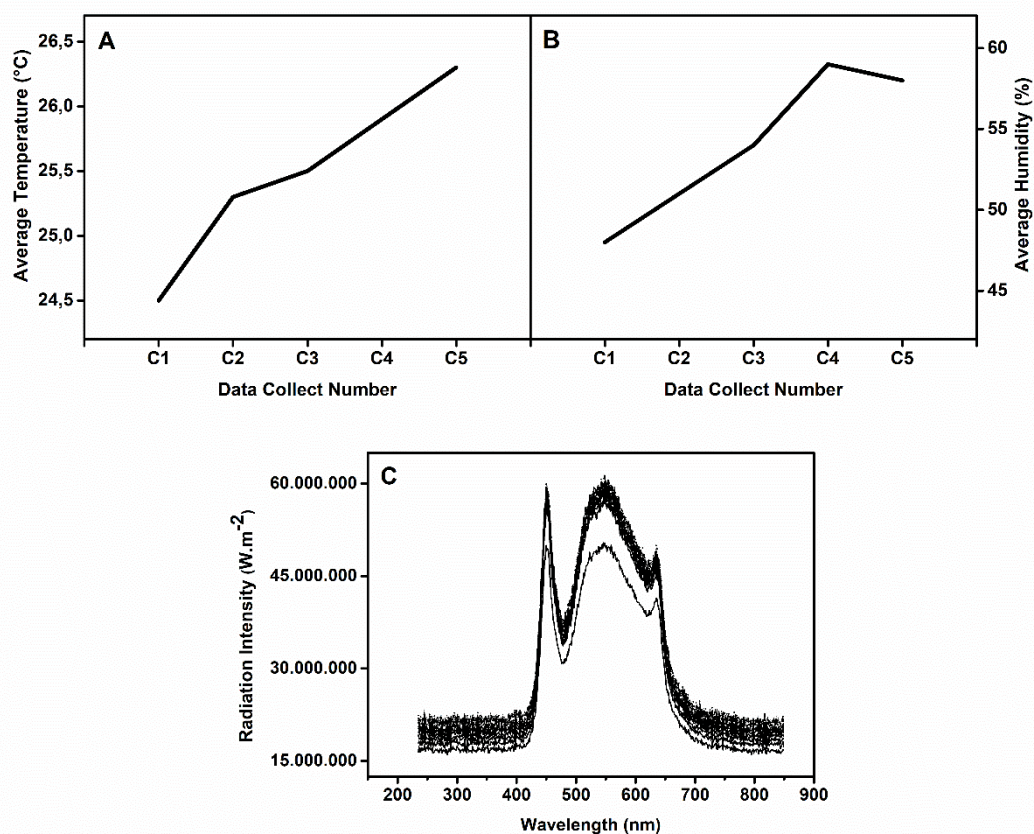


Figure S5. Average temperature (A), average humidity (B), and radiation quality (C) of the experimental environment during collections.

Diazotrophs improve *Hymenaea courbaril* growth on iron mine tailings

Leticia A. Bressanin¹, Kamila R. Dázio de Souza¹, Thiago C. de Souza^{1*}

¹Instituto de Ciências da Natureza, Federal University of Alfenas (UNIFAL), Gabriel Monteiro da Silva St, 700, Centro, 37130-000, Alfenas, MG, Brazil.

*Corresponding author: thiagonepre@hotmail.com

KEYWORDS: *Hymenaea courbaril*, mine tailings, plant growth-promoting bacteria, plant morphophysiology, remediation.

ABSTRACT Accidents with mine tailings dams occur worldwide and can be catastrophic. One of the largest was in Brazil in 2015, with the rupture of the Fundão dam (Samarco SA), which released 50 million m³ of iron mine tailings. The physical characteristics of these tailings make it difficult to recover degraded areas; hence, it is important to study these features. We hypothesized that inoculation with diazotrophs would improve the growth of native tree species in tailings. Every 20 days for 60 days, we investigated the morphophysiology of *Hymenaea courbaril* grown in iron mine tailings (Fundão Dam) or soil, with the addition of nitrate (N-positive control) or native diazotrophic bacteria previously isolated. The results indicated a tolerance by *H. courbaril* to the mine tailings. Although high photosynthesis rates were not observed, an effective quantum yield of PSII [$Y(II)$] and a maximum quantum yield of PSII (Fv/Fm) were presented in healthy plants, with no growth alteration in the tailings, although there were signs of an inability for photoprotective responses, with reduced non-photochemical

quenching (*NPQ*), which may cause damage to the photosynthetic apparatus. The addition of ammonium nitrate smoothed the effects of the tailings on photosynthesis. The UNIFENAS100-569 bacteria somewhat increased aerial growth and favored greater CO₂ fixation, while UNIFENAS100-638 favored the total growth of plants, and UNIFENAS100-654 promoted photoprotective reactions and PSII health, as well as a better photosynthetic rate and improved CO₂ fixation. Inoculation with diazotrophic bacteria showed potential, with each producing a different pattern, and all improving photosynthesis.

INTRODUCTION

Accidents involving mine tailings dams occur worldwide and can be socially, economically, and environmentally catastrophic (Alastuey et al., 1999; ANM, 2019; Davies, 2002; De Souza Júnior et al., 2018; Fourie et al., 2002; García-Carmona et al., 2019; László, 2006; Mayes et al., 2011; Oliveira et al., 2019; USCOLD, 1994). One of the largest occurred in Brazil in 2015, when the Fundão dam (Samarco SA) ruptured and released 50 million cubic meters of iron mine tailings into the Doce River watershed (IBAMA, 2015). This resulted in chemical and physical changes in the soil, such as in pH, organic matter reduction, nutritional imbalance, and compaction (Andrade et al., 2018; Cruz et al., 2020; Esteves et al., 2020a; Hatje et al., 2017; Segura et al., 2016; Silva et al., 2016).

Remediation alternatives have since been pursued; however, many techniques are not feasible due to irreversible changes in soil, logistics, and/or costs. One of the most sustainable methods is phytoremediation, which is a low-cost technique with limited environmental damage that uses plants to reduce contamination (Salt; Smith, 1998). Nevertheless, the concentration of metals in the mine tailings of the Fundão dam is not the core issue, as studies have indicated that the concentration of these metals is not sufficiently high to cause toxicity (Andrade et al., 2018; Cruz et al., 2020; Esteves et al., 2020a; Zago et al., 2019). Therefore, greater focus has been given to the physical limitations of the tailings, such as compaction (Zago et al., 2019).

and the low amount of clay in its composition (Esteves et al., 2020a, 2020b; Zago et al., 2019), which limit the uptake of nutrients by plants (Cruz et al., 2020), thereby reducing plant growth.

Tailings from iron ore exploration present no plasticity and their specific mass is highly influenced by the iron content in the tailings, with levels up to 5 g cm^{-3} (Espósito, 2000; Pereira, 2005). They are predominantly composed of sand and silt and are susceptible to liquefaction (Pereira, 2005). Therefore, the recovery of areas degraded by this type of tailings is challenging, and related studies are required.

Some sustainable recovery alternatives are phytoremediation (Salt; Smith, 1998) and afforestation, which allows excess metals to remain allocated for a longer period and improves the physicochemical and biological properties of degraded soils (Berhongaray et al., 2017; Wang et al., 2017; Wu et al., 2018). In addition, tree species may tolerate nutritional imbalance, presenting a robust and deep root system, which can break the physical barrier provided by the tailings (Gómez et al., 2019; Yadav et al., 2010) for decades at low cost (Lutter et al., 2016).

The plant species employed must have the ability to tolerate potentially high concentrations of heavy metals, chemical imbalance, and low soil fertility, and should have a robust and deep root system that is capable of breaking the physical barrier provided by the tailings. Additionally, reforestation tends to improve the physicochemical and biological properties of degraded soils, and the implantation of tree species in a degraded area bypasses the initial stages of natural succession, which may aid in the recovery of degraded areas (Berhongaray et al., 2017; Wang et al., 2017; Wu et al., 2018). Pioneer trees are effective for their rapid growth, and allow for species of later successional levels to become established and contribute to the recovery of degraded areas.

Considering the ecological characteristics of the region affected by the mine tailings studied here, *Hymenaea courbaril* (Fabaceae), commonly known as Jatobá, was deemed suitable. It is a semi-deciduous heliophyte or sciophyte, and a xerophytic selective, late secondary-climax

tree native to Brazil that occurs in soils of different fertility degrees and has low nutritional and water requirements (Duboc et al., 1996; Lorenzi, 1992). Its extracts, leaves, and stalks have antioxidant and antimicrobial activities (Abdel-Kader et al., 2002; Aguiar et al., 2010; Nogueira et al., 2001), and its wood is of high quality, widely exploited, and used in civil construction. The tolerance of *H. courbaril* to contaminated soils has previously been demonstrated (Marques et al., 2018a, 2018b; Marques et al., 2000; Soares et al., 2001)

Soil microorganisms are indicators of the recovery status of degraded areas (Carvalho et al., 2018; Mummey et al., 2002; Visser and Parkinson, 1992; Nannipieri, 1984) since these soils have a reduced number of beneficial microorganisms for plants, such as diazotrophic/N-scavenging bacteria, which convert atmospheric nitrogen into ammonia, a nitrogen source that is available to plants (Silva et al., 2006). Some of these are plant growth-promoting bacteria (PGPB), which directly or indirectly contribute to plant nutrition and alleviate the negative effects caused by biotic and abiotic stresses (Bazzicalupo et al., 2000; Enebe and Babalola, 2018; Moreira et al., 2010; Shah et al., 2017), consequently enhancing plant nutrition and promoting phytohormone production that will aid in plant growth.

This study aimed to investigate the growth of *H. courbaril* on iron mine tailings from the Fundão dam and soil that has been inoculated with diazotrophic bacterial strains. It was hypothesized that the use of *H. courbaril* would positively influence the aspects of the tailings and that the inoculated bacterial strains would enhance their growth and tolerance.

MATERIALS AND METHODS

Experimental conditions. The experiment was designed in a completely randomized manner in a triple factorial scheme with time (three time points), two substrates (soil and tailings), five treatments: three bacteria isolated from these mine tailings in previous studies, UNIFENAS100-569, UNIFENAS100-638, and UNIFENAS100-654 (569, 638, and 654, respectively), no

inoculum (negative control, referred to as control), and no inoculum with the addition of ammonium nitrate (NH_4NO_3) (180 mg kg^{-1} substrate; positive control, referred to as nitrate). There were four replications; the variables analyzed only at the end of the experiment followed the double factorial and excluded the time factor.

The experiment was performed in a growth room under controlled light (Fig. S1). The average, maximum, and minimum temperatures remained, respectively, 26.5 ± 1 °C, 40.2 ± 2 °C, and 24.2 ± 2.5 °C, and the average humidity was 54%. Based on previous experiments and the literature, *Hymenaea courbaril* was chosen for its ecological and socio-economic aspects.

Seedlings were approximately six months old, produced in tubes with forest substrate (pine bark, coconut fiber, expanded vermiculite), and fertilized with a slow-release fertilizer. They were acclimatized in a growth room for 30 days, transplanted into 2 L vases containing substrates, and re-acclimatized. The substrates consisted of soil and iron mine tailings from the Fundão dam in Mariana, Minas Gerais, Brazil (UTM 669690 W, 779984 S) that were dried and sieved for greater homogeneity, with no fertilization.

The treatments were conducted for 60 days, with data collected at 20-day intervals. The substrates were irrigated with distilled water at 70% of the maximum water retention capacity. The biometry, relative chlorophyll content, leaf gas exchange, and chlorophyll *a* fluorescence were measured over time. At the end of the experiment, leaf area, dry matter, total soluble and reducing sugar content, root morphology, and macro- and micronutrient content were analyzed.

Substrates. Composite samples of the studied substrates were physically and chemically analyzed (Table 1) according to standard laboratory protocols and methods (da Silva Junior et al., 2018). According to CONAMA Resolution 420/2009 (National Environment Council, 2009), only Mn and Fe concentrations were higher than permitted. At the end of the experiment, composite samples of each substrate and treatment were analyzed.

Table 1. Chemical and physical analysis of soil and Fe mine tailings used for cultivating *Hymenaea courbaril*.

Substrates	pH	Ca	Mg	Al	H ⁺ Al	Zn	Fe	Mn	Cu	B	S	
		-----cmol.dm ⁻³ -----					-----mg.kg ⁻¹ -----					
Soil	5.70	2.65	0.11	0.10	2.20	0.60	48.60	14.20	23.70	0.06	4.60	
Tailings	7.80	1.50	0.10	0.04	0.62	0.00	55211.00*	562.37*	-----			
	O.M.	K	P	Rem-P	SB	CEC	T	V	m	Clay	Silt	Sand
	g.kg ⁻¹	----mg.kg ⁻¹ ----	mg.L ⁻¹	-----cmolc.dm ⁻³ -----			-----%-----	-----g.kg ⁻¹ -----				
Soil	15.60	116.79	-	15.30	3.06	3.16	5.26	58.16	3.16	590	130	280
Tailings	2.70	16.20	11.90	43.35	1.60	1.60	2.20	72.10	2.40	82	439	479

Ca, calcium; Mg, magnesium; Al, aluminum; H⁺Al, potential acidity; Zn, zinc; Fe, iron; Mn, manganese; Cu, copper; B, boron; S, sulfur; O.M., organic matter; K, potassium; P, phosphorus; REM-P, remaining phosphorus; SB, sum of exchangeable bases; CEC, effective cation exchange capacity; T, potential CEC at pH 7.0; V, CEC base saturation at pH 7.0; m, aluminum saturation.

Bacteria and nitrate inoculation. Isolated colonies of UNIFENAS100-569, UNIFENAS100-638, and UNIFENAS100-654 were inoculated in liquid YMA and incubated for 72 h at 28 °C and 180 rpm in an orbital shaker. Ammonium nitrate (120 mg L⁻¹) was solubilized in distilled water, and 1 mL of each was inoculated into pots containing *H. courbaril* in either soil or tailings.

Morphology. Nondestructive morphological parameters were evaluated every 20 days. Plant height (cm), node number, fully expanded leaf number, stem diameter (mm), and relative chlorophyll content were analyzed, the latter using the SPAD index with a portable chlorophyll meter (SPAD – 502 Plus, Konica Minolta, Japan) on fully expanded leaves, with an average of eight readings per plant. The stem diameter was measured using a digital caliper.

At the end of the experiment, leaf area (cm²) was analyzed using the average of images of all leaves present processed with the ImageJ software (Schneider et al., 2012). Leaves, stems, and roots were collected separately for the determination of dry matter and macro- and micronutrients. The plant material remained in a forced air circulation oven at 60 °C until constant weight, for subsequent weighing and shoot:root calculation.

Macro- and micronutrients. The determination of macro- and micronutrients was performed by an ISO 9001 qualified laboratory specialized in the analysis of fertilizers, soils, and plants according to standard laboratory protocols (Malavolta et al., 1997). The dry matter was pulverized and subjected to nitro-perchloric digestion, and nutrients were quantified by S digestion and Kjeldahl distillation (N), spectrophotometry (P, S, B), flame photometry (K), and flame atomic absorption spectrometry (Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, and Zn). N/S and N/P calculations were performed to assess the soil fertility.

Physiology. Physiological parameters were evaluated every 20 d. To assess gas exchange, an infrared gas analyzer (IRGA; LI-6400XT, LI-COR, USA) was used on a completely expanded leaf of the upper-middle third of the plant. Analyses were standardized in the morning, as well

as CO₂ flux (500 μmol mol⁻¹ from the ambient mean), block temperature (25 °C), and PAR, photosynthetically active radiation (1200 μmol m⁻² s⁻¹, determined by light curves). The parameters analyzed were *A*, net photosynthetic rate (mmol CO₂ m⁻² s⁻¹), *g_s*, stomatal conductance (mol H₂O m⁻² s⁻¹), *C_i*, intercellular carbon concentration (μmol m⁻² s⁻¹), and *E*, transpiration rate (mmol H₂O m⁻² s⁻¹).

A modulated image fluorometer was used to assess chlorophyll *a* fluorescence (Handy FluorCam FC-1000-H, PhotonSystems Instruments, PSI, Ltda, Czech Republic). The plants were dark-acclimated for 40 min (previous studies). The measurements were performed on a completely expanded leaf of the upper middle third of the plant using the quenching protocol (Oxborough and Baker, 1997), with an electronic shutter at 20 μs and a sensitivity of 15%. The parameters of PSII fluorescence, photosystem II, dark (*F_v/F_m*, PSII maximum quantum yield) and light (*Y(II)* effective quantum yield in PSII), non-photochemical quenching (*NPQ*), photochemical quenching (*qP*), quantum yield of light-regulated non-photochemical energy dissipation in PSII [*Y(NPQ)*], and quantum yield of non-regulated non-photochemical energy dissipation in PSII [*Y(NO)*] were obtained.

Carbohydrate content. For the quantification of total soluble sugars and reducing sugars, the pulverized dry matter of fully expanded leaves and roots, collected at the end of the experiment, was used. The extraction took place with the homogenization of 200 mg of the respective materials in 5 mL of methanol-chloroform-water (MCW: 3:1.25:0.75 mL, respectively) for 24 h and centrifuged at 1300 rpm for 30 min to collect the supernatant. Total soluble sugars were determined using the anthrone method, based on the standard glucose curve, and reducing sugars were quantified using the dinitrosalicylic acid method (Miller, 1959).

Root morphology. WinRhizo Pro 2007a (Regent Instruments, Canada) was used for the analyses. The collected roots were washed and stored in 70% ethanol. The parameters evaluated

were mean diameter (mm), total and root diameter class length (cm), total and root diameter class surface area (cm²), total and root diameter class volume (cm³), specific length (*SLR*; cm g⁻¹), tissue density (*RTD*; g cm⁻³), and root fineness (*RF*; cm⁻²). The roots were classified according to the proposal of Bhom (1979), as very fine roots (diameter < 0.5 mm), fine roots (0.5 < diameter < 2.0 mm), and thick roots (diameter > 2.0 mm).

Studied bacteria. Isolation of diazotrophic/N-scavenging bacteria was previously performed, according to the methods of Baldani et al. (2001) and Döbereiner et al. (1995), from the mine tailings studied here. Aliquots of 0.1 mL of ten-fold dilutions (10⁻¹ to 10⁻⁶) were inoculated into vials containing semisolid N-free media with different carbon sources (FAM, JMV, JNFb, NFb, or LGI) and incubated for up to 14 days at 28 °C, with daily analysis of the formation of a veil-like pellicle in the culture medium, indicating the presence of diazotrophic/N-scavenging bacteria. The pellicles were grown on YMA media for colony isolation and were subjected to tests using the different carbon sources.

They were then characterized for their ability to grow in a culture medium with different Fe and Mn concentrations, and different pH levels to solubilize potassium (K) and phosphorus (P) and produce Indole-3-acetic acid (IAA) and enzymes of economic interest (lipase, amylase, and cellulase). Modified YMA media were used to assess the growth of the strain streaked in Petri dishes containing media with crescent concentrations of Fe and, Mn (0, 50, 150, 300, and 600 mg L⁻¹), or pH (4, 5, 6, 7, and 8). The growth of the strains was analyzed visually as: (-) = no growth, (+) = growth only on the first set of streaks, (++) = growth on the first two sets of streaks, and (+++) growth on all three sets of streaks. For K and P solubilization and IAA production, bacterial suspensions were grown in FAM liquid media (48 h incubation at 28 °C and 180 rpm on an orbital shaker) with an optical density (600 nm) of 0.4, and the cell-free extracts were obtained by centrifugation (8000 g, 5 min at 4 °C). All determinations were performed with five replicates for each strain.

IAA production was assessed according to the Salkowski colorimetric assay (Sarwar and Kremer, 1995). Cell-free supernatants were obtained in DYGS liquid media (7 mL), supplemented with or without tryptophan ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$), and incubated for 72 h at 28°C and 180 rpm on an orbital shaker. The concentration of IAA produced by each strain was estimated by measuring the absorbance at 530 nm with the aid of an IAA standard curve.

For assessing K solubilization (Parmar and Sindhu, 2013), the cell-free supernatants were obtained from cultures in Aleksandrov liquid media (25 mL, pH 7.0), supplemented with phonolite (5 g L^{-1}) as a source of K, and incubated for 7 days at 25°C and 120 rpm on an orbital shaker. K solubilization by each strain was estimated using a flame photometer with the aid of a K standard curve.

The ability to solubilize P was evaluated following Tedesco et al. (1995), whereby the cell-free supernatants were obtained from cultures in FAM liquid media (15 mL, pH 6.8), supplemented with A0-15 (10 g L^{-1}) as a source of P, and incubated for 7 days at 25°C and 120 rpm on an orbital shaker. P solubilization by each strain was estimated using a spectrophotometer with the aid of a P standard curve.

Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry, based on the cellular proteome, and polymerase chain reaction (PCR), based on genomics were also used.

For MALDI-TOF MS analysis, cells were grown on plates using the original culture medium, incubated at 28°C for 24 h and then aseptically transferred to microtubes containing 300 μL of deionized water. The mixture was vigorously vortexed for 30 s, followed by the addition of 900 μL of pure ethanol and further homogenization. The samples were placed in a refrigerated centrifuge (10°C , 2 min, 13,000 rpm) to remove the supernatant, and 50 μL of 70% formic acid and 50 μL of acetonitrile were added and vortexed. The new mixture was centrifuged at 10°C for 2 min at 13,000 rpm using the supernatant for the assay.

The microtubes were immediately and vigorously vortexed for 1 min, and 1 mL of the resulting suspension was transferred to a 96-well MALDI flex target plate (Bruker Daltonics, Bremen, Germany). When the liquid phase approached evaporation, 1 mL of the matrix solution (saturated solution of cyano-4-hydroxy-cinnamic acid (CHCA) in 50% acetonitrile/2.5% trifluoro-acetic acid) was added, and the solution was gently mixed (Oliveira et al., 2015).

An *Escherichia coli* A3 colony was obtained and used for *in situ* protein extractions, which were used as standards for the MALDI-TOF MS external calibration. Each MALDI-TOF sample was spotted in triplicate to evaluate reproducibility. Samples were then analyzed using a MALDI-TOF microflex LT spectrometer (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) and the MALDI Biotyper 3.0 automatic system.

Statistical analysis. Data with normal distributions (Shapiro-Wilk) and variance homogeneity (Brown-Forsythe) were subjected to ANOVA ($p \leq 0.05$) and the means and standard error of the mean for each parameter were compared by the Scott Knott test ($p \leq 0.05$). Non-parametric data were indexed and subjected to Kruskal-Wallis analysis of variance on ranks, and medians were compared using Dunn's test ($p \leq 0.05$). To evaluate the relationships among the studied variables, Pearson's correlation analysis ($p \leq 0.05$) was employed, and to better visualize the variable profiles among substrates, principal component analyses (PCA) were performed (JOLLIFFE, 2010), with the coefficients for each component established using a covariance matrix. All statistical analyses were performed using Origin (Pro) 2021b (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA).

RESULTS

The dry matter (Fig. 1A) of the leaves of plants grown in soil, and the roots of those grown in tailings, were higher than those of leaves and roots under tailings and soil, respectively. There were no significant differences between the leaves and roots. Inoculation with 638 increased

the dry matter of leaves in soil and roots in tailings. Strain 569 led to an increase in plant leaf dry matter in soil, whereas strain 654 reduced root dry matter in soil.

The relationship between shoot and root dry matter (Fig 1B) did not show differences among substrates, but soil 638 and tailings 569 had greater amounts. Differences among substrates were found in N/P and N/S relations (Fig 1C, D), whereby soil values were higher, as well as the contents of Ca, Mg, B, and Cu (Fig 1E–H). Treatments affected only N/S (Fig. 1D), which showed a stronger relationship with soil nitrate, tailings control, and tailings nitrate. The Ca and Cu contents were higher in tailings (Fig. 1E, H), and Mg and B were greater in soil (Fig. 1F, G), with no significant differences among inoculations or plant organs; hence, only data media for each substrate were displayed.

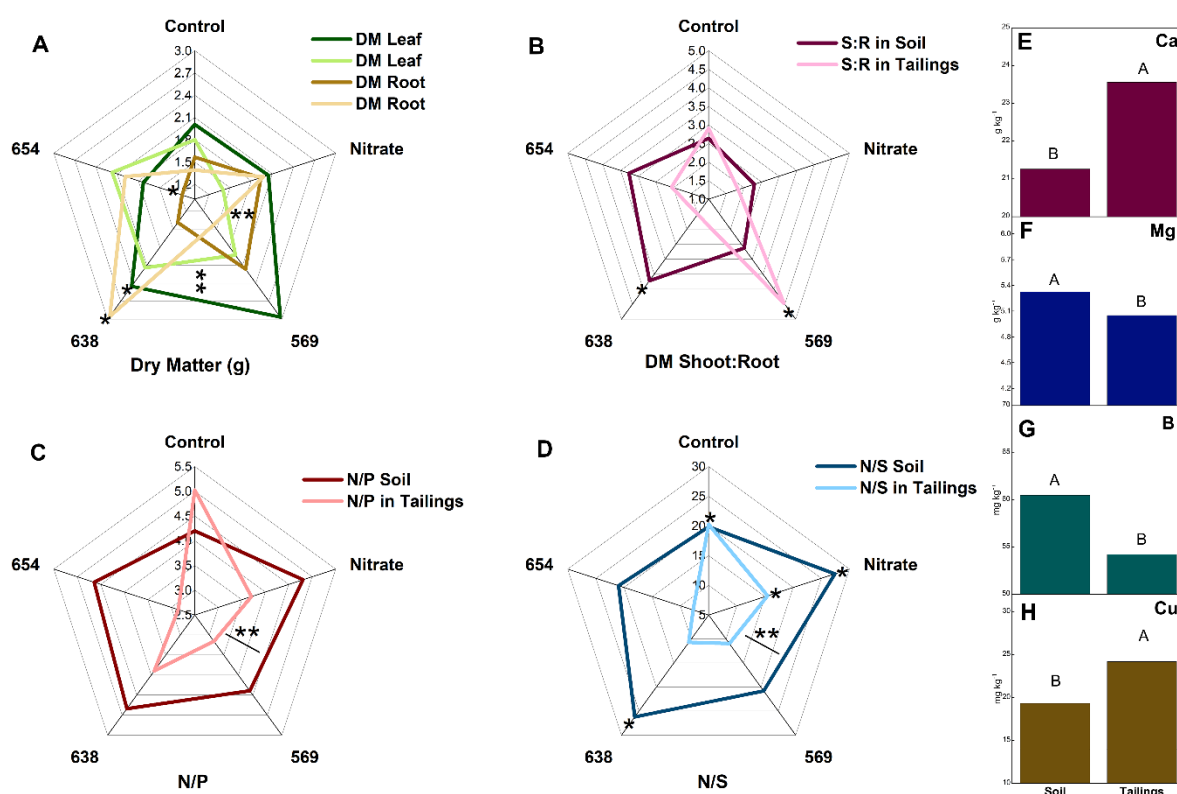


Figure 1. Dry matter (g) of leaves and roots; relationship between dry matter of shoots and roots, N and P, N and S; and content of Ca, Mg, B, and Cu of *Hymenaea courbaril* plants grown in soil and iron mine tailings in the Control and with the addition of NH_4NO_3 (Nitrate),

UNIFENAS100-569 (569), UNIFENAS100-638 (638), and UNIFENAS100-654 (654). For column graphs, means \pm mean standard error followed by uppercase letters represent differences among substrates by the Scott Knott test ($p < 0.05$). For line graphs, asterisks represent differences among *inoculations and **substrates by the Scott Knott test ($p < 0.05$).

Leaf Fe concentrations (Table 2) were not significantly different between substrates, except among the controls, which had higher levels in soil. The strains and nitrate did not affect Fe content in leaves of plants grown under tailings, but it was decreased in those under soil. In roots, there was no significant difference among treatments in soil, but the levels were lower than those in tailings. In tailings, the highest Fe content occurred with the addition of nitrate, and the lowest was observed in the control. Plants inoculated with the strains did not differ from each other. The treatments did not affect the Mn content in the leaves, and only soil 569 showed a lower Mn content than that under tailings. The treatments also did not affect Mn content in roots under soil, but it was increased with nitrate in roots under tailings. All values for Mn in roots were higher in tailings than in soil.

The N content (Table 2) did not vary between the treatments in leaves or roots in soil. Inoculation with the strains reduced the N content in the leaves and roots of plants in tailings compared to tailings control, and 654 showed the lowest value for leaves. The values of N in tailings 638 and 654 were lower than those under soil for both roots and leaves, similar to 569 exclusively for roots. The treatments did not affect the Zn content in roots grown in soil or tailings, and only soil nitrate showed a lower value than that of tailings nitrate. However, in the leaves of plants grown in soil, the treatments reduced the Zn content, but increased it in tailings (except for 638). Tailings control was lower than soil control, and tailings 569 and 654 were higher in comparison to those strains in soil.

Fe, Mn, N, and Zn did not show significant differences between the treatments or substrates in the stalks of plants (Table S1). P concentrations (Table S2) did not differ between treatments

or substrates in any of the compartments. K content (Table S2) in the leaves was reduced in tailings 654 in comparison to tailings control and soil 654. In stalks, 638 and 654 increased K, and tailings 654 were lower than soil 654. Root K changed only among treatments, with values lower under 638 and 654. The content of S (Table S2) in leaves was lower in soil nitrate and soil 569 compared to those under tailings. Stalk S was higher in tailings, and in roots, tailings nitrate, 638, and 654 were higher compared to tailings control and soil. The quantification limits are available as supplementary data (Table S3).

Table 2. Contents of Fe (mg kg⁻¹), Mn (mg kg⁻¹), N (g kg⁻¹), and Zn (mg kg⁻¹) in leaves and roots of *Hymenaea courbaril* grown in soil and iron mine tailings, in the Control and with the addition of NH₄NO₃ (Nitrate), UNIFENAS100-569 (569), UNIFENAS100-638 (638), and UNIFENAS100-654 (654).

Part Substrate	Leaves		Roots		Leaves		Roots	
	Soil	Tailings	Soil	Tailings	Soil	Tailings	Soil	Tailings
	Fe (mg kg⁻¹ DM)				N (g kg⁻¹ DM)			
Control	671.9 Aa	408.3 Ba	1768 Ba	4935.5 Ac	32.7 Aa	30.9 Aa	11.1 Aa	9.7 Aa
Nitrate	190.9 Ab	192.9 Aa	770 Ba	10365 Aa	38.9 Aa	41.1 Aa	12.6 Aa	10.8 Aa
569	313.6 Ab	224.9 Aa	2291 Ba	8200.9 Ab	31.2 Aa	24.6 Ab	12.4 Aa	8.8 Bb
638	224.1 Ab	277.2 Aa	1193 Ba	7646.9 Ab	44.7 Aa	22.7 Bb	11.0 Aa	8.4 Bb
654	226.9 Ab	467.9 Aa	992 Ba	7893.1 Ab	41.1 Aa	12.7 Bc	12.0 Aa	7.4 Bb
	Mn (mg kg⁻¹ DM)				Zn (mg kg⁻¹ DM)			
Control	105.1 Aa	134.8 Aa	50.9 Ba	116.8 Ab	17.3 Aa	10.8 Bb	17.7 Aa	13.4 Aa
Nitrate	139.5 Aa	152.8 Aa	34.9 Ba	268.4 Aa	14.2 Ab	15.5 Aa	13.5 Ba	43.9 Aa
569	72.9 Ba	222.6 Aa	68.5 Ba	136.9 Ab	12.9 Bb	16.6 Aa	22.8 Aa	14.6 Aa
638	112.9 Aa	180.6 Aa	32.7 Ba	185.3 Ab	13.7 Ab	13.5 Ab	16.5 Aa	13.4 Aa
654	110.2 Aa	181.8 Aa	35.5 Ba	129.6 Ab	13.1 Bb	16.6 Aa	15.7 Aa	12.1 Aa

Means followed by letters, uppercase for the bacterial strain and lowercase for the substrate, differ by the Scott Knott's test at a 5% probability.

Growth morphology did not change significantly over the assessed time, and the media of all data collections are shown in Fig. 2. A significant difference in the number of expanded leaves was observed among the substrates only with nitrate and the inoculation of 569, with a decrease

in tailings (Fig. 2A). Within soil, the number of leaves was increased, particularly with 638. In tailings, nitrate, 638, and 654 increased the number of leaves, with 638 producing the maximum.

Plant height (Fig. 2B) was not affected by tailings when inoculated with 638. The plants under tailings control showed greater heights in comparison to plants under soil control. In soil, all treatments increased plant height in comparison to the control, particularly with nitrate, 638, and 654. In contrast, in tailings, there was an increase in plant height with 638 and a decrease with 654 inoculations.

The number of nodes (Fig. 2C) was higher in plants under control tailings than under control soil, but lower in tailings 569 compared to soil 569 and control tailings. The addition of nitrate, 569, and 638 increased the number of plant nodes in soil, but only 638 did so in tailings. Stem diameter (Fig. 2D) was less in plants under tailings than in plants under soil with treatments 569 and 654. The treatments did not affect plant height in soil, which was increased by nitrate, 638, and 654 under tailings.

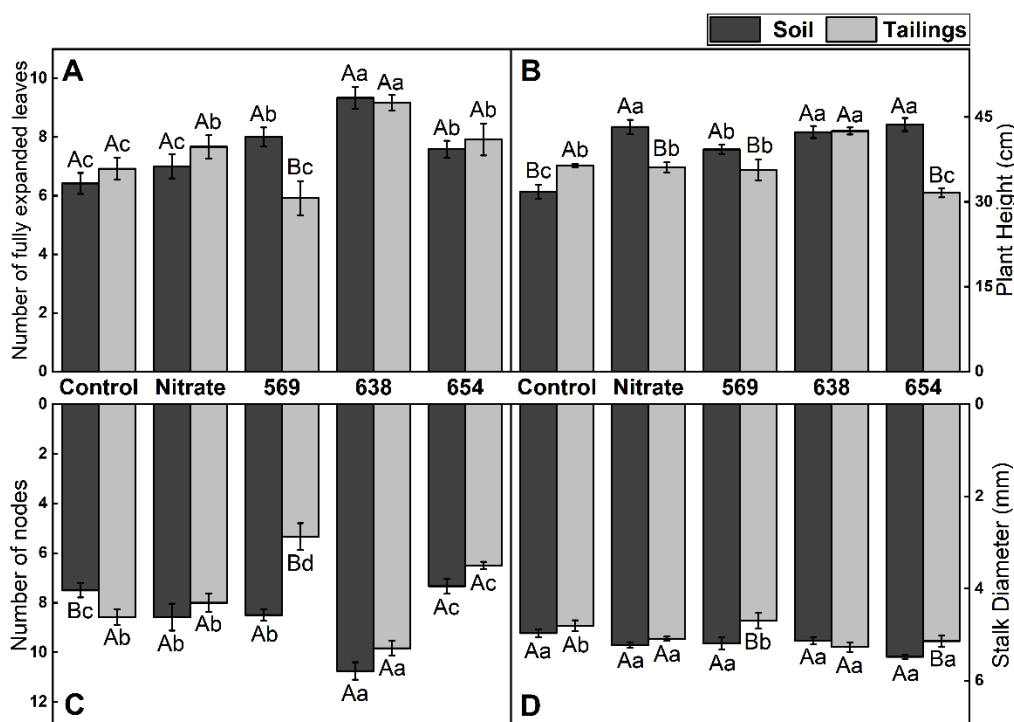


Figure 2. Fully expanded leaf number, plant height (cm), node number, and stalk diameter (mm) of *Hymenaea courbaril* plants grown in soil and iron mine tailings, in the Control and with the addition of NH_4NO_3 (Nitrate), UNIFENAS100-569 (569), UNIFENAS100-638 (638), and UNIFENAS100-654 (564). Means \pm mean standard error followed by uppercase and lowercase letters represent differences, respectively, among substrates in the same inoculation condition, and among inoculations in the same substrate, by the Scott Knott test ($p < 0.05$).

A (Table 3) was increased in soil 569 inoculation, but reduced in tailings 569 and 654 compared to tailings control and these inoculations in soil, at 20 days of the experiment. At 40 days, *A* was higher in tailings 638 and 654 compared to tailings control, and at 60 days, *A* was higher in tailings nitrate and 654 compared to tailings control. Among the data, tailings control, tailings nitrate, and tailings 654, as well as soil nitrate, tailings 569, and soil 654, presented reductions in *A* at 40 days (from 40 days on), while tailings 654 increased at 60 days.

At 20 days, *gs* (Table 3) increased with 569 inoculation in soil, which was higher than that in tailings. At 60 days, inoculation of 569 and 638 in tailings reduced *gs*, and soil control showed lower *gs* compared to tailings control. Throughout time, the *gs* of tailings control, soil and tailings nitrate, tailings 638, soil and tailings 569, and soil nitrate, were reduced at 40 days, and from 40 days on, while at 60 days the *gs* remained reduced in all cases except for tailings control which had an increased level at 60 days.

At 20 days *Ci* (Table 3) decreased with 638 and 654 inoculations in soil compared to soil control, and 638 inoculation also reduced *Ci* in tailings compared to tailings control, while it was increased with 654. At 40 days, soil nitrate and soil 569 and 638 showed reduced *Ci* levels compared to soil control, which, along with 654 inoculation, showed higher *Ci* than tailings. Compared to the soil control, at 60 days, soil nitrate and soil 569 reduced *Ci*, and all treatments reduced *Ci* in tailings compared to tailings control. Among the data, there was a reduction of

C_i in tailings control, soil 638 (40 days), soil and tailings nitrate, tailings 569 and 654 (40 and 60 days), and soil 569 (60 days). C_i of soil 654 increased only after 40 d.

At 20 days, soil 569 showed increased E (Table 3) in comparison to soil control and tailings 569, and tailings 654 in comparison to soil 654. At 60 days, tailings 569 and 638 showed reduced E compared to tailings control, and nitrate application increased E in tailings compared to soil nitrate. Among the data collections, E was decreased in tailings control and tailings nitrate (40 days), as well as soil nitrate, soil 569, and tailings 638 (40 and 60 days).

Table 3. Net photosynthetic rate – A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), stomatal conductance – g_s ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), intercellular carbon concentration – C_i ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), and transpiration rate – E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) of *Hymenaea courbaril* grown in soil and iron mine tailings, in the Control and with the addition of NH_4NO_3 (Nitrate), UNIFENAS100-569 (569), UNIFENAS100-638 (638), and UNIFENAS100-654 (654), assessed at 20-day intervals.

Days	20		40		60	
Substrate	Soil	Tailings	Soil	Tailings	Soil	Tailings
Inoculum	A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)					
Control	2.255 Ab	2.272 Aa	1.540 Aa	0.964 Ab↓	1.398 Aa	1.837 Ab
Nitrate	3.066 Ab	2.578 Aa	1.509 Aa↓	0.920 Ab↓	1.440 Aa↓	2.588 Ba
569	3.993 Aa	0.862 Bb	1.690 Aa↓	0.657 Bb	1.839 Aa↓	1.555 Ab
638	2.536 Ab	2.024 Aa	2.255 Aa	1.697 Aa	2.388 Aa	1.831 Ab
654	2.871 Ab	0.841 Bb↓	1.537 Aa↓	1.602 Aa↓	1.841 Aa↓	2.508 Aa
	g_s ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)					
Control	0.016 Ab	0.012 Aa↓	0.012 Aa	0.005 Aa↓↓	0.010 Ba	0.024 Aa
Nitrate	0.022 Ab	0.014 Aa	0.009 Aa↓	0.004 Aa↓	0.007 Aa↓	0.017 Aa
569	0.037 Aa	0.007 Ba	0.010 Aa↓	0.004 Aa↓	0.009 Aa↓	0.003 Ab↓
638	0.018 Ab	0.016 Aa	0.012 Aa	0.009 Aa↓	0.015 Aa	0.009 Ab↓
654	0.018 Ab	0.010 Aa	0.013 Aa	0.008 Aa	0.011 Aa	0.013 Aa
	C_i ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)					
Control	145.027 Aa	137.101 Ab	134.010 Aa	64.728 Ba↓	164.609 Aa	158.551 Aa

Nitrate	147.829 Aa	151.791 Ab	97.921 Ab↓	115.387 Aa↓	67.883 Ab↓	92.040 Ab↓
569	157.110 Aa	129.446 Ab	114.078 Ab	71.841 Aa↓	66.355 Ab↓	78.109 Ab↓
638	115.953 Ab	71.083 Bc	77.518 Ab↓	71.680 Aa	132.974 Aa	104.739 Ab
654	85.209 Bb↓	192.707 Aa	172.067 Aa	68.828 Ba↓	118.301 Aa↓	86.037 Ab↓
<i>E</i> (mmol H₂O m⁻² s⁻¹)						
Control	0.339 Ab	0.256 Aa	0.238 Aa	0.103 Aa↓	0.251 Aa	0.381 Aa
Nitrate	0.475 Ab	0.313 Aa	0.195 Aa↓	0.087 Aa↓	0.175 Ba↓	0.406 Aa
569	0.825 Aa	0.169 Ba	0.208 Aa↓	0.073 Aa	0.227 Aa↓	0.086 Ab
638	0.415 Ab	0.376 Aa	0.266 Aa	0.192 Aa↓	0.366 Aa	0.226 Ab↓
654	0.419 Ab	0.228 Ba	0.270 Aa	0.134 Aa	0.273 Aa	0.320 Aa

Means followed by uppercase letters indicate differences among substrates with the same inoculation for the same time of data collection according to the Scott Knott test ($p < 0.05$). Lowercase letters indicate different means between inoculation treatments with the same substrate for the same time of data collection according to the Scott Knott test ($p < 0.05$). For comparisons between the times of data collection, arrows indicate increases (↑) or decreases (↓) of a given inoculation treatment with the same substrate by the Scott Knott test ($p < 0.05$).

Y(II) (Table 4) was reduced in plants grown in tailings after 40 d. At 60 days, inoculation with 638 and 654 in soil reduced *Y(II)* in comparison to soil control. Compared to tailings control, nitrate and 638 addition reduced *Y(II)* to lower levels than in soil. Among the data collections, *Y(II)* was reduced in tailings nitrate (40 days), and further reduced thereafter, with tailings 638 and soil 654 showing reductions at 60 days.

Tailings inoculated with 638 showed a reduction in *NPQ* at 20 days, while an increase was observed in tailings inoculated with 638 and 654 at 40 days in comparison to those under soil and the tailings control (Table 4). Nitrate decreased *NPQ* in tailings compared to soil nitrate (40 and 60 days). Inoculation with 654 increased *NPQ* in tailings compared to tailings control and 654 in soil (60 days). The tailings control, tailings and soil nitrate, tailings 569, and tailings 638 and 654, showed reductions in *NPQ* (40 and 60 days), along with soil 569 and tailings 638 (60 days).

At 40 days, soil 638 showed increased *Y(NO)* (Table 4) compared to soil control and tailings 638. In addition, *Y(NO)* was lower in soil nitrate than in tailings nitrate, and the opposite was

observed for 654 inoculation, which was lower in tailings. At 60 days, bacterial inoculations increased $Y(NO)$ in soil compared to soil control, but there was a reduction in tailings 654 compared to tailings control and soil 654. Treatments with control and nitrate showed higher degrees of $Y(NO)$ in tailings. Over time, soil control, soil 638 (40 days), tailings control, tailings nitrate, soil 654 (40 and 60 days), and soil 569 and tailings 638 (60 days) had increased $Y(NO)$ levels.

$Y(NPQ)$ (Table 4) was higher in tailings 638 than in tailings control and soil 638 (40 days). At 60 days, soil showed a higher $Y(NPQ)$. Over time, $Y(NPQ)$ was reduced in tailings control, tailings nitrate, soil 638 (40 and 60 days), 569, and 638 (60 days), tailing nitrate (40 and 60 days), soil 569, and tailings 638 (60 days). Fv/Fm showed no significant differences between substrates or treatments (Fig S2).

Table 4. $Y(II)$, the effective quantum yield of PSII; NPQ , non-photochemical quenching; $Y(NO)$, the quantum yield of non-regulated nonphotochemical energy dissipation in PSII; and $Y(NPQ)$, the quantum yield of light-regulated nonphotochemical energy dissipation in PSII, of *Hymenaea courbaril* grown in soil and iron mine tailings, in the Control and with the addition of NH_4NO_3 (Nitrate), UNIFENAS100-569 (569), UNIFENAS100-638 (638), and UNIFENAS100-654 (654), assessed at 20-day intervals.

Days	20		40		60	
	Soil	Tailings	Soil	Tailings	Soil	Tailings
Inoculum	$Y(II)$					
Control	0.708 Aa	0.643 Aa	0.720 Aa	0.618 Ba	0.713 Aa	0.650 Aa
Nitrate	0.715 Aa	0.708 Aa	0.748 Aa	0.625 Ba↓	0.693 Aa	0.515 Bb↓↓
569	0.718 Aa	0.703 Aa	0.745 Aa	0.650 Ba	0.675 Aa	0.638 Aa
638	0.698 Aa	0.650 Aa	0.698 Aa	0.610 Ba	0.623 Ab	0.448 Bb↓
654	0.688 Aa	0.625 Aa	0.710 Aa	0.655 Aa	0.578 Ab↓	0.615 Aa

<i>NPQ</i>						
Control	0.928 Aa	1.155 Aa	0.538 Aa	0.448 Ab↓	0.755 Aa	0.440 Ab↓
Nitrate	1.095 Aa	0.900 Aa	0.768 Aa↓	0.400 Bb↓	0.728 Aa↓	0.303 Bb↓
569	0.988 Aa	0.868 Aa	0.675 Aa	0.423 Ab↓	0.293 Aa↓	0.290 Ab↓
638	1.233 Aa	0.865 Ba	0.295 Ba↓	1.098 Aa	0.508 Aa↓	0.463 Ab↓
654	1.043 Aa	0.985 Aa	0.518 Ba↓	1.228 Aa	0.598 Ba↓	1.205 Aa
<i>Y(NO)</i>						
Control	0.360 Aa↓	0.416 Aa↓	0.567 Ab	0.689 Aa	0.447 Bb↓	0.697 Aa
Nitrate	0.406 Aa	0.445 Aa↓	0.434 Bb	0.662 Aa	0.465 Bb	0.754 Aa
569	0.432 Aa↓	0.433 Aa↓	0.512 Ab↓	0.549 Aa↓	0.717 Aa	0.734 Aa
638	0.367 Aa↓↓	0.426 Aa↓	0.752 Aa	0.414 Bb↓	0.618 Aa↓	0.674 Aa
654	0.413 Aa↓	0.426 Aa	0.590 Ab	0.397 Bb	0.681 Aa	0.407 Bb
<i>Y(NPQ)</i>						
Control	0.327 Aa	0.457 Aa	0.249 Aa	0.324 Ab↓	0.359 Aa	0.228 Ba↓
Nitrate	0.402 Aa	0.401 Aa	0.319 Aa	0.237 Ab↓	0.353 Aa	0.178 Ba↓
569	0.424 Aa	0.366 Aa	0.323 Aa	0.256 Ab	0.204 Aa↓	0.197 Ba
638	0.454 Aa	0.458 Aa	0.218 Ba↓	0.434 Aa	0.308 Aa↓	0.238 Ba↓
654	0.429 Aa	0.445 Aa	0.267 Aa	0.457 Ab	0.273 Aa	0.476 Ba

Means followed by uppercase letters indicate differences among substrates with the same inoculation for the same time of data collection according to the Scott Knott test ($p < 0.05$). Lowercase letters indicate different means between inoculation treatments with the same substrate for the same time of data collection according to the Scott Knott test ($p < 0.05$). For comparisons between the times of data collection, arrows indicate increases (↑) or decreases (↓) of a given inoculation treatment with the same substrate by the Scott Knott test ($p < 0.05$).

The relative chlorophyll content did not change significantly over the assessed time, and the media of all data collections are shown in Fig. 3. The SPAD index was higher in plants grown in soil, particularly in the control and with inoculation of strains 569 and 638. The lowest registered SPAD indexes were in tailings, with the addition of nitrate, 638, and 654.

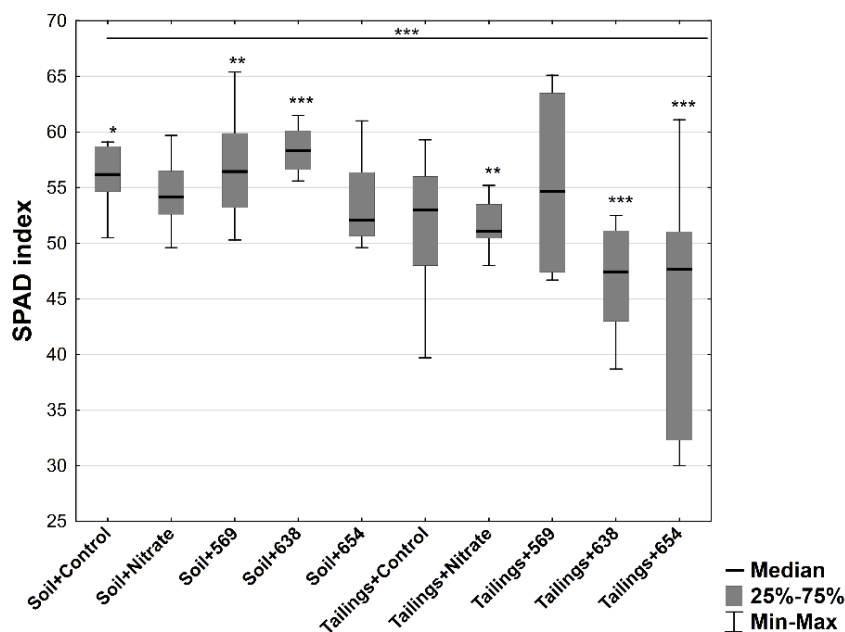


Figure 3. Relative chlorophyll content (SPAD index) of *Hymenaea courbaril* plants grown in soil and iron mine tailings, in the Control and with the addition of NH_4NO_3 (Nitrate), UNIFENAS100-569 (569), UNIFENAS100-638 (638), and UNIFENAS100-654 (654). The lower boundary of the box indicates the 25th percentile, the upper boundary denotes the 75th percentile, and a black line within the box marks the median. Whiskers above and below the box indicate the minimum and maximum values. P values ($* < 0.05$; $** < 0.01$; $*** < 0.001$) were determined by the Kruskal-Wallis test followed by a Dunn's *post hoc* test. The results of the Kruskal-Wallis tests are indicated above the graph and the results of Dunn's *post hoc* test are indicated directly above the boxes.

Leaf area and qP did not change significantly over the assessed time, and the media of all data collections are shown for each (Fig. 4A, B). Photochemical quenching (Fig. 4A) was reduced in plants in tailings control and tailings nitrate compared, respectively, to soil control and nitrate, with a lesser difference in tailings nitrate. Bacterial inoculation led to a reduction in qP in soil but an increase in tailings. The addition of nitrate and 654 to the tailings led to a reduction in leaf area (Fig. 4B), while inoculation with strain 569 in soil and tailings, and 638 in tailings, increased the leaf area.

There was no difference among treatments in the content of total soluble sugars in roots (Fig. 4C), which presented lower values than leaves. The inoculation with 638 in soil was similar to soil control, presenting a higher content of total soluble sugars than the others, but it did not affect the plants under tailings. In comparison to leaves, the total soluble sugar values were higher in plants under tailings. Roots had lower reducing sugar content (Fig. 4D) than leaves. Inoculation with 569 and 638 increased reducing sugars in the roots of tailings and soil. The treatments did not influence the reducing sugar content in leaves, but it was higher in plants under tailings.

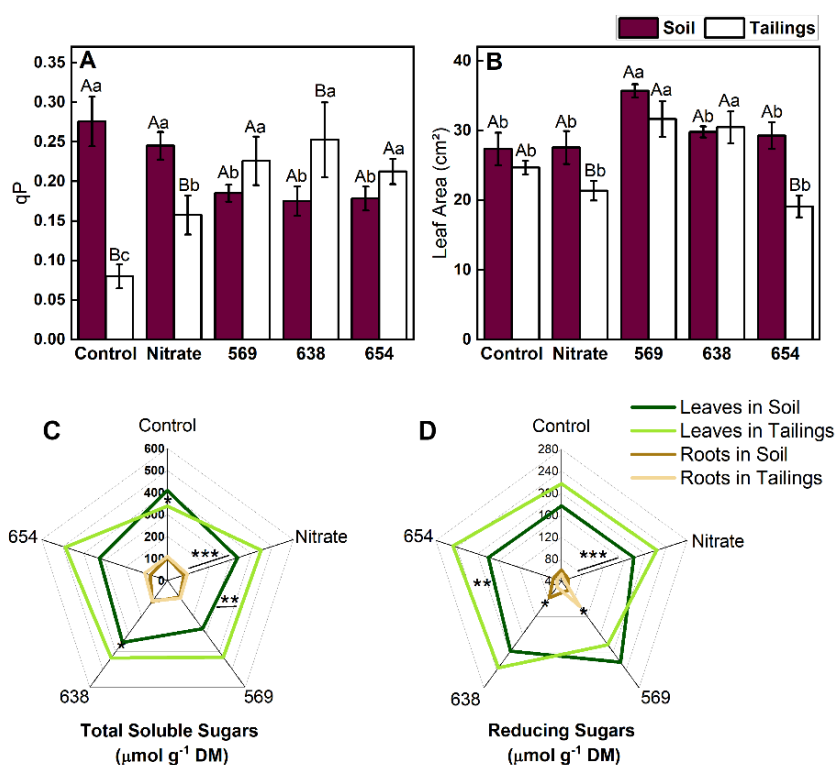


Figure 4. Photochemical quenching, leaf area (cm^2), total soluble sugar content ($\mu mol g^{-1} DM$), and reducing sugar content ($\mu mol g^{-1} DM$) of leaves and roots of *Hymenaea courbaril* plants grown in soil and iron mine tailings, in the Control and with the addition of NH_4NO_3 (Nitrate), UNIFENAS100-569 (569), UNIFENAS100-638 (638), and UNIFENAS100-654 (564). For column graphs, means \pm mean standard error followed by uppercase and lower-case letters represent differences, respectively, among substrates in the same inoculation condition, and

among inoculations in the same substrate, by the Scott Knott test ($p < 0.05$). For line graphs, asterisks represent differences among *inoculations, **substrates, and ***plant organs by the Scott Knott test ($p < 0.05$).

Only plants with the addition of nitrate showed differences in the total length of roots (Fig. 5A) among the substrates, with tailings showing lower values. Compared to soil control, nitrate, 569, and 638 increased root length. In the tailings, 569 and 638 increased root length compared to tailings control. The root surface area (Fig. 5B) of *H. courbaril* under tailings was lower in nitrate and 569, but higher in 638. Only nitrate increased the surface area compared to soil control and 638 compared to the tailings control.

Inoculations of 569 and 638 reduced the diameter of roots (Fig. 5C) under tailings. Treatments showed no significant differences within soil or tailings for this parameter. As for the volume of roots (Fig. 5D), tailings nitrate showed lower values than soil nitrate, and tailings 638 was higher than soil 638. In soil, only nitrate increased the volume, and in tailings, only 638.

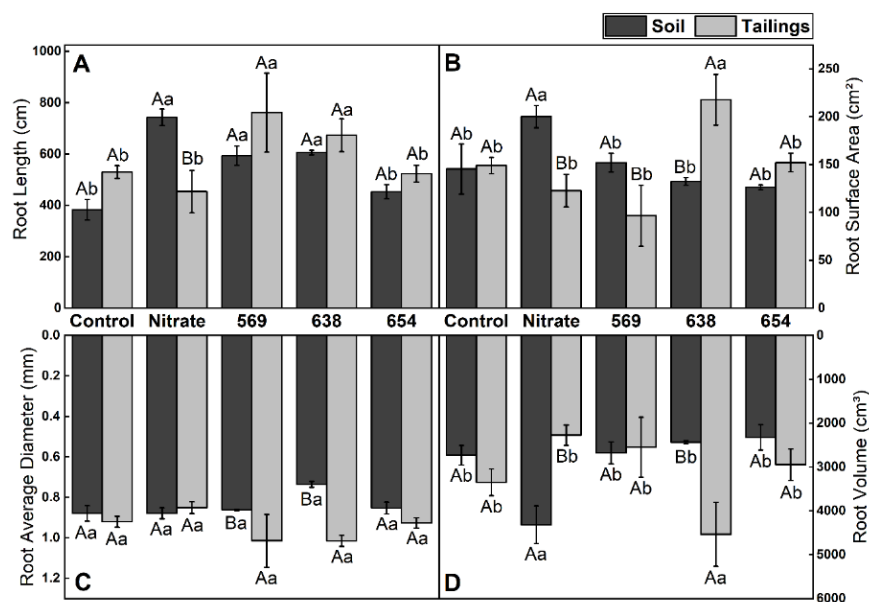


Figure 5. Total root length (cm), surface area (cm²), average diameter (mm), and total volume (cm³) of *Hymenaea courbaril* plants grown in soil and iron mine tailings, in the Control and with the addition of NH₄NO₃ (Nitrate), UNIFENAS100-569 (569), UNIFENAS100-638 (638),

and UNIFENAS100-654 (654). Means \pm mean standard error followed by uppercase and lowercase letters represent differences, respectively, among substrates in the same inoculation condition, and among inoculations in the same substrate, by the Scott Knott test ($p < 0.05$).

RTD (Fig. S3) was not affected by the tailings, showing a reduction only in plants under soil 654 compared to those in tailings. The addition of nitrate, 638, and 654 reduced the *RTD* compared to soil control, while 638 and 654 also reduced *SLR* (Fig. S3B) in tailings compared to those in soil. However, soil 638 and 654 had increased *SLR*. The root fineness was not affected by the substrates or by inoculation treatments in tailings. In soil, however, 638 increased root fineness compared to the other treatments (Fig. S3C).

Very fine roots showed greater surface area and volume (Table S4) in soil nitrate, 638, and 569 when compared to soil control, which presented a lower surface area in comparison to tailings control. Tailings nitrate had reduced surface area and volume in comparison to soil nitrate, 569 reduced the volume in comparison with soil and tailings control, and 654 also showed a reduction in comparison to the control. Nitrate and 569 showed increased length and surface area of fine roots in soil but decreased values in tailings. The surface area with tailings 569 was smaller than that of soil 569 and tailings control, while 638 presented an increased surface area with tailings. Soil nitrate also increased the length of thick roots. The length of these roots in 638 soil was lower than that of 638 tailings. Nitrate and 569 increased the surface area of thick roots in the soil, and 638 increased it in tailings, compared to their substrate control. The S.A. of thick roots was higher in soil nitrate and tailings 638. The volume decreased in soil 638, 654, and tailings nitrate. The volume was higher in soil nitrate and tailings 638 and 654.

At the end of the experiment, the analysis of composite substrate samples for each treatment (table 5) showed improvement in their chemical attributes in general, especially in soil, with an increase in Mg, SB, CEC, and V%; while in tailings, there was a decrease in H Al, followed by

an increase in Rem-P, SB, CEC, and V%. Inoculation with 638 proved to be highly beneficial, as it positively influenced all parameters analyzed in soil and tailings, with the exception of Rem-P in soil. In tailings, the addition of nitrate positively influenced all analyzed parameters, while strains 569 and 654 showed only minor changes in this substrate.

Table 5. Chemical analysis of soil, iron mine tailings, and respective inoculation treatments used for cultivating *Hymenaea courbaril* after 60 days.

Substrate	Treatment	Organic C dag/kg	P mg/dm ³	K mg/dm ³	Ca cmolc/dm ³	Mg cmolc/dm ³	REM-P mg/dm ³	SB cmol/dm ³	CEC	V %	H ⁺ Al %
Soil	Control	1.18	1.7	81.0	2.74	1.46	28.4	4.41	5.81	75.89	24.11
	Nitrate	1.00	30.0	62.0	2.47	1.51	19.3	4.14	5.84	70.88	29.12
	569	1.33	2.8	84.0	3.04	1.57	26.8	4.82	6.42	75.10	24.90
	638	1.59	8.3	125.0	4.24	2.28	16.7	6.84	8.24	83.01	16.99
	654	1.57	6.5	97.0	3.26	1.93	19.2	5.44	6.84	79.53	20.47
Tailings	Control	0.33	7.4	78.0	2.24	0.08	12.4	2.52	3.22	78.26	21.74
	Nitrate	0.52	8.6	103.0	3.47	1.06	15.3	4.79	5.49	87.29	12.74
	569	0.26	7.1	75.0	1.94	0.07	17.1	2.20	2.90	75.88	24.12
	638	0.66	78.0	133.0	3.07	0.95	14.9	4.36	5.16	84.50	15.50
	654	0.36	9.6	85.0	2.31	0.13	16.8	2.66	3.36	79.15	20.85

P, phosphorus; ; K, potassium; Ca, calcium; Mg, magnesium; REM-P, remaining phosphorus; SB, sum of exchangeable bases; CEC, effective cation exchange capacity; V, CEC base saturation at pH 7.0; H⁺Al, potential acidity

The bacteria studied here were identified as *Burkholderia* (569) and *Pseudomonas* (638 and 654) (Table 6). Physiological characterization (Tables 6, S1) revealed that these bacteria are able to grow under different pH levels and Mn and Fe concentrations, except for strain 638 with Fe (150 mg L⁻¹). Strain 638 showed higher IAA production in both the presence and absence of tryptophan. The highest K solubilization was found in 569 and 638, whereas 638 and 654 solubilized higher amounts of P. All three strains produced lipase only (Table S5).

Table 6. Identification (MALDI-TOF and PCR), K and P solubilization (mg L⁻¹), IAA production (µg mL⁻¹), and growth in different Fe concentrations (mg L⁻¹) of diazotrophic bacteria isolated from Fe mining tailings under *in vitro* conditions.

		Bacterial strain		Nutrient Solubilization (mg L ⁻¹)		IAA production (µg mL ⁻¹)		Bacterial growth Fe (mg L ⁻¹)				
				K	P	Tryptophan	0 Tryptophan	0	50	150	300	600
Origin	MALDI-TOF	PCR										
569	JMV	<i>Burkholderia</i>	<i>Burkholderia</i>	324.0 A	25.7 B	97.642 Ba	45.264 Bb	+++	+++	+++	+++	+++
638	FAM	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i>	347.0 A	51.7 A	176.635 Aa	100.409 Ab	+++	+++	-	+++	++
654	NFb	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i>	167.0 B	43.7 A	119.907 Ba	47.956 Bb	+++	+++	+++	+++	+++

Means followed by letters for bacterial strains differ by the Scott Knott's test at a 5% probability. Growth under Fe +++: high, ++: moderate, +: low, -: no growth.

The generated correlation matrices (Fig. S4 and S5) indicated a low proportion of highly correlated data ($r > 0.7$, $p \leq 0.05$), but significant positive and negative correlations were still present. There was a positive and significant correlation ($r > 0.7$, $p \leq 0.05$) between the N content in roots and the P content in stalks, as well as between root dry matter, diameter and volume, and between DTR and the content of Mn in leaves. Negative correlations were observed between the P and K contents in stalks, and the volume of thick roots.

The two main components explored (Fig. S6) explained 99% of the data variation. The PCA showed the distinct characteristics of the covariation of the *H. courbaril* data under soil and Fe mine tailings, and soil treatments were highly related to component 2. The data expressed by the plants under tailings presented a more generalized covariation.

DISCUSSION

The tailings from iron mining used in this study presented low fertility, high density, low porosity (high amounts of sand and silt), and compaction (Table 1). Compared to other studies on tailings from the same dam, the data presented here showed higher pH, less clay, and higher V% (Cruz et al., 2020). The V%, sand content, and pH did not favor the availability of Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} , although Fe and Mn were highly prevalent in tailings and they likely did not influence plant absorption. The physical barrier imposed by the tailings has previously been described (Andrade et al., 2018; Esteves et al., 2020a; Zago et al., 2019). These characteristics and the content or availability of macro- and micronutrients can have deleterious implications for plants (Lüthje et al., 2018).

Substrate compaction and nutritional deficiency reduce plant growth (Ferree and Streeter, 2004; Louzeiro et al., 2018; Morales, Fermín; Pavlovic, Andrej; Abadía, Anunciación; Abadía, 2018; Picchio et al., 2019; Zocchi et al., 2007). Furthermore, tolerant species can overcome stress and show improved growth under stress (Picchio et al., 2019). Dry matter is a strong

indicator of stress tolerance (Steinberg et al., 1990), including to mine tailings (Andrade et al., 2018; Cruz et al., 2020; Esteves et al., 2020a, 2020b; Zago et al., 2019). Plant species that are more tolerant to the physical limitations of the substrate do not show a reduction in dry matter (Grzesiak et al., 2015; Mleczek et al., 2017).

Although *H. courbaril* showed a greater covariation in the tailings (Fig. S3), it was characterized as a tolerant species, since its growth was not reduced in tailings when compared to soil control. There was high soil exploration per carbon unit, by the maintenance of *SRL*, *RTD*, and *RF*, and growth with lower metabolic cost (Kramer-Walter et al., 2016). *RTD* values indicate that this species does not invest in root lignification and suberization (Kramer-Walter et al., 2016).

Some nutrients had greater impacts on CO₂ assimilation and photoprotective responses than others. For example, K is essential for plants activities such as enzyme activation, ATP production, and stomata opening and closing, thereby aiding in the regulation and process of photosynthesis. It can increase root growth (as identified in the inoculation with 569) and improve sugar translocation, biochemical reactions, water use efficiency (inoculation with 654), Rubisco activity, and N and C metabolism (Jin et al., 2011; Weng et al., 2007). Zn is a cofactor for several enzymes. It is essential for plant growth and chlorophyll biosynthesis, beneficial for the photosynthetic apparatus, and acts as a stimulant of antioxidant activity (Kösesakal et al., 2009; Misra et al., 2005; Samreen et al., 2017).

In the present study, macro- and micronutrient results did not indicate nutritional deficiencies in plants under tailings, but an excess of Fe and Mn, and potentially Cu, P, and N was revealed. Furthermore, the N/S ratio was positively influenced by the tailings. The addition of nitrate and bacteria tended to increase Fe and Mn absorption, but also increased leaf Zn. However, no physical symptoms were observed. The ideal values of N/P and N/S (10 to 12; 20 to 30, respectively) indicate good soil fertility (Marschner, 1995).

Substrates with a compaction profile can reduce the bioavailability of oxygen and water, leading to reduced gas exchange and pigment content in sensitive species (BHATTARAI et al., 2004; Calvo Polanco et al., 2008; Campostrini and Yamanishi, 2001; Ferree and Streeter, 2004; Saradadevi et al., 2016; Zanão Júnior et al., 2010). Stomatal limitations usually occur (Ferree and Streeter, 2004) and non-stomatic limitations are possible (Bhattarai et al., 2004), such those on mesophyll conductance, carboxylation reactions, the Calvin cycle, and carbohydrate metabolism and transport (Morales et al., 2018). Mn, for example, is associated with the breakdown of water and the evolution of O₂, in addition to the formation of chloroplasts, which can affect *A* and the relative content of chlorophyll (Zanão Júnior et al., 2010).

Deficiency in some micronutrients can damage PSII (Hsieh et al., 2013; Schmidt et al., 2016, 2015), indicating the importance of plant nutrition and the bioavailability of elements in the soil. Furthermore, plant species susceptible to stresses such as compaction and micronutrient imbalance show a reduction in *F_v/F_m*, *Y(II)*, and *qP*, and an increase in *NPQ* (Grzesiak, 2009; Mallick and Mohn, 2003; Philip and Azlin, 2005; Wu et al., 2018). The increase in *NPQ* indicates a protection mechanism of the plant against deleterious effects caused by photoinhibition (Ruban, 2016) indicated by *F_v/F_m* values lower than 0.7 (Björkman and Demmig-Adams, 1995).

NPQ is essential for protecting PSII from environmental stress. If excess energy is not safely dissipated through *NPQ* (thus higher *Y(NO)*), many damaging triplet state chlorophylls and reactive oxygen species (ROS) may be generated (Laisk et al., 1997; Samson et al., 2019). ROS not only directly cause oxidative damage to PSII, but also inhibit its repair, leading to PSI photoinhibition and decreased CO₂ assimilation (Sejima et al., 2014; Tikkanen and Grebe, 2018; Tsuyama and Kobayashi, 2009). *Y(NO)* refers to the energy lost during its migration from the antenna to the PSII reaction center, and its value is increased in a closed or damaged PSII (Samson et al., 2019).

Despite the risk of PSII impairment, as observed by the decrease in NPQ , $Y(NPQ)$, qP , and increase in $Y(NO)$, *H. courbaril* showed non-photoinhibition, through Fv/Fm and $Y(II)$. However, even with excessive concentrations of Fe and Mn in the roots, the plants did not present visual symptoms or growth alterations in general, corroborated by dry matter and S:R. In addition, plants presented greater height, N/S, and leaf Zn, which would enhance photosynthesis reactions. However, excess nutrients may have increased the production of reactive oxygen species, and in addition to the low photoprotective capacity (NPQ), there was a decrease in CO_2 assimilation.

The application of nitrate to the tailings did not enhance PSII photoprotection and instead produced a reduction in $Y(II)$, despite the maintenance of Fv/Fm . However, photosynthesis improved, as did the number of leaves and Zn content in the leaves. The improvement shown appears to be associated with the increase in Zn content as opposed to increased available N, as first assumed. Zn may have contributed to improved chlorophyll biosynthesis, leading to greater assimilation of CO_2 and stimulation of antioxidant activity and growth.

Native diazotrophic bacteria previously isolated from the mine tailings of the Fundão dam and used for inoculation in soil and mine tailings containing *H. courbaril* seedlings showed potential as plant growth-promoting bacteria, given their capacity for IAA production, K solubilization, and growth under adverse conditions (Fe, Mn, and pH).

Emphasis is given to strain 638, which concomitantly led to greater K solubilization, IAA production, and growth promotion of shoots and roots of *H. courbaril*. This strain increased the growth of seedlings in soil and under the mine tailings, for all morphologic parameters evaluated. This indicates that the Fe concentrations in the tailings were not sufficient to inhibit their activity, even though the bacteria were susceptible to their concentrations *in vitro*.

Strain 638 also promoted greater accumulation of dry matter in plants under tailings compared to plants under tailings control, producing greater plant height, leaf number, leaf area,

and stem diameter. The improved root growth appeared to be the main factor involved, with increased root surface area, root length, fine root surface, volume, and thick root surface. In general, strain 638 allowed greater substrate exploitation by the plants.

Furthermore, with the inoculation of 638 in tailings, photosynthesis remained relatively unchanged in relation to tailings control, concomitantly with the reduction of g_s , E , and C_i . Therefore, there were increases in the intrinsic efficiencies of carboxylation and water use. Plants inoculated with 638 exhibited the highest photochemical quenching.

This is supported by the results of substrate analysis. Strain 638 led to an improvement in all analyzed characteristics of the tailings. Therefore, in addition to the possible direct influence of 638 on plant growth, verified by its higher production of IAA, this strain strongly contributed to the substrate environment, making it more favorable for root development and nutrient uptake by the plant.

Strain 569 also showed potential for K solubilization but lower IAA production, although it was tolerant to Fe and Mn concentrations and the different pH levels imposed, and contributed somewhat to plant growth. Strain 654 showed lower potential as a PGPB, given the lower K solubilization and IAA production, despite its tolerance to Fe, Mn, and pH. Its contribution to the growth of *H. courbaril* was the lowest of all studied.

Inoculation with diazotrophic bacteria was effective for the plant overall, and all three bacteria increased photosynthesis in the tailings. Each of the bacterial strains appeared to improve plant performance differently. In summary, 569 plants raised qP , demonstrating efficiency in the biochemical phase of photosynthesis, investing in shoot growth (S:R, Zn) and root growth; 638 led to the highest improvement in plant growth, both in terms of shoots and roots; and 654 led to PSII photoprotection, showing a higher photosynthetic rate and biochemical phase efficiency.

The increase in potassium content in leaves of plants inoculated with 569 and 638 may have aided stomatal activity, carbon assimilation rate (related to greater CO₂ diffusion and/or Rubisco activation), transpiration maintenance, and root growth (569 exclusively). In contrast, K reduction in leaves of plants inoculated with 654 showed lower water use efficiency (increased *E* paired with no change in *g_s*). The increase in Zn in leaves of 569 and 654 appears to be related to improved CO₂ fixation and antioxidant activity, thus contributing to the photoprotection exhibited by 654.

H. courbaril proved to be tolerant and a potential species for afforestation in regions degraded by iron mine tailings. Diazotrophic bacteria 638 showed strong potential as a PGPB. Inoculation with bacteria led to different positive responses in plant growth and integrity of the photosynthetic apparatus; therefore, it is a powerful tool for the recovery of areas degraded by iron mine tailings. Our results agree with our hypothesis that diazotrophic bacteria enhance *H. courbaril* growth on tailings. Further studies are necessary in field conditions and with a larger experimental period to more thoroughly understand *H. courbaril* tolerance.

Acknowledgments

The authors thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for funding the master's scholarship (Funding Code 001) and the research project involved in this study (FAPEMIG/FAPES/CNPq/ANA n° 6/2016). We also thank the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for the research productivity grant (modality PQ, category 2 assigned to Souza, TC (Process: 304421/2018-9)).

References

- Abdel-Kader, M., Berger, J.M., Slobodnick, C., Hoch, J., Malone, S., Wisse, J.H., Werkhoven, M.C.M., Mamber, S., Kingston, D.G.I., 2002. Isolation and absolute configuration of enthalimane diterpenoids from *Hymenaea courbaril* from the Suriname rain forest. *J. Nat. Prod.* 65, 11–15. <https://doi.org/10.1021/np0103261>
- Aguiar, J.C.D., Santiago, G.M.P., Lavor, P.K., Veras, H.N.H., Ferreira, W.S., Lima, M.A.A., Arriaga, Â.M.C., Lemos, T.L.G., Lima, J.Q., de Jesus, H.C.R., Alves, P.B., Braz-Filho, R., 2010. NPC Natural Product Communications. *Nat. Prod. Commun.* 5, 1977–1980.
- Alastuey, A., García-Sánchez, A., López, F., Querol, X., 1999. Evolution of pyrite mud weathering and mobility of heavy metals in the Guadiamar valley after the Aznalcollar spill, south-west Spain. *Sci. Total Environ.* 242, 41–55. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(99\)00375-7](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00375-7)
- Andrade, G.F., Paniz, F.P., Martins, A.C., Rocha, B.A., da Silva Lobato, A.K., Rodrigues, J.L., Cardoso-Gustavson, P., Masuda, H.P., Batista, B.L., 2018. Agricultural use of Samarco's spilled mud assessed by rice cultivation: A promising residue use? *Reino Unido. Chemosphere* 193, 892–902. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.099>
- ANM, 2019. PARECER TÉCNICO N° 07/2019 – GSBM/SPM/ANM-ESGJ/LHPR/LPN/WAN.
- Bazzicalupo, M., Okon, Y., Animale, B., Romana, V., 2000. *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Azoarcus*, *Herbaspirillum*, *Acetobacter*, *Burkholderia*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*. *Europe* 409–410.
- Berhongaray, G., Verlinden, M.S., Broeckx, L.S., Janssens, I.A., Ceulemans, R., 2017. Soil carbon and belowground carbon balance of a short-rotation coppice: assessments from three different approaches. *GCB Bioenergy* 9, 299–313. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12369>
- Bhattarai, S.P., Huber, S., Midmore, D.J., 2004. Aerated subsurface irrigation water gives growth and yield benefits to zucchini, vegetable soybean and cotton in heavy clay soils. *Ann. Appl. Biol.* 144, 285–298. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2004.tb00344.x>
- Björkman, O., Demmig-Adams, B., 1995. Regulation of Photosynthetic Light Energy Capture, Conversion, and Dissipation in Leaves of Higher Plants. *Ecophysiol. Photosynth.* 17–47. https://doi.org/10.1007/978-3-642-79354-7_2
- Calvo Polanco, M., Zwiazek, J.J., Voicu, M.C., 2008. Responses of ectomycorrhizal American elm (*Ulmus americana*) seedlings to salinity and soil compaction. *Plant Soil* 308, 189–200. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9619-z>
- Campostrini, E., Yamanishi, O.K., 2001. INFLUENCE OF MECHANICAL ROOT RESTRICTION ON GAS-EXCHANGE OF FOUR PAPAYA GENOTYPES.
- Carvalho, N.S., Rocha, S.M.B., Santos, V.M. dos, Araujo, F.F. de, Araújo, A.S. de, 2018. Soil Microbial Biomass Across a Gradient of Preserved Native Cerrado. *Floresta e Ambient.* 25. <https://doi.org/10.1590/2179-8087.053617>
- Cruz, F.V. da S., Gomes, M.P., Bicalho, E.M., Della Torre, F., Garcia, Q.S., 2020. Does Samarco's spilled mud impair the growth of native trees of the Atlantic Rainforest? *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 189, 110021. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110021>
- Salt, D. E.; Smith, I.R., 1998. Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol* 49, 643–68.

- da Silva Junior, C.A., Coutinho, A.D., de Oliveira-Júnior, J.F., Teodoro, P.E., Lima, M., Shakir, M., de Gois, G., Johann, J.A., 2018. Analysis of the impact on vegetation caused by abrupt deforestation via orbital sensor in the environmental disaster of Mariana, Brazil. *Land use policy* 76, 10–20. <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2018.04.019>
- Davies, M.P., 2002. Tailings impoundment failures are geotechnical engineers listening? *Geotech. News* 20, 31.
- De Souza Júnior, T.F., Moreira, E.B., Heineck, K.S., 2018. Barragens De Contenção De Rejeitos De Mineração No Brasil. *Holos* 5, 2–39. <https://doi.org/10.15628/holos.2018.7423>
- Döbereiner, J.; Baldani, V.L.D.; Baldani, J.I. Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. Brasília: Embrapa-SPI; Seropédica: Embrapa-Cnpab, 1995. 60p.
- Duboc, E., Ventorim, N., Vale, F.R. do, Davide, A.C., 1996. NUTRIÇÃO DO JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Hayne) Lee et Lang.). *Cerne* 2, 31–47.
- Enebe, M.C., Babalola, O.O., 2018. The influence of plant growth-promoting rhizobacteria in plant tolerance to abiotic stress: a survival strategy. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 102, 7821–7835. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9214-z>
- Espósito, T. de J., 2000. Metodologia probabilística e observacional aplicada a barragens de rejeito construídas por aterro hidráulico. Universidade de Brasília.
- Esteves, G. de F., Bressanin, L.A., de Souza, K.R.D., da Silva, A.B., Mantovani, J.R., Marques, D.M., Magalhães, P.C., Pasqual, M., de Souza, T.C., 2020a. Do tailings from the Mariana, MG (Brazil), disaster affect the initial development of millet, maize, and sorghum? *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 38662–38673. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10013-w>
- Esteves, G. de F., de Souza, K.R.D., Bressanin, L.A., Andrade, P.C.C., Veroneze Júnior, V., dos Reis, P.E., da Silva, A.B., Mantovani, J.R., Magalhães, P.C., Pasqual, M., de Souza, T.C., 2020b. Vermicompost improves maize, millet and sorghum growth in iron mine tailings. *J. Environ. Manage.* 264. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110468>
- Ferree, D.C., Streeter, J.G., 2004. Response of Container-grown Apple Trees to Soil Compaction 39, 40–48.
- Fourie, A.B., Blight, G.E., Papageorgiou, G., 2002. Static liquefaction as a possible explanation for the Merriespruit tailings dam failure: Reply. *Can. Geotech. J.* 39, 1441–1442. <https://doi.org/10.1139/t02-079>
- García-Carmona, M., García-Robles, H., Turpín Torrano, C., Fernández Ondoño, E., Lorite Moreno, J., Sierra Aragón, M., Martín Peinado, F.J., 2019. Residual pollution and vegetation distribution in amended soils 20 years after a pyrite mine tailings spill (Aznalcóllar, Spain). *Sci. Total Environ.* 650, 933–940. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.092>
- Gómez, L., Contreras, A., Bolonio, D., Quintana, J., Oñate-Sánchez, L., Merino, I., 2019. Phytoremediation with trees, 1st ed, *Advances in Botanical Research*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2018.11.010>
- Grzesiak, M.T., 2009. Impact of soil compaction on root architecture, leaf water status, gas exchange and growth of maize and triticale seedlings. *Plant Root* 3, 10–16. <https://doi.org/10.3117/plantroot.3.10>
- Grzesiak, M.T., Szczyrek, P., Rut, G., Ostrowska, A., Hura, K., Rzepka, A., Hura, T., Grzesiak, S., 2015. Interspecific Differences in Tolerance to Soil Compaction, Drought and Waterlogging Stresses among Maize and Triticale Genotypes. *J. Agron. Crop Sci.* 201, 330–343.

<https://doi.org/10.1111/jac.12104>

- Hatje, V., Pedreira, R.M.A., De Rezende, C.E., Schettini, C.A.F., De Souza, G.C., Marin, D.C., Hackspacher, P.C., 2017. The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. *Sci. Rep.* 7, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11143-x>
- Hsieh, S.I., Castruita, M., Malasarn, D., Urzica, E., Erde, J., Page, M.D., Yamasaki, H., Casero, D., Pellegrini, M., Merchant, S.S., Loo, J.A., 2013. The proteome of copper, iron, zinc, and manganese micronutrient deficiency in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Mol. Cell. Proteomics* 12, 65–86. <https://doi.org/10.1074/mcp.M112.021840>
- IBAMA, 2015. Laudo Técnico Preliminar. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis; Diretoria de Proteção Ambiental; Coordenação Geral de Emergências Ambientais.
- Jin, S.H., Huang, J.Q., Li, X.Q., Zheng, B.S., Wu, J. Sen, Wang, Z.J., Liu, G.H., Chen, M., 2011. Effects of potassium supply on limitations of photosynthesis by mesophyll diffusion conductance in *Carya cathayensis*. *Tree Physiol.* 31, 1142–1151. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpq095>
- Jolliffe, I.T., 2010. Principal components analysis. *Int. Encycl. Educ.* 374–377. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-044894-7.01358-0>
- Kösesakal, T., Ünal, M., Öz, G.C., 2009. Influence of zinc toxicity on gravitropic response of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) roots. *Fresenius Environ. Bull.* 18, 2402–2407.
- Kramer-Walter, K.R., Bellingham, P.J., Millar, T.R., Smissen, R.D., Richardson, S.J., Laughlin, D.C., 2016. Root traits are multidimensional: specific root length is independent from root tissue density and the plant economic spectrum. *J. Ecol.* 104, 1299–1310. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12562>
- Laisk, A., Oja, V., Rasulov, B., Eichelmann, H., Sumberg, A., 1997. Quantum yields and rate constants of photochemical and nonphotochemical excitation quenching: Experiment and model. *Plant Physiol.* 115, 803–815. <https://doi.org/10.1104/pp.115.2.803>
- László, F., 2006. Lessons learned from the cyanide and heavy metal accidental water pollution in the Tisa river basin in the year 2000. *NATO Secur. through Sci. Ser. C Environ. Secur.* 43–50. https://doi.org/10.1007/1-4020-4800-9_4
- Lorenzi, H., 1992. *Arvores brasileiras*, 1st ed, Editora Plantarium.
- Louzeiro, F., Santiago, D.A., Eduardo, F., Santiago, M., Ferreira, J., Filho, L., Ratke, R.F., 2018. Plant growth and symptomatology of macronutrient deficiencies in cowpea plants 9, 503–508. <https://doi.org/10.14295/CS.v9i3.2593>
- Lüthje, S., Meisrimler, C.N., Hopff, D., 2018. Proteomics of Micronutrient Deficiency and Toxicity, in: *Plant Micro-Nutrient Use Efficiency*. Elsevier Inc., pp. 161–180. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812104-7.00010-1>
- Lutter, R., Tullus, A., Kanal, A., Tullus, T., Tullus, H., 2016. The impact of short-rotation hybrid aspen (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) plantations on nutritional status of former arable soils. *For. Ecol. Manage.* 362, 184–193. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.12.009>
- Malavolta, E., Vitti, G., Oliveira, S., 1997. *Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações*, 2nd ed. Potafos, Piracicaba.
- Mallick, N., Mohn, F.H., 2003. Use of chlorophyll fluorescence in metal-stress research: A case study with the green microalga *Scenedesmus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 55, 64–69.

[https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00122-7](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00122-7)

- Marques, D.M., Silva, A.B., Mantovani, J.R., Pereira, D.S., Souza, T.C., 2018a. Growth and physiological responses of tree species (*Hymenaea courbaril* L., *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. and *Myroxylon peruiferum* L. f.) exposed to different copper concentrations in the soil. *Rev. Arvore* 42. <https://doi.org/10.1590/1806-90882018000200002>
- Marques, D.M., Veroneze Júnior, V., da Silva, A.B., Mantovani, J.R., Magalhães, P.C., de Souza, T.C., 2018b. Copper Toxicity on Photosynthetic Responses and Root Morphology of *Hymenaea courbaril* L. (Caesalpinioideae). *Water. Air. Soil Pollut.* 229. <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3769-2>
- Marques, T.C.L.L.D.S. e M., Moreira, F.M. de S., Siqueira, J.O., 2000. Crescimento e teor de metais de mudas de espécies arbóreas cultivadas em solo contaminado com metais pesados. *Pesq. agropec. bras.* 35, 121–132.
- Marschner, H., 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2nd ed. Academic Press.
- Mayes, W.M., Jarvis, A.P., Burke, I.T., Walton, M., Feigl, V., Klebercz, O., Gruiz, K., 2011. Dispersal and attenuation of trace contaminants downstream of the Ajka bauxite residue (Red Mud) depository failure, Hungary. *Environ. Sci. Technol.* 45, 5147–5155. <https://doi.org/10.1021/es200850y>
- Miller, G.L., 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal. Chem.* 31, 426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Misra, A., Srivastava, A.K., Srivastava, N.K., Khan, A., 2005. Zn-acquisition and its role in growth, photosynthesis, photosynthetic pigments, and biochemical changes in essential monoterpene oil(s) of *Pelargonium graveolens*. *Photosynthetica* 43, 153–155. <https://doi.org/10.1007/s11099-005-3155-3>
- Mleczek, M., Goliński, P., Krzesłowska, M., Gąsecka, M., Magdziak, Z., Rutkowski, P., Budzyńska, S., Waliszewska, B., Kozubik, T., Karolewski, Z., Niedzielski, P., 2017. Phytoextraction of potentially toxic elements by six tree species growing on hazardous mining sludge. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 22183–22195. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9842-3>
- Morales, Fermín; Pavlovic, Andrej; Abadía, Anunciación; Abadía, J., 2018. Photosynthesis in Poor Nutrient Soils, in Compacted Soils, and under Drought, in: *The Life of the World to Come*. pp. 123–133. <https://doi.org/10.2307/j.ctv6sj9c0.14>
- Moreira, F.M.D.S., Da Silva, K., Nóbrega, R.S.A., De Carvalho, F., 2010. Bactérias diazotróficas associativas: Diversidade, ecologia e potencial de aplicações. *Comun. Sci.* 1, 74–99.
- Mummey, D.L., Stahl, P.D., Buyer, J.S., 2002. Microbial biomarkers as an indicator of ecosystem recovery following surface mine reclamation. *Appl. Soil Ecol.* 21, 251–259. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(02\)00090-2](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(02)00090-2)
- Nannipieri, P. Microbial biomass and activity measurements in soil: ecological significance, 1984. In: KLUG, M. J.; REDDY, C. A. *Current perspectives in microbial ecology*. Washington: American Society for Microbiology, 515–521.
- National Environment Council, 2009. Resolução CONAMA 420/2009 20.
- Nogueira, R.T., Shepherd, G.J., Laverde, A., Marsaioli, A.J., Imamura, P.M., 2001. Clerodane-type diterpenes from the seed pods of *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*. *Phytochemistry* 58, 1153–1157. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00303-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00303-X)

- Oliveira, W.K. de, Rohlf, D.B., Garcia, L.P., 2019. O desastre de Brumadinho e a atuação da Vigilância em Saúde. *Epidemiol. e Serv. Saude Rev. do Sist. Unico Saude do Bras.* 28, e20190425. <https://doi.org/10.5123/S1679-49742019000100025>
- Oliveira, M.M.E., Santos, C., Sampaio, P., Romeo, O., Almeida-Paes, R., Pais, C., Lima, N., Zancopé-Oliveira, R.M., 2015. Development and optimization of a new MALDI-TOF protocol for identification of the *Sporothrix* species complex. *Res. Microbiol.* 166, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.12.008>
- Oxborough, K., Baker, N.R., 1997. Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components - Calculation of qP and F_v'/F_m' without measuring F_o' . *Photosynth. Res.* 54, 135–142. <https://doi.org/10.1023/A:1005936823310>
- Parmar, P., Sindhu, S.S., 2013. Potassium Solubilization by Rhizosphere Bacteria: Influence of Nutritional and Environmental Conditions. *J. Microbiol. Res.* 3, 25–31. <https://doi.org/10.5923/j.microbiology.20130301.04>
- Pereira, E.L., 2005. Estudo do potencial de liquefação de rejeitos de minério de ferro sob carregamento estático. Universidade Federal de Ouro Preto.
- Philip, E., Azlin, Y.N., 2005. Measurement of soil compaction tolerance of *Lagestromia speciosa* (L.) Pers. using chlorophyll fluorescence. *Urban For. Urban Green.* 3, 203–208. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2005.04.003>
- Picchio, R., Tavankar, F., Nikooy, M., Pignatti, G., Venanzi, R., 2019. Morphology , Growth and Architecture Response of Beech (*Fagus orientalis* Lipsky) and Maple Tree (*Acer velutinum* Boiss .) Seedlings to Soil Compaction Stress Caused by Mechanized Logging Operations.
- Ruban, A. V., 2016. Nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching: Mechanism and effectiveness in protecting plants from photodamage. *Plant Physiol.* 170, 1903–1916. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01935>
- Samreen, T., Humaira, Shah, H.U., Ullah, S., Javid, M., 2017. Zinc effect on growth rate, chlorophyll, protein and mineral contents of hydroponically grown mungbeans plant (*Vigna radiata*). *Arab. J. Chem.* 10, S1802–S1807. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.07.005>
- Samson, G., Bonin, L., Maire, V., 2019. Dynamics of regulated YNPQ and non-regulated YNO energy dissipation in sunflower leaves exposed to sinusoidal lights. *Photosynth. Res.* 141, 315–330. <https://doi.org/10.1007/s11120-019-00633-w>
- Saradadevi, R., Bramley, H., Palta, J.A., Edwards, E., Siddique, K.H.M., 2016. Root biomass in the upper layer of the soil profile is related to the stomatal response of wheat as the soil dries. *Funct. Plant Biol.* 43, 62–74. <https://doi.org/10.1071/FP15216>
- Sarwar, M., Kremer, R.J., 1995. Enhanced suppression of plant growth through production of L-tryptophan-derived compounds by deleterious rhizobacteria. *Plant Soil* 172, 261–269. <https://doi.org/10.1007/BF00011328>
- Schmidt, S.B., Jensen, P.E., Husted, S., 2016. Manganese Deficiency in Plants: The Impact on Photosystem II. *Trends Plant Sci.* 21, 622–632. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.03.001>
- Schmidt, S.B., Persson, D.P., Powikrowska, M., Frydenvang, J., Schjoerring, J.K., Jensen, P.E., Husted, S., 2015. Metal binding in photosystem II super- and subcomplexes from barley thylakoids. *Plant Physiol.* 168, 1490–1502. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00559>
- Segura, F.R., Nunes, E.A., Paniz, F.P., Paulelli, A.C.C., Rodrigues, G.B., Braga, G.Ú.L., dos Reis

- Pedreira Filho, W., Barbosa, F., Cerchiaro, G., Silva, F.F., Batista, B.L., 2016. Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). *Environ. Pollut.* 218, 813–825. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.005>
- Sejima, T., Takagi, D., Fukayama, H., Makino, A., Miyake, C., 2014. Repetitive short-pulse light mainly inactivates photosystem i in sunflower leaves. *Plant Cell Physiol.* 55, 1184–1193. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu061>
- Shah, A.N., Tanveer, M., Shahzad, B., Yang, G., Fahad, S., Ali, S., Bukhari, M.A., Tung, S.A., Hafeez, A., Souliyanonh, B., 2017. Soil compaction effects on soil health and cropproductivity: an overview. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 10056–10067. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8421-y>
- Silva, A.C., Cavalcante, L.C.D., Fabris, J.D., Júnior, R.F., 2016. Chemical, mineralogical and physical characteristics of a material accumulated on the river margin from mud flowing from the collapse of the iron ore tailings dam in Bento Rodrigues, Minas Gerais, Brazil. *Rev. Espinhaço* 5, 44–53.
- Silva, G.P., Fontes, M.P.F., da Costa, L.M., Venegas, V.H.A., 2006. Potencialidade De Plantas Para Revegetação De Estéreis E Rejeito Da Mineração De Ferro Da Mina De Alegria, Mariana-MG. *Pesqui. Agropecuária Trop.* 36, 165–172. <https://doi.org/10.5216/pat.v36i3.2038>
- Soares, C.R.F.S., De Aguiar Accioly, A.M., Lanza De Sá e Melo Marques, T.C.L., Siqueira, J.O., Moreira, F.M.S., 2001. Content and distribution of heavy metals in roots, stems and leaves of tree seedlings in soil contaminated by zinc industry wastes. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 13, 302–315. <https://doi.org/10.1590/s0103-31312001000300006>
- Steinberg, S.L., Miller, J.C., McFarland, M.J., *Australian Journal Of Plant Physiology* 17(1, 1990. Dry matter partitioning and vegetative growth of young peach trees under water stress 23–36. <https://doi.org/10.1071/pp9900023>
- Tedesco, M. J. et al. *Análises de solo, plantas e outros materiais*, 1995. (Boletim técnico de solos)/ UFRGS. Departamento de solos, 5.) 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 174.
- Tikkanen, M., Grebe, S., 2018. Switching off photoprotection of photosystem I – a novel tool for gradual PSI photoinhibition. *Physiol. Plant.* 162, 156–161. <https://doi.org/10.1111/ppl.12618>
- Tsuyama, M., Kobayashi, Y., 2009. Reduction of the primary donor P700 of photosystem I during steady-state photosynthesis under low light in *Arabidopsis*. *Photosynth. Res.* 99, 37–47. <https://doi.org/10.1007/s11120-008-9379-x>
- Visser, S., Parkinson, D., 1992. Soil biological criteria as indicators of soil quality: Soil microorganisms. *Am. J. Altern. Agric.* 7, 33–37. <https://doi.org/10.1017/S0889189300004434>
- United States Committee On Large Dams (USCOLD), 1994. *Tailings Dam Incidents. A Report Prepared by the USCOLD Committee on Tailings Dams.*
- Wang, Q., Wang, W., He, X., Zheng, Q., Wang, H., Wu, Y., Zhong, Z., 2017. Changes in soil properties, X-ray-mineral diffractions and infrared-functional groups in bulk soil and fractions following afforestation of farmland, Northeast China. *Sci. Rep.* 7, 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12809-2>
- Weng, X.Y., Zheng, C.J., Xu, H.X., Sun, J.Y., 2007. Characteristics of photosynthesis and functions of the water-water cycle in rice (*Oryza sativa*) leaves in response to potassium deficiency. *Physiol. Plant.* 131, 614–621. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.00978.x>
- Wu, X., Tang, Y., Li, C., McHugh, A.D., Li, Z., Wu, C., 2018. Individual and combined effects of soil waterlogging and compaction on physiological characteristics of wheat in southwestern China. *F.*

- Crop. Res. 215, 163–172. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.10.016>
- Yadav, R., Arora, P., Kumar, S., Chaudhury, A., 2010. Perspectives for genetic engineering of poplars for enhanced phytoremediation abilities. *Ecotoxicology* 19, 1574–1588. <https://doi.org/10.1007/s10646-010-0543-7>
- Zago, V.C.P., das Dores, N.C., Watts, B.A., 2019. Strategy for phytomanagement in an area affected by iron ore dam rupture: A study case in Minas Gerais State, Brazil. *Environ. Pollut.* 249, 1029–1037. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.060>
- Zanão Júnior, L.A., Fontes, R.L.F., Coelho, P.H.M., Korndörfer, G.H., Zambolim, L., 2010. Soil-applied silicon decreases severity of wheat spot blotch on silicon-deficient soils. *Rev. Bras. Ciência do Solo* 34, 401–408. <https://doi.org/10.1590/s0100-06832010000200013>
- Zocchi, G., De Nisi, P., Dell’Orto, M., Espen, L., Gallina, P.M., 2007. Iron deficiency differently affects metabolic responses in soybean roots. *J. Exp. Bot.* 58, 993–1000. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl259>

SUPPLEMENTARY DATA

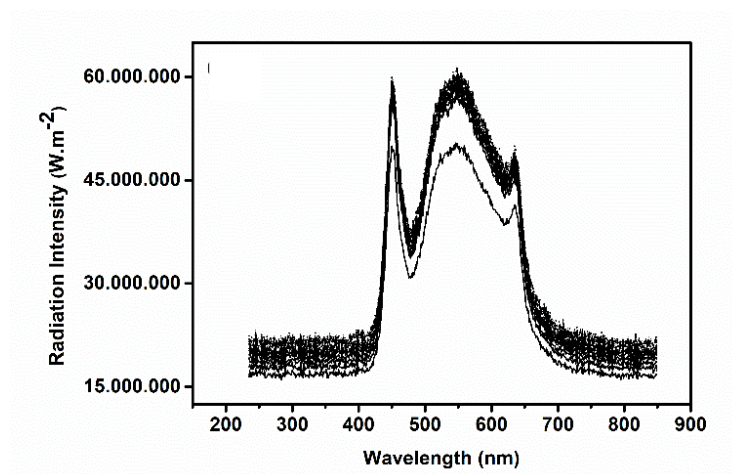


Figure S1. Radiation quality in the experimental environment during data collections.

Table S1. Fe (mg kg^{-1}), Mn (mg kg^{-1}), Zn (mg kg^{-1}), and N (g kg^{-1}) content in stalks of *Hymenaea courbaril* grown in soil and iron mine tailings, in the Control and with the addition of NH_4NO_3 (Nitrate), UNIFENAS100-569 (569), UNIFENAS100-638 (638), and UNIFENAS100-654 (654).

Substrate	Stalk							
	Soil	Tailings	Soil	Tailings	Soil	Tailings	Soil	Tailings
	Fe (mg kg^{-1})		Mn (mg kg^{-1})		Zn (mg kg^{-1})		N (g kg^{-1})	
Control	259.39	367.28	13.22	31.69	10.88	12.26	11.08 Aa	9.650 Aa
Nitrate	197.51	803.82	25.26	26.19	12.01	10.61	12.58 Aa	10.780 Aa
569	278.60	328.65	64.08	35.50	9.96	11.71	12.44 Aa	8.810 Bb
638	172.88	146.75	12.70	33.21	9.07	10.81	11.01 Aa	8.360 Bb
654	374.76	491.40	13.21	31.56	11.67	12.43	12.01 Aa	7.430 Bb

Means followed by uppercase and lower-case letters represent differences among substrates under the same inoculation conditions, and among inoculations in the same substrate, respectively by the Scott Knott test ($p < 0.05$).

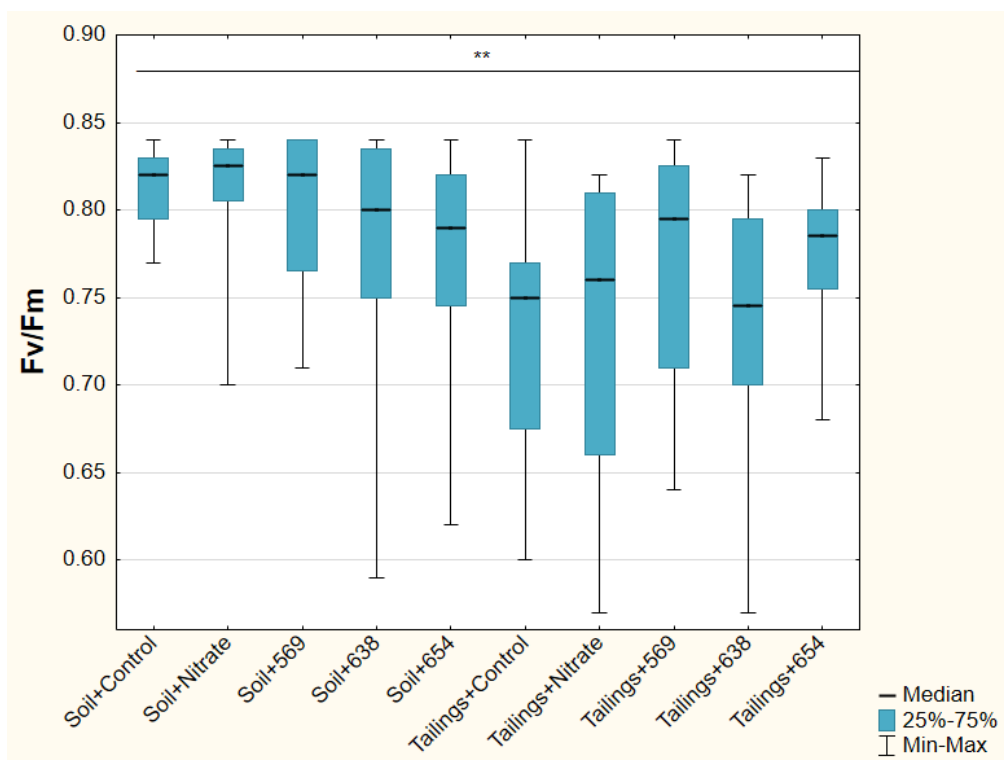
Table S2. P (g kg⁻¹), K (g kg⁻¹) and S (g kg⁻¹), content in leaves, stalks, and roots of *Hymenaea courbaril* grown in soil and iron mine tailings, in the Control and with the addition of NH₄NO₃ (Nitrate), UNIFENAS100-569 (569), UNIFENAS100-638 (638), and UNIFENAS100-654 (654).

Part Substrate	Leaf		Stalk		Root	
	Soil	Tailings	Soil	Tailings	Soil	Tailings
Inoculum						
P (g kg⁻¹)						
Control	4.497	2.293	7.480	6.700	2.200	2.193
Nitrate	4.327	4.505	7.997	10.367	1.787	2.850
569	5.033	3.983	7.473	7.167	1.410	2.383
638	4.553	3.530	7.827	4.613	1.980	2.757
654	4.363	5.207	8.850	6.970	1.740	1.860
K (g kg⁻¹)						
Control	10.63 Aa	11.18 Aa	7.96 Ab	9.35 Aa	5.483 a	5.897 a
Nitrate	11.57 Aa	14.29 Aa	10.17 Aa	10.19 Aa	7.020 a	5.185 a
569	12.12 Aa	12.66 Aa	8.46 Ab	8.32 Aa	5.323 a	5.553 a
638	12.11 Aa	13.81 Aa	9.65 Aa	7.80 Aa	5.033 b	4.627 b
654	11.46 Aa	7.69 Bb	10.08 Aa	8.06 Ba	4.713 b	4.150 b
S (g kg⁻¹)						
Control	1.547 Aa	1.227 Aa	0.593 B	0.727 A	0.877 Aa	0.853 Ab
Nitrate	1.123 Ba	1.800 Aa	0.623 B	1.033 A	0.757 Ba	1.415 Aa
569	1.267 Ba	1.990 Aa	0.680 B	0.793 A	0.867 Aa	1.070 Ab
638	1.557 Aa	1.633 Aa	0.447 B	0.780 A	0.697 Ba	1.347 Aa
654	1.580 Aa	1.483 Aa	0.857 B	0.897 A	0.823 Ba	1.277 Aa

Means followed by uppercase and lower-case letters represent differences among substrates under the same inoculation conditions, and among inoculations in the same substrate, respectively by the Scott Knott test ($p < 0.05$).

Table S3. Limits of quantification of the macro- and micronutrients.

Nutrients	Unity	L.Q.
N	g kg ⁻¹	0.22
P	g kg ⁻¹	0.11
K	g kg ⁻¹	0.32
Ca	g kg ⁻¹	0.22
Mg	g kg ⁻¹	0.11
S	g kg ⁻¹	0.11
B	mg kg ⁻¹	-
Cu	mg kg ⁻¹	2.03
Fe	mg kg ⁻¹	3.79
Mn	mg kg ⁻¹	4.02
Zn	mg kg ⁻¹	4.13

**Figure S2.** The maximum quantum yield of PSII of *Hymenaea courbaril* plants grown in soil and Fe mine tailings, with and without the addition of NH₄NO₃, UNIFENAS100-569,

UNIFENAS100-638, and UNIFENAS100-654. The boundary of the box closest to zero indicates the 25th percentile, a black line within the box marks the median, and the boundary of the box farthest from zero indicates the 75th percentile. Whiskers above and below the box indicate the minimum and maximum values. P values ($* < 0.05$; $** < 0.01$; $*** < 0.001$) were determined by the Kruskal-Wallis test followed by a Dunn's *post hoc* test. The results of the Kruskal-Wallis tests are indicated above the graph and the results of Dunn's *post hoc* test are indicated directly above the boxes.

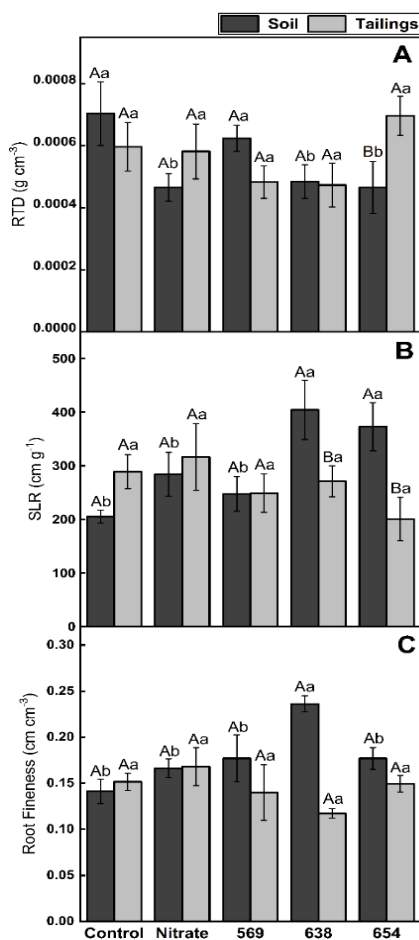


Figure S3. Root tissue density (g cm^{-3}), specific length (cm^2), and fineness (cm cm^{-3}) of *Hymenaea courbaril* plants grown in soil (dark grey) and iron mine tailings (light grey), in the Control and with the addition of NH_4NO_3 (Nitrate), UNIFENAS100-569 (569), UNIFENAS100-638 (638), and UNIFENAS100-654 (654). Means \pm mean standard error

followed by uppercase and lower-case letters represent differences, respectively, among substrates in the same inoculation condition, and among inoculations in the same substrate, by the Scott Knott test ($p < 0.05$).

Table S4. Length (cm), surface area (cm²), and volume (cm³) by root diameter class (Very thin: <0.5 mm, Thin: > 0.5 and <2.0 mm, and Thick: >2.0 mm) of *Hymenaea courbaril* plants grown in soil and iron mine tailings, in the Control and with the addition of NH₄NO₃ (Nitrate), UNIFENAS100-569 (569), UNIFENAS100-638 (638), and UNIFENAS100-654 (654).

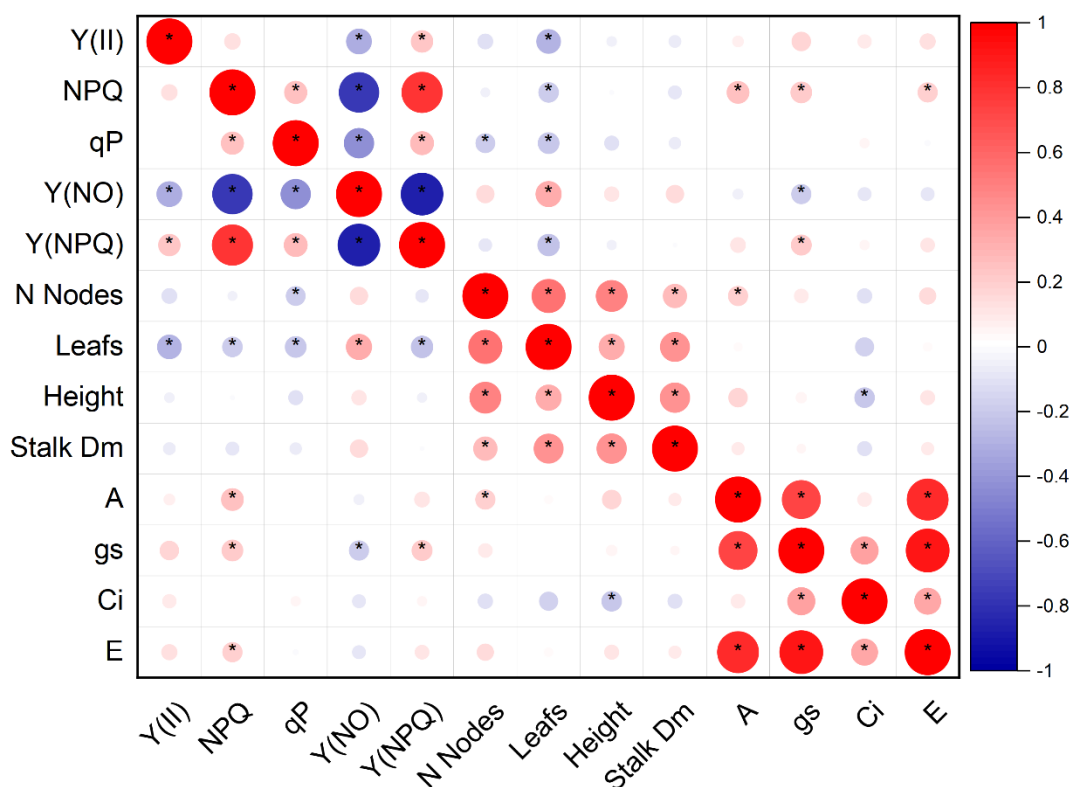
Roots: Classification	Length (cm)		Surface Area (cm ²)		Volume (cm ³)	
	Soil	Tailings	Soil	Tailings	Soil	Tailings
<i>Very thin</i>						
Control	345.87	342.57	19.49 Bb	18.30 Aa	0.16 Ab	0.15 Aa
Nitrate	323.89	434.79	27.21 Aa	16.45 Ba	0.22 Aa	0.14 Ba
569	289.45	319.78	24.48 Aa	26.47 Aa	0.20 Aa	0.15 Bb
638	319.08	255.77	27.19 Aa	21.84 Aa	0.23 Aa	0.18 Aa
654	324.40	287.67	15.29 Ab	14.53 Aa	0.13 Ab	0.09 Ab
<i>Thin</i>						
Control	233.29 Ab	217.23 Aa	84.95 Ab	76.91 Ab	1.70	1.47
Nitrate	295.99 Aa	177.09 Bb	110.01 Aa	98.06 Bb	2.16	1.26
569	225.14 Ab	198.46 Ab	86.52 Ab	73.64 Bc	1.60	1.08
638	236.91 Ab	301.16 Aa	91.37 Ab	110.82 Aa	1.62	1.67
654	217.96 Ab	204.57 Aa	76.51 Ab	74.35 Ab	1.60	1.34
<i>Thick</i>						
Control	31.70 Ab	45.97 Aa	35.30 Ab	35.30 Ab	2.51 Aa	2.85 Aa
Nitrate	44.07 Aa	39.71 Ba	48.77 Aa	27.37 Bb	2.91 Aa	1.99 Bb
569	34.25 Ab	35.35 Aa	40.35 Aa	40.62 Ab	3.21 Aa	2.64 Aa
638	25.65 Bb	53.82 Aa	29.51 Bb	63.04 Aa	2.07 Bb	5.17 Aa
654	23.01 Ab	41.93 Aa	24.20 Ab	30.37 Ab	1.43 Bb	2.67 Aa

Means followed by uppercase and lower-case letters represent differences among substrates under the same inoculation conditions, and among inoculations in the same substrate, respectively by the Scott Knott test ($p < 0.05$).

Table S5. Growth in different pH levels and Mn concentrations (mg L^{-1} culture media) and lipase production (enzymatic index) of free-living diazotrophic bacteria isolated from Fe mine tailings under *in vitro* conditions.

Bacterial strain	Bacterial growth						Mn (mg L^{-1})				Lipase production
	pH						50	150	300	600	E. I.
569	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	1.642 A
638	+++	++	++	+++	+	+++	+++	++	+++	+++	2.196 A
654	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	1.873 A

Means followed by letters for bacterial strains differ by Scott Knott's test at a 5% probability. Growth +++: high; ++: moderate; +: low; -: no growth.



* $p \leq 0.05$

Figure S4. Pearson's correlation matrix of the average of data assessed over time. *Hymenaea courbaril* plants were grown in soil and Fe mine tailings, with and without the addition of NH_4NO_3 , UNIFENAS100-569, UNIFENAS100-638, and UNIFENAS100-654. Signaled circles present significance at 5% probability ($P \leq 0.05$).

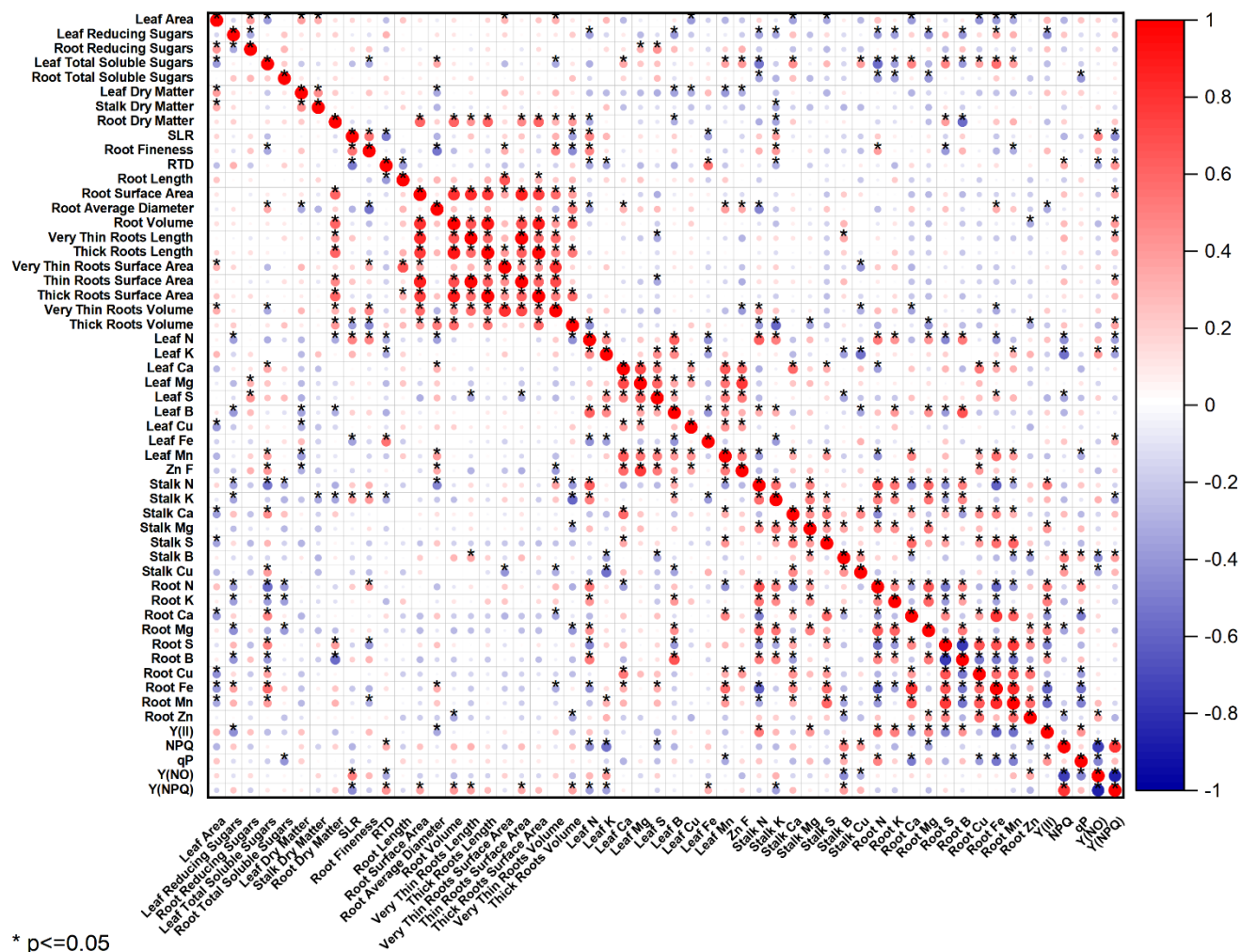


Figure S5. Pearson's correlation matrix of the experiment's end data of *Hymenaea courbaril* plants grown in soil and Fe mine tailings, for the Control and with the addition of NH_4NO_3 (Nitrate), UNIFENAS100-569 (569), UNIFENAS100-638 (638), and UNIFENAS100-654 (654). Signaled circles present significance at 5% probability ($P \leq 0.05$).

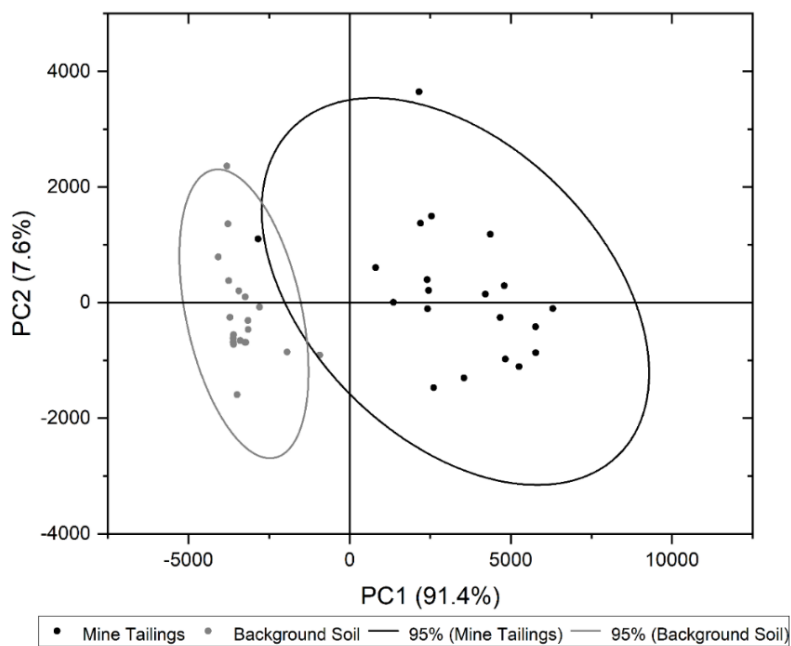


Figure S6. Principal component analysis of indexed data by covariation matrix of *Hymenaea courbaril* plants grown in soil (lighter grey) and iron mine tailings (black), in the Control and with the addition of NH_4NO_3 (Nitrate), UNIFENAS100-569 (569), UNIFENAS100-638 (638), and UNIFENAS100-654 (654). Each ellipse represents 95% confidence.